

## Optik

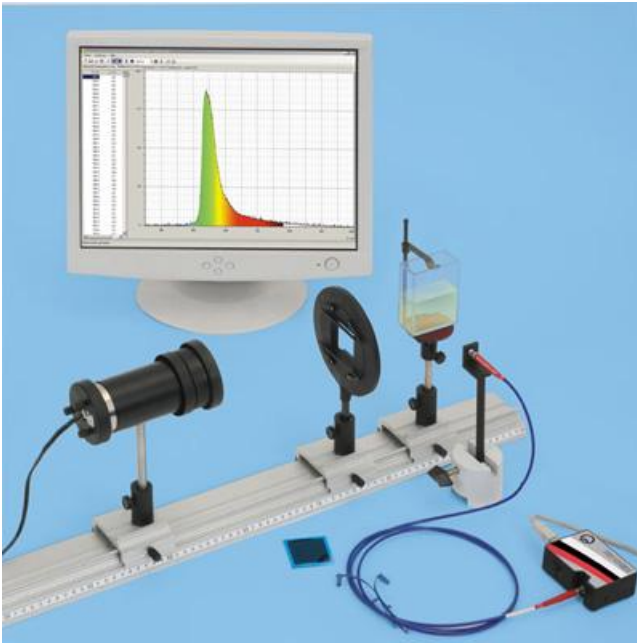
Dispersion, Farbenlehre  
*Absorptionsspektren*

Absorptions- und  
Fluoreszenzspektren  
farbiger Flüssigkeiten -  
Aufzeichnung und  
Auswertung mit einem  
Spektralspektrometer

### **Beschreibung aus SpectraLab (467 250)**

Zum Laden von Beispielen  
bitte die SpectraLab-Hilfe verwenden.

## Transmissions- und Fluoreszenzspektren farbiger Flüssigkeiten



### Versuchsbeschreibung

Im Versuch wird das Fluoreszenz-Verhalten durch Aufnahme des Transmissionsspektrums bei Absorption und des Emissionsspektrum bei Streuung untersucht. Dazu wird das emittierte Licht der mit Fluorescein eingefärbten Flüssigkeit unter einem rechten Winkel beobachtet. Ein Blaufilter wird verwendet, um die Fluoreszenz von einer Lichtstreuung zu unterscheiden.

### Benötigte Geräte

1	Kompakt-Spektrometer, Physik	467 251
1	Faserhalter	460 251
1	Lampengehäuse mit Kabel	450 60
1	Glühlampe 6 V/30 W, E14, Satz 2	450 511
1	Kondensator mit Blendenhalter	460 20
1	Transformator 6/12 V	521 210
1	Halter mit Federklemmen	460 22
1	Lichtfilter, blau-violett	468 11
1	Spiegelglaskasten (Küvette)	477 14
1	Prismenstisch	460 25
1	Fluorescein, 25 g	672 0110
1	Mikro-Doppelspatel	604 5672
1	Optische Bank, S1-Profil, 1 m	460 310
4	Optikreiter mit Muffe	460 311
1	Socket	300 11
1	PC mit Windows 2000/XP/Vista/7/8	

### Versuchsaufbau (siehe Bild)

Lampe in das Lampengehäuse einsetzen, aber noch nicht an den 6-V-Ausgang des Transformators anschließen. Spiegelglaskasten mit Wasser füllen und das Wasser mit einer sehr kleinen Menge Fluorescein einfärben. Dazu Spatelspitze in Fluorescein-Pulver eintauchen und den anhaftenden Rest abklopfen.

Zunächst weder das Lichtfilter in den Halter mit Federklemmen einsetzen noch den Spiegelglaskasten auf den Prismenstisch stellen.

### Versuchsdurchführung

#### Aufnahme des Transmissionsspektrums

- Mit  neue Messung beginnen.
- Darstellung **Intensität I1** wählen.

- Mit ► die Messung starten.
- Lampe an den 6-V-Ausgang des Transformators anschließen und im Gehäuse so verschieben, dass die Lichtleitfaser gut beleuchtet wird.
- Ausrichtung der Lichtleitfaser anpassen, so dass die Intensität maximal wird. Gegebenenfalls Integrationszeit direkt oder mit ◀ oder ▶ so anpassen, dass die maximale Intensität zwischen 75 % und 100 % liegt. Integrationszeit im Weiteren nicht mehr verändern.
- Lampe zur Aufnahme des Untergrundspektrums wieder ausschalten.
- Darstellung **Offset I0** öffnen.
- Das angezeigte Spektrum wird bei weiteren Messungen als Untergrundspektrum abgezogen.
- Zur Darstellung **Referenz I2** wechseln.
- Lampe wieder an den 6-V-Ausgang des Transformators anschließen.
- Das angezeigte Spektrum dient für die folgenden Messung als Referenzspektrum. Referenzmessung mit ■ anhalten.
- Spiegelglaskasten auf den Prisentisch stellen.
- In der Darstellung **Intensität I1** ist das Spektrum nach Durchgang des Lichts durch die Flüssigkeit zu sehen. In Grau wird zusätzlich das Referenzspektrum angezeigt.
- Für die Darstellung **Transmission T** wird das Verhältnis des Spektrums mit Flüssigkeit zur Referenzkurve berechnet und angezeigt.
- Für die Darstellung **Extinktion E** wird die Extinktion (optische Dichte) berechnet und angezeigt.
- Mit ● kann das Transmissionsspektrum gleichzeitig für alle Darstellungen abgespeichert werden.

#### Aufnahme des Emissionsspektrums

- Faserhalter so hinstellen, dass die Lichtleitfaser senkrecht von der Seite auf den Spiegelglaskasten ausgerichtet ist. Dazu ggf. den Brennpunkt des Strahlenganges durch Verschieben des Lampengehäuses in die Ebene des Spiegelglaskastens legen, so dass das Fluorescein deutlich aufleuchtet. Die Lichtleitfaser auf einen möglichst hellen Bereich ausrichten.
- Spektrum in der Darstellung **Intensität I1** betrachten. Dazu Integrationszeit mit ▶ so vergrößern, dass das Spektrum gut sichtbar ist.

#### Aufnahme des Transmissionsspektrums mit Lichtfilter

- Faserhalter wieder in den direkten Strahlengang stellen.
- Blau-violettes Lichtfilter in den Strahlengang bringen.
- Zur Darstellung **Referenz I2** wechseln und mit ► die Referenzmessung starten. Gegebenenfalls Integrationszeit direkt oder mit ◀ oder ▶ so anpassen, dass die maximale Intensität zwischen 75 % und 100 % liegt. Integrationszeit im Weiteren nicht mehr verändern.
- Das angezeigte Spektrum dient für die folgenden Messung als Referenzspektrum. Referenzmessung mit ■ anhalten.
- Spiegelglaskasten auf den Prisentisch stellen.
- In der Darstellung **Intensität I1** ist das Spektrum nach Durchgang des Lichts durch die Flüssigkeit zu sehen. In Grau wird zusätzlich das Referenzspektrum angezeigt.

### Auswertung

Im Transmissionsspektrum des mit Fluorescein gefüllten Spiegelglaskastens zeigt sich ein Minimum bei ca. 490 nm. Ggf. die Absorption durch Verdünnung des Fluoresceins oder durch Verkürzung des Lichtweges durch Drehen des Spiegelglaskastens verringern.

Im Emissionsspektrum des zur Seite abgestrahlten Lichtes zeigt sich ein deutlicher Peak im grünen Bereich mit einem Maximum bei 520 nm.

Im Spektrum der Lampe mit eingesetztem blau-violetten Filter in der **Darstellung I2** zeigt sich ein deutlicher Peak mit einem Maximum bei ca. 460 nm. Im Spektrum des Lichts hinter dem mit Fluorescein gefüllten Spiegelglaskasten in der **Darstellung I1** zeigt sich eine starke Absorption des blau-violetten Peaks bei gleichzeitiger Zunahme der Intensität im grünen Bereich, die z.B. durch Ziehen mit der Maus an der y-Achse verdeutlicht werden kann.

Fluorescein wird mit blauem Licht angeregt (Literaturwert des Absorptionsmaximums: 485 nm bei pH 9) und emittiert anschließend grünes Licht (520 bis 530 nm).

### Hinweise

Es wäre physikalisch exakter, wenn die Referenzspektren zunächst jeweils mit dem wassergefüllten Spiegelglaskasten (ohne Fluorescein) aufgenommen werden.

Ein abgedunkelter Raum minimiert die Fluoreszenz, die vom Umgebungslicht hervorgerufen wird.

Absorptionsspektren und Transmissionsspektren sind äquivalent:  $T = 1 - A$ . Dort, wo ein Transmissionsspektrum sein Minimum hat, hat das Absorptionsspektrum sein Maximum.

In den Darstellungen **Transmission** und **Extinktion** werden nur Bereiche ausgewertet, in denen die Intensität der Referenzkurve mindestens 2 % beträgt.

Zur Reduzierung der Rauschens können mit  $\Sigma$  mehrere Einzelspektren gemittelt werden (auch Offset und Referenz). Alternativ kann in den Einstellungen [Glättung auf 1 nm Auflösung](#) eingestellt werden.