

Kapitel 8

Wirkungsspektroskopie: Anregung mit sichtbarer Strahlung

Die Methode der Wirkungsspektroskopie kann auch zum Nachweis von Absorption sichtbarer Strahlung eingesetzt werden. Dies wurde am Beispiel des Farbstoffs Kristallviolett ¹ nachgewiesen. Kristallviolett ist in Wasser löslich, jedoch nicht in Elektrolytlösungen. Deshalb wurde als Lösungsmittel eine Mischung aus Wasser und Polyethylenglykol 400 (PEG 400) ² verwendet. Polyethylenglykol ist ein sauerstoffreiches organisches Oligomer, das mit Kettenlängen zwischen 4 (PEG 200) und 14 (PEG 600) flüssig ist. Das Monomer ist Ethylenglykol (Glykol). Der Dampfdruck sinkt mit der Kettenlänge, die Viskosität nimmt zu. Der Dampfdruck wird von der Herstellerfirma *Merck* nicht angegeben, jedoch ist er deutlich geringer als der Dampfdruck von Ethylenglykol (0.06 hPa bei 20°C). Die Sauerstoffatome bilden mit Wasser Wasserstoff-Brückenbindungen. Aus diesem Grund ist es in beliebigen Verhältnissen mit Wasser mischbar. Die Wechselwirkung zwischen Polyethylenglykol und Wasser ist stark, dies zeigt sich u.a. dadurch, dass die Flüssigkeit beim Mischen warm wird. Dementsprechend wird der Dampfdruck von Wasser - analog zu den Elektrolytlösungen - erniedrigt. Kristallviolett löst sich gut in Mischungen aus Wasser und PEG 400. Das Mischungsverhältnis wird so gewählt, dass der Anteil an PEG 400 möglichst hoch ist, die Viskosität muss jedoch genügend niedrig bleiben, um ein gutes Funktionieren der Spritze zu gewährleisten.

Die verwendete Lösung setzt sich folgendermaßen zusammen: 0.01 g ± 0.001 g Kristallviolett werden in 30 ml H_2O und 20 ml PEG 400 gelöst. 15 ml dieser Lösung werden mit 10 ml Wasser verdünnt. Das Lösungsmittel besteht dem-

¹Kristallviolett von Merck; IUPAC-Bezeichnung für Kristallviolett: *Hexa-methylen-para-rosanilin-chlorid* bzw. *Hexa-methyl-p-rosanilinium-chlorid*; Summenformel $C_{25}H_{30}ClN_3$; Molekulargewicht 407.99 g/mol.

²Polyethylenglykol von Merck-Schuchardt, PH Eur; Molekulargewicht 380 - 420 g/mol; Dichte 1.13 kg/l; Summenformel $HO - (C_2H_4O)_n - H$.

nach aus 76 % Wasser und 24 % PEG 400. Es ergibt sich eine Konzentration an Kristallviolett von $(2.9 \pm 0.3) \cdot 10^{-4}$ mol/l.

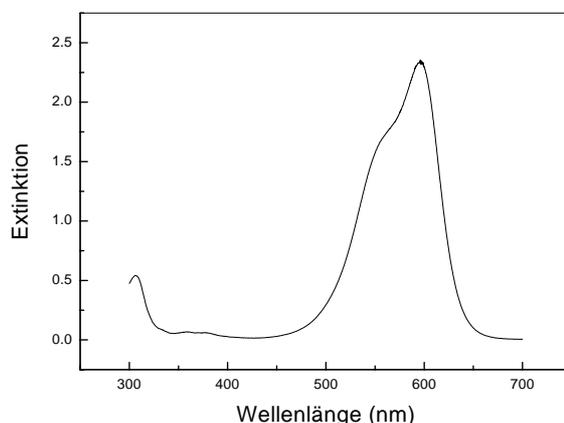


Abbildung 8.1: Absorptionsspektrum von Kristallviolett. Küvette mit 1 cm Schichtdicke. Konzentration $(1.8 \pm 0.2) \cdot 10^{-5}$ mol/l; Lösungsmittel 76 % Wasser, 24 % PEG 400.

In Abbildung 8.1 ist das Absorptionsspektrum von Kristallviolett gezeigt. Kristallviolett besitzt ein breites Maximum im Bereich von 500 nm bis 630 nm. Das Spektrum wurde mit einem UV/Vis-Spektrometer von Perkin-Elmer aufgenommen. Die Lösung wurde auf $(1.8 \pm 0.2) \cdot 10^{-5}$ mol/l verdünnt und in einer Quarzglasküvette mit 1 cm Schichtdicke vermessen.

Die Absorption eines Fluoreszenzfarbstoffs nimmt bei dauernder Bestrahlung ab, da ein Teil der Moleküle zerstört wird. Dieser Vorgang wird als Ausbleichen bezeichnet. Kristallviolett kann ausbleichen. In den vorgestellten Messungen wurde dieser Effekt beobachtet, merklich äußerte sich das Ausbleichen erst nach einigen Stunden der Bestrahlung mit einer Wellenlänge, die absorbiert wird.

Zuerst wurden Versuche durchgeführt, bei denen die Anregung durch die Strahlung eines grünen Helium-Neon-Laser (543 nm) erfolgte. Der grüne Laserstrahl wurde durch die selben Fenster justiert, wie der Strahl des roten Diodenlasers. Die Einkopplung der Strahlen erfolgte durch die gegenüberliegenden Seiten. Der grüne Laserstrahl wurde leicht fokussiert. Mit dieser Anregungswellenlänge konnte eine Verschiebung der Resonanzwellenlänge zu kleineren Wellenlängen beobachtet werden. In Abbildung 8.2 ist ein Beispiel für eine derartige Verschiebung gezeigt.

Die Spannung am Piezoelement des Diodenlasers wurde kontinuierlich mit einer Dreiecksspannung zwischen -7 V und +7 V verändert. Die Intensität des gestreuten Lichtes wurde in Abhängigkeit von dieser Spannung auf einem Oszilloskop dargestellt. Die Messung erfolgte bei einer Wellenlänge des Diodenlasers, bei der das gestreute Licht eine Resonanz aufwies.

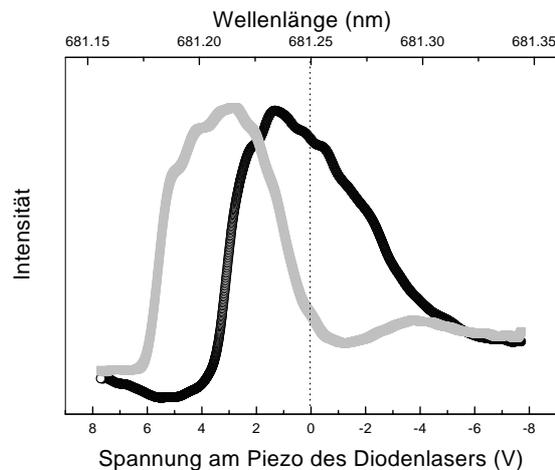


Abbildung 8.2: Darstellung der Streulichtintensität im Bereich einer Resonanz über der Spannung am Piezo des Diodenlasers. Die rechte, graue Kurve bei höheren Spannungen bzw. niedrigeren Wellenlängen zeigt die Position der Resonanz, während der Tropfen mit einem grünen HeNe-Lasers beleuchtet wird. Die linke, schwarze Kurve zeigt die Position der Resonanz ohne zusätzliche Bestrahlung. Die Wellenlänge bei 0 V Spannung am Piezo entspricht 681.25 nm. Die Messdaten wurden direkt vor bzw. nach dem „Umschalten“ aufgenommen. Der zeitliche Abstand beträgt etwa 30 s. Die Lage der Resonanz verschiebt sich um $1.9 \text{ V} \pm 0.2 \text{ V}$ bzw. $0.023 \text{ nm} \pm 0.002 \text{ nm}$.

Die Messkurven wurden mit einer Lorentzfunktion angepasst und die Positionen der Maxima bestimmt. Aus mehreren Messungen ergab sich eine Verschiebung von im Mittel $2.5 \text{ V} \pm 0.6 \text{ V}$ bzw. $0.030 \text{ nm} \pm 0.007 \text{ nm}$. Es zeigt sich, dass sich auch für dieses System ein Gleichgewichtszustand, d.h. eine konstante Größe, bei kontinuierlicher Bestrahlung (Absorption) einstellt. Das Ausmaß der Verdampfung liegt in einer ähnlichen Größenordnung wie in den Versuchen, in denen mit IR-Strahlung angeregt wurde. Der Strahlungsfluss am Fokuspunkt liegt in der Größenordnung von $\approx 10^7 \text{ W/m}^2$. Der Strahldurchmesser am Ort des Fokus ist größer als der Durchmesser des Tropfens, so dass sich der Tropfen in der Mitte des Strahlungsfeldes befindet. Die Absorption bewirkt einen elektronischen Übergang in den Kristallviolett-Molekülen. Die aufgenommene Energie muss zum Teil in Schwingungen des Kristallvioletts umgewandelt und an das Lösungsmittel weitergegeben werden. Die Konversion der Energie in Wärme ist verglichen mit der Verdampfung sehr viel schneller.

Die Versuchsdurchführung wurde modifiziert, indem ein Chopper in den Strahlengang des grünen HeNe-Lasers eingesetzt wurde. Die Frequenz des Choppers kann über ein TTL-Signal ausgelesen werden. Dieses Signal wird als Referenzsignal in einen Lock-in Verstärker eingelesen. Als Mess-Signal dient die durch den Photomultiplier gemessene Intensität des Streulichtes. Vor dem Photomultiplier befindet sich ein Farbfilter, so dass nur das Streu-

Chopperfrequenz	Signal des Lock-in Verstärker	Änderung der Streulichtintensität
3-4 Hz	5.5 ± 0.5 V	12 ± 1 mV
10 Hz	2.5 ± 0.5 V	5 ± 1 mV

Tabelle 8.1: Signal des Lock-in Verstärkers bei unterschiedlichen Chopperfrequenzen. Messung an einem Tropfen bestehend aus Kristallviolett in Wasser/PEG 400. Anregung des Kristallviolett durch einen grünen HeNe-Laser(543 nm). Eingangssignal: Photomultiplier (Streulicht des Diodenlasers); Referenz: Chopperfrequenz; Zeitkonstante 3 s; Empfindlichkeitsbereich: 10 mV.

licht des roten Diodenlasers detektiert wird. Die Wellenlänge des Diodenlasers wird mit dem Piezo so eingestellt, dass sie einer Position auf der Mitte der Flanke einer Mie-Resonanz entspricht. Durch den Lock-in Verstärker wird also gemessen, ob sich die Streulichtintensität mit der Chopperfrequenz ändert. Periodisch wird der Tropfen mit dem grünen Licht beleuchtet. Dementsprechend findet periodisch Absorption und Verdampfung, bzw. anschließend Abkühlung und Kondensation statt.

Die Chopperfrequenz wurde zwischen 3 Hz und 20 Hz variiert. Die Zeitkonstante des Lock-in Verstärkers betrug 3 s und der Empfindlichkeitsbereich war auf 10 mV eingestellt. Es stellte sich heraus, dass das durch den Lock-in Verstärker ermittelte Signal am größten war, wenn die Frequenz niedrig war. Ab 15 Hz lag das Signal bei Null. Dieses Verhalten ist auf Grund der Relaxationsgeschwindigkeit zu verstehen. Eine Chopperfrequenz von 4 Hz bedeutet, dass im Abstand von 0.25 s ein Lichtpuls auf den Tropfen trifft. In der Hälfte dieser Zeit ist der Tropfen unbeleuchtet. Dies ist die Zeit, die für die Erreichung der Umgebungstemperatur und der entsprechenden Gleichgewichtsgröße zur Verfügung steht. In Abschnitt 7.3 wurde die Zeit abgeschätzt, die ein Tropfen aus $MgCl_2$ -Lösung bei Anregung durch IR-Strahlung braucht, um seine neue Gleichgewichtslage zu erreichen. Diese Zeit liegt in der Größenordnung von 300 ms. Die Einstellung des Gleichgewichts für das System Kristallviolett/Wasser/PEG 400 liegt in derselben Größenordnung. Der Vorgang dauert also länger, als die Zeit, die der Tropfen bei einer Chopperfrequenz von 4 Hz bezüglich der Anregungswellenlänge unbeleuchtet ist. Der Tropfen erreicht seine Gleichgewichtsgröße nicht, sondern ist ständig im Prozess der Anpassung. Je höher die Chopperfrequenz wird, desto geringer wird die maximale Größendifferenz. Das bedeutet aber auch, dass sich die Intensität des gestreuten, roten Lichtes weniger ändert, je höher die Chopperfrequenz ist. Bei einer Frequenz von 15 Hz ist kein Signal mehr zu erkennen.

In Abbildung 8.3 ist am Beispiel einer Resonanz der Zusammenhang des gemessenen Signals mit der Verschiebung der Resonanzwellenlänge dargestellt. Es lässt sich kein allgemeiner Zusammenhang zwischen der Änderung der

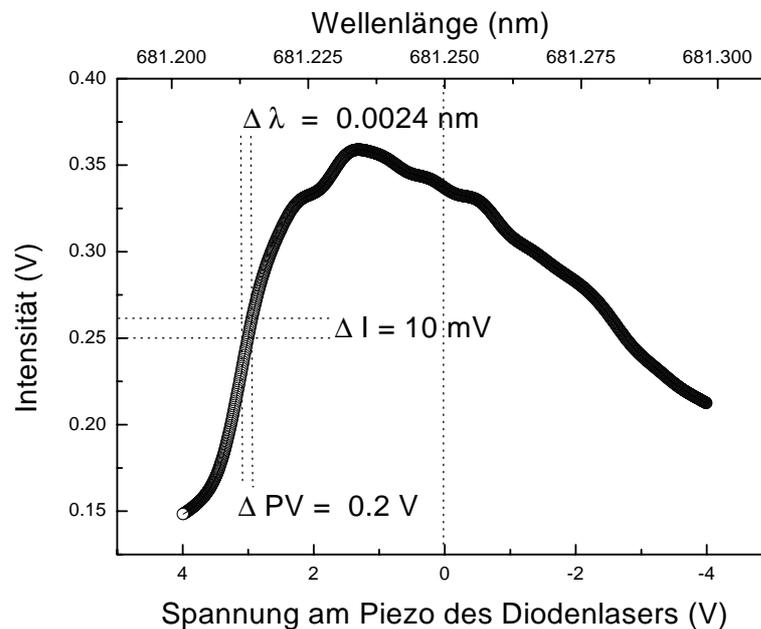


Abbildung 8.3: Darstellung der Streulichtintensität im Bereich einer Resonanz über der Spannung am Piezo des Diodenlasers. Die Streulichtintensität wurde ohne Einwirkung einer absorbierten Strahlung aufgenommen. Eine Änderung der Streulichtintensität um 10 mV entspricht einer Änderung der Wellenlänge um 0.024 nm.

Streulichtintensität und der Verschiebung der Resonanzwellenlänge formulieren, da das gemessene Signal von der Form der Mie-Resonanz (Steigung der Flanke) und von der Ausgangswellenlänge abhängt. Zu jeder Messung muss die Form der Resonanz bekannt sein. Bei der Messung wird die Wellenlänge nicht geändert. Der Wert der Streulichtintensität bei dieser Wellenlänge ist ebenfalls entscheidend, da dieser die Position auf der Flanke der Resonanz definiert und damit die Steigung.

Wenn die Tropfengröße konstant ist und die Resonanz sich lediglich leicht verschiebt, so ist die Form der Resonanz nahezu konstant. So kann die Resonanz zuerst charakterisiert werden. Aus dieser Messung kann die Bestimmung des Umrechnungsfaktors von der Intensitätsänderung des gestreuten Lichtes in die Änderung der Wellenlänge der Resonanz bestimmt werden. Die Wellenlängenänderung kann auch direkt aus einer Graphik wie in Abbildung 8.3 bestimmt werden. Für die dargestellte Resonanz bedeutet eine Änderung des Streulichtes um 10 mV eine Änderung der Resonanzwellenlänge um 0.0024 nm. Daraus ergibt sich bei einem Tropfenradius von $12.5 \mu\text{m}$ eine periodische Radiusänderung von $4 \cdot 10^{-5} \mu\text{m}$.

Die Änderung der Piezospaltung bzw. der Resonanzwellenlänge ist nur in etwa 1/10 so groß, wie die Werte die sich aus den Einzelmessungen mittels des Oszilloskops ergeben.

Der wesentliche Unterschied zu den in Kapitel 7 vorgestellten Messungen

besteht darin, dass sich bei diesen Messungen kein Gleichgewicht bzw. quasistationärer Zustand einstellt. Die Einstellung einer konstanten Partikelgröße war insbesondere für eine Fourier-Transform-Wirkungsspektroskopie wichtig, damit die Proportionalität zwischen der Radiusänderung und den Absorptionskoeffizienten gegeben ist (Gleichungen (7.1), (4.21)). Durch die gleichzeitige Einkopplung aller Wellenlängen ist die Leistung für jede Wellenlänge fest vorgegeben. Bei Verwendung monochromatischer Strahlung kann die Leistung jedoch für jede Wellenlänge auf ein Signal der Wirkungsspektroskopie optimiert werden. Dies eröffnet die Möglichkeit die Absorption zu messen, indem die Radiusänderung Δa konstant gehalten wird und die Laserleistung darauf hin geregelt wird. Somit ist dann die Laserleistung die Messgröße, welche sich umgekehrt proportional zur Absorptionseffizienz Q_{abs} verhält.

Weitere Messungen wurden mit einem weit durchstimbaren Optischen Parametrischen Oszillator durchgeführt (siehe Abschnitt 5.6). Der Wellenlängenbereich, in dem der Laser kalibriert war, reichte von 540 nm bis 700 nm. Als Mess-Signal wird die von dem Photomultiplier gemessene Streulichtintensität verwendet, als Referenz dient ein TTL-Signal, das bezüglich des Zeitpunktes, zu dem der Q-Switch geöffnet wird, um 100 μs verzögert ist und dessen Breite 1 ms beträgt. Diese Einstellungen erwiesen sich in vorausgehenden Versuchen als am besten geeignet. Die Repetitionsrate des Lasers beträgt 10 Hz. Es wurden Messungen durchgeführt, in denen die Wellenlänge schrittweise verändert wurde, Messungen, in denen die Wellenlänge kontinuierlich durchgefahen wurde, sowie Messungen, in denen die Abhängigkeit des Signal als Funktion der Laserleistung untersucht wurde.

In den Experimenten, in denen die Wellenlänge schrittweise verändert wurde, erfolgte die Messung des Signals über mehrere Minuten. Das Signal des Lock-in Verstärkers war während dieses Zeitraumes konstant, solange dieselbe Wellenlänge eingestrahlt wurde, und die Position auf der Flanke unverändert war. Effekte durch Ausbleichen wurden ausgeschlossen, indem das Signal bei einer Wellenlänge immer wieder überprüft wurde. Solange es unverändert bleibt, lassen sich die Messwerte bei anderen Wellenlängen vergleichen. Es wurden auch Versuche unternommen, in denen die Wellenlänge des OPO kontinuierlich durchgefahen wurde.

In Abbildung 8.4 ist eine Messung des Signals bei kontinuierlicher Änderung der Wellenlänge dargestellt. Zum Vergleich sind Messdaten einer schrittweisen Messung, sowie der entsprechende Bereich des in der Küvette gemessenen Spektrums gezeigt. Der Verlauf der Spektren stimmt weitgehend überein. Die im Küvettenpektrum bei 575 nm auftretende Schulter ist im Spektrum des Tropfens innerhalb des Rauschens nicht zu erkennen. Dies könnte daran liegen, dass der Tropfen die gesamte Intensität absorbiert und in Sättigung keine weitere Erhöhung des Signals eintreten kann. Die Wellenlänge konnte nicht direkt gemessen werden. Die Zuordnung zur Wellenlänge wurde nachträglich über die Scangeschwindigkeit berechnet. Auf-

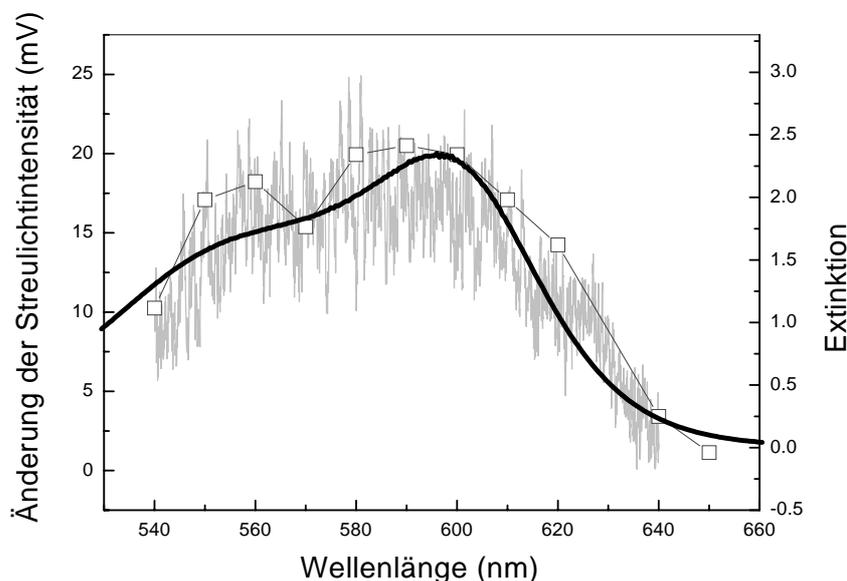


Abbildung 8.4: Änderung der Streulichtintensität in Abhängigkeit von der Wellenlänge. Das Signal wurde mit einem Lock-in Verstärker bezüglich der Frequenz gemessen, mit der der Tropfen von den Laserpulsen getroffen wird. Der Tropfen bestand aus $2.9 \cdot 10^{-4}$ molaren Kristallviolett- Lösung. Als Kästchen dargestellt ist das bei konstanter Wellenlänge gemessene und gemittelte Signal.

grund der Zeitkonstanten d.h. Mittelung der Werte über 1 s, geht ein Teil der wellenlängenabhängigen Information verloren. Der Vergleich der einzelnen Messpunkte mit den Messwerten des Scans zeigt, dass der Verlauf ähnlich ist, so dass der Fehler durch die Mittelung während des Scans gegenüber dem Rauschen des Signals zu vernachlässigen ist. Bei 590 nm beträgt das Signal des Lock-in Verstärkers 3.0 ± 0.5 V. Dieser Wert korrespondiert zu einer periodischen Änderung der Streulichtintensität von 17 ± 3 mV. Entsprechend Abbildung 8.3 lässt sich die Änderung der Resonanzwellenlänge ermitteln. Die Änderung beträgt 0.009 nm und ist damit in etwa 4 mal so hoch wie die Änderung, die bei den Messungen mit dem gechoppten grünen HeNe-Laser bei einer Chopperfrequenz von 4 Hz beobachtet wurde. Die Radiusänderung beträgt bei einem Tropfenradius von $30 \mu\text{m}$ demnach $4 \cdot 10^{-4} \mu\text{m}$, und diese Radiusänderung erfolgt mit 10 Hz. Der Grund für die stärkere Radiusänderung liegt darin, dass die Leistung der Pulse höher ist als die Leistung des Helium-Neon-Lasers, und die Energie innerhalb von 4 ns im Tropfen aufgenommen wird. Entsprechend Abschnitt 4.2 ist die Erwärmung umso stärker, je schneller die Energie vom System aufgenommen wird. Die Tropfenradius betrug in der in Abbildung 8.4 dargestellten Messung $(30 \pm 2) \mu\text{m}$. Bei einer Konzentration von $(2.9 \pm 0.3) \cdot 10^{-4}$ mol/l ergibt sich damit eine Stoffmenge von $(3.3 \pm 1.1) \cdot 10^{-14}$ mol (0.0135 ng)

Kristallviolett im Tropfen . In der Küvette wird ca. 1 cm^3 beleuchtet. Dies entspricht bei einer Konzentration von $1.8 \cdot 10^{-5} \text{ mol/l}$ einer Stoffmenge von $1.8 \cdot 10^{-8} \text{ mol}$ (entsprechend $7 \mu\text{g}$).

Der Nachweis einer Stoffmenge von $\approx 10^{-14} \text{ mol}$ liegt damit in einer Größenordnung, die von Fung et al. [34] als Detektionslimit für die spontane und stimulierte Ramanstreuung in Mikropartikeln angegeben wird. Fung et al. haben die Detektionsgrenzen am Beispiel NaN_3 festgestellt, die für diese Substanz bei 7.7 pg bzw. $9 \cdot 10^{-14} \text{ mol}$ lag.

Die Abhängigkeit des Signals von der Laserleistung ist in Abbildung 8.5 dargestellt. Es besteht ein linearer Zusammenhang.

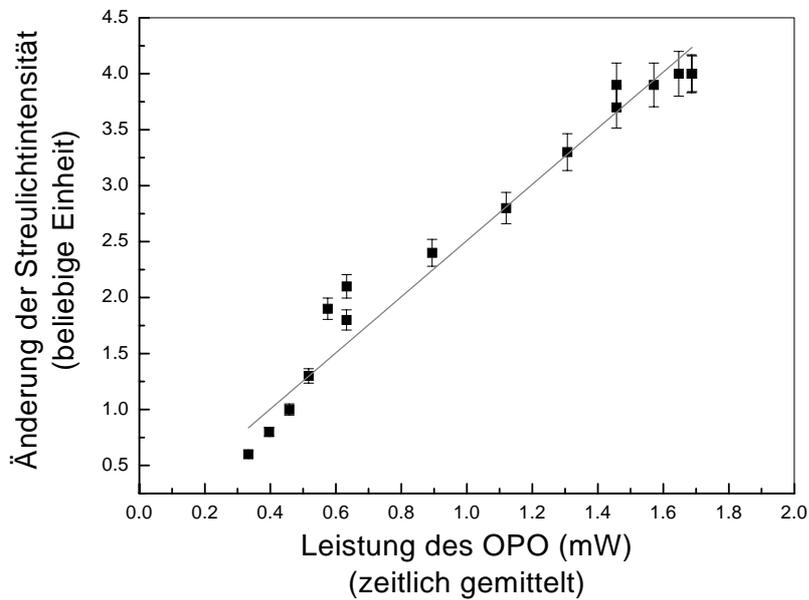


Abbildung 8.5: Die Änderung der Streulichintensität als Funktion der Laserleistung. Die Messdaten können durch einen lineare Funktion angepasst werden.