

Ramanspektroskopische  
und  
elektrophoretische  
Untersuchungen  
an wäßrigen  
Sulfat- und Nitratlösungen

Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades  
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen-Fakultät  
der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

vorgelegt von  
Carsten Green  
Kiel, 2001

Referent/in: .....  
Korreferent/in: .....  
Tag der mündlichen Prüfung: .....  
Zum Druck genehmigt: Kiel, .....

*Meinen Eltern ...*

*Die Wissenschaft kann die letzten Rätsel der Natur nicht lösen.  
Und das ist so, weil wir letztlich selbst ein Teil des Rätsels sind, das wir zu lösen versuchen.*

Max Planck (\* 23 April 1858 in Kiel, † 3 Oktober 1947 in Göttingen)



# Inhaltsverzeichnis

<b><i>Inhaltsverzeichnis</i></b> .....	<b><i>I</i></b>
<b><i>1 Einleitung</i></b> .....	<b><i>1</i></b>
<b><i>2 Theorie</i></b> .....	<b><i>5</i></b>
<b>2.1 Theorie der Ramanstreuung</b> .....	<b>5</b>
2.1.1 Klassische Wellentheorie der Streustrahlung .....	6
2.1.2 Quantenmechanische Streutheorien .....	9
2.1.3 Allgemeine Anmerkungen zu den Streutheorien .....	12
<b>2.2 Theorie der Kapillarelektrophorese</b> .....	<b>24</b>
2.2.1 Elektrophoretische Wanderung .....	25
2.2.2 Einfluß der Temperatur .....	27
2.2.3 Elektroosmotischer Fluß .....	28
2.2.4 Gestalt der Ionenbanden.....	31
<b><i>3 Meßaufbau</i></b> .....	<b><i>35</i></b>
<b>3.1 Ramansystem</b> .....	<b>35</b>
3.1.1 Laser des Ramansystems .....	35
3.1.2 Spektrometer des Ramansystems .....	38
<b>3.2 Optische Versuchsanordnungen</b> .....	<b>41</b>
3.2.1 Optische Anordnungen ohne Kapillare .....	41
3.2.2 Optische Anordnungen an den Kapillaren .....	44
<b>3.3 Elektrische Versuchsanordnung</b> .....	<b>46</b>
<b>3.4 Meßwerterfassung</b> .....	<b>48</b>
3.4.1 Software für zeitunabhängige Messungen .....	49
3.4.2 Software für zeitabhängige Messungen .....	50
<b><i>4 Messungen</i></b> .....	<b><i>51</i></b>
<b>4.1 Untersuchungen mit verschiedenen optischen Anordnungen</b> .....	<b>51</b>
4.1.1 Sonde des Ramansystems .....	53
4.1.2 Separate optische Anordnungen.....	59
4.1.3 Optische Anordnung mit Strahlteiler .....	63
4.1.4 Optische Anordnung mit Kugellinsen.....	63

---

<b>4.2 Messungen mit elektrischem Feld in der Kapillare.....</b>	<b>66</b>
4.2.1 Verfahren der Probeaufgabe .....	66
4.2.2 Untersuchungen der Kapillare .....	74
4.2.3 Nachweisgrenzen der 75 µm Kapillare.....	83
4.2.4 Nitrat/Sulfat-Gemische .....	87
<b>5 Diskussion.....</b>	<b>93</b>
<b>5.1 Apparative Parameter.....</b>	<b>93</b>
<b>5.2 Gestalt der Ramanlinien .....</b>	<b>94</b>
<b>5.3 Toleranz der Messungen.....</b>	<b>96</b>
5.3.1 Varianz der Messungen an den optischen Anordnungen.....	96
5.3.2 Varianz der Messungen zur elektrophoretischen Wanderung .....	99
<b>5.4 Nachweisgrenzen .....</b>	<b>101</b>
5.4.1 Ohne elektrisches Feld.....	101
5.4.2 Mit elektrischem Feld.....	101
<b>6 Zusammenfassung und Ausblick.....</b>	<b>103</b>
<b>Anhang.....</b>	<b>107</b>
<b>A Statistische Überlegungen.....</b>	<b>107</b>
A.1.1 Lorentz-Verteilungen.....	108
A.1.2 Gauß-Verteilungen.....	109
A.1.3 Anpassungstest .....	111
<b>Literaturverzeichnis.....</b>	<b>112</b>

## 1 Einleitung

In den letzten Jahrzehnten ist ein zunehmendes Interesse an der Erfassung verschiedenster Umweltparameter zu beobachten. Ausgangspunkt diesen Interesses sind nicht allein umweltbewußte Wissenschaftler unterschiedlicher Disziplinen - ebenso werden Industrie und Kommunen durch das gestiegene Umweltbewußtsein der Bevölkerung in die Pflicht genommen. Sie sind dazu aufgefordert, ihre Einrichtungen, wie zum Beispiel Kläranlagen und Abwassereinleitungen, durch geeignete Meßeinrichtungen zu überprüfen und zu überwachen. Ferner forderte das bekannte Phänomen „El Niño“, dessen plötzliches Erscheinen verheerende ökologische, und daraus resultierend auch ökonomische Folgen nach sich ziehen kann, die Wissenschaft auf, die Qualität ihrer meteorologischen und ozeanographischen Langzeitvorhersagen zu steigern. Eine Verbesserung setzt allerdings eine Verfeinerung der von den Ozeanographen genutzten Modelle voraus. Um diese Modelle besser evaluieren zu können, ist in erster Linie eine höhere Anzahl ozeanographischer Größen zu bestimmen, die zum einen als Randparameter der Modelle dienen, zum anderen aber auch zur Evaluierung der Modelle selbst genutzt werden können. Während die automatisierte Bestimmung chemisch-physikalischer Größen in Luft oder gasförmigen Medien generell geringe Probleme bereitet, ist eine Erfassung im Wasser, bzw. in flüssigen Medien in der Regel mit Schwierigkeiten behaftet. Diese reichen von einfachen Problemen, wie zum Beispiel einer geringen Standzeit der Sensorik, bis zu einer mangelhaften Reproduzierbarkeit der Meßergebnisse. Betrachtet man den heutigen Stand der Meeresmeßtechnik, so gibt es zwar physikalische Größen wie Temperatur oder Leitfähigkeit, die schnell und mit hoher Genauigkeit bestimmt werden können, auf der anderen Seite finden sich aber auch Parameter, wie beispielsweise der Nitrat- oder Sulfatgehalt einer Wasserprobe, deren Nachweis sich schwieriger gestaltet. Während Sulfat in einer natürlichen Wasserprobe noch mit einer Konzentration von  $3700 \text{ mg/l}$  vorkommt<sup>1</sup>, weist Nitrat mit  $0 \text{ mg/l}$  bis  $8 \text{ mg/l}$  eine deutlich geringere Konzentration auf. Auch Trinkwasser muß auf seine ionale Zusammensetzung untersucht werden. Die nach der deutschen Trinkwasserverordnung erlaubten Grenzen liegen für die Anionen Nitrat und Sulfat bei  $50 \text{ mg/l}$  bzw.  $240 \text{ mg/l}$ . Aber gerade die Nitratkonzentration kann um Größenordnungen ansteigen, wenn zum Beispiel durch landwirtschaftliche Überdüngung und anschließende Ausspülung mit dem Regenwasser Nitrat in das Grundwasser gelangt.

---

<sup>1</sup> Die Konzentration entspricht der in der DIN EN ISO 10253 festgelegten Konzentration für  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  in künstlichen Meerwasser

Die Bestimmung mit einer hohen Genauigkeit kann heutzutage nur mit sehr hohem instrumentellen und zeitlichen Aufwand erfolgen. Automatisierte Meßapparate für diese Parameter sind zum einen sehr kostenintensiv, zum anderen beanspruchen sie für eine einzelne Messung sehr viel Zeit. Nicht selten liegen die minimalen Meßintervalle im Bereich von 15-20 Minuten.

Als Beispiel soll an dieser Stelle eine industrielle Abwasserleitung dienen. Bei der Überwachung der Abwassereinleitung ist unter anderem eine schnelle Messung der Zusammensetzung des Abwassers und der Konzentration bestimmter Ionen, wie Nitrat und Sulfat, von Bedeutung. Hier werden zur Überwachung üblicherweise Meßsysteme auf Basis von Einwegelektroden eingesetzt. Diese haben in der Regel zwar nicht die Auflösung der in der Ozeanographie verwendeten Analyseautomaten, zeichnen sich jedoch durch die Erreichbarkeit kurzer Meßzyklen aus. Der Nachteil der Einwegelektroden besteht in ihrer direkten Einbringung in zum Teil stark verschmutzte Wasserleitungen, was sich zum einen auf die Standzeit ausübt, zum anderen aber auch zu starken Querempfindlichkeiten und somit zu fehlerhaften Messungen führen kann. Man erkennt, daß in der Analyse von Wasserproben im Fall von Nitrat und Sulfat bezüglich der Nachweisgrenze ein breites Spektrum abzudecken ist. Je nach Einsatzgebiet variieren sowohl die geforderten Empfindlichkeiten und Genauigkeiten, wie auch die zeitliche Auflösung der Messungen. Dieses führt unmittelbar zum Gegenstand dieser Arbeit - der Untersuchung weiterer Möglichkeiten der Nitrat- und Sulfatbestimmung in wäßrigen Lösungen. Hierbei erscheint die Ramanstreuung als aussichtsreiche Alternative. Bei der Ramanstreuung handelt es sich um die stoffspezifische inelastische Streuung von Photonen an bestimmten Molekülen, die auch bei der Streuung an Nitrat- und Sulfatmolekülen auftritt. Der Effekt der Ramanstreuung wurde 1928 von Raman und Krishnan [1] bei Untersuchungen zur Lichtstreuung an Flüssigkeiten entdeckt<sup>2</sup>. Bis dahin war nur bekannt, daß Licht in einer Flüssigkeit elastisch gestreut wird, obwohl Lommel [3] in der zweiten Hälfte des 19. Jahrhunderts neben der Streuung mit unverschobener Frequenz das Vorhandensein einer inelastischen Streuung vorhergesagt und mit klassischen Mitteln berechnet hat. Ebenso hat Smekal [4] schon 1923 auf die Möglichkeit hingewiesen, daß im Streuspektrum auch verschobene Linien auftreten, wobei er bei seinen Berechnungen schon von der Vorstellung ausging, Licht als Quanten zu betrachten.

---

<sup>2</sup> Direkt nach der entscheidenden Veröffentlichung Ramans haben die russischen Physiker Landsberg und Mandelstam über denselben Effekt bei der Lichtstreuung an Kristallen berichtet [2].

Schließlich hat Dirac [5] bereits ein Jahr vor der experimentellen Entdeckung die wohl bis heute konsequenteste quantenmechanische Theorie für Streustrahlung vorgestellt [6], die das Auftreten der inelastischen Ramanstreuung einschließt. Um die Bedeutung der Entdeckung dieser inelastischen Streuung zu würdigen, erhielt C.V. Raman 1930 den Nobelpreis in Physik. Da die Ramanstreuung von wäßrigen Nitrat- und Sulfatproben nur eine sehr geringe Intensität hat, wird zum einen eine Ausgangsstrahlung von sehr hoher Leistung benötigt, zum anderen muß der Detektor der Streustrahlung in Form eines Spektrometers eine sehr hohe Empfindlichkeit aufweisen. In gängigen Ramansystemen dient ein Laser in den unterschiedlichen auf die Meßaufgabe abgestimmten Wellenlängen als Anregungsquelle. Der Detektor besteht generell aus einer Kombination zwischen einem Spektrographen und einem lichtempfindlichen Halbleiterelement, zum Beispiel in Form eines CCD-Arrays.

Auch für die Untersuchungen dieser Arbeit wurde ein Ramansystem bestehend aus diesen Komponenten verwendet. Bei der Auswahl des Ramansystems wurde noch auf einen weiteren Punkt Rücksicht genommen. Herkömmliche Geräte zeichnen sich neben ihren Komponenten in der Regel durch einen sehr hohen Preis aus. Für die vorliegende Arbeit wurde ein kompaktes System verwendet, das ebenfalls aus einem Laser und einem Spektrometer bestand, preislich jedoch nur bei etwa 20% der übrigen auf dem Markt befindlichen Geräte lag. Es galt somit, das Gerät zu qualifizieren und die Güte der Aussagen zu evaluieren, die mit einem solchen „Low-Cost“ System getroffen werden können.

Ein weiterer essentieller Gegenstand dieser Arbeit war die Verbesserung der Auflösung, bzw. die Erhöhung der Nachweisempfindlichkeit der Meßanordnung. Hierzu wurde das relativ junge Gebiet der Kapillarelektrophorese in die Meßaufgabe integriert. Die Kapillarelektrophorese spielt seit Ende der 70er Jahre des zwanzigsten Jahrhunderts eine zunehmend größere Rolle. Mikkers [41] und Jorgenson [42] veröffentlichten 1979 bzw. 1981 erstmalig Artikel über die Wanderung von Ionen in engen Glaskapillaren unter Einfluß eines äußeren elektrischen Feldes. Diese Wanderung wird durch das Gebiet Kapillarelektrophorese beschrieben. Ionen werden durch ein elektrisches Feld zu einer Wanderung innerhalb der Kapillare gezwungen. Durch die ionenabhängigen Beweglichkeiten ist es möglich, die einzelnen Ionen einer Probe aufzutrennen und ihre zeitabhängige Migration an einem geeigneten Detektor zu bestimmen. Die ersten Detektoren bestimmten die Leitfähigkeit der Probe in Abhängigkeit der Zeit und ließen hierüber Rückschlüsse auf die Konzentration der einzelnen Ionen zu.

Mit den technischen Neuerungen in der Kapillarherstellung und der Verkleinerung der Innendurchmesser der Kapillare wurde auch die Detektionsmethodik verbessert. Zum einen wurden die Nachweisgrenzen deutlich verringert, zum anderen fanden aber auch neue Detektionsarten Verwendung, wie zum Beispiel die Erfassung mit Hilfe der UV-Absorption. Die Ramanstreuung der Probe bildet eine weitere Detektionsmöglichkeit für eine kapillarelektrophoretische Meßanordnung, wie sie in der vorliegenden Arbeit realisiert wurde. Zusammengefaßt läßt sich die Aufgabe in wenigen Sätzen beschreiben: Zunächst war ein „Low-Cost“ Ramansystem zu qualifizieren und zu untersuchen, welche Nachweisempfindlichkeiten für wäßrige Nitrat- und Sulfatproben mit diesem erreichbar sind. Hierzu mußte zusätzlich eine entsprechende optische Anordnung entworfen werden. Anschließend war der elektrophoretische Teil des Aufbaus zu realisieren und mit dem optischen Teil der Ramanspektroskopie zu kombinieren. Somit konnten Experimente zur Bestimmung der Nachweisgrenze für wäßrige Nitrat- und Sulfatlösungen durchgeführt werden. Außerdem wurde untersucht, wie sich eine Erhöhung der Nachweisempfindlichkeit auf die Dauer eines Meßzyklus auswirkt. Somit konnte ein einfacher Vergleich der Meßgenauigkeit, der Meßdauer und des Meßfehlers geschehen. Mit diesen drei Größen und der Überlegung, ob sich das Meßprinzip und sein Aufbau automatisieren lassen, ließ sich dann eine Abschätzung durchführen, inwieweit sich das Meßsystem in situ einsetzen läßt.

## 2 Theorie

Ramanstreuung an festen Körpern, Flüssigkeiten oder Gasen ist ein physikalisches Phänomen, bei dem es sich um eine stoffspezifische inelastische Streuung handelt. Die Stärke der Streustrahlung steht in direktem Zusammenhang mit der Konzentration des streuenden Stoffes und kann somit eine quantitative Aussage über Konzentrationsverhältnisse von Stoffgemischen liefern. Im ersten Abschnitt der theoretischen Betrachtungen soll auf die grundlegenden Zusammenhänge der Ramanstreuung eingegangen werden, sowohl klassisch, wie auch quantenmechanisch. Es wird gezeigt, warum nicht bei allen Stoffen Ramanstreuung auftritt, bzw. welche Gestalt die Spektrallinien der Ramanstreuung haben. Ist ein Stoff ramanaktiv, so wird erklärt, wie sich die zu erwartende Energiedifferenz zwischen Erregerstrahlung und Streustrahlung ergibt.

Im zweiten Abschnitt wird auf die Theorie der Kapillarelektrophorese eingegangen. Hier wird dargestellt, was das Anlegen eines elektrischen Feldes in elektrolytgefüllten Kapillaren bewirkt. Ferner wird gezeigt, wie sich Änderungen der geometrischen Parameter, wie Durchmesser und Länge der Kapillare, oder auch die Stärke des elektrischen Feldes auswirken.

### 2.1 Theorie der Ramanstreuung

Ramanstreuung resultiert aus einer Wechselwirkung zwischen elektromagnetischer Strahlung und Materie, die sowohl eine elastische (Rayleighstreuung), als auch eine inelastische Streuung (Ramanstreuung) erzeugt. An dieser Stelle sei erwähnt, daß in dieser Theorie nur auf die spontane Ramanstreuung, also die spontane Emission von Lichtquanten, eingegangen wird. Etwaige andere, mit dem Ramaneffekt verbundene Phänomene, wie etwa der Bereich der Stimulierten-Ramanstreuung (SRS), sollen nicht betrachtet werden, da sie für die vorliegende Arbeit nicht von Bedeutung sind.

Bei den folgenden theoretischen Betrachtungen werden zwei verschiedene Wege eingeschlagen. Zum einen die Betrachtung mit klassischen Mitteln, die sehr schnell die Erscheinung der bei der elastischen Streuung verschobenen Frequenzen erklärt, zum anderen aber auch die quantenmechanische, welche eine bessere Möglichkeit für eine umfassendere und exaktere Beschreibung bietet.

Abschließend wird in diesem Kapitel ohne umfangreiche theoretische Herleitung auf verschiedene praktische Aspekte eingegangen. Diese betreffen das Aussehen der Streustrahlung bezüglich der Streufrequenz und Intensität ebenso, wie einige allgemeine Überlegungen bezüglich der Streuung von Strahlung in flüssigen Medien.

### 2.1.1 Klassische Wellentheorie der Streustrahlung

Die klassische Betrachtung hat die Wechselwirkung des Moleküls eines Stoffes mit der Erregerstrahlung als Ausgangspunkt. Betrachtet man die Erregerstrahlung als elektromagnetische Welle, so induziert diese mit ihrem elektrischen Feld  $\vec{E}$  im Molekül ein Dipolmoment  $\vec{\mu}$  der Größe:

$$\vec{\mu}_{ind} = \alpha \vec{E} \quad (1)$$

Hierbei wird der Faktor  $\alpha$  die Polarisierbarkeit des Moleküls genannt, welcher in der klassischen Polarisierbarkeitstheorie eine phänomenologische Größe darstellt [7]. Allgemein ist er abhängig von der Richtung der Erregerstrahlung (vgl. 2.1.3.a). Betrachtet man ein molekülfestes, rechtwinkliges, kartesisches Koordinatensystem, so lassen sich die Vektoren aus (1) zerlegen in:

$$\begin{pmatrix} \mu_{ind_x} \\ \mu_{ind_y} \\ \mu_{ind_z} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \alpha_{xx} & \alpha_{xy} & \alpha_{xz} \\ \alpha_{yx} & \alpha_{yy} & \alpha_{yz} \\ \alpha_{zx} & \alpha_{zy} & \alpha_{zz} \end{pmatrix} \cdot \begin{pmatrix} E_x \\ E_y \\ E_z \end{pmatrix} \quad (2)$$

Der Polarisierbarkeitstensor  $\underline{\alpha}$  in (2), der durch die Koordinaten  $\alpha_{ij}$  ( $i, j \in \{x, y, z\}$ ) gebildet wird, ist symmetrisch, also  $\alpha_{ij} = \alpha_{ji}$ . Somit besitzt der Tensor sechs mögliche Komponenten  $\alpha_{xx}, \alpha_{yy}, \alpha_{zz}, \alpha_{xy}, \alpha_{xz}, \alpha_{yz}$ . Befindet sich das Molekül in einer Schwingungs- oder Rotationsbewegung, so ändern sich durch die Kernbewegungen auch die Polarisierbarkeiten, also auch die Koordinaten des Polarisierbarkeitstensors. Stellvertretend für die anderen soll die Änderung der Koordinate  $\alpha_{xx}$  betrachtet werden. Seien  $q_i$  die Ortskoordinaten, welche die Schwingung des Moleküls beschreiben. Durch die Abhängigkeit der Polarisierbarkeit von der Kernbewegung wird  $\alpha_{xx}$  zur Funktion von  $q_i$ , also  $\alpha_{xx}(q_i)$ . Möge die Schwingung des Moleküls harmonisch sein und der Beziehung  $q_i = q_{i_0} \cos(\omega_i t)$ , mit  $\omega_i = 2\pi\nu_i$  gehorchen, wobei  $\nu_i$  die Frequenzen der Eigenschwingungen des Moleküls sind.

Ausgehend von der Gleichgewichtslage  $q_i = 0$  kann man für kleine  $q_i$  die Polarisierbarkeit  $\alpha_{xx}$  um eben diese Gleichgewichtslage in eine Taylorreihe entwickeln.

Nach Taylor gilt dann:

$$\alpha_{xx}(q_i) = \alpha_{xx_0} + \left( \frac{\partial \alpha_{xx}}{\partial q_i} \right)_{t=0} q_i + \frac{1}{2} \left( \frac{\partial^2 \alpha_{xx}}{\partial q_i^2} \right)_{t=0} q_i^2 + \dots \quad (3)$$

Angenommen, das durch die Strahlung hervorgerufene elektrische Feld ändere sich harmonisch mit der Frequenz  $\nu$ , bzw. mit  $\omega = 2\pi\nu$ , und habe die Ausgangsstärken  $E_{x_0}$ ,  $E_{y_0}$  und  $E_{z_0}$ .

Dann gelten für die Komponenten  $E_x$ ,  $E_y$  und  $E_z$  die Zusammenhänge:

$$E_x = E_{x_0} \cos(\omega t) \quad (4a)$$

$$E_y = E_{y_0} \cos(\omega t) \quad (4b)$$

$$E_z = E_{z_0} \cos(\omega t) \quad (4c)$$

Für die folgende Betrachtung soll die Taylorreihe nach dem ersten Glied abbrechen. Entwickelt man unter dieser Voraussetzung (3), sowie  $\alpha_{xy}$  und  $\alpha_{xz}$  analog (3) bis zum ersten Glied nach Taylor und setzt diese mit den elektrischen Feldern aus (4) in Gleichung (2) ein, so ergibt sich für die Eigenschwingung  $q_i = q_{i_0} \cos(\omega_i t)$  für die x-Koordinate des Dipolmoments  $\mu_{ind_x}$  folgender Zusammenhang:

$$\begin{aligned} \mu_{ind_x} = & \left[ \alpha_{xx_0} E_{x_0} + \alpha_{xy_0} E_{y_0} + \alpha_{xz_0} E_{z_0} \right] \cdot \cos(\omega t) \\ & + \left[ \left( \frac{\partial \alpha_{xx}}{\partial q_i} \right)_{t=0} E_{x_0} + \left( \frac{\partial \alpha_{xy}}{\partial q_i} \right)_{t=0} E_{y_0} + \left( \frac{\partial \alpha_{xz}}{\partial q_i} \right)_{t=0} E_{z_0} \right] \cdot q_{i_0} \cdot \cos(\omega t) \cdot \cos(\omega_i t) \end{aligned} \quad (5)$$

Wendet man auf (5) das Additionstheorem  $2 \cdot \cos x \cdot \cos y = \cos(x + y) + \cos(x - y)$  an, so erhält man:

$$\begin{aligned} \mu_{ind_x} = & \left[ \alpha_{xx_0} E_{x_0} + \alpha_{xy_0} E_{y_0} + \alpha_{xz_0} E_{z_0} \right] \cdot \cos(\omega t) \\ & + \frac{1}{2} \left[ \left( \frac{\partial \alpha_{xx}}{\partial q_i} \right)_{t=0} E_{x_0} + \left( \frac{\partial \alpha_{xy}}{\partial q_i} \right)_{t=0} E_{y_0} + \left( \frac{\partial \alpha_{xz}}{\partial q_i} \right)_{t=0} E_{z_0} \right] \cdot q_{i_0} \cdot \cos[(\omega + \omega_i) \cdot t] \\ & + \frac{1}{2} \left[ \left( \frac{\partial \alpha_{xx}}{\partial q_i} \right)_{t=0} E_{x_0} + \left( \frac{\partial \alpha_{xy}}{\partial q_i} \right)_{t=0} E_{y_0} + \left( \frac{\partial \alpha_{xz}}{\partial q_i} \right)_{t=0} E_{z_0} \right] \cdot q_{i_0} \cdot \cos[(\omega - \omega_i) \cdot t] \end{aligned} \quad (6)$$

Entsprechende Ausdrücke lassen sich für die Dipolmomente  $\mu_{ind_y}$  und  $\mu_{ind_z}$  herleiten. Man erkennt deutlich aus (6), daß sich das Dipolmoment mit  $\omega$ ,  $\omega + \omega_i$  und  $\omega - \omega_i$  ändert. Die ursprüngliche Frequenz  $\omega$  ist Ursache der Rayleighstreuung, während die verschobenen Frequenzen auf die Ramanstreuung deuten. Im Fall einer höherentwickelten Taylorreihe kämen weitere verschobene Frequenzen hinzu. Die Ramanstreuung erscheint im Spektrum also sowohl mit energiereicheren ( $\omega + \omega_i$ ) Frequenzen, der sogenannten Antistokesschen Streuung, als auch der energieärmeren ( $\omega - \omega_i$ ) Stokesschen Streuung.

Die Intensität der Antistokesschen Linien ist im allgemeinen geringer, da ihr Erscheinen voraussetzt, daß sich das Molekül bereits in einem energetisch höheren Schwingungs- oder Rotationszustand befindet, in der Regel die Schwingungszustände bei Zimmertemperatur aber kaum angeregt sind. Im klassischen Sinn entstehen die Linien der Ramanstreuung also dadurch, daß die einstrahlende Welle dem streuenden Molekül Energie entnimmt oder Energie an das Molekül abgibt, wobei die Energiebeträge denen der Eigenschwingungen oder Eigenrotationen entsprechen. Weiterhin läßt sich schon durch die klassische Betrachtungsweise deutlich erkennen, daß ein Kriterium für die Existenz von Ramanlinien die Änderung der Polarisierbarkeit während einer Schwingung ist; mathematisch läßt sich dieser Zusammenhang in (6) wiederfinden. Es muß für das Dipolmoment  $\mu_{ind_x}$  gelten:

$$\left( \frac{\partial \alpha_{xx}}{\partial q_i} \right)_{t=0} E_{x_0} \neq 0 \quad \text{oder} \quad \left( \frac{\partial \alpha_{xy}}{\partial q_i} \right)_{t=0} E_{y_0} \neq 0 \quad \text{oder} \quad \left( \frac{\partial \alpha_{xz}}{\partial q_i} \right)_{t=0} E_{z_0} \neq 0$$

Analoge Überlegungen führen zu den Bedingungen für  $\mu_{ind_y}$  und  $\mu_{ind_z}$ . Anhand der obigen klassischen Betrachtungen, sollte gezeigt werden, daß der Effekt der Ramanstreuung schon mit einfachen mathematisch-physikalischen Mitteln erklärt und hergeleitet werden kann. Der folgende Abschnitt zeigt eine Übersicht über quantenmechanische Theorien, welche die Grenzen der klassischen Betrachtungsweise hinter sich lassen.

### 2.1.2 Quantenmechanische Streutheorien

In 2.1.1 wurde gezeigt, daß eine grundsätzliche Erklärung des Ramaneffektes durch klassische Überlegungen bewältigt werden kann. Sobald aber eine verknüpfte Betrachtung von Ramaneffekt und Molekülstruktur von Interesse ist, stößt die klassische Betrachtung an ihre Grenzen; schon die notwendige Erklärung diskreter molekularer Energieniveaus macht dieses deutlich. Es sei angemerkt, daß hier aufgrund des Umfangs und der Komplexität lediglich ein Überblick über die quantenmechanischen Theorien und ihre Ansätze gegeben werden kann.

In der Quantenmechanik gibt es zwei grundsätzliche Vorgehensweisen. Zum einen die korrespondenzmäßige Erklärung der Streustrahlung, bei der die Streustrahlung klassisch, das streuende Molekül aber quantenmechanisch betrachtet wird. Zum anderen hat Dirac [5] bereits 1927 eine vollständige quantenmechanische Theorie zur Erklärung der Streustrahlung dargelegt. Zunächst soll an dieser Stelle kurz auf die korrespondenzmäßige Theorie eingegangen werden.

#### 2.1.2.a Korrespondenzmäßige Theorie der Streustrahlung

Wie erwähnt, wird in dieser Theorie die Streustrahlung klassisch, das streuende Molekül aber quantenmechanisch behandelt. Ein Molekül ist ein System von Teilchen mit definierten kinetischen und potentiellen Energien  $E_{kin}$  bzw.  $E_{pot}$ . Die Summe der Energien ist nach dem Energieansatz konstant, wobei ihr Verhältnis jedoch von den Orts- und Impulskoordinaten  $q_i$  bzw.  $p_i$  aller im Molekül vorhandene Teilchen (symbolisiert durch den Index ‚i‘) abhängt. Ausgedrückt in der Schrödinger-Gleichung, lautet diese:

$$i\hbar \frac{\partial \Psi(q_i, t)}{\partial t} = \hat{H}(q_i, p_i) \cdot \Psi(q_i, t) \quad (7)$$

Hierin ist  $\hat{H}(q_i, p_i)$  der Hamilton-Operator des ungestörten Moleküls, der die Energien in Abhängigkeit der Ortskoordinaten  $q_i$  und der Impulskoordinaten  $p_i$  beschreibt, und keine Zeitabhängigkeit aufweisen möge, da zunächst nur der Anfangszustand bei  $t=0$  betrachtet werden soll.  $\Psi(q_i, t)$  sind die Zustands- bzw. Eigenfunktionen im Schrödinger-Bild, hier in der Ortsdarstellung gewählt, welche die Bewegung der Teilchen im Molekül beschreiben. Sie selbst sind Funktionen, die vom Ort und der Zeit abhängen.

Diese zeitabhängige Schrödinger-Gleichung bildet eine partielle Differentialgleichung, die unter Berücksichtigung definierter Anfangsbedingungen nur bei bestimmten Werten des Hamilton-Operators, bzw. bestimmten Energie-Eigenwerten  $E$  für einen Zustand  $k$  eine Lösung  $\Psi_{un}^k$  hat. Wenn auf das durch (7) beschriebene ungestörte System eine Störung in Form einer elektromagnetischen Welle trifft, also eine Kombination aus elektrischem und magnetischem Feld, so wird zur Lösung des gestörten Systems im Zustand  $k$  folgender Lösungsansatz gewählt [6]:

$$\Psi = \Psi_{un}^k + \Psi_{st}^k \quad (8)$$

Die Lösung besteht somit aus einer Linearkombination der Lösung des ungestörten Systems und dem separierten Störanteil der Wellenfunktion. Auf diese Weise lassen sich Lösungen für die gestörte Schrödinger-Gleichung des Moleküls finden [8]. Bestandteil dieser Lösung ist eine Matrix, welche von den durch die Störung verursachten Dipolmomenten  $\mu_{mn}$  aufgespannt wird<sup>3</sup>. Anhand dieser Dipolmomente lassen sich die verursachten Streufrequenzen berechnen. Geschieht dieses für den Ramaneffekt bei einem Übergang  $m \rightarrow n$ , wird in der korrespondenzmäßigen Theorie die Streustrahlung eines Dipolmoments mit der Kleinschen Vorschrift in Verbindung gebracht [9]. Die Kleinsche Vorschrift trifft mit klassischen Mitteln eine Aussage, wann die inelastische Streuung eines Dipols bei einer bestimmten Erregerstrahlung gleich null ist, oder welche Frequenz die Streustrahlung gegebenenfalls hat. Auch hier gelangt man zu den in 2.1.1 hergeleiteten Ergebnissen für die Stokesschen bzw. Antistokesschen Linien. Nicht nur die Frequenzen, sondern auch die Intensitäten der Streustrahlung werden in der korrespondenzmäßigen Theorie klassisch hergeleitet. Hierzu bedient man sich der Hertzschen Formel, die Intensität und Dipolmoment miteinander verknüpft [6].

### **2.1.2.b Diracsche Theorie der Streustrahlung**

Eine „Schwäche“ der korrespondenzmäßigen Theorie ist die klassische Herleitung der Strahlungsparameter in Abhängigkeit vom Dipolmoment. Dirac hat erstmals gezeigt, daß eine Herleitung auf streng quantenmechanischen Weg geschehen kann. Seine Vorgehensweise ist im

---

<sup>3</sup> Das Dipolmoment  $\mu_{mn}$  kennzeichnet den Übergang  $m \rightarrow n$ .

Ansatz ähnlich der korrespondenzmäßigen Theorie und hat als Basis ebenfalls die Schrödinger-Gleichung.

Der wesentliche Unterschied besteht darin, daß in der Diracschen Theorie von Beginn an auch die Strahlung quantenmechanisch behandelt wird. Die Schrödinger-Gleichung umfaßt bei Dirac nicht nur das Molekül, sondern auch die Strahlung, bzw. die Wechselwirkung. Unter diesen Aspekten lautet die Schrödinger-Gleichung:

$$i \hbar \frac{\partial \Psi}{\partial t} = \left( \hat{H}_{\text{Molekül}} + \hat{H}_{\text{Strahlung}} + \hat{H}_{\text{Wechselw.}} \right) \cdot \Psi \quad (9)$$

Der Hamilton-Operator gliedert sich in drei Teile auf. Zum einen gibt es analog (7) den Hamilton-Operator des Moleküls, zum anderen aber auch den Hamilton-Operator der einfallenden Strahlung. Diese beiden Operatoren würden zur Beschreibung des Systems ausreichen, sofern Strahlung und Molekül nicht miteinander in Wechselwirkung treten. Da aber gerade der Fall der Wechselwirkung, bzw. Störung betrachtet werden soll, muß in der Schrödinger-Gleichung noch ein dritter Operator berücksichtigt werden, der eine Aussage über das Maß der Wechselwirkung zwischen Strahlung und Molekül trifft. Gleichung (9) ist unter definierten Anfangsbedingungen und Voraussetzungen mit den Methoden der Störungsrechnung lösbar. In der ersten Näherung erhält man Ergebnisse, mit denen sich Absorption und Emission von Lichtquanten erklären lassen [6]. Erst in der zweiten Näherung können Aussagen über die Streuprozesse getroffen werden. Wie in 2.1.2.a erhält man auch hier wieder eine Matrix aus Dipolmomenten für die verschiedenen Übergänge. Ob diese Dipolmomente ungleich Null sind, das heißt, ob ein Übergang möglich ist, erklärt sich aus der Theorie anhand von sogenannten Auswahlregeln. Mit diesen Regeln kann man anhand der verschiedenen Quantenzahlen zweier Zustände erkennen, ob ein Übergang möglich ist, und somit zwischen diesen Zuständen Energie aus der einfallenden Strahlung entnommen oder an sie abgegeben werden kann. Die Auswahlregeln für die verschiedenen Übergänge – elektrischer oder magnetischer Dipol-, Quadrupol- oder Multipol-Übergang – und verschiedene Molekültypen differieren [7],[10]. Mit Hilfe der Auswahlregeln lassen sich in der Diracschen Theorie auch ohne die Kleinsche Vorschrift Aussagen über die Existenz der allgemeine Streustrahlung und im speziellen der Stokesschen und Antistokesschen Linien der Ramanstreuung treffen [11]. Zu beachten ist aber, daß die Auswahlregeln bezüglich der Ramanstreuung auch durch eventuelle symmetrische Anordnungen von Kernen gleichen Typs in einem Molekül beeinflusst werden.

Das Kapitel der Molekülsymmetrie umfaßt einige sehr umfassende mathematische Betrachtungen, die in dieser Arbeit nicht dargestellt werden können; deshalb sei hier auf die weiterführende Literatur verwiesen [13], [14], [15].

In der korrespondenzmäßigen Theorie bestand der zweite klassische Eingriff in die quantenmechanische Theorie in der Berechnung der Intensität. In der Diracschen Theorie wird die Intensität quantenmechanisch durch die Betrachtung der Wahrscheinlichkeit eines Überganges berechnet, so daß auch an dieser Stelle klassische Berechnungen wie durch die Hertzschen Formel entfallen.

Dieser Abschnitt sollte lediglich als grober Überblick über die Diracsche Theorie dienen. Deshalb wird an dieser Stelle bewußt darauf verzichtet, auf eine genaue Analyse der Auswahlregeln einzugehen. Es sei nur angemerkt, daß der mathematische Formalismus in der Regel nur eine Annäherung an reale Verhältnisse zuläßt – gerade bei größeren Molekülen, die nicht mehr mit dem reinen harmonischen Oszillator zu berechnen sind [12].

### **2.1.3 Allgemeine Anmerkungen zu den Streutheorien**

In diesem Abschnitt sollen verschiedene Punkte diskutiert werden, die in den vorhergehenden theoretischen Betrachtungen zur Streuung bewußt vernachlässigt wurden, um diese so einfach wie möglich zu halten. Zum einen wird dargestellt, wie der Prozeß der Ramanstreuung anschaulich abläuft, und wie die spektrale Gestalt der Ramanlinien aussieht. Zum anderen soll aber auch noch einmal auf die streuenden Moleküle eingegangen werden sowie auf die Besonderheiten der Ramanstreuung in Flüssigkeiten.

#### **2.1.3.a Intensität der Ramanlinien**

In den obigen Abschnitten wurden grundlegende Betrachtungen angestellt, die Aussagen über die Existenz von Ramanlinien in einem Spektrum lieferten. Dieser Abschnitt soll das streuende Molekül und den Prozeß der Streuung ‚makroskopischer‘ betrachten.

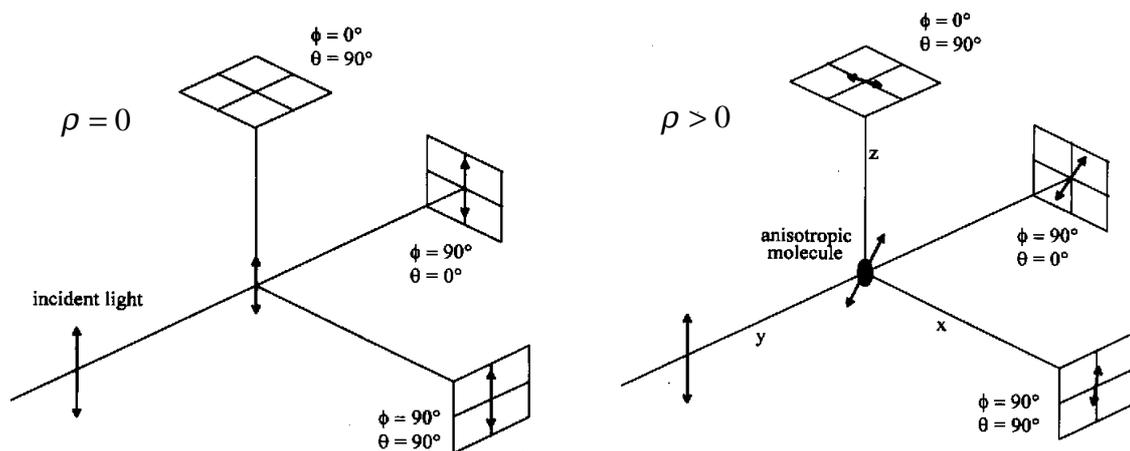
Geht man davon aus, daß das streuende Molekül folgende zwei Eigenschaften hat, nämlich

- das Dipolmoment ist parallel zum elektrischen Störfeld der Erregerstrahlung ausgerichtet,
- die Stärke des Dipolmoments bleibt bei gleicher Stärke des Störfeldes konstant,

so nennt man das Molekül isotrop polarisierbar; sind diese Forderungen nicht erfüllt, so bezeichnet man das Molekül entsprechend als anisotrop.

Im allgemeinen weist ein Molekül eine gewisse Anisotropie auf, so daß beim Prozeß der Streuung die Richtung des Störfeldvektors nicht mit der des induzierten Dipolmoments übereinstimmt.

Im Falle eines isotropen Moleküls läßt sich mit Hilfe mathematischer Methoden berechnen, daß die Streuung eines einfallenden, transversal polarisierten Feldes senkrecht zum Dipolmoment ungleich Null ist, während entsprechende Streustrahlung parallel zu diesem nicht existiert. Bei anisotropen Molekülen ist eine derartige Parallelität nicht gegeben, so daß hier Streustrahlung in allen Ebenen existiert [16]. Abbildung 2-1 veranschaulicht die Streuung an einem isotropen und an einem anisotropen Molekül. Das Verhältnis der Streuintensitäten paralleler ( $I_{Par}$ ) und senkrechter ( $I_{Sen}$ ) Streuung wird als Depolarisationsgrad ( $\rho = \frac{I_{Par}}{I_{Sen}}$ ) bezeichnet.



**Abbildung 2-1:** Polarisierung der Streustrahlung einer transversalen Erregerstrahlung in einem isotropen (*links*) und einem anisotropen Molekül (*rechts*) (aus [16]).

In der Regel muß davon ausgegangen werden, daß Moleküle anisotrop sind (vgl. 2.1.1). Um die Intensität der Streuung zu berechnen, soll noch einmal von Gleichung (1) ausgegangen und der Polarisierbarkeitstensor  $\underline{\alpha}$  in (2) genauer betrachtet werden. Mathematisch betrachtet sind zwar die Elemente  $\alpha_{ij}$  richtungsabhängig, nicht aber die Eigenwerte des Tensors. Aus diesen lassen sich zwei invariante Elemente ableiten. Zum einen der Mittelwert der Eigenwerte, die Hauptpolarisierbarkeit  $\langle \alpha \rangle$ , zum anderen  $\gamma$  als ein Maß für die Anisotropie.

Die beiden definieren sich in einem dreidimensionalen Streusystem und einem Polarisierbarkeitstensor mit den Eigenwerten  $\alpha_1, \alpha_2, \alpha_3$  zu [16]:

$$\langle \alpha \rangle = \frac{1}{3}(\alpha_1 + \alpha_2 + \alpha_3) \quad (10a)$$

$$\gamma^2 = \frac{1}{3}[(\alpha_1 - \alpha_2)^2 + (\alpha_2 - \alpha_3)^2 + (\alpha_3 - \alpha_1)^2] \quad (10b)$$

Anhand umfangreicher Rechnungen lassen sich Intensitäten für Rayleigh- und Ramanstreuung an einem Molekül berechnen. Sie hängen unter anderem von Streuwinkel und der Polarisierung der Erregerstrahlung ab. Für den Fall einer linearen Polarisierung und einem angenommenen Streuwinkel von  $90^\circ$  erhält man für die Intensitäten der Stokesschen und der Rayleighstreuung (bei Betrachtung von Vibrationsübergängen) [16]:

$$I_{\text{Rayleigh}} = \frac{\pi^2}{45 \varepsilon_0^2} \left( \frac{45 \langle \alpha \rangle^2 + 7\gamma^2}{\lambda_{in}^4} \right) E_{in} \quad (11a)$$

$$I_{\text{Raman-Stokes}} = \frac{\pi^2}{45 \varepsilon_0^2} \left( 1 - e^{-\frac{h\nu_k}{kT}} \right) \left( \frac{h}{8\pi^2 \mu_r \nu_k} \right) \left( \frac{45 \langle \alpha' \rangle^2 + 7(\gamma')^2}{\lambda_k^4} \right) E_{in} \quad (11b)$$

wobei gilt : -  $\varepsilon_0$  ist die elektrische Feldkonstante

- $\lambda_{in}$  ist die Wellenlänge der Erregerstrahlung
- $E_{in}$  ist die Größe des elektrischen Erregerfeldes
- $h$  ist die Plancksche Konstante
- $\nu_k$  ist die Frequenz des entsprechenden k-ten Vibrationsniveaus
- $k$  ist die Boltzmann-Konstante
- $T$  die Temperatur
- $\mu_r$  die ist die reduzierte Molekülmasse
- $\lambda_k$  ist die Wellenlänge der durch das k-te Vibrationsniveau verursachten Ramanstreuung
- $\langle \alpha' \rangle$  und  $\gamma'$  sind die nach der Störung abgeleiteten Werte von  $\langle \alpha \rangle$  und  $\gamma$

In der Intensität der Rayleighstreuung erkennt man, daß lediglich eine Wellenlänge gestreut wird, die gleich der einfallenden Wellenlänge  $\lambda_m$  ist. Bei der Intensität der Stokesschen Streuung hingegen wird deutlich, daß bedingt durch die unterschiedlichen Vibrationsniveaus mit den Frequenzen  $\nu_k$  verschiedene Wellenlängen  $\lambda_k$  gestreut werden. Ebenso läßt die e-Funktion im Exponenten deutlich eine Temperaturabhängigkeit der Intensität erkennen. Es sei hier noch einmal erwähnt, daß der Antistokes Prozeß voraussetzt, daß sich das Molekül in einem angeregten Zustand befindet. Deshalb weist die Intensitätsberechnung im Vergleich zum Stokesschen Fall eine erhöhte Temperaturabhängigkeit auf [16].

Exemplarisch soll an dieser Stelle die Betrachtung des Stokesschen Falls genügen. Ein wesentlicher Unterschied zwischen (11a) und (11b) besteht in der Berechnung der Intensität. In (11a) findet die Hauptpolarisierbarkeit  $\langle\alpha\rangle$  und die Anisotropie  $\gamma$  Verwendung, in der Berechnung der Stokesschen Streuung hingegen die entsprechenden Ableitungen bezüglich der Störung. Dieses wird deutlich, wenn man sich vor Augen führt, daß im Falle der Ramanstreuung die Änderungen der Störung die Ursache für die inelastische Streuung sind. Anders gesagt, ist die Intensität der Rayleighstreuung proportional zum Quadrat der Polarisierbarkeit und somit zum Quadrat des Dipolmoments, während die Stokessche Streuung proportional zum Quadrat der Änderung der Polarisierbarkeit ist. Bei beiden ist jedoch die Proportionalität der Intensität zu  $\lambda^{-4}$ , das heißt zur gestreuten Wellenlänge, zu erkennen. Zur Berechnung der Intensität sind im wesentlichen  $\langle\alpha\rangle$  und  $\gamma'$  eines Moleküls zu bestimmen. Eine experimentelle Bestimmung ist nur sehr schwer und auch nur für bestimmte Moleküle durchzuführen [17]. Man versucht deshalb, die Intensität der Ramanstreuung einfacher durch den Vergleich zu Referenz-Streuspektren zu bestimmen [18],[19]. Ebenfalls sei zu weitergehenden Betrachtungen auf Abschnitt 2.1.3.c verwiesen.

Oftmals wird bei Streuprozessen neben Streuintensität der effektive Streuquerschnitt angegeben. Er drückt das Verhältnis von einer in einen definierten Winkel pro Zeiteinheit gestreuten Strahlung zur Dichte des auf das Molekül fallenden Energiestroms aus. Entsprechend hat er die Dimension einer Fläche. Auch für die Ramanstreuung lassen sich Streuquerschnitte ableiten; von einer eingehenderen Betrachtung soll hier aufgrund des Umfangs der Berechnungen abgesehen werden. Um eine Vorstellung zu bekommen, in welchen Größenordnungen die Streuquerschnitte liegen, sei lediglich auf Tabelle 2-1 verwiesen. Es ist deutlich zu erkennen, daß die Streuquerschnitte der Ramanstreuung unter denen der Rayleighstreuung und der Fluoreszenz liegen, was die Detektion von Ramanstreuung bei z.B. breitbandiger Fluoreszenz stark behindert, zum Teil sogar unmöglich macht.

Optischer Effekt	Streuquerschnitt [cm <sup>2</sup> ]
Absorption	10 <sup>-18</sup> bis 10 <sup>-20</sup>
Fluoreszenz <sup>4</sup>	10 <sup>-19</sup>
Rayleighstreuung	10 <sup>-26</sup>
Ramanstreuung	10 <sup>-29</sup>

**Tabelle 2-1:** Streuquerschnitte verschiedener optischer Effekte (aus [16], [21]).

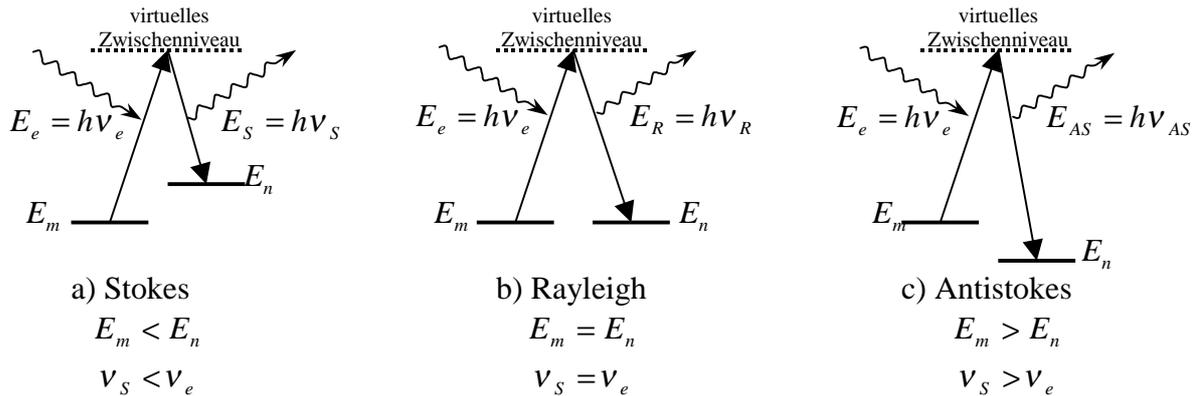
### 2.1.3.b Energieverhältnisse des Streuprozesses

Die gängige Literatur zur Erklärung des Ramaneffektes erklärt diesen meist anhand einer Grafik, wie in Abbildung 2-2 gezeigt. Hier ist der Fall dargestellt, daß eine Erregerstrahlung mit der Frequenz  $\nu_e$  bzw. der Energie  $E_e = h\nu_e$  auf ein Teilchen trifft, das sich auf dem Ausgangs-Energieniveau  $E_m$  befindet. Der Streuprozess hebt das Teilchen energetisch auf ein virtuelles Zwischenniveau, von dem es dann auf ein bezüglich des Zwischenniveaus energieärmeres End-Energieniveau  $E_n$  zurückfällt. Sind Ausgangs- und Endniveau gleich, so handelt es sich um elastische Rayleighstreuung (vgl. Abbildung 2-2b). Befindet sich das Endniveau jedoch nicht auf derselben Höhe des Ausgangsniveaus, so erhält man die inelastische Ramanstreuung. Diese gliedert sich, wie oben erwähnt, in Stokessche und Antistokessche Streuung. Bei der Stokesschen Streuung (vgl. Abbildung 2-2a) ist die Streustrahlung von niedrigerer Energie, das heißt, das Teilchen nimmt einen Energiebetrag auf. Hingegen wird dem Teilchen bei der Antistokesschen Streuung Energie entzogen. Hier weist die Streustrahlung eine höhere Energie auf als die Ausgangsstrahlung. Da sich in diesem Fall das Teilchen bereits in einem energetisch angeregten Zustand befunden haben muß, ist der Anteil der Antistokes Strahlung vergleichsweise geringer als der der Stokes Strahlung. Die Diracsche Theorie besagt, daß bei der Ramanstreuung die Energie der Erregerstrahlung größer sein muß als die Differenz zwischen End- und Anfangsniveau, also gelten muß:

$$E_e > E_n - E_m \quad (12)$$

Dieser Zusammenhang wird auch in Abbildung 2-2 deutlich. Der antistokessche Fall erfüllt die Bedingung in (12) immer.

<sup>4</sup> Die Streuquerschnitte der Fluoreszenz sind stark von äußeren Bedingungen abhängig. Es können z.B. Prozesse wie Quenching starken Einfluß ausüben [20].

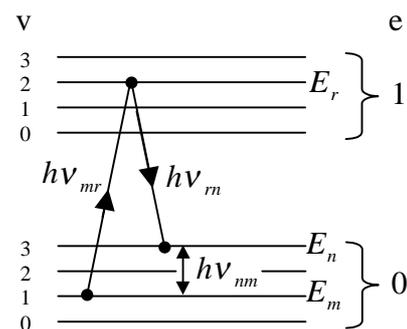


**Abbildung 2-2:** Lage der Energieniveaus bei der Rayleigh- und Ramanstreuung für einen Übergang von Zustand  $m$  nach Zustand  $n$ .

Für den Stokesen Fall soll die Energiebilanz anhand von Abbildung 2-3 näher betrachtet werden<sup>5</sup>. Es ist das Energieniveauschema für einen Übergang zwischen den Zuständen  $E_n$  und

$E_m$  über den Zwischenzustand  $E_r$  eingezeichnet. In Abbildung 2-3 sind lediglich die zwei elektronischen Grundniveaus  $e$  (0 und 1) und die Aufspaltung in die Vibrationsniveaus  $v$  (0 bis 3) eingezeichnet. Von der weiteren Aufspaltung in Rotationsniveaus sei an dieser Stelle abgesehen. Aus Abbildung 2-3 werden zwei wesentliche Dinge deutlich. Zum einen, daß eine Erregerstrahlung  $\nu_{mr}$  das Teilchen auf das Zwischenniveau  $E_r$  hebt, von dem es dann auf das Endniveau  $E_n$  unter Abgabe der Streustrahlung mit

der Frequenz  $\nu_m$  fällt, was bedeutet, daß die Energie der Erregerstrahlung größer sein muß, als die Energie der Strahlung, die einem Übergang  $n \rightarrow m$  entspricht. Die Energiedifferenz zwischen Erreger- und Streustrahlung hat die Größe  $h\nu_{nm}$ , was genau einer teilchenspezifischen Strahlung bei einem Übergang  $n \rightarrow m$  entsprechen würde.

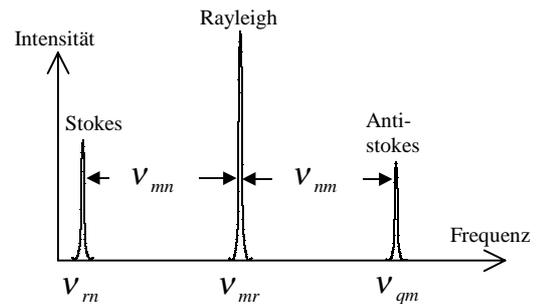


**Abbildung 2-3:** Energieniveauschema für einen Stokes Übergang bei der Ramanstreuung.

<sup>5</sup> Für den Antistokesschen Fall sind die folgenden Aussagen einfach analog herzuleiten

Diese Energiedifferenz wird als *Ramanverschiebung* bezeichnet. Da sie von der Beschaffenheit des streuenden Teilchens abhängig ist, nicht aber von der Frequenz der Erregerstrahlung, lassen sich mit ihr unabhängig von der Frequenz der einfallenden Strahlung Aussagen über die Zusammensetzung des streuenden Teilchens treffen. In Abbildung 2-4 findet man die Ramanverschiebung im Frequenzspektrum. Die elastisch gestreute Linie der Erregerstrahlung mit der Frequenz  $\nu_{mr}$  erscheint als

Rayleighstreuung. Die Stokesche Linie mit der Frequenz  $\nu_m$  liegt im Abstand  $\nu_{nm}$  von der Rayleighlinie entfernt. Im antistokeschen Fall befindet sich das Teilchen schon auf dem Niveau  $E_n$  und wird durch die Erregerstrahlung auf ein Zwischenniveau  $E_q$  gehoben. Von dort fällt es unter Abgabe von Strahlung der Frequenz  $\nu_{qm}$  auf das Endniveau  $E_m$ . Im Vergleich zum Stokeschen



**Abbildung 2-4:** Frequenzspektrum eines Streuvorgangs.

Fall sind hier gleichermaßen Anfangs- und Endzustand vertauscht, die Abstände zwischen den Niveaus und somit die Ramanverschiebung aber gleich. Aus den oben erwähnten Gründen ist lediglich die Intensität geringer. In der Praxis wird die Ramanverschiebung mit der Wellenzahl des entsprechenden Übergangs  $n \rightarrow m$  in der Einheit  $\frac{1}{\text{cm}}$  ausgedrückt. Der andere Punkt, der sich in Verbindung mit der Diracschen Theorie abzeichnet, drückt die Notwendigkeit eines ‚erreichbaren‘ Zwischenzustandes aus. Auch in der Theorie stellt der Vorgang die Verknüpfung zweier Übergänge  $m \rightarrow r$  und  $r \rightarrow n$  dar. Existiert ein Niveau  $r$  nicht, so ist – mathematisch – die Wahrscheinlichkeit, ihn zu erreichen, gleich Null. Damit wird die Wahrscheinlichkeit der gesamten Ramanstreuung als Produkt der beiden Übergangswahrscheinlichkeiten natürlich Null. Diese Regel wird als sogenannte „*third-common-level-rule*“ bezeichnet [6].

Im bisherigen Verlauf der theoretischen Betrachtungen wurde keine Aussage gemacht, um welche Arten von Übergängen es sich im Teilchen handelt. Die Ramanstreuung kann sowohl durch Vibrations-, als auch durch Rotationsübergänge verursacht werden. Man unterscheidet entsprechend den Vibrations- oder Schwingungs-Ramaneffekt und den Rotations-Ramaneffekt. Die Theorie gleicht sich für die beiden Arten, da immer mit ‚allgemeinen Energieübergängen‘ gearbeitet wird. Lediglich bei den Auswahlregeln gibt es bedingt durch die Quantenmechanik Unterschiede, die aber die grundsätzliche Existenz des Ramaneffektes nicht betreffen.

Man beachte aber, daß sich verschiedene Übergänge gleicher Energiedifferenz überlagern können. Im Falle dieser Entartung verstärkt sich der Ramaneffekt der entsprechenden Energiedifferenz, so daß man über die Besetzung der einzelnen Niveaus keine konkrete Aussage mehr treffen kann. Für den Nachweis bestimmter Moleküle in einem Stoffgemisch ist diese Einschränkung jedoch unbedeutend, solange sich die Energieniveaus nicht intermolekular überlagern

### 2.1.3.c Ramanstreuung in Flüssigkeiten

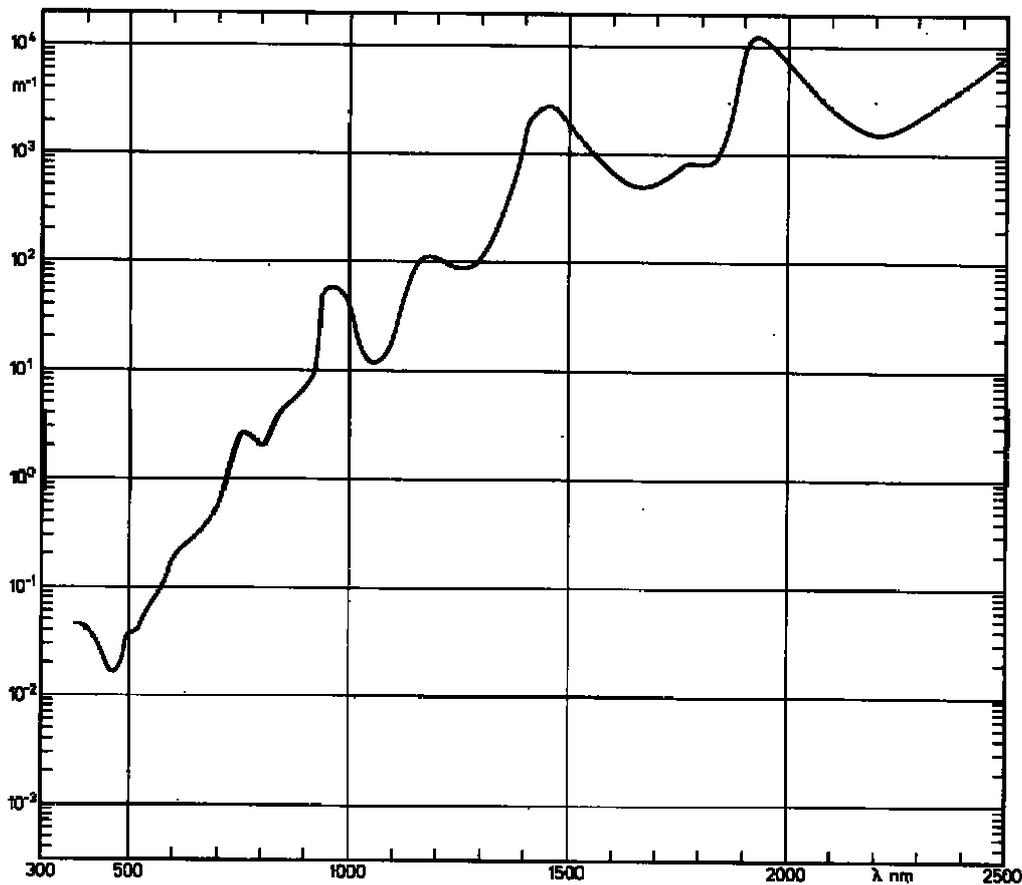
Bisher wurden theoretische Überlegungen angestellt, welche Wellenlängen und Intensitäten die Ramanstreuung hat. Als Ausgangslage für alle bisherigen Überlegungen diene ein einzelnes Molekül, auf das eine Erregerstrahlung traf und einen Streuprozeß verursachte. Es soll nun davon ausgegangen werden, daß nicht nur ein einzelnes Molekül streut, sondern ein Volumen gefüllt mit einem Gemisch verschiedener Moleküle. In der Regel sind die Moleküle nicht ausgerichtet, so daß das Volumen in alle Richtungen streut. Die Intensität der Ramanstreuung ist dann durch die Überlagerung der Streuprozesse aller Moleküle in sämtliche Richtungen gleichmäßig verteilt. An dieser Stelle sollen zwei wichtige praktische Aspekte untersucht werden. Zum einen soll die Analyse wäßriger Lösungen mit Hilfe des Ramaneffektes näher betrachtet, zum anderen einige Überlegungen über das Aussehen der Linien im Streuspektrum angestellt werden.

Zunächst einige Bemerkungen zur optischen Analyse wäßriger Lösungen: Tritt eine elektromagnetische Welle in eine wäßrige Lösung ein, so erfährt sie in Abhängigkeit ihrer Wellenlänge eine Absorption. Eine parallele Ausgangsstrahlung der Intensität  $I_0$  hat in einem Abstand  $x$  die Intensität  $I(x)$ , wobei gilt:

$$I(x) = I_0 e^{-a(\lambda)x} \quad (13)$$

In (13) ist  $a(\lambda)$  der Attenuations- bzw. Absorptionskoeffizient mit der Dimension  $m^{-1}$ . Er drückt die Stärke der Schwächung über den Weg aus und ist abhängig von der Wellenlänge. In reinem Wasser hat er ein Minimum bei einer Wellenlänge von 475 nm, steigt dann aber im nahen Infrarot steil an, so daß elektromagnetische Strahlung im Infraroten – oberhalb ca. 750 nm – nur noch geringe Eindringtiefen hat.

In der Regel kann die Intensität der Erregerstrahlung durch Einsatz geeigneter Quellen, wie Lasern, zwar groß gewählt werden, so daß sich quasi eine höhere Eindringtiefe ergibt, jedoch ist das Signal der Ramanstreuung nur von sehr geringer Intensität und wird beim Durchlauf durch das Medium schnell geschwächt. In Abbildung 2-5 ist der Attenuationskoeffizient  $a$  über der Wellenlänge für reines Wasser dargestellt. Man erkennt, wie stark die Attenuation bei größeren Wellenlängen wächst. Es macht offenbar eher Sinn, die Erregerstrahlung auf die Oberfläche der wäßrigen Lösung zu fokussieren und das rückgestreute Ramansignal zu messen. Dieses setzt allerdings eine homogene Zusammensetzung der Lösung voraus, die aber im allgemeinen gewährleistet ist.



**Abbildung 2-5:** Attenuationskoeffizient für reines Wasser in Abhängigkeit der Wellenlänge der Strahlung (aus [22]).

Der Prozeß der Ramanstreuung in einem Volumen findet, wie oben bereits erwähnt, stets an mehreren Molekülen statt. Dieses führt in erster Linie dazu, daß sich die Streustrahlungen aller streuenden Moleküle überlagern. Bei Molekülen gleichen Typs hat dieses den Vorteil, daß sich ihre Streusignale verstärken. Die Streustrahlung ist dann zwar nicht mehr kohärent und definiert polarisiert, was aber die Auswertung der Gesamtintensität nicht behindert. Sollten Moleküle verschiedenen Typs gleiche Wellenlängen streuen, so lassen sich später keine Aussagen über eventuelle Molekülkonzentration treffen. Dieser Fall tritt aber in der Praxis nicht auf. Die Probleme resultieren aus anderen physikalischen Gesetzmäßigkeiten. Eine gestreute Wellenlänge erscheint im Spektrum nicht als feine Linie, sondern mit einer endlich definierten Breite, welche im idealen Fall einer Lorentz-Verteilung gehorcht (vgl. Anhang). In Abbildung 2-6 ist der Verlauf einer Spektrallinie über die Frequenz dargestellt.

Der Abstand der Punkte, in denen die Intensität die Hälfte der Maximalintensität erreicht hat, wird Halbwertsbreite genannt. Der Spektralbereich innerhalb dieser wird als Linienkern bezeichnet; Bereiche außerhalb als Linienflügel.

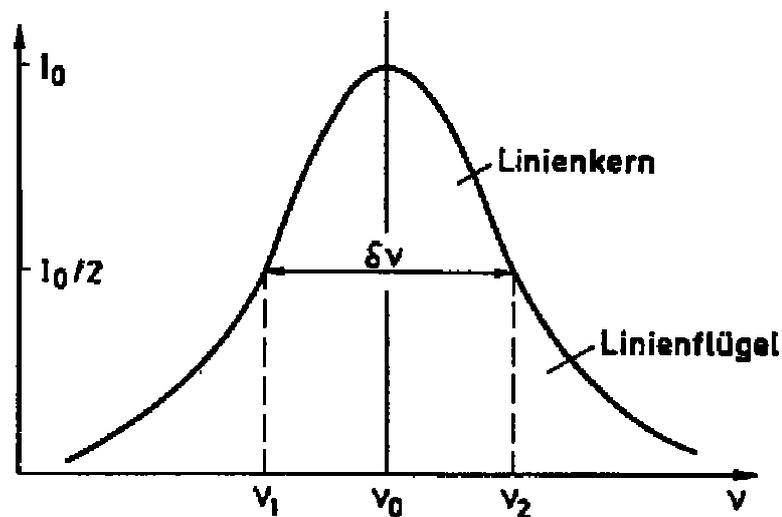
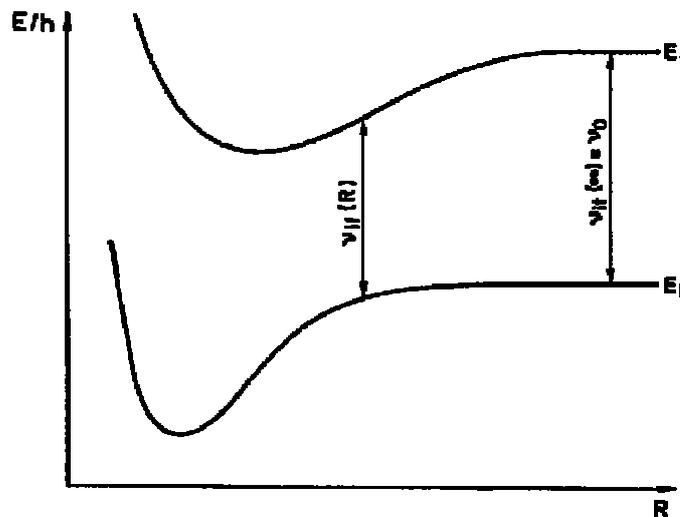


Abbildung 2-6: Verlauf der Intensität einer Spektrallinie über der Frequenz (aus [20]).

Die Breite einer Spektrallinie richtet sich nach verschiedenen physikalischen Gesetzen. Jede Spektrallinie hat eine natürliche Linienbreite und ist nicht streng monochromatisch. Die Heisenbergsche Unschärferelation bezogen auf die beteiligten Energieniveaus und die Dämpfung der für die Streustrahlung verantwortlichen Dipolschwingungen sind hierfür die wesentlichen Ursachen.

Hinzu kommen eventuelle Verbreiterungen durch verschiedene physikalische Phänomene, von denen hier nur kurz auf die Stoßverbreiterung von Spektrallinien eingegangen werden soll, da sie in Flüssigkeiten eine wichtige Rolle spielt. Geht man von zwei Molekülen A und B aus, die sich in einem Abstand  $R$  zueinander befinden, so findet zwischen diesen Molekülen bei geringer werdendem Abstand eine Wechselwirkung statt. Man spricht auch von einem Stoßvorgang, wenn sich beide Moleküle A und B merklich beeinflussen. Die Stärke der Wechselwirkung hängt von der Beschaffenheit der Moleküle selbst ab. Wenn Molekül A die Energieniveaus  $E_f$  und  $E_i$  hat, so verschieben sich diese bei Annäherung an Molekül B. In Abbildung 2-7 ist deutlich zu erkennen, wie sich die Energiedifferenz, ausgedrückt als Frequenz, zwischen den Niveaus  $E_f$  und  $E_i$  in zwei verschiedenen Abständen unterscheidet. Während die Frequenz  $\nu_{if}(\infty) = \nu_0$  im nicht beeinflussten Fall, das heißt großer Abstand zwischen den Molekülen, gestreut würde, entstünde die Frequenz  $\nu_{if}(R)$  als Streustrahlung im Fall störender Wechselwirkungen.

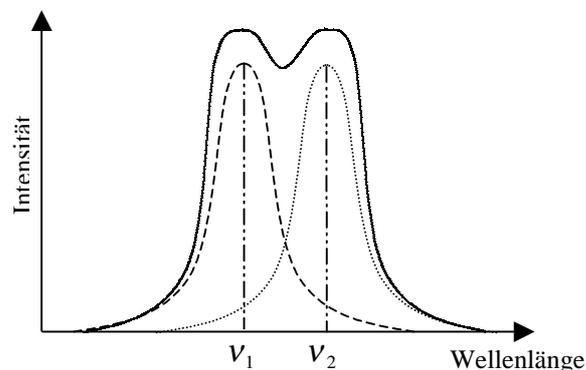


**Abbildung 2-7:** Energiedifferenzen zwischen zwei Energieniveaus  $E_f$  und  $E_i$  eines Moleküls bei verschiedenen Abständen  $R$  zu einem zweiten Molekül (aus [20]).

Man kann davon ausgehen, daß die Moleküle in einem Volumen einen mittleren Abstand  $\bar{R}$  haben und entsprechend eine statistische Verteilung der Frequenzen  $\nu_{if}$  um einen Mittelwert  $\bar{\nu}$  aufweisen. Dieser Mittelwert entspricht im allgemeinen nicht der Frequenz für einen unendlichen Abstand  $\nu_0$ .

Ändert sich der Abstand  $R$  während der Wechselwirkung, hat aber dann wieder seine ursprünglichen Energiewerte, so spricht man von einem elastischen Stoß, wobei die gestreuten Frequenzen entsprechend verschieden sind. Die Energiedifferenzen werden je nach Lage in kinetische Energie der Stoßpartner umgewandelt ( $\Delta v < 0$ ) bzw. aus ihr bezogen ( $\Delta v > 0$ ). Leicht ersichtlich macht sich diese Linienverbreiterung nicht so stark bemerkbar wie in Flüssigkeiten, in denen die Dichte der Moleküle sehr viel größer ist.

Für eine detailliertere Betrachtung der oben genannten Verbreiterungen sei auf die einschlägige Literatur verwiesen [20]. Mit diesen Überlegungen könnte man für Spektrallinien die entsprechende Halbwertsbreite herleiten. Abbildung 2-8 zeigt ein weiteres Problem: Die beiden gestrichelten Spektrallinien mit den Frequenzen  $\nu_1$  und  $\nu_2$  bilden gemeinsam die einhüllende durchgezogene Spektrallinie, die auf den Empfänger am Spektralapparat treffen. Beide Linien sind an diesem noch zu unterscheiden. Würden die Frequenzen dichter zusammenliegen, wäre das Signal am Empfänger nur schwer von einer einzelnen Linie mit der Frequenz  $\frac{\nu_1 + \nu_2}{2}$  zu unterscheiden.



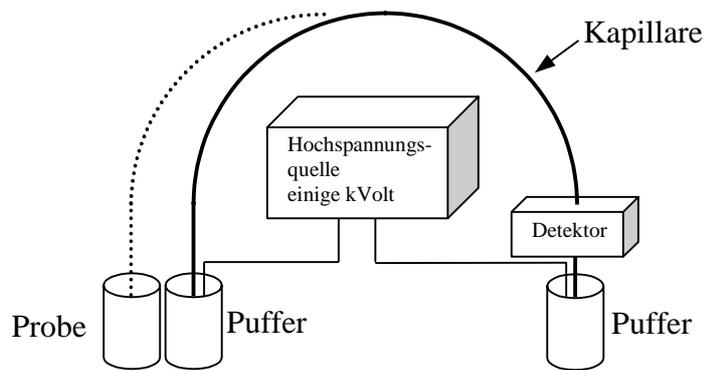
**Abbildung 2-8:** Zwei gerade noch trennbare Spektrallinien.

Wie groß der Abstand zweier Spektrallinien für eine mögliche Trennung sein muß, hängt von dem Auflösungsvermögen des Spektralapparats ab. Bei zu kleinem Auflösungsvermögen, können unter Umständen die Linien verschiedener Molekülsorten nicht mehr eindeutig getrennt werden, und es entstehen Querempfindlichkeiten, welche die Messung stören, bzw. verfälschen.

## 2.2 Theorie der Kapillarelektrophorese

Nachdem im vorherigen Abschnitt das Phänomen der Ramanstreuung mit einigen wichtigen optischen Grundlagen behandelt wurde, folgt nun ein gänzlich anderes Gebiet. Die Kapillarelektrophorese gehört zu den neueren analytischen Trennverfahren. Sie verbindet die klassische Trenntechnik der Elektrophorese mit einer direkten Detektion der Probe. Das Prinzip der Kapillarelektrophorese beruht darauf, daß verschiedene Ionensorten unterschiedliche Mobilitäten aufweisen. Werden diese Ionen durch ein äußeres elektrisches Feld gezwungen, durch eine Kapillare zu wandern, so läßt sich am Ende der Kapillare eine Trennung der Ionen detektieren, da diese die Kapillare mit unterschiedlichen Geschwindigkeiten durchlaufen. In Abbildung 2-9 ist der prinzipielle Aufbau einer Kapillarelektrophorese Meßeinrichtung dargestellt. Er besteht aus der Kapillare (Durchmesser 25 - 100  $\mu\text{m}$ ), Probe- und Puffergefäßen, sowie einem Hochspannungsnetzteil

(bis 30 kV) mit zwei Elektroden in den Probe- bzw. Puffergefäßen. Ein Meßablauf beginnt mit der Injektion der Probe in die mit einem elektrolytischen Puffer gefüllte Kapillare. Dieses kann mit verschiedenen Methoden geschehen. Die gängigsten sind einfaches Eintauchen der Kapillare in die Probe oder gezwungene Wanderung der Ionen durch Anlegen eines äußeren elektrischen Feldes. Das eigentlich benötigte Probevolumen beträgt nur Bruchteile des gesamten Kapillarvolumens (einige nL). Anschließend wird die Kapillare wieder in den Puffer eingetaucht und das äußere elektrische Feld angelegt. Nach einer bestimmten Zeit, die von der Stärke des elektrischen Feldes, von den geometrischen Eigenschaften der Kapillare und von der Mobilität der Probe-Ionen abhängt, erreichen diese den Detektor, der meistens die UV-Absorption im Puffer mißt und hierüber Rückschlüsse auf vorbeiwandernde Ionen zuläßt<sup>6</sup>.



**Abbildung 2-9:** Schematische Aufbau einer Kapillarelektrophorese-Apparatur

<sup>6</sup> Wie oben bereits erwähnt, ist Absorption eine gängige Detektionsmethode. Es besteht aber auch die Möglichkeit, die Zahl der am Detektor vorbeiziehenden Ionen in der Kapillare mit Hilfe von Leitfähigkeits- oder Fluoreszenzmessungen zu bestimmen.

In der vorliegenden Arbeit wird anstelle der Absorptionsmessung das Signal der Ramanstreuung ausgewertet und hierüber versucht, eine qualitative und quantitative Aussage über die Zusammensetzung der Probe zu treffen.

Der Migration der Proben-Ionen im elektrischen Feld ist ständig ein mehr oder minder starker elektroosmotischer Fluß überlagert, der zwar zum Transport der Ionen, nicht aber zu ihrer Trennung beiträgt und somit ein unerwünschter Nebeneffekt ist. Er hängt stark vom pH-Wert des Puffers und von den Oberflächeneigenschaften der Kapillare ab. Daneben spielt natürlich die Leitfähigkeit des Puffers eine wichtige Rolle und wird im folgenden, wie auch der elektroosmotische Fluß, genauer betrachtet. Als letzten Punkt in diesem Kapitel sollen noch einige Überlegungen über die Gestalt der Ionenbanden angestellt werden, die am Detektor vorbeiziehen.

### 2.2.1 Elektrophoretische Wanderung

Ionen bewegen sich in einer Flüssigkeit unter Einfluß eines elektrischen Feldes mit definierten Wandergeschwindigkeiten  $v$ . Eine Erhöhung der elektrischen Feldstärke  $E$  führt zu einer höheren Geschwindigkeit und somit im Falle der Elektrophorese zu kürzeren Analysezeiten. Ferner wird die Wanderungsgeschwindigkeit noch durch die elektrophoretische Beweglichkeit (Mobilität)  $\mu$  des Ions beeinflusst. Es ergibt sich folgender Zusammenhang:

$$v = \mu \cdot E \quad (14a)$$

oder bei der Kapillarelektrophorese für die Wander- bzw. Analysezeit bei einer Kapillare der Länge<sup>7</sup>  $L$ :

$$t = \frac{L}{\mu \cdot E} \quad (14b)$$

---

<sup>7</sup>  $L$  ist die Länge zwischen Probeeinlaß (Inlet) und Detektor

Ein einfacher Kräftevergleich dient als Basis für eine Aussage über die Größe der Mobilität. Auf das Ion wirken zwei Kräfte. Die Kraft des elektrischen Feldes beschleunigt das Ion, ihr entgegen wirkt die Kraft der Stokesschen Reibung. Die Kraft der Beschleunigung  $F_B$  berechnet sich zu:

$$F_B = z \cdot \frac{F \cdot E}{N_A} \quad (15a)$$

- wobei:
- $z$  ist die effektive Ladung des Ions
  - $F$  ist Faradaykonstante
  - $E$  ist die Feldstärke des elektrischen Feldes
  - $N_A$  ist die Avogadrozahl

Für die Kraft der Stokesschen Reibung gilt:

$$F_S = 6 \cdot \pi \cdot \eta \cdot r \cdot v \quad (15b)$$

- wobei:
- $\eta$  ist die dynamische Viskosität des Mediums
  - $r$  ist der Stokessche Radius des Ions
  - $v$  ist die Wandergeschwindigkeit des Ions

Eine direkte Berechnung von  $v$  durch das Kräftegleichgewicht von  $F_B$  und  $F_S$  ist nicht möglich, da zum Stokesschen Radius des Ions auch die Solvatationshüllen des Pufferelektrolyten gehören, und somit eine genaue Bestimmung von  $r$  unmöglich ist [24]. Auch die Zahl sechs in (15b) drückt die Annahme sphärischer Teilchen bestimmter Größe aus; sie würde zum Beispiel für Teilchen, deren Größenordnung in dem Bereich der Moleküle des Mediums liegt, deutlich kleiner werden [23].

Ein Vergleich von (15a) und (15b) mit dem Ausdruck in (14a) liefert aber dennoch eine gute Möglichkeit, die Abhängigkeiten der Mobilität genauer zu betrachten. Es ergibt sich:

$$\mu = z \cdot \frac{F}{6 \cdot \pi \cdot \eta \cdot r \cdot N_A} \quad (16)$$

Eine stärkere Ladung verursacht eine höhere Wanderungsgeschwindigkeit; höhere Viskosität oder ein größerer Radius hingegen verlangsamen die Migration der Ionen durch das Medium. Eine weitere Tatsache läßt sich aber an (16) ablesen. Elektrophoretische Trennung ist nur dann möglich, wenn sich die Ionen mindestens in effektiver Ladung  $z$  oder Stokesschem Radius  $r$  unterscheiden. Die Ladung ist hierbei gegebenenfalls mit Ladungen umgebener Ionen zu verrechnen, welche die Wanderung des eigentlichen Ions verlangsamen. Tabelle 2-2 zeigt einige Grenzmobilitäten von Ionen verschiedenen Ladung bei Raumtemperatur.

	Grenzmobilität bei 25°C [ $1 \cdot 10^{-5} \cdot \text{cm}^2 \text{V}^{-1} \text{s}^{-1}$ ]
<b>Kationen</b>	
Na <sup>+</sup>	51,9
K <sup>+</sup>	76,0
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	72,2
<b>Anionen</b>	
OH <sup>-</sup>	-205,5
Cl <sup>-</sup>	-79,1
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	-74,1
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	-82,9

**Tabelle 2-2:** Grenzmobilitäten einiger Ionen bei Raumtemperatur [23].

### 2.2.2 Einfluß der Temperatur

Im vorherigen Abschnitt wurde eine Abhängigkeit der Mobilität von Stokesschem Radius und Ladungszahl nachgewiesen. In (16) taucht aber auch die Viskosität auf. Sie führt zu einer weiteren Abhängigkeit, der Temperatur. Diese ist ein praktisch nicht zu unterschätzender Faktor. Sie hat keinen direkten Einfluß auf die Mobilität (vgl. (16)). Es ändert sich lediglich die Solvatationshülle des Ions mit der Temperatur, und dieses auch nur geringfügig. Vielmehr steckt die gravierendere Abhängigkeit in der Viskosität des Mediums. Für die Berechnung der Abhängigkeit der Viskosität  $\eta$  von Temperatur  $T$  gilt die Annäherung [25]:

$$\eta = A \cdot e^{\frac{b}{T}} \quad (17)$$

In (17) sind  $A$  und  $b$  substanzspezifische Konstanten. Die Viskosität leitet sich nichtlinear von der Temperatur ab – somit also auch die Mobilität. Der Einfluß der Temperatur spielt gerade in der Kapillarelektrophorese bei hohen elektrischen Feldstärken eine gewichtige Rolle, da mit steigender Feldstärke in der Kapillare eine größere Joulesche Wärme entsteht. Gleichung (18) zeigt den Zusammenhang zwischen der Leistung  $P$  und dem Kapillardurchmesser  $d$ , der Kapillarlänge  $L$ , der Leitfähigkeit des Puffers  $\kappa$  und der angelegten Spannung  $U$ :

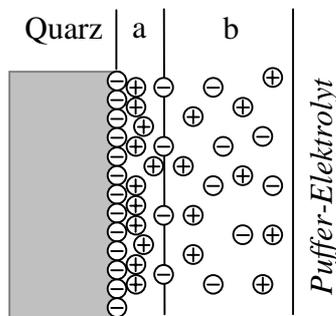
$$P = U^2 \cdot d^2 \cdot \frac{\pi \cdot \kappa}{2L} \quad (18)$$

So müßte beispielsweise bei einer Verdoppelung des Kapillardurchmessers die Spannung geviertelt werden, damit die Leistung und somit die Joulesche Wärme konstant bleibt. Dies führt wiederum zu einer Erhöhung der Analysezeit. Der Abtransport der Wärme geschieht ausschließlich über die Kapillarwand. Erschwerend kommt hinzu, daß Wasser die Wärme deutlich langsamer ableitet als die Quarzwand der Kapillare. Dieser Unterschied bewirkt eine Temperaturdifferenz zwischen Innen- und Außenwand der Kapillare von bis zu 0,7 K [28]. Anhand umfangreicher Berechnungen kann gezeigt werden, daß sich im Puffer ein parabolischer Temperaturgradient ausbildet, dessen Temperatur in der Mitte des Puffers um bis zu 10 K höher sein kann als an der inneren Kapillarwand [24]. Dieser Temperaturgradient bedingt nach (17) einen entsprechenden Viskositäts- bzw. Mobilitätsgradienten. Eine Kühlung der Kapillare scheint auf den ersten Blick unsinnig, da sich der Gradient nur noch vergrößern würde. Sie ist dennoch unverzichtbar, weil bei zu hohen Temperaturen der Puffer entgast, und somit der Strom unterbrochen wird.

### **2.2.3 Elektroosmotischer Fluß**

Ein wichtiger Effekt bei der Kapillarelektrophorese ist der elektroosmotische Fluß. Die Elektroosmose verursacht eine Bewegung, welche der Wanderung der Ionen durch die Elektrophorese überlagert ist. Es entsteht in Quarzkapillaren durch die Dissoziation der Silanolgruppen eine negativ geladene Oberfläche. Abbildung 2-10 zeigt die Ladungsverteilung an der Grenzfläche zwischen Quarzwand und Elektrolyt. Das sich aufbauende Potential wird nach der Theorie von Stern in zwei Bereiche aufgeteilt [27], wie sie in Abbildung 2-11 dargestellt sind.

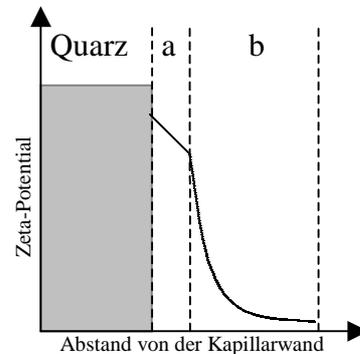
Zum einen im Bereich ‚a‘ - der starren Grenzschicht - ein linearer Abfall des Potentials, zum anderen im Bereich ‚b‘ - der diffusen Grenzschicht - ein exponentieller Abfall. Letzterer ist verantwortlich für die Elektroosmose und wird als Zeta-Potential („ $\zeta$  -Potential“) bezeichnet.



**Abbildung 2-10:** Ladungsverteilung an der Oberfläche des Quarzes und Ausbildung des Zeta-Potentials.

a: starre Grenzschicht mit adsorbierten Ionen

b: diffuse Grenzschicht (Stern-Grenzschicht)



**Abbildung 2-11:** Verlauf des Zeta-Potentials an der Grenzfläche [23].

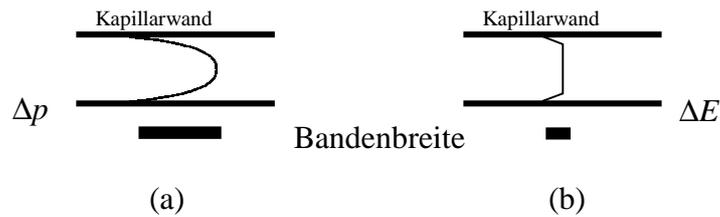
a: starre Grenzschicht mit adsorbierten Ionen

b: diffuse Grenzschicht (Stern-Grenzschicht)

An der Oberfläche des Quarzes bildet sich ein Schlauch aus Gegen-Ionen. Liegt parallel zur Oberfläche der Quarzkapillare ein elektrisches Feld, wird dieser Schlauch durch die positive Ladung der Gegen-Ionen zur Kathode gezogen; ist der Bewegung der negativen Ionen zur Anode somit entgegengesetzt überlagert.

In Experimenten hat sich aber gezeigt, daß bei der Elektrophorese für gewöhnlich Flüssigkeitsschichten in einem 10 nm Abstand von der Quarzwand bereits gleichförmig durch das elektrische Feld bewegt werden [23]. Betrachtet man das durch diesen Effekt entstehende Flußprofil, so läßt sich feststellen, daß dieses einen extrem flachen Verlauf hat.

Abbildung 2-12 zeigt den Vergleich zweier Flußprofile. Das Profil (a) ist durch eine Druckdifferenz  $\Delta p$  verursacht, das Profil (b) hingegen durch ein elektrisches Feld  $\Delta E$ , wie im Falle der Kapillarelektrophorese. Man erkennt deutlich die geringere, nahezu ideale Bandenbreite im Fall des elektrischen Feldes, während sich auf Seiten der Druckdifferenz ein parabolisches Hagen-Poiseuille Profil ausbildet, welches stark mit dem Kapillardurchmesser und der Strömungsgeschwindigkeit schwankt.



**Abbildung 2-12:** Darstellung zweier Flußprofile und der resultierenden Bandenbreiten.

(a) Profil durch Druckdifferenz, (b) Profil durch elektrisches Feld.

Die Wanderungsgeschwindigkeit des elektroosmotischen Flusses  $v_{EOF}$  läßt sich angenähert mit der sogenannten Helmholtz-Gleichung beschreiben [23]:

$$v_{EOF} = \frac{\varepsilon \cdot E \cdot \zeta}{4 \cdot \pi \cdot \eta} \quad (19)$$

Die Geschwindigkeit des elektroosmotischen Flusses ist also proportional zur angelegten Feldstärke  $E$ , zum Zeta-Potential und zur Dielektrizitätskonstanten  $\varepsilon$  des Puffer-Elektrolyten, während eine steigende Viskosität  $\eta$  die Geschwindigkeit sinken läßt.

Variiert man den pH-Wert im Elektrolyten, so ändert sich entsprechend der Dissoziationsgrad der Silanol-Gruppen an der Quarzwand. Dieses wiederum führt zu einer Änderung des Zeta-Potentials und somit zu einem veränderten elektroosmotischen Fluß. In der Praxis ist es somit sehr wichtig, den pH-Wert für reproduzierbare Meßwerte gleichmäßig auf einem Wert zu halten. Erschwerend kommt bei möglichen Änderung des pH-Wertes eine hystereseartige Änderung des elektroosmotischen Flusses hinzu. Hat ein "von oben" angestrebter pH-Wert von 7 beispielsweise in der Kapillare einen relativen elektroosmotischen Fluß von 100%, so reduziert sich dieser auf 80%, wenn der pH-Wert von 7 "von unten" erreicht wird [23].

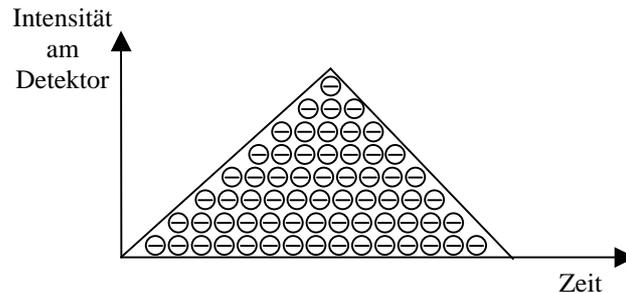
Um den auftretenden elektroosmotischen Fluß zu unterdrücken oder zu verhindern, werden auch Spezial-Kapillaren verwendet, die an ihrer Oberfläche mit einem chemischen Film belegt sind, so daß sich kein nennenswertes Zeta-Potential ausbilden kann. Im Gegenzug kann der elektroosmotische Fluß aber auch dazu verwendet werden, an einem Detektor Anionen und Kationen zu messen. Ist ein Detektor bei der Kapillarelektrophorese kathodenseitig angeordnet, so wandern sowohl die Kationen mit dem elektroosmotischen Fluß (Comigration), als auch die Anionen, deren elektrophoretische Wanderungsgeschwindigkeit geringer ist als die des elektroosmotischen Flusses, Richtung Kathode (Contramigration), erreichen diese aber erst mit einer zeitlichen Verzögerung.

Auch wenn der Eindruck entsteht, daß der elektroosmotische Fluß die eigentlichen Messungen dieser Arbeit eher behindern sollte, so wurde er jedoch für Probeaufgabe und Messung der Probe ausgenutzt. Generell war bei den Versuchen der elektroosmotische Fluß immer stärker als die Migration der Ionen, was entsprechend dazu führte, daß die Anionen zur Kathode geführt wurden. Dieses stellt allerdings kein Problem dar, da der Detektor kathodenseitig angebracht wurde, und sich für die verschiedenen Ionen in Abhängigkeit ihrer Polarität und Mobilität die elektrophoretische Migration mit dem elektroosmotischen Fluß überlagerte (siehe oben). Ionen negativer Polarität und hoher Mobilität erreichen die Kathode beispielsweise als letztes, während Ionen positiver Polarität und hoher Mobilität als erstes an der Kathode ankommen. Dieser Effekt betraf auch noch die Möglichkeit der in den Experimenten verwendeten Probeanreicherung. Aus diesem Grund findet sich eine ausführlichere Darstellung in Abschnitt 4.2.1.

#### **2.2.4 Gestalt der Ionenbanden**

In den obigen Abschnitten wurden schon einige Effekte genannt, die Einfluß auf den elektrophoretischen Konzentrationsverlauf am Detektor nehmen. Es wurden die Temperatur, die Art und Konzentration des Puffers, der elektroosmotische Fluß und der Druck genannt. Es stellt sich jetzt die Frage, wie der Verlauf am Detektor ist. Dabei soll nicht die optische Detektion im Vordergrund stehen, sondern die Frage „wie lange“ bzw. „wie stark“ die zu messenden Ionen am Detektor vorbeiziehen.

Idealerweise ziehen alle zu messenden Ionen zu einer Zeit und in einer entsprechend hohen Konzentration am Detektor vorbei. Real bilden die wandernden Ionen allerdings ein dreieckiges Profil, wie in Abbildung 2-13 dargestellt. Symbolisch sind die am Detektor vorbeiziehenden Anionen eingezeichnet, die anschaulich darstellen, daß für eine Konzentrationsbestimmung nicht der Maximalausschlag der Intensität gemessen, sondern das Integral unter der Kurve bestimmt werden muß.



**Abbildung 2-13:** Intensitäten von Anionen am Detektor in Abhängigkeit der Zeit.

Um zeitlich möglichst schmale Spektren zu erhalten und eine eventuelle Überlagerung durch Spektren anderer Ionenarten zu vermeiden, ist es wichtig, die Einflüsse, die zu einer Bandenverbreiterung führen, gering zu halten.

Neben den oben erwähnten, spielen noch einige andere Effekte eine Rolle, die zum Teil an dieser Stelle Erwähnung finden sollen, da sie die vorliegende Arbeit betreffen. Für weitergehende umfassendere Betrachtungen sei hier ebenfalls auf die einschlägige Literatur in verwiesen [23],[24],[26],[29].

Nicht zu unterschätzen ist der Einfluß der Elektrodispersion. Aus Gleichung (18) ist ersichtlich, daß eine Verminderung der Leitfähigkeit eine Erhöhung der Spannung und somit eine schnellere Analysezeit zur Folge haben kann. Dieser Verminderung der Leitfähigkeit sind allerdings Grenzen gesetzt. Befinden sich die Leitfähigkeiten des Puffers und der Probe in einem zu großen Ungleichgewicht, so entstehen lokale Störungen des elektrischen Feldes, das heißt, das elektrische Feld in Gleichung (14a) ist nicht mehr konstant. Dieses wiederum bedeutet, daß Ionen gleichen Typs verschiedenen elektrischen Feldern ausgesetzt sind. Ionen in Konzentrationsmaxima wandern schneller als Ionen an den Rändern, was zu einer Verbreiterung der Banden führt. Dementsprechend ist es wichtig, den Pufferelektrolyten dem jeweiligen Trennproblem anzupassen.

Als letztes noch ein Wort zur Bandenverbreiterung durch die natürliche physikalische Diffusion der Probe: Sie wächst entsprechend bei längeren Analysezeiten und hängt von den stoffspezifischen Diffusionskoeffizienten der Analyten ab. Diese Verbreiterung lässt sich nicht vermeiden, ihre Störung ist aber gering im Vergleich zu den bisher erwähnten. Eine genauere Betrachtung findet sich auch hier in der Literatur [23].



### **3 Meßaufbau**

Die Untersuchungen der vorliegenden Arbeit wurden mit Hilfe zweier verschiedener Versuchsanordnungen durchgeführt. Zum einen wurden die Nachweisgrenzen der Meßanordnung bezüglich verschiedener Ionenkonzentrationen ohne, zum anderen mit Elektrophoreseeinfluß bestimmt. Beide Versuchsaufbauten bestanden zum einen aus einem optischen Teil, zum anderen mußte für beide eine hydromechanische Anordnung geschaffen werden, mit der sich die Probe untersuchen ließ. Am Ende dieses Abschnittes soll auf die Meßwerterfassung, speziell auf die Software eingegangen werden, die in den unterschiedlichen Fällen eingesetzt wurde. Allen Versuchsanordnungen gleich war das Ramansystem in Form eines Lasers als Strahlungsquelle mit einem Spektrometer als Detektor; deshalb zunächst die Vorstellung dieser beiden Komponenten.

#### **3.1 Ramansystem**

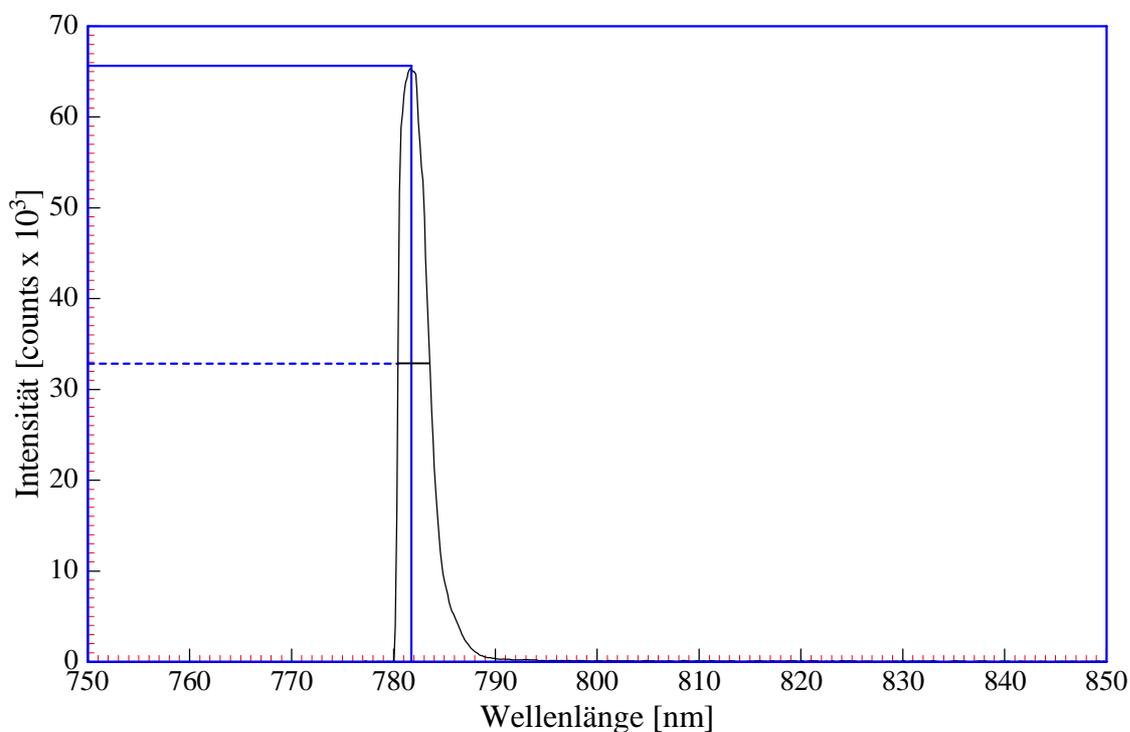
Das Ramansystem bestand aus einem Laser und einem Spektrometer. Das System hatte verschiedene Anforderungen zu erfüllen. Ein nicht ganz unwichtiger Punkt war letztendlich, mit einem Ramansystem zu arbeiten, das später auch im Feld eingesetzt werden könnte. Diese führte zu einem Ramansystem (Typ R2000) der Firma Ocean-Optics, das sich unter anderem durch einen handlichen Aufbau auszeichnete, und zudem im Vergleich zu herkömmlichen Raman-Apparaturen kostengünstig war.

##### **3.1.1 Laser des Ramansystems**

Die Strahlungsquelle mußte eine sehr hohe Intensität haben, so daß nur ein Laser in Frage kam. Desweiteren sollte die Strahlungsquelle im infraroten Bereich liegen, so daß Störungen durch eventuelle Fluoreszenzeffekte, die ansonsten bei kurzwelligeren Anregungen auftreten, ausgeschlossen werden konnten. Diese Überlegungen führten zu einem Infrarot Dioden-Laser. Der im Ramansystem R2000 integrierte Laser sollte laut Datenblatt [30] bei einer Wellenlänge von 785 nm an seinem Ausgang eine Leistung von ca. 500 mW vorweisen. In allen Versuchen wurde die Strahlung des Lasers über Glasfasern zur Probe gebracht.

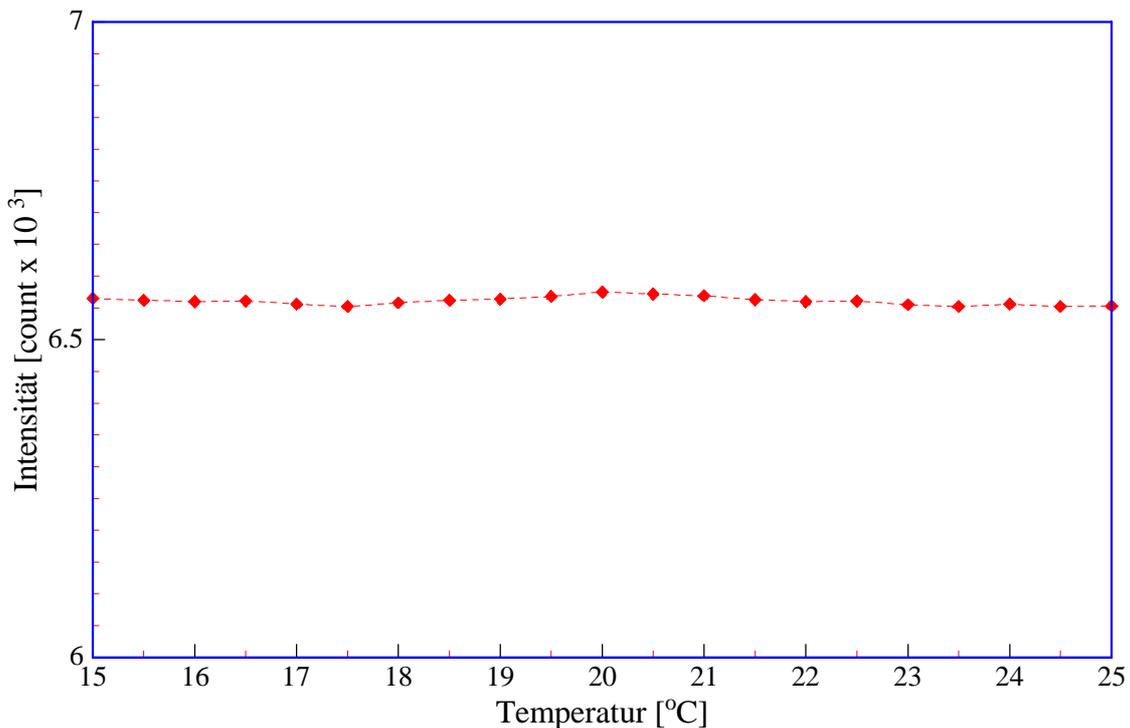
Je nach Glasfaser variierte die tatsächlich auf die Probe auftreffende Strahlungsleistung, die insgesamt jedoch für die Bestimmung der Nachweisgrenzen nicht von direktem Interesse ist, da verschiedene Ionenkonzentrationen jeweils mit dem gleichen Aufbau gemessen wurden; natürlich würde eine höhere Ausgangsleistung an der Probe unter geeigneten Umständen eine höhere Nachweisempfindlichkeit bedeuten.

Interessanter waren die Fragen, ob der Laser seine Wellenlänge und Intensität auf konstantem Niveau hält, und wie die Halbwertsbreite seiner Spektrallinie aussieht. Das Profil der Laserlinie wurde mit dem Spektrometer des Ramansystems bei einer Integrationszeit von einer Sekunde aufgezeichnet; das Mittel aus 50 Spektren ist in Abbildung 3-1 dargestellt. Die vergleichsweise hohe Halbwertsbreite der Laserlinie (3 nm) wird zum größten Teil durch das Spektrometer verursacht. Es erwies sich, daß die Regelelektronik den Laser bei einer Außen- bzw. Raumtemperatur zwischen 15°C und 25°C entsprechend stabilisierte, daß keine mit dem Spektrometer nachweisbaren Modensprünge auftraten und ein konstant bei 781,7 nm stehendes Maximum zu erkennen war. Zudem würden etwaige Verschiebungen der Laserlinie im Ramanspektrum durch die relativen Energiedifferenzen der Ramanstreuung korrigierbar sein.



**Abbildung 3-1:** Spektrallinie des Lasers aus dem R2000 Ramansystem mit der Laserlinie bei 781,7 nm und einer spektralen Breite von 3nm.

Die Intensität der Laserlinie blieb ebenfalls im Temperaturbereich von 15°C bis 25°C konstant. Die Abweichung der Intensitäten über die Temperatur ist vernachlässigbar; hierzu vergleiche man auch Abbildung 3-2. Hier wurde das Mittel aus 50 Spektren mit einer Integrationszeit von einer Sekunde gebildet, wobei zu bemerken ist, daß die Abweichung im Bereich einer konstanten Temperatur, das heißt für die 50 Spektren, in der Größenordnung des Spektrometerrauschens liegt und somit ebenfalls vernachlässigt werden kann.



**Abbildung 3-2:** Ausgangsintensität des Lasers in Abhängigkeit der Temperatur in einem Bereich von 15°C bis 25°C.

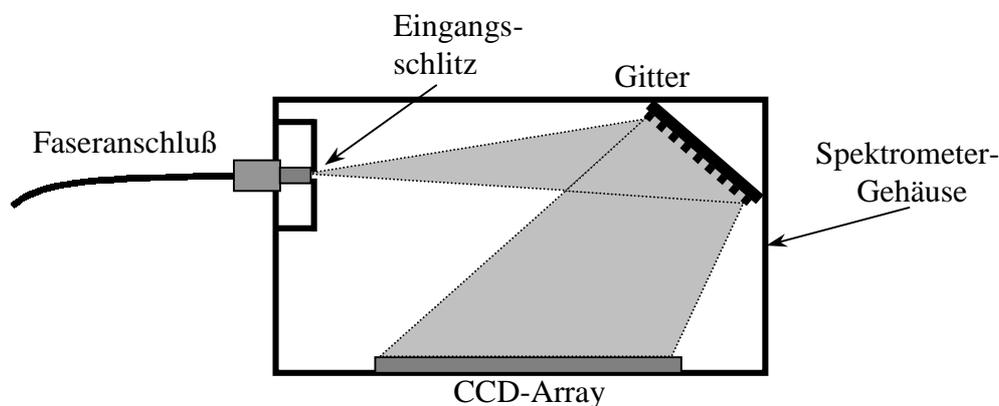
Abschließend bleibt zu erwähnen, daß für alle optischen Anordnungen Temperaturabhängigkeiten überprüft wurden und zu keiner Zeit nennenswerte Intensitätssprünge zu beobachten waren. Der Laser arbeitete über den gesamten Versuchszeitraum zuverlässig und stabil.

Ausgeliefert wurde der Laser mit einem mechanischen Schalter, der zum Ein- bzw. Ausschalten des Lasers diente. Leider war dieser für automatisierte Messungen nicht praktikabel. Gerade bei der Aufzeichnung von Dunkel- und Streuspektren mit kurzen Belichtungszeiten führte eine manuelle Betätigung zu großen Problemen. Es bestand jedoch die Möglichkeit, den Laser über eine externe Spannung ein- bzw. auszuschalten.

Da diese Spannung einen TTL-Pegel benötigte, bot es sich an, eine Ansteuerung über den Parallelport des Meßrechners zu realisieren. Hierzu mußte eine eigene Elektronik entwickelt werden. Für diese wurde zusätzlich ein Softwaretreiber geschaffen, so daß sich die Laseransteuerung problemlos in die Meßsoftware integrieren ließ. Hierdurch konnte eine vollkommen automatisierte Meßwerterfassung realisiert werden.

### 3.1.2 Spektrometer des Ramansystems

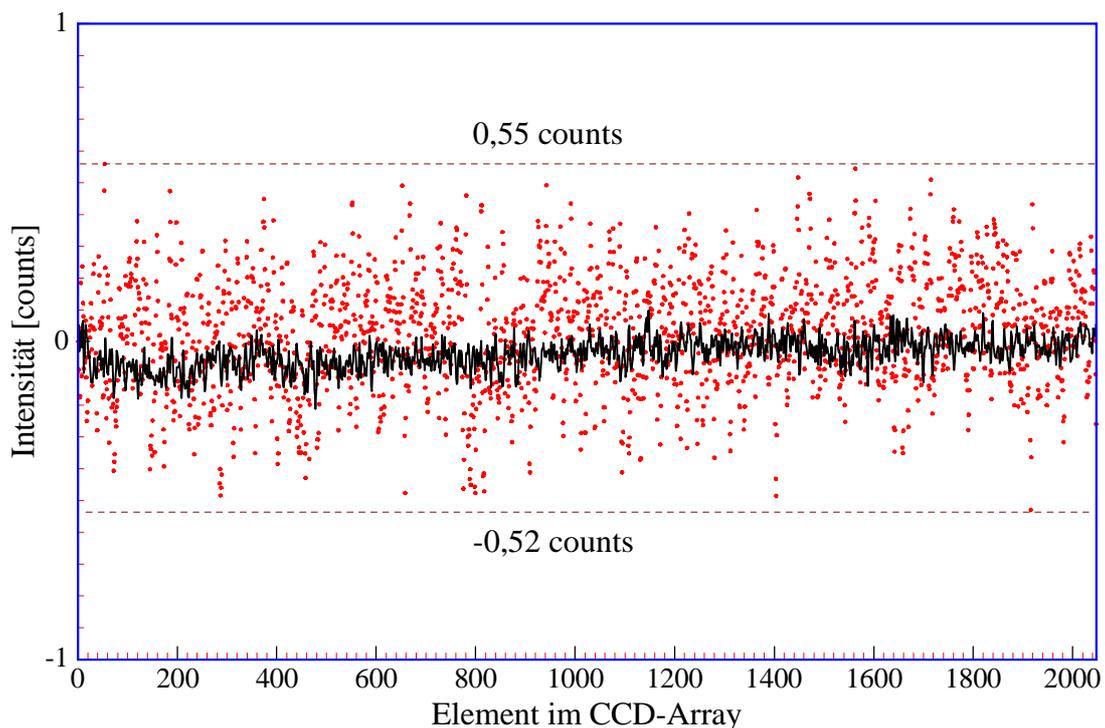
Neben dem Laser umfaßt das Ramansystem R-2000 ein Spektrometer. Dieses ist nach herkömmlichen Prinzip aufgebaut und besteht im wesentlichen aus einem Gitter und einer CCD-Zeile. Abbildung 3-3 zeigt den prinzipiellen Aufbau des Spektrometers. Die Streustrahlung wird über eine Glasfaser zum Spektrometer gebracht und gelangt über einen 50 µm Eingangsschlitz in das Innere des Spektrometers. Die Streustrahlung wird am Gitter (1200 Linien pro mm) spektral aufgefächert und trifft dann in Abhängigkeit ihrer Wellenlänge auf das CCD-Array. Zur Auswertung ist das CCD-Array letztendlich mit einem Computer verbunden.



**Abbildung 3-3:** Prinzipieller Aufbau des Spektrometers aus dem Ramansystem R2000.

Das CCD-Array besteht aus 2048 Elementen, die jeweils die einfallende Strahlungsleistung über einen einstellbaren Zeitraum (1 s – 60 s) integrieren. Nach Herstellerangaben hat jedes einzelne Element eine Empfindlichkeit von  $2,9 \cdot 10^{-17}$  Joule, was bei einer Belichtungszeit von einer Sekunde einer Leistung von  $2,9 \cdot 10^{-17}$  Watt entspricht. Auch hier sind allerdings nicht die absoluten Leistungen, sondern lediglich Vergleichswerte von Interesse. Es galt, die Stabilität der angezeigten Intensitäten zu überprüfen. Schon in Abbildung 3-2 kann man erkennen, daß das Spektrometer die Laserlinie mit konstanter Leistung anzeigt.

Darüber hinaus wurde das Spektrometer im abgedunkelten, in sich geschlossenen System mit weiteren Strahlungsquellen überprüft, wobei sowohl im Zeit- als auch im Temperaturbereich keine nennenswerten Abweichungen auftraten. Die Anzeige der Intensität blieb in allen Fällen stabil, das heißt, eventuelle Änderungen liegen jeweils in der Größenordnung des Spektrometerrauschens. Das Eigenrauschen des CCD-Arrays konnte nicht absolut bestimmt werden. Es war lediglich das Rauschen des gesamten Spektrometers zu messen, was aber wesentlich durch das Rauschen des CCD-Arrays bestimmt wird. Zur Bestimmung des Rauschens wurden die Intensitäten der einzelnen Elemente des CCD-Arrays für ein abgedunkeltes Spektrometer gemessen. Es wurden jeweils 50 Spektren bei verschiedenen Temperaturen von 15°C bis 25°C und einer Integrationszeit von einer Sekunde aufgezeichnet, und die Differenzen zwischen ihnen untersucht. Erwartungsgemäß zeigte das Spektrometer bei den höheren Temperaturen ein stärkeres Rauschverhalten (thermisches Rauschen), so daß in Abbildung 3-4 der ‚schlechteste Fall‘ bei 25°C dargestellt ist.



**Abbildung 3-4:** Mittel- und Maximalwerte des Eigenrauschens der verschiedenen CCD-Array-Elemente im Spektrometer (Mittelwerte: Rote Punkte / Maximalwerte: Schwarze Linie).

Die durchgezogene Linie zeigt das Intensitätsmittel der einzelnen Elemente, während die Punkte die Maximalabweichungen des jeweiligen Elementes repräsentieren. Es ist deutlich erkennbar, daß selbst im schlechtesten Fall das Rauschen des Spektrometers unter einem Wert von  $+ 0,55$  counts bzw.  $- 0,52$  counts liegt. Die Maximalwerte der geringeren Temperaturen liegen bei niedrigeren Werten. Bei  $15^{\circ}\text{C}$  hat das Spektrometer nur noch ein Rauschen von  $\pm 0,35$  counts. Zu weiteren Testzwecken wurde das Spektrometer versuchsweise thermoelektrisch auf eine Temperatur von  $- 2^{\circ}\text{C}$  gekühlt, wobei die Intensität des Rauschens nur noch wenig ( $\pm 0,30$  counts) nachließ. Es zeigte sich aber an der Tendenz auch, daß die Intensität des Rauschens gerade bei den höheren, weiter im Infrarot liegenden Elementen bei steigenden Temperaturen, wie erwartet, durch das thermische Rauschen stark zunimmt. Im Verlauf der Experimente stellte sich heraus, daß das durch den optischen Aufbau bedingte apparative Rauschen in einem viel höheren Maße Störungen hervorruft als das des Spektrometers. Das Eigenrauschen des Spektrometers konnte somit bei einer Versuchstemperatur von  $20^{\circ}\text{C}$  in der Regel als vernachlässigbar angesehen werden. Hier lag es bei  $\pm 0,38$  counts. Das Spektrometer stellte somit in den Versuchen keine wesentliche Fehlerquelle dar.

Das Spektrometer, das heißt das Gitter im Zusammenspiel mit dem CCD-Array, umfaßte einen Wellenlängenbereich von  $777$  nm bis  $1011$  nm, was bei einer Laserwellenlänge von  $781,7$  nm einer möglichen Ramanverschiebung (vgl. 2.1.3.b) von  $0$   $\text{cm}^{-1}$  bis  $2900$   $\text{cm}^{-1}$  entspricht. Die Auflösung des Spektrometers ist bedingt durch seinen inneren optischen Aufbau allerdings schlechter als der einfache Quotient zwischen Umfang der Ramanverschiebung und der Anzahl der Elemente. Er wird vom Hersteller mit  $15$   $\text{cm}^{-1}$  angegeben [30].

Das Spektrometer wurde mit einer eigenen Schnittstellenkarte für den Meßrechner ausgeliefert. Hierzu gab es eine Software, welche die Möglichkeit bot, einfache Spektren aufzuzeichnen. Leider war diese Software für die Meßaufgaben nur bedingt zu gebrauchen. Auch hier mußte eine eigene Software entwickelt werden, die den gestellten Anforderungen gewachsen war. Diese wird in Abschnitt 3.4 näher vorgestellt. Es sei nur hier schon erwähnt, daß sich mit der Integration der Ansteuerung des Lasers in die Meßsoftware und einer speziellen Aufzeichnung der Spektren ein automatisierter Meßablauf realisieren ließ, der nur noch einer geringen Kontrolle bedurfte. Somit konnten umfassend Daten aufgenommen werden, die ein insgesamt besseres Bild der durchgeführten Untersuchungen widerspiegeln.

## 3.2 Optische Versuchsanordnungen

Zunächst wurden die Nachweisgrenzen ohne äußeren Einfluß durch Elektrophorese bestimmt. Hierzu wurden Messungen mit verschiedenen optische Anordnungen durchgeführt. Um den Störeinfluß durch äußere Störstrahlung gering zu halten, wurden alle Versuche in einer abgedunkelten Kammer durchgeführt, zu der die beiden Fasern für die Laser- und Streustrahlung die einzigen Schnittstellen bildeten.

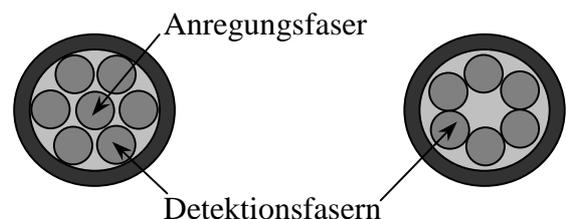
Die unterschiedlichen optischen Aufbauten gliederten sich in zwei Teile. Der erste Teil der Anordnungen diente lediglich Untersuchungen ohne Elektrophorese, das heißt ohne Kapillare. Der zweite hingegen bestand aus verschiedenen Optiken, die sowohl mit als auch ohne Elektrophorese untersucht wurden, also optischen Systemen, die auf die Kapillare zielten.

### 3.2.1 Optische Anordnungen ohne Kapillare

Die optischen Anordnungen ohne Kapillare bestanden aus drei grundlegend verschiedenen Aufbauten. Der erste bestand aus der Sonde, die mit dem Ramansystem mitgeliefert wurde. Ein zweiter bestand aus zwei separaten Linsensystemen für Anregung und Streuung. Die dritte Anordnung arbeitete ebenfalls mit externen Linsen und Filtern, beinhaltete jedoch zusätzlich einen Strahlteiler. Es sei hier bereits erwähnt, daß alle verwendeten Linsen aus BK7-Glas mit einer aufgedampften Anti-Reflexions Beschichtung für einen Bereich von 650 nm - 1050 nm bestehen. Die genauen Daten entnehme man den Datenblättern [33].

#### 3.2.1.a Sonde des Ramansystems

Die Sonde des Ramansystems bestand aus einer Anordnung verschiedener Glasfasern. Sie vereinigte auf der Probeseite eine Anregungsfaser ( $\varnothing$  400  $\mu\text{m}$ ) und sechs Detektionsfasern ( $\varnothing$  200  $\mu\text{m}$ ), die gemäß Abbildung 3-5 (links) angeordnet waren. Als Anschluß an das Spektrometer diente ein SMA905 Stecker, in dem die Detektionsfasern wie in Abbildung 3-5 (rechts) angeordnet waren. Auch die Anregungsfaser wurde über einen SMA905 Stecker mit dem Lasermodul verbunden.

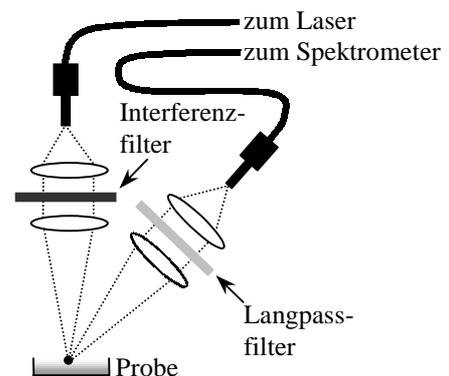


**Abbildung 3-5:** Aufbau der Fasersonde Sonden-seite (links) und Spektrometeranschluß (rechts).

Hinzu kam, daß die Detektionsfasern an ihrem Ende mit einer Filterschicht bedampft waren, um die Rückstreuung der Laserlinie möglichst gering zu halten. Durch die Beschaffenheit der Fasern entsteht an ihrem Ausgang für gewöhnlich ein unerwünschtes Spektrum, das neben der Laserlinie noch einen durch in der Faser enthaltenes Silikat verursachten Streuanteil enthält, der im Bereich zwischen  $300\text{ cm}^{-1}$  und  $1600\text{ cm}^{-1}$  im Spektrum sehr stark vertreten ist und die Messungen stört. Um dieses zu vermeiden, war die Anregungsfaser an ihrem Ende nach Angaben des Herstellers mit einer Beschichtung entsprechend behandelt. Leider war es nicht möglich, eine genaue Beschreibung oder einen Frequenzgang dieser Beschichtungen zu erhalten. Es wurde lediglich zugesichert, daß die Sonde in den zu untersuchenden Lösungen (Salzlösungen verschiedener Konzentration) invasiv betrieben werden konnte. Dieses bestätigte sich auch in den Experimenten. Als unglücklich stellte sich die spektrometerseitige Aufteilung der Fasern dar; hier wäre eine lineare Anordnung sicherlich von Vorteil gewesen, da sie eine bessere Ausleuchtung des Spektrometerspaltes gewährleistet hätte. So belichteten im wesentlichen zwei Fasern den Spalt mit der Streustrahlung. Desweiteren waren weder Anregungs- noch Detektionsfasern angeschliffen, so daß die Fasern lediglich in ihrem Aperturwinkel Strahlung abgaben bzw. aufnahmen. Die Versuche mit dieser Sonde geschahen sowohl invasiv wie auch in verschiedenen Abständen über der zu untersuchenden Lösung.

### 3.2.1.b Separate optische Anordnungen

Die separaten optischen Anordnungen bestanden aus zwei Systemen, die vereinfacht in Abbildung 3-6 dargestellt sind. Prinzipiell sind es zwei Mikroskopoptiken, die jeweils um einen Filter ergänzt sind. Die Anregungsstrahlung wird durch eine Faser zur Anregungsoptik geführt, wie auch die Streustrahlung durch eine Detektionsfaser zum Spektrometer geleitet wurde. Aus Gründen des in Abschnitt 3.2.1.a geschilderten störenden Silikat-hintergrunds wurde in den Strahlengang der Anregungsoptik ein Interferenzfilter (50% Durchlaß bei  $782\text{ nm}$ , Halbwertsbreite  $\pm 5\text{ nm}$ ) integriert, welcher zwar die Strahlungsintensität der Erregerstrahlung halbierte, jedoch den Silikathintergrund nahezu vollkommen unterdrückte.



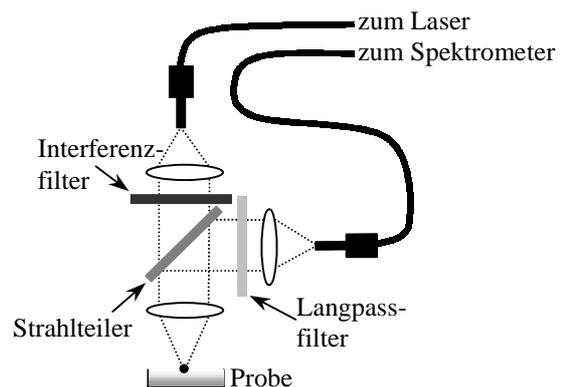
**Abbildung 3-6:** Prinzipieller Aufbau der 45°-Anordnung der optischen Systeme.

Auf Seiten der Detektoroptik kam ein Langpaßfilter Typ RG830 mit einer Kantenwellenlänge von 830 nm zum Einsatz, der die Laserlinie und einen somit entstehenden etwaigen Silikathintergrund durch die Detektionsfaser beseitigte, für langwelligere Streustrahlung aber durchlässig war. Die Optiken waren in einem Winkel von  $45^\circ$  angeordnet, so daß eine Reflexion der Erregerstrahlung in die Detektionsfasern vermieden wurde. Beide Optiken waren mechanisch so zu justieren, daß sich ihre Brennpunkte auf der Probe vereinigten. Ebenso war der Faserverbinder der Streuoptik zur effektiveren Einkoppelungen verstellbar.

### 3.2.1.c Optische Anordnung mit Strahlteiler

Wesentliches Element der Strahlteileroptik war, wie es der Name sagt, ein Strahlteiler. Er bildete den Kern des Systems. Der Aufbau der Anordnung ist in Abbildung 3-7 dargestellt. Es wurde eine Linos-Photonics Strahlteilerplatte verwendet, die im Bereich von 400 nm-1100 nm ein Transmissions-/Reflexionsverhältnis von 50:50 aufwies [32]. Diese Strahlteilerplatte wurde in die parallelen Strahlengänge der Anregungs- und Streuoptik in einem  $45^\circ$  Winkel eingebracht, so daß beide Strahlengänge vereinigt auf die Probe trafen. Somit wurde gewährleistet, daß beide Strahlengänge immer einen gemeinsamen Brennpunkt hatten, der lediglich auf die Probe fokussiert werden mußte. Eine genaue Einstellung wie bei den separaten Optiken (vgl. Abschnitt 3.2.1.b)

wurde somit unnötig. Gleichwohl mußte auch in dieser Anordnung aus obigen Überlegungen mit Filtern gearbeitet werden. Dieses verbunden mit der 50:50 Transmissions-/Reflexionsverhältnis der Strahlteilerplatte hatte den Effekt, daß nur noch ein Viertel der eigentlichen Laserintensität die Probe anregten, und zudem lediglich die Hälfte der Streustrahlung von der Strahlteilerplatte in die Streuoptik reflektiert wurde. Diese Anordnung wurde, fokussiert auf eine Kapillare, auch in den elektrophoretischen Aufbauten untersucht.



**Abbildung 3-7:** Prinzipieller Aufbau der Anordnung mit Strahlteiler.

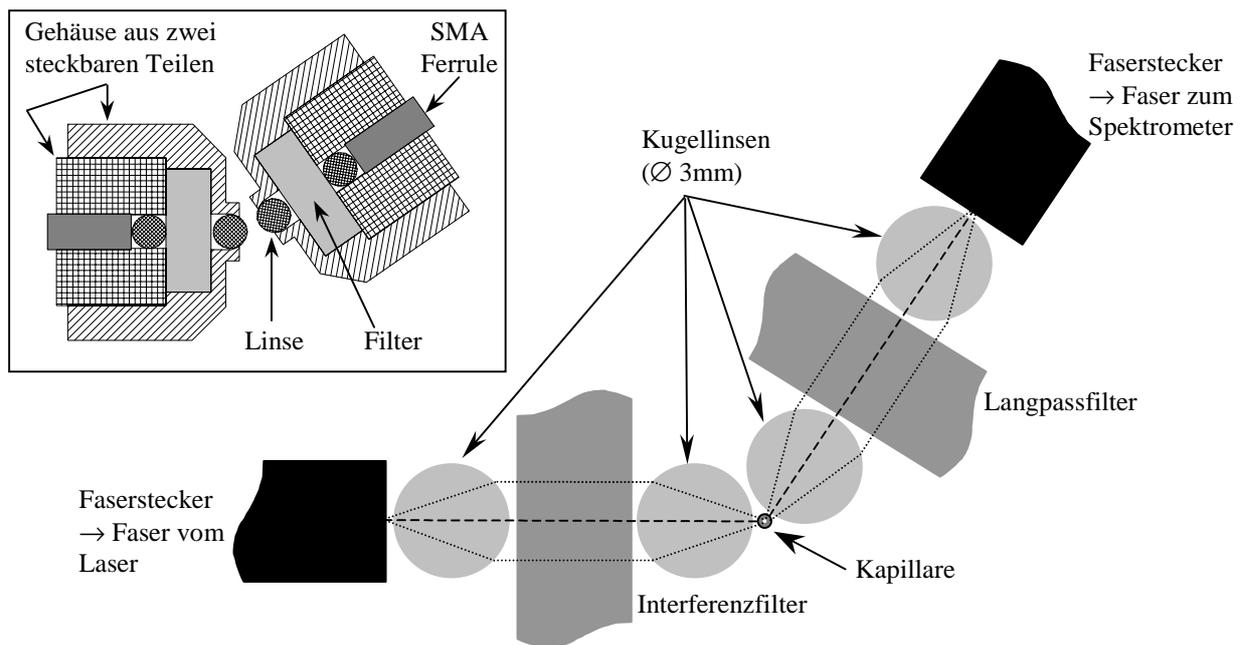
### **3.2.2 Optische Anordnungen an den Kapillaren**

Die optischen Anordnungen an den Kapillaren entsprachen im wesentlichen den Aufbauten ohne Kapillare, wie in Abschnitt 3.2.1 beschrieben. Die Unterschiede bestanden darin, daß die Sonde des Ramansystems im Falle der Kapillare nicht untersucht wurde, und die separaten Optiken (vgl.3.2.1.b) anstelle von  $45^\circ$  nun in einem Winkel von jeweils  $90^\circ$  gegen die Flußrichtung des Kapillaren angeordnet wurden.

Das Effekt der Reflexion bei einer Anordnung der Optiken in einem Winkel von  $45^\circ$  war sehr viel stärker als in einem Winkel von  $90^\circ$ , da das Silikatglas der Kapillare augenscheinlich bei  $45^\circ$  bedeutend mehr Strahlung reflektierte. Der Aufbau mit Strahlteilerplatte wurde beibehalten, wobei anstelle der Probe die Kapillare rückte. Hinzu kam noch ein optischer Aufbau, der aus vier Kugellinsen bestand und sich im Verlauf der Experimente als beste Anordnung auszeichnete. Die Kapillaren bestanden aus Silikatglas mit einem Außendurchmesser von  $360\ \mu\text{m}$  und verschiedenen Innendurchmessern ( $50\ \mu\text{m}$ ,  $75\ \mu\text{m}$  und  $100\ \mu\text{m}$ ) und verursachten einen störenden Silikathintergrund im Streuspektrum, der aber als konstante Störung verrechnet und beseitigt werden konnte.

#### **3.2.2.a Optik mit Kugellinsen**

In den Grundzügen entsprach der Aufbau mit Kugellinsen dem der separaten Optiken. Es stellte sich jedoch heraus, daß er die besten Ergebnisse lieferte, obwohl Fokussierung und Handhabung deutlich diffiziler waren, als bei den anderen Anordnungen. Die Linsen bestanden aus dem Schott-Glas LaSF N9 [35] und waren ebenfalls mit einer Anti-Reflexions Schicht für den Bereich von  $750\ \text{nm}$  –  $1550\ \text{nm}$  versehen. Abbildung 3-8 zeigt maßstabgerecht den Aufbau der Kugellinsenoptik mit den angedeuteten Strahlverläufen. Man sieht deutlich an den Dimensionen der Linsen und der Kapillare, wie klein das System ist, wobei die Filter nur in ihrer Dicke, nicht aber in ihrem Durchmesser dem Maßstab entsprechen. Beide Filter wurden entsprechend den Überlegungen aus Abschnitt 3.2.1.a auch in dieser Anordnung benötigt. Der Winkel von  $145^\circ$  zwischen Anregungs- und Streuoptik ist bedingt durch den Durchmesser der Kugellinsen und dem daraus resultierenden mechanischen Aufbau. Dieser mußte eigens für die durchzuführenden Untersuchungen entwickelt und angefertigt werden. Er ist im Inset-Bild von Abbildung 3-8 dargestellt. Es handelt sich hierbei um zwei diskrete optische Systeme, deren Brennpunkte auf die Kapillare fokussiert werden müssen.

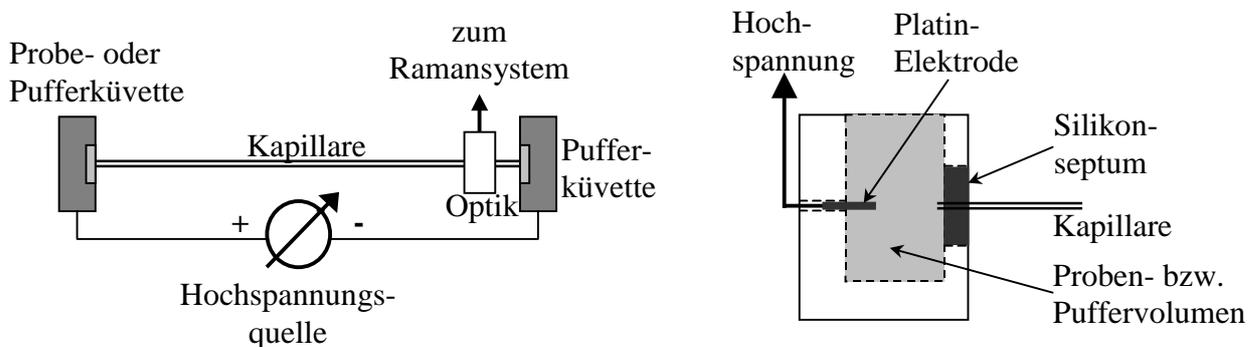


**Abbildung 3-8:** Strahlverlauf des Aufbaus mit Kugellinsen an einer Kapillare, wobei der Winkel nicht dem tatsächlichen Winkel entspricht. Im Inset-Bild ist die maßstabgerechte und winkeltreue technische Realisierung und Anordnung der beiden optischen Meßköpfe dargestellt.

Im Grundaufbau besteht ein optisches System aus zwei Kugellinsen und einem Filter, die in Bohrungen verschiedenen Durchmessers mechanisch geführt und letztendlich aufeinander gepreßt werden. Auch die Ferrule des SMA-Faseranschlusses wird mechanisch geführt, jedoch zusätzlich durch eine Schraube fixiert. Auf der anderen Seite ist das System offen, so daß der Brennpunkt der Kugellinse auf die Kapillare fokussiert werden kann. Die Kugellinsen mußten einen Durchmesser von 3 mm haben, da Linsen mit geringerem Durchmesser ihren Fokus außerhalb des Kapillarvolumens in der Kapillarwand hatten. Linsen mit größerem Durchmesser verursachten hingegen einen größeren Winkel, was wiederum eine stärkere, störende Direkteinstrahlung der Laserlinie in die Streuoptik zur Folge hatte. Die numerischen Aperturen der Fasern, das heißt, die Austritts- bzw. Eintrittswinkel der Strahlung hatten lediglich einen geringen Einfluß, so daß eine minimale Nachregelung der Optik notwendig war. Auch bei dieser optischen Anordnung wurden die Ein- und Auskopplung an den Fasern notwendigerweise mechanisch einstellbar gehalten.

### 3.3 Elektrische Versuchsanordnung

Die elektrische Versuchsanordnung kam nur im Fall der elektrophoretischen Untersuchungen zum Einsatz. Die einzige Anforderung an das Netzteil bestand in der Bereitstellung einer ausreichend hohen Spannung mit einem entsprechenden Strom, um in der Kapillare ein elektrisches Feld zu generieren, das kurze Analysezeiten gewährleistet. In der herkömmlichen Elektrophorese sind Hochspannungen im Bereich von 20 kV bei Kapillarlängen bis 100 cm gängig, was einer resultierenden Feldstärke von  $200 \text{ V}\cdot\text{cm}^{-1}$  entspricht. Im Fall der vorliegenden Arbeit lagen die Kapillarlängen im Bereich von 10 (15) cm, 15 (20) cm und 20 (25) cm<sup>8</sup>. Es stand ein Hochspannungsnetzteil der Firma Ortec zur Verfügung, das eine regelbare Hochspannung von bis zu 4 kV bei einem Strom von bis zu 10 mA lieferte [36]. Entsprechend konnten im Fall der 20 cm Kapillare, die als Grundlage für die Berechnung des elektrischen Feldes eine Länge von 25 cm hatte, Feldstärken von bis zu  $160 \text{ V}\cdot\text{cm}^{-1}$  entstehen. Abbildung 3-9 zeigt die Integration des Hochspannungsnetzteils und den prinzipiellen Versuchsaufbau. Zwischen zwei Küvetten liegt die Kapillare, die während der Versuche sowohl in der Länge als auch im inneren Durchmesser verändert wurde. In einer Entfernung von 5 cm vor der anodenseitigen Pufferküvette liegt die Detektoroptik.



**Abbildung 3-9:** Links: Prinzipieller Aufbau der Versuchsanordnung zur Kapillarelektrophorese. Rechts: Aufbau einer Proben- bzw. Pufferküvette.

In Abbildung 3-9 ist ebenso der Aufbau einer Küvette dargestellt. Die Küvette bestand aus einem Plexiglas-Körper und beinhaltete je nach Anordnung das Probe- oder Puffervolumen. Die Hochspannung wird durch eine Platinelektrode mit der Lösung im Küvettenvolumen verbunden.

<sup>8</sup> Die Werte in Klammern bedeuten die für die Berechnung des Feldes wichtigen Kapillarlängen, während die anderen Werte die Entfernung bis zur Detektoroptik repräsentieren.

Die Kapillare taucht direkt in die Lösung, wobei zum wasserdichten Verschluss zwischen Kapillaroberfläche und Plexiglas ein Silikonseptum liegt. Nicht eingezeichnet ist der Deckel der Küvette. Dieser konnte nach Befüllung mit der Lösung mit einem weiteren Silikonseptum abgedichtet werden. Durch dieses konnte mit einer Spritzenkanüle ein hydrostatischer Druck durch die Küvette in die Kapillare weitergegeben werden; die Kapillare auf diese Weise also durch Überdruck befüllt werden. Ferner bleibt zu erwähnen, daß die Kapillare durch einen permanenten Luftstrom gekühlt wurde, um eine eventuelle Ausgasung zu vermeiden (vgl. Abschnitt 2.2.2).

Die verwendeten Silikat-Kapillaren stammten von der Firma CS-Chromatographie Service und hatten, wie bereits erwähnt, einen Außendurchmesser von 360  $\mu\text{m}$ , bei verschiedenen Innendurchmessern von 50  $\mu\text{m}$ , 75  $\mu\text{m}$  und 100  $\mu\text{m}$ . Die äußere Oberfläche der Kapillare war zum mechanischen Schutz mit einer Polyimid-Schicht belegt, die am Detektor mit Aceton entfernt werden mußte. Im Inneren waren die Kapillaren unbelegt, das heißt nicht mit einer Oberflächenbeschichtung versehen, die den elektroosmotischen Fluß verhindert (vgl. Abschnitt 2.2.3). Ferner wurden verschiedene Kapillarlängen bei unterschiedlichen Spannungen untersucht. Man beachte die Polarität der Hochspannung in Abbildung 3-9. Wie bereits in der Theorie erwähnt (vgl. Abschnitt 2.2.3) war der elektroosmotische Fluß so stark, daß die zu untersuchenden Anionen gegen das elektrische Feld der Hochspannung zur Kathode wanderten. Dieser Effekt war aber durchaus gewollt, wie in Abschnitt 4.2.1 näher erläutert werden wird.

### **3.4 Meßwerterfassung**

An dieser Stelle sollen einige Worte zur Meßwerterfassung erfolgen. Nachdem in den vorherigen Abschnitten die „Hardware“ der Meßanordnung vorgestellt wurde, soll die Software kurz betrachtet werden. Das Spektrometer benötigte zum Betrieb einen Computer, auf dem eine entsprechende Betriebssoftware lief. Mit dieser Software war eine automatisierte Messung allerdings schwerlich zu realisieren. Glücklicherweise gab es vom Spektrometerhersteller ein Softwaremodul, das die einfache Anbindung an die Programmiersprache<sup>9</sup> LabView von National-Instruments erlaubte. Gleichwohl mußten zwei verschiedene Softwaresysteme entwickelt werden, eines für die zeitunabhängige Messung ohne Kapillarelektrophorese und ein weiteres für die zeitaufgelösten Messungen mit Kapillarelektrophorese. Anhand der entwickelten Programme ließen sich weitgehend automatisierte Messungen durchführen.

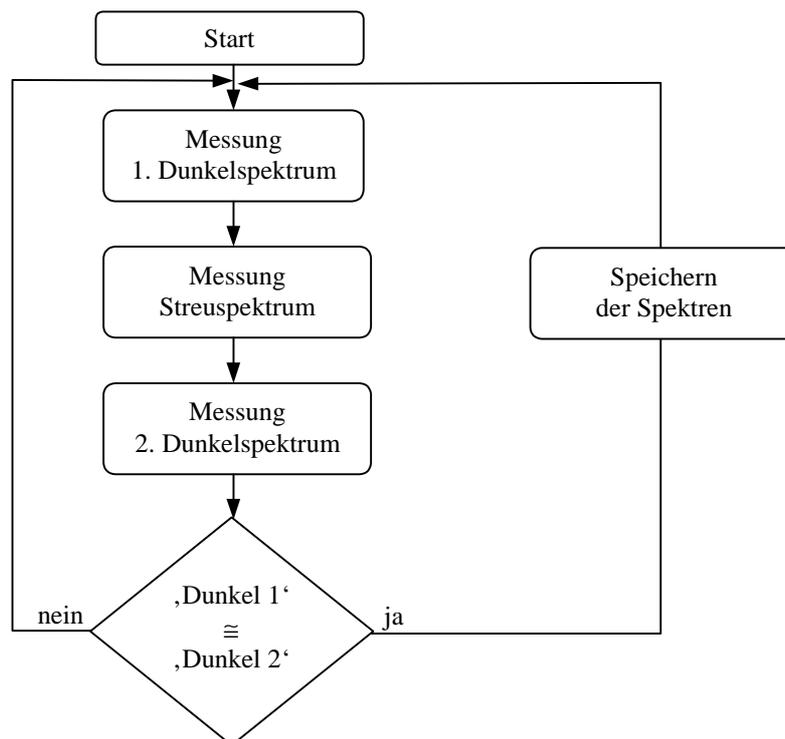
Neben diesen beiden Programmen, wurde noch eine weitere Software entwickelt. Sie bot die Möglichkeit, die aufgezeichneten Spektren mathematisch auszuwerten. Die primäre Aufgabe bestand darin, eine eventuell schwankende Laserleistung zu detektieren und das Spektrum gegebenenfalls zu korrigieren. Obwohl der Laser sehr zuverlässig arbeitete, wurde die Intensität seiner Linie permanent gemessen. Dieses fiel vergleichsweise einfach, da die Linie im Spektrometer automatisch bei einer Ramanverschiebung von  $0 \text{ cm}^{-1}$  aufgezeichnet wurde. Ferner wurde bei allen Anordnungen auf der Empfängerseite zwischen Rückstreuung der Probe und Spektrometer ein Langpassfilter eingesetzt, so daß die gestreute Laserlinie entsprechend gedämpft wurde und das Spektrometer nicht übersteuerte. Durch die Messung der Intensität der Laserlinie konnten alle Spektren auf eine definierte Laserintensität normiert werden, was eine Vergleichbarkeit der Spektren sicherte. Desweiteren konnten neben einfachen statistischen Kenngrößen verschiedene Kurvenformen mit den Meßdaten korreliert werden. Hierbei bot es sich physikalisch an, die optischen Spektren mit einer Lorentz-Verteilung in Beziehung zu setzen. Eine kurze erweiterte Betrachtung zu dieser Annäherung findet sich im Anhang dieser Arbeit. Man beachte, daß dieses Verfahren für alle Spektren der Arbeit verwendet wurde. Lediglich Spektren, bei denen ein besonderes Augenmerk der Struktur der Linie geschenkt wurde (vgl. z.B. Abschnitt 4.1.1), wurden unbehandelt untersucht und ausgewertet.

---

<sup>9</sup> Bei ‚LabView‘ handelt es sich nicht im eigentlichen Sinne um eine Programmiersprache; es wird vielmehr eine Art grafische Oberfläche dargeboten, auf der nach bestimmten Regeln Programmabläufe definiert werden können.

### 3.4.1 Software für zeitunabhängige Messungen

Die zeitunabhängigen Messungen, also die Messungen ohne elektrophoretische Effekte, wurden alle mit demselben Programmablauf durchgeführt. Da die Konzentration der Probe über die Meßzeit nicht schwankte, konnten mehrere Spektren hintereinander aufgenommen werden. Abbildung 3-10 zeigt den Programmablaufplan, der als einzige Besonderheit eine doppelte Messung der Dunkelspektren, das heißt ohne Laserstrahlung enthält. Dieses diente im wesentlichen dazu, in der Auswertung die beiden Dunkelspektren zu vergleichen; war die Differenz zwischen beiden zu groß, so wurde das gemessene Streuspektrum verworfen. Als Gegenargument kann natürlich angeführt werden, daß sich beide Dunkelspektren zwar ähnlich sind, dennoch aber zur Zeit des Streuspektrums ein erhöhter Störanteil im Spektrum enthalten war. Dem entgegensetzen ist lediglich die Erkenntnis, daß im Experiment deutlich zu sehen war, daß bei kleinen Belichtungszeiten von einer Sekunde bis vier Sekunden die Qualität der Spektren mit einer oben beschriebenen Vorauswahl deutlich besser und reproduzierbarer war.



**Abbildung 3-10:** Programmablauf für die zeitunabhängigen Messungen.

Bei größeren Belichtungszeiten änderte sich das Dunkelspektrum stärker, so daß ein entsprechendes Dunkelstromkriterium nicht einsetzbar war. Für Annahme und Ablehnung der Spektren wurden verschiedene Toleranzen getestet. Als praktikabel erwies sich ein Wert, bei dem sich die Dunkelspektren von mindestens 80% der Elemente nur jeweils um einen Wert von 63% ( $=1-e^{-1}$ ) unterscheiden.

### **3.4.2 Software für zeitabhängige Messungen**

Für die zeitabhängigen Messungen wurde ein separates Programm entwickelt. Es wurde zunächst versucht, auch bei den zeitabhängigen Messungen Dunkelspektren zu bestimmen. Es stellte sich im Verlauf der Experimente heraus, daß bei diesem Meßablauf aufgrund der Geschwindigkeit der Ionenwanderung Belichtungs- bzw. Integrationszeiten von höchstens einer Sekunde erlaubt waren. Ein entsprechendes Dunkelspektrum von einer Sekunde konnte nicht mehr bestimmt werden, da die Gefahr bestand, ein am Detektor vorbeiziehendes Konzentrationsmaximum nur an seiner Flanke zu messen und hierdurch zu einer falschen Aussage zu gelangen. Kleinere Belichtungszeiten, bei denen die Messung des Dunkelstroms möglich gewesen wäre, lieferten wiederum ein deutlich schwächeres Signal und waren schlecht reproduzierbar. Aus diesen Gründen wurden bei allen zeitabhängigen Messungen Belichtungs- bzw. Integrationszeiten von einer Sekunde angesetzt und kein Dunkelspektrum bestimmt, das heißt, keine Dunkelstromkorrektur durchgeführt. Dieses war für die eigentliche Meßaufgabe auch nicht nötig, da bei der Auswertung die einzelnen Spektren bezüglich der Zeit verglichen wurden, und nur die Differenzen zu den vorhergehenden oder nachfolgenden Spektren von Interesse waren. Unter Verwendung derartiger Vergleiche konnte auch der Silikathintergrund der Kapillare im Streuspektrum als konstant angenommen und verrechnet werden. Der Programmablauf bestand also im Kern nur in der Aufzeichnung und anschließendem Speichern des Streuspektrums.

## **4 Messungen**

Der eigentliche Kern der Untersuchungen bestand in der Aufnahme verschiedener optischer Spektren. Zu Beginn wurden Experimente in den verschiedenen in Abschnitt 3.2 beschriebenen Anordnungen durchgeführt, wobei die Untersuchungen an den Kapillaren zunächst ohne elektrisches Feld in der Kapillare stattfanden. Es kamen nicht nur die tatsächlichen Meßlösungen zum Einsatz, der Vergleich verschiedener Belichtungszeiten geschah vielmehr aus Gründen der Reproduzierbarkeit und der besseren Handhabung mit Ethanol. Bei diesen Messungen wurden wichtige Erfahrungen über Handhabung und Meßfehler bezüglich der optischen Systeme gesammelt. Anschließend wurden die Versuche an den Aufbauten mit Kapillaren und unter Einfluß der Elektrophorese durchgeführt.

Sowohl ohne als auch mit elektrischem Feld wurden jeweils separat verschiedene Nitrat- und Sulfatlösungen untersucht. Abschließend wurden dann Experimente mit Gemischen verschiedener Nitrat- und Sulfatlösungen durchgeführt.

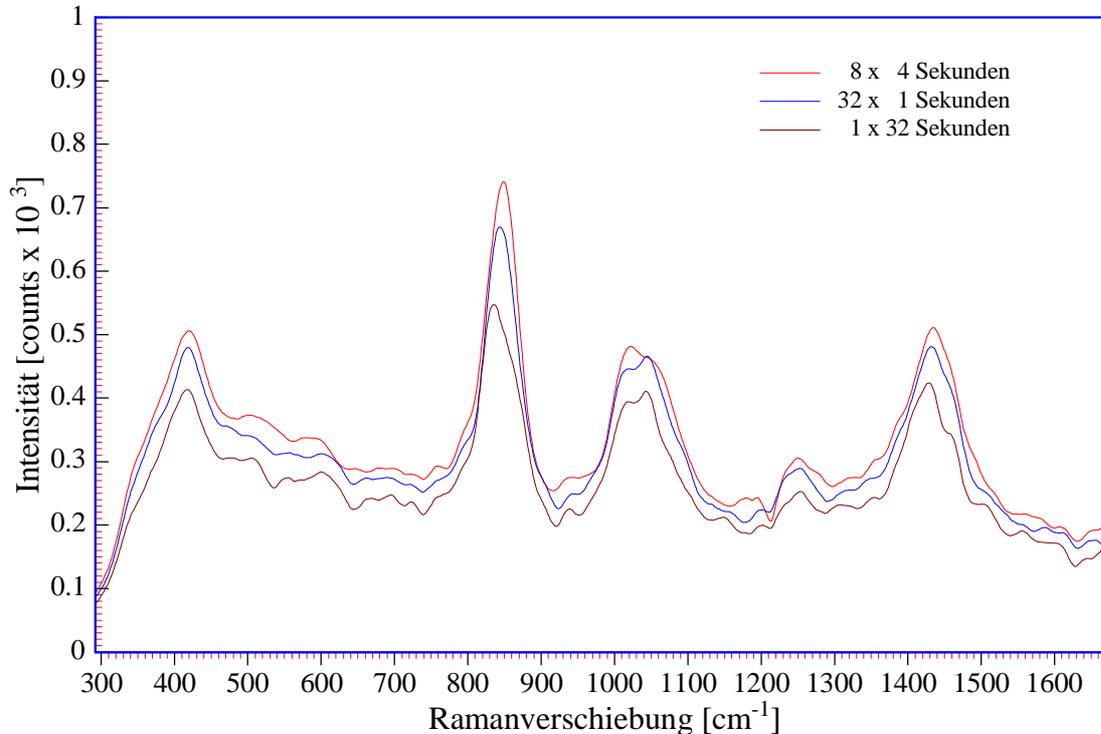
### **4.1 Untersuchungen mit verschiedenen optischen Anordnungen**

Wie bereits erwähnt, wurde zunächst mit Hilfe von Ethanol untersucht, mit welcher Belichtungs- bzw. Integrationszeit die Messungen effektiv durchzuführen sind. Erwartungsgemäß liefert eine lange Belichtungszeit auch eine hohe Maximalintensität. Wurden die Spektren jedoch nach dem in Abschnitt 3.4.1 vorgestellten Prinzip erfaßt, so ergab sich ein anderes Bild. Abbildung 4-1 zeigt das dunkelstromkorrigierte Ramanspektrum von Ethanol. Die dargestellten Spektren wurden unter verschiedenen Integrationszeiten aufgezeichnet, weisen jedoch durch Summenbildung alle eine gemeinsame Gesamtintegrationszeit von 32 Sekunden auf. Es ist deutlich zu erkennen, daß die Spektren, die mit einer Integrationszeit von vier Sekunden aufgezeichnet wurden, die größte Intensität<sup>10</sup> haben. Bei höheren Integrationszeiten läßt sich eine Erfassung gemäß Abschnitt 3.4.1 aufgrund der stärkeren Änderung des Dunkelspektrums nicht mehr durchführen, während bei geringeren Zeiten weniger Strahlung vom Spektrometer registriert wird. Mit der entsprechenden Vorauswahl der Spektren läßt sich somit eine deutliche Steigerung der Intensität der Meßspektren realisieren. Aus diesem Grunde wurde für alle zu messenden Spektren der Versuchsreihen ohne elektrisches Feld eine Integrationszeit von vier Sekunden gewählt.

---

<sup>10</sup> Die Intensität wird, sofern nicht anders angegeben, in Zählerständen (,counts‘) des Spektrometers angegeben. Auf diese Weise konnten verschiedene Spektren gut verglichen werden.

Es bleibt zu erwähnen, daß die Abweichung der Intensitäten der Einzelspektren im Vergleich der verschiedenen Integrationszeiten sehr gering war; sofern die Standardabweichung von Interesse ist, findet sie sich in den Diagrammen oder Tabellen wieder.

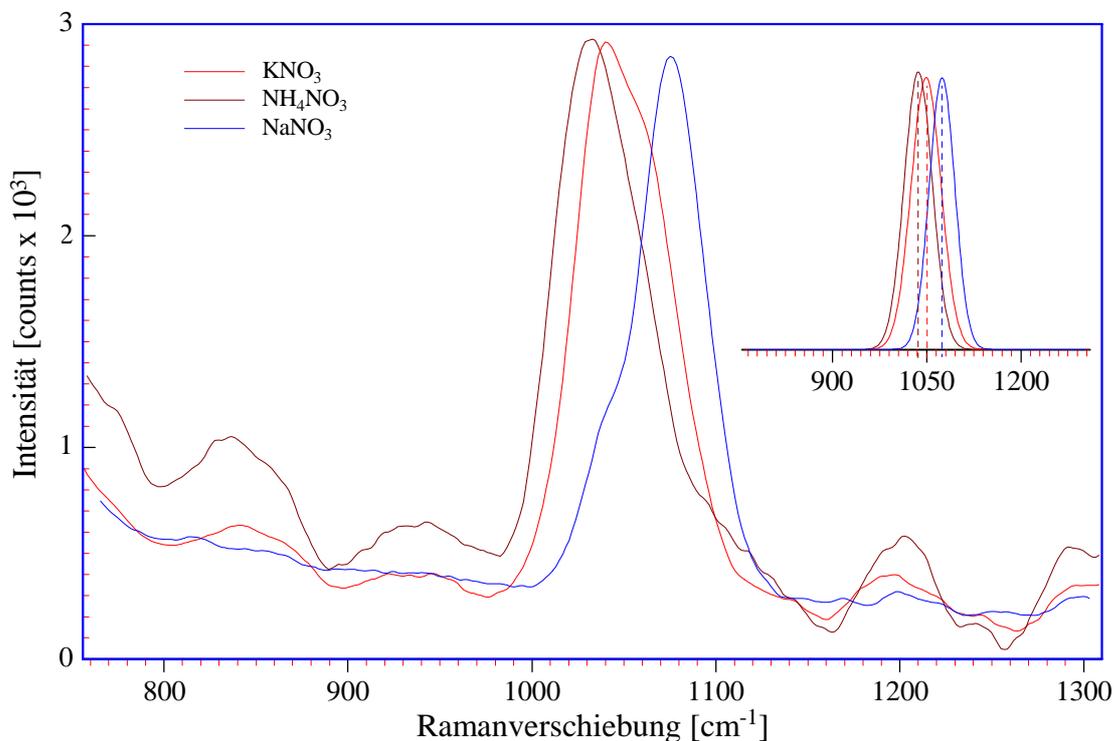


**Abbildung 4-1:** Ramanspektrum von Ethanol unter Verwendung verschiedener Integrationszeiten (unbehandelte Rohdaten des Spektrometers).

Ziel der Experimente war es, Konzentrationen unterschiedlicher Nitrat- und Sulfatlösungen zu bestimmen. Zunächst sollten diese mit verschiedenen optischen Anordnungen spektroskopisch auf die Stärke ihrer Ramanstreuung untersucht werden. Hierzu wurden verschiedene optische Anordnungen betrachtet (vgl. Abschnitt 3.2). Entweder unter Einsatz theoretischer Überlegungen und Berechnungen oder mit Hilfe von Experimenten können die verschiedenen ramanaktiven Übergänge von Nitrat und Sulfat bestimmt werden. Die für diese Arbeit interessanten Übergänge liegen laut Literatur für Nitrat bei einer Ramanverschiebung von 1050 cm<sup>-1</sup> und für Sulfat bei 996 cm<sup>-1</sup> [6],[7],[16],[19]. Beide Übergänge variieren in ihrer Ramanverschiebung in Abhängigkeit ihrer Kationen, so daß die Streubereiche nur ungefähr angegeben werden können. Aus diesem Grund wurden mit der Sonde des Ramansystems zunächst verschiedene Nitrat- und Sulfatverbindungen untersucht.

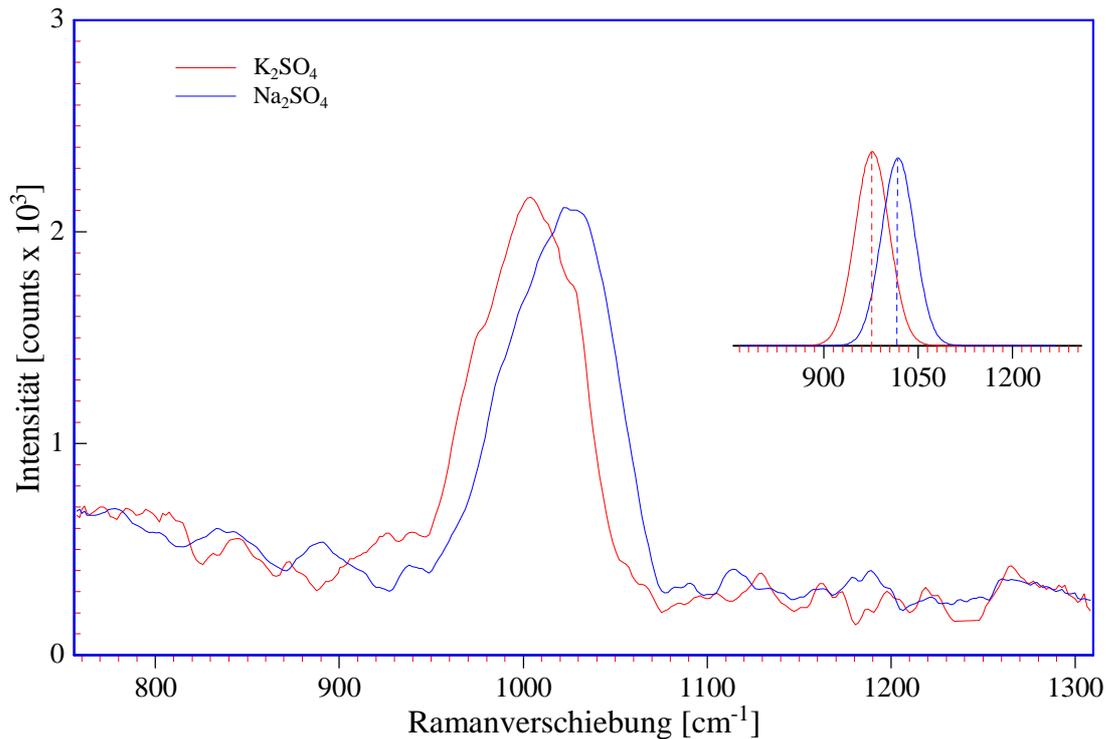
### 4.1.1 Sonde des Ramansystems

Das Ramansystem R2000 wurde mit einer speziellen Sonde (vgl. Abschnitt 3.2.1.a) ausgeliefert. Mit dieser wurden sowohl invasiv als auch in verschiedenen Abständen über der Probe Messungen angestellt. Die erste Aufgabe bestand in der Untersuchung von Salzen mit verschiedenen Kationen. Abbildung 4-2 zeigt den Mittelwert aus jeweils 100 Spektren von drei 0,1 molaren Nitratlösungen bei 20°C. Einerseits sind die Spektren unbehandelt dargestellt, das heißt nicht dunkelstromkorrigiert; andererseits sind im Inset-Bild die durch einen Lorentz-Fit berechneten Ramanlinien der einzelnen Spektren abgebildet.



**Abbildung 4-2:** Ramanspektren drei verschiedener Nitratlösungen (0,1 molar in Aqua Dest.) bei einer Integrationszeit von 4 Sekunden. Im Inset-Bild sind die durch einen Lorentz-Fit berechneten Ramanlinien dargestellt.

Während Kaliumnitrat (KNO<sub>3</sub>) und Ammoniumnitrat (NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>) annähernd die gleiche Ramanverschiebung aufweisen (1051 cm<sup>-1</sup> bzw. 1040 cm<sup>-1</sup>), ist Natriumnitrat deutlich von ihnen getrennt (1076 cm<sup>-1</sup>). In den berechneten Raman-Linien in Abbildung 4-2 erkennt man jedoch auch, daß die Intensitäten der Linien auf einem Niveau liegen, das sich von NaNO<sub>3</sub> zu NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> lediglich um ca. 11 counts unterscheidet. Es fällt auf, daß im Falle des Ammoniumnitrats ein starkes Störsignal im Spektrum vorhanden ist, das auch in abgeschwächter Gestalt im Kaliumnitratspektrum wiederzufinden ist. Das Natriumnitratspektrum hingegen hat nur ein geringes Hintergrundsignal.

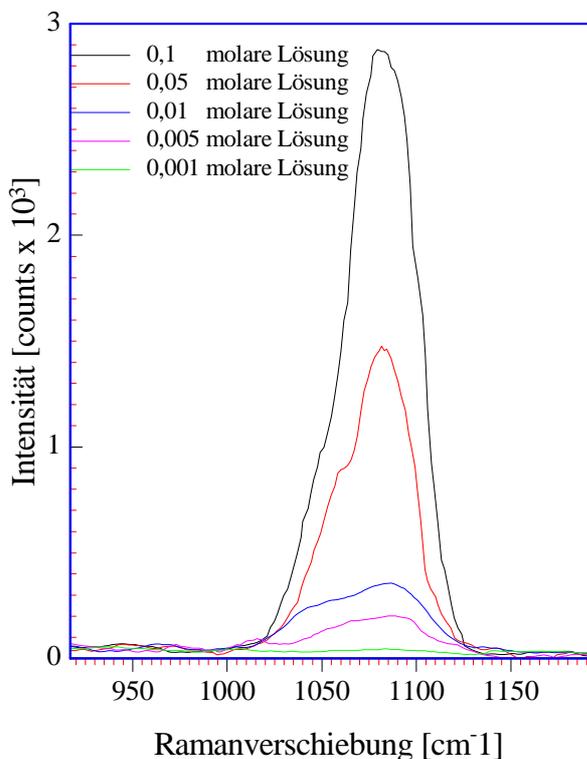


**Abbildung 4-3:** Ramanspektren zwei verschiedener Sulfatlösungen (0,1 molar in Aqua Dest.) bei einer Integrationszeit von 4 Sekunden. Im Inset-Bild sind die durch einen Lorentz-Fit berechneten Ramanlinien dargestellt.

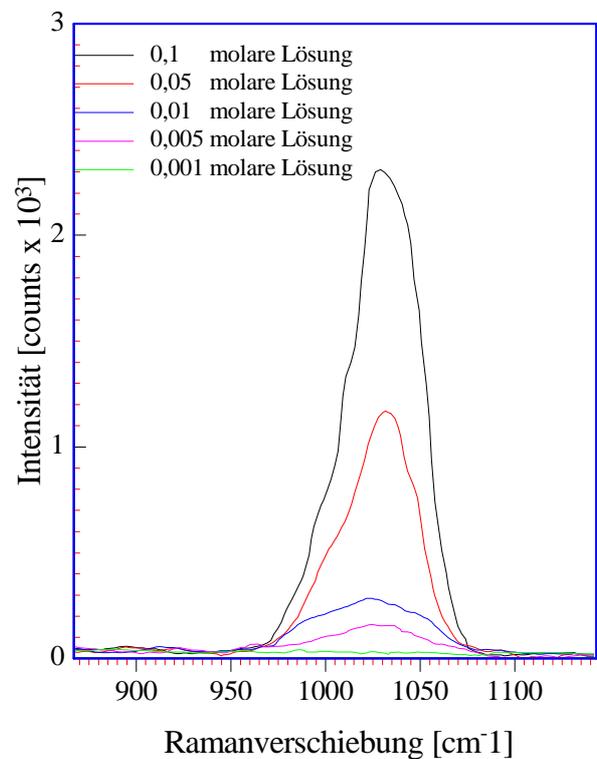
Um einen Vergleich zu erhalten, wurden anschließend mit  $\text{K}_2\text{SO}_4$  und  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  zwei Sulfatlösungen (0,1 molar) untersucht. Abbildung 4-3 zeigt die unkorrigierten Spektren der beiden Verbindungen, ebenfalls ermittelt aus je 100 Einzelspektren bei  $20^\circ\text{C}$ , sowie die berechneten Ramanlinien. Auch hier ist deutlich zu erkennen, daß beide Verbindungen nur wenig differieren, die Ramanverschiebungen jedoch mit  $1001\text{ cm}^{-1}$  und  $1027\text{ cm}^{-1}$  deutlich auseinander liegen.

Die Abbildungen der verschiedenen Nitrat- und Sulfatverbindungen zeigen bewußt die unbehandelten Rohspektren. Aus dem Vergleich der Abbildungen sind einige wichtige Erkenntnisse zu gewinnen: Zum einen ist bei beiden die Ramanverschiebung der Natriumverbindungen größer als die der Kaliumverbindungen. Die Ramanverschiebung von Kaliumsulfat liegt nur unwesentlich neben der von Ammoniumnitrat. Es ist vorhersehbar, daß ein Gemisch von beiden nicht mehr eindeutig trennbar ist und somit keine Aussage über die Zusammensetzung des Gemisches getroffen werden kann. Ferner ist zu bemerken, daß weder Nitrat- noch Sulfatverbindungen in Lösung eine einheitliche Ramanverschiebung aufweisen. Vielmehr variiert die Ramanverschiebung in Abhängigkeit der Kationen. Immerhin läßt sich feststellen, daß die Intensität der Streuung, wie erwartet, unabhängig von der Verbindung ist.

Unter Berücksichtigung der obigen Aspekte und aufgrund der Erfahrung, daß die Natriumverbindungen im Verhältnis zum Hintergrund das deutlichste Signal zeigten, wurden die folgenden Versuchsreihen mit Natriumnitrat bzw. Natriumsulfat durchgeführt. Zunächst wurden für Natriumnitrat- und Natriumsulfatlösungen verschiedener Konzentrationen Ramanspektren aufgezeichnet. Abbildung 4-4 zeigt die Ramanlinien der Natriumnitratlösungen bei  $1076\text{ cm}^{-1}$ , bestimmt aus 100 Spektren (Integrationszeit vier Sekunden) bei  $20^\circ\text{C}$ . Aus den Spektren wird deutlich, daß sich der lineare Zusammenhang zwischen Intensität der Linie und Konzentration der Lösung bestätigt. In Abbildung 4-4 wurde bewußt eine hohe Auflösung bezüglich der Ramanverschiebung gewählt, um die Form der Ramanlinie betrachten zu können. Zunächst fällt auf, daß die Linie der Ramanstreuung bei kleiner werdenden Konzentrationen immer weniger dem Linienprofil einer idealen Streulinie (vgl. Abbildung 2-6) genügt. Die Halbwertsbreite der Linie variiert bei den Natriumnitrat-Messungen deutlich, wie in Abbildung 4-4 im Vergleich zwischen den verschiedenen Konzentrationen gut zu erkennen ist. Ferner verschiebt sich bei kleineren Konzentrationen das Maximum der Streulinie zu längeren Wellenlängen. Schon aus diesen Erkenntnissen wird klar, daß eine einfache Messung der Intensität bei einer vorher definierten Ramanverschiebung nicht ausreicht. Vielmehr muß nach der Aufnahme der Spektren eine entsprechende mathematische Nachbehandlung und Analyse folgen.



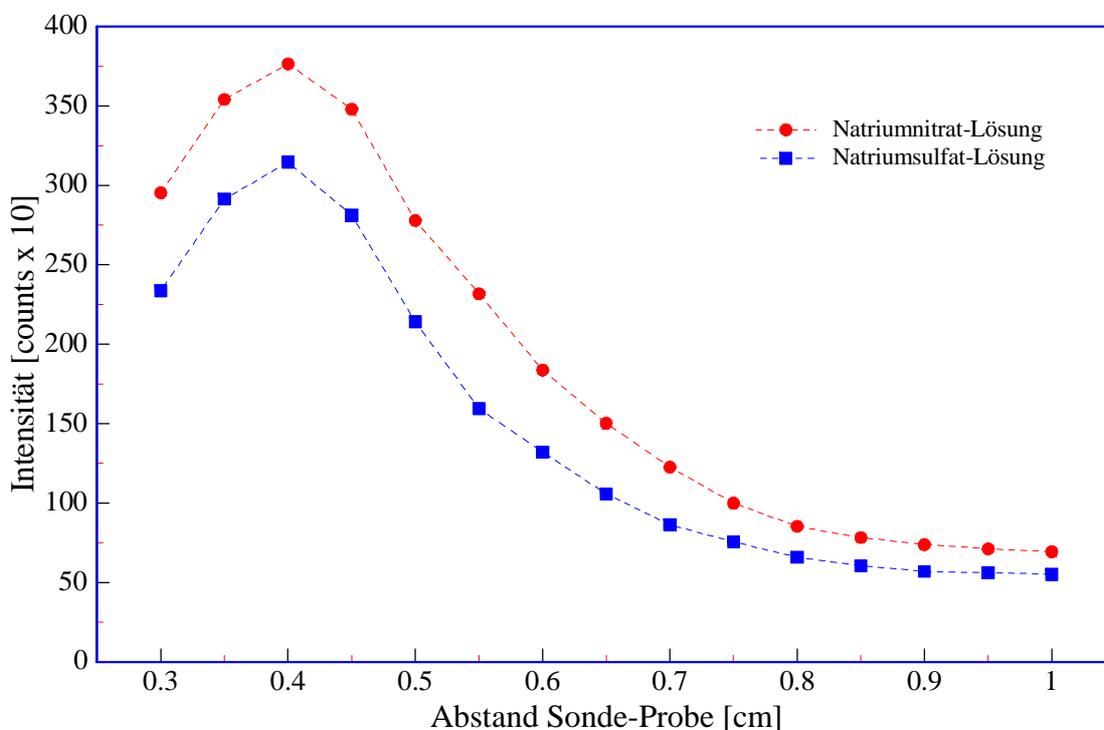
**Abbildung 4-4:** Ramanspektren von  $\text{NaNO}_3$ -Lösungen verschiedener Konzentration.



**Abbildung 4-5:** Ramanspektren von  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ -Lösungen verschiedener Konzentration.

Aber auch unter Mithilfe dieser läßt sich eine Konzentrationsbestimmung für eine 0,001 molare Lösung nicht mehr realisieren. Am Ende dieses Abschnittes ist eine genaue Bestimmung der maximalen Auflösung zu finden. Neben den Natriumnitrat- wurden auch Natriumsulfatlösungen untersucht. Abbildung 4-5 zeigt den Verlauf der Ramanlinien für verschiedene Lösungskonzentrationen, wobei auch hier jeweils 100 Spektren (Integrationszeit vier Sekunden) bei 20°C aufgezeichnet wurden. Die Ramanlinien des Natriumsulfats weisen im Vergleich zum Natriumnitrat bei allen Konzentrationen eine einheitliche Ramanverschiebung bei  $1027\text{ cm}^{-1}$  auf, wobei hier die einzelnen Linien ein im Sinne von Abbildung 2-6 deutliches und vor allem einheitliches Profil zeigen. Die Intensität der Ramanlinien von Natriumsulfat ist zwar bei gleichen Lösungskonzentrationen im Vergleich zu Natriumnitrat geringer, wie in den Abbildungen 4-4 und 4-5 zu erkennen ist, zeigt jedoch ebenfalls einen linearen Zusammenhang zwischen Lösungskonzentration und Stärke der Streuung. Auch im Falle von Natriumsulfat ist eine 0,001 molare Lösungskonzentration nicht nachweisbar.

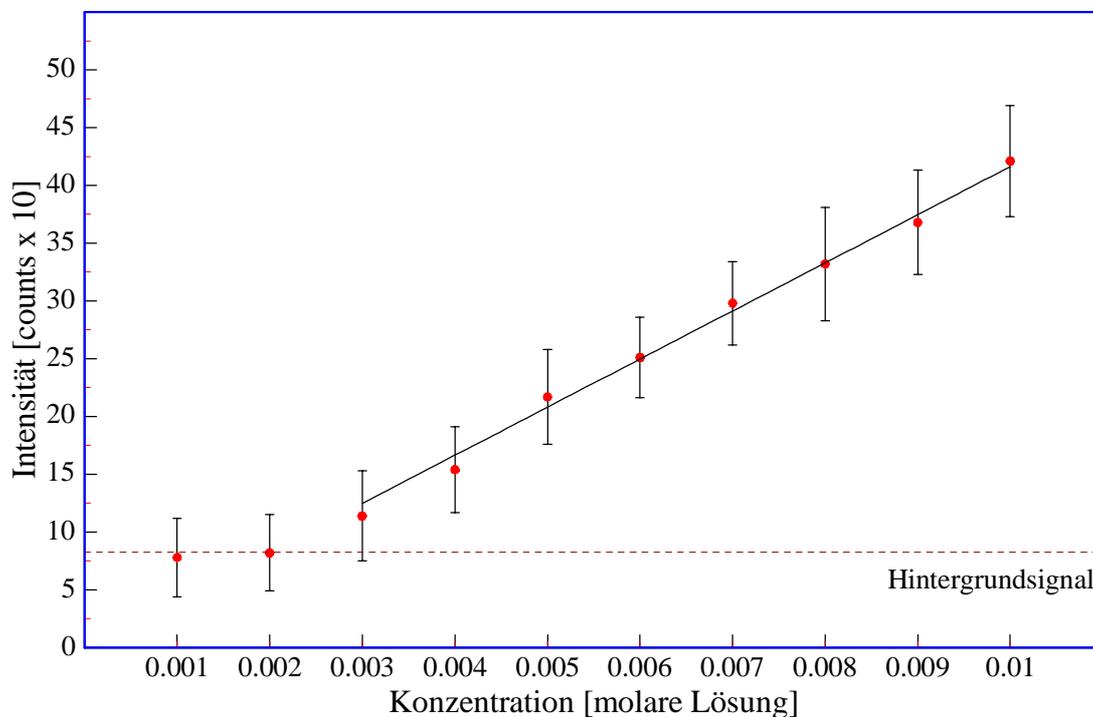
Im Anschluß an diese Untersuchungen wurde die Ramansonde nicht invasiv, sondern in verschiedenen Abständen über der Lösung betrieben. Es wurde mit einer 0,1 molaren Lösung Natriumnitrat und anschließend mit einer 0,1 molaren Lösung Natriumsulfat untersucht, wie sich verschiedene Abstände der Sonde über der Probe auf das Streusignal auswirken.



**Abbildung 4-6:** Gemessene Streuintensitäten in verschiedenen Abständen der Sonde über der Probe für eine 0,1 molare  $\text{NaNO}_3$ -Lösung und eine 0,1 molare  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ -Lösung.

Mit einer Mikrometerschraube wurden diese Abstände von 0,3 cm bis 1 cm variiert<sup>11</sup>. Abbildung 4-6 zeigt den Verlauf der Streuintensitäten für beide Lösungen. Es zeigt sich, daß die Signale bei 0,3 cm ungefähr denen der invasiven Messungen entsprechen, wobei allerdings nicht absolut ausgeschlossen werden kann, daß die Sonde zum Teil auch hier mit der Probe in Berührung kam und benetzt war. Bei einem Abstand der Sonde von 0,4 cm über der Probe zeigt sich bei beiden Lösungen ein Intensitätsmaximum, während die Signale bei größeren Abständen einen exponentiellen Abfall aufweisen. Mit dieser Erkenntnis wurden erneut verschiedene Konzentrationen untersucht, um zu bestimmen, welche minimale Konzentration mit der Sonde des Ramansystems noch nachzuweisen ist.

Abbildung 4-7 zeigt die gemessenen Ergebnisse der Intensitäten der Ramanlinie für Natriumnitratlösungen unterschiedlicher Konzentrationen, wobei die eingezeichneten Fehlerbalken den maximalen Abweichungen des Signals entsprechen. Das markierte Hintergrundsignal entspricht dem gemittelten Streusignal von Aqua Dest. ohne Zugabe von  $\text{NaNO}_3$ . Es ist zu erkennen, daß die geringen Konzentrationen von 0,001 molarer und 0,002 molarer Lösung sich nicht aus dem Hintergrund abheben und deshalb als nicht mehr meßbar gelten.

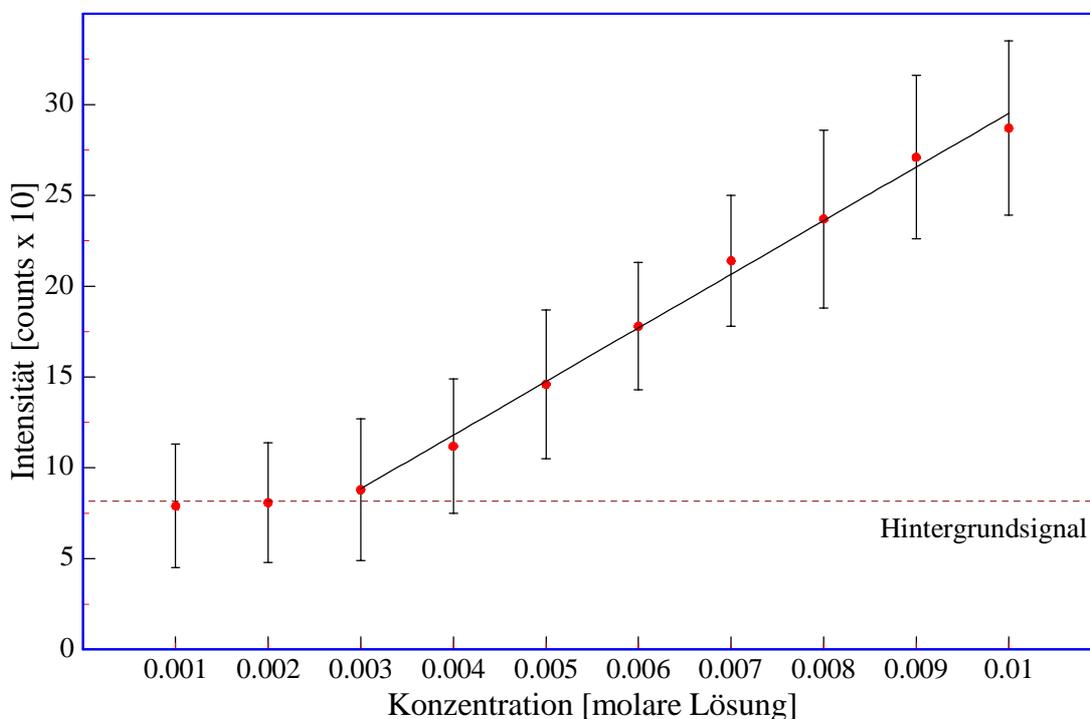


**Abbildung 4-7:** Intensitäten von  $\text{NaNO}_3$ -Lösungen unterschiedlicher Konzentration, gemessen mit der Sonde des Raman-Systems in 4mm Abstand über der Probe.

<sup>11</sup> Ein Abstand von weniger als 0,3 cm konnte nicht realisiert werden, da bei allen Versuchen diesen oder einen geringeren Abstand einzustellen, die Probe bereits die Sonde benetzte.

Im Falle höherer Konzentration heben sich die gemessenen Intensitäten dann aber deutlich vom Hintergrund ab. Lediglich bei der 0,003 molaren Lösung liegen noch einige der gemessenen Spektren im Bereich des Hintergrundes, wie am dargestellten Fehlerbalken abzulesen ist.

Dieselben Untersuchungen wurden für Natriumsulfatlösungen verschiedener Konzentration durchgeführt. Abbildung 4-8 zeigt die Ergebnisse. Aufgrund des schwächeren Signals ist schon eine 0,003 molare Konzentration nicht mehr vom Hintergrund (auch hier das Signal von reinem Aqua Dest.) zu unterscheiden. Einige Spektren, die mit der 0,004 molaren Lösung gemessen wurden, lagen noch im Bereich des Hintergrundes. Erst bei Konzentrationen oberhalb der 0,005 molaren Lösung waren Signal und Hintergrund in jedem Fall deutlich zu trennen.



**Abbildung 4-8:** Intensitäten von  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ -Lösungen unterschiedlicher Konzentration, gemessen mit der Sonde des Raman-Systems in 4mm Abstand über der Probe.

Die Untersuchungen mit der Sonde des Ramansystems führten somit zu folgende Erkenntnissen: Die Messungen in einem Abstand von 4 mm über der Probe ergaben deutlich bessere Ergebnisse als die Untersuchungen mit einer invasiv eingesetzten Sonde. Die Nachweisgrenzen bezüglich reiner Lösungen liegen im Fall der über der Lösung befindlichen Sonde bei 0,003 molarer Natriumnitratlösung bzw. 0,004 molarer Natriumsulfatlösung.

Allerdings lagen bei diesen Konzentrationen nicht alle gemessenen Spektren oberhalb des Hintergrundsignals. Dies ist erst bei 0,004 molarer Natriumnitratlösung und bei 0,005 molarer Natriumsulfatlösung der Fall. Es soll an dieser Stelle angemerkt werden, daß sowohl für die verschiedenen Natriumnitrat- als auch Natriumsulfatlösungen die Temperatur der Probe in einem Bereich von 10°C bis 30°C variiert wurde. Anschließende Messungen der Intensitäten ergaben keine bemerkbare Temperaturabhängigkeit. Trotzdem wurde darauf geachtet, daß bei allen Messungen die Lösungstemperatur in einem einheitlichen Bereich lag.

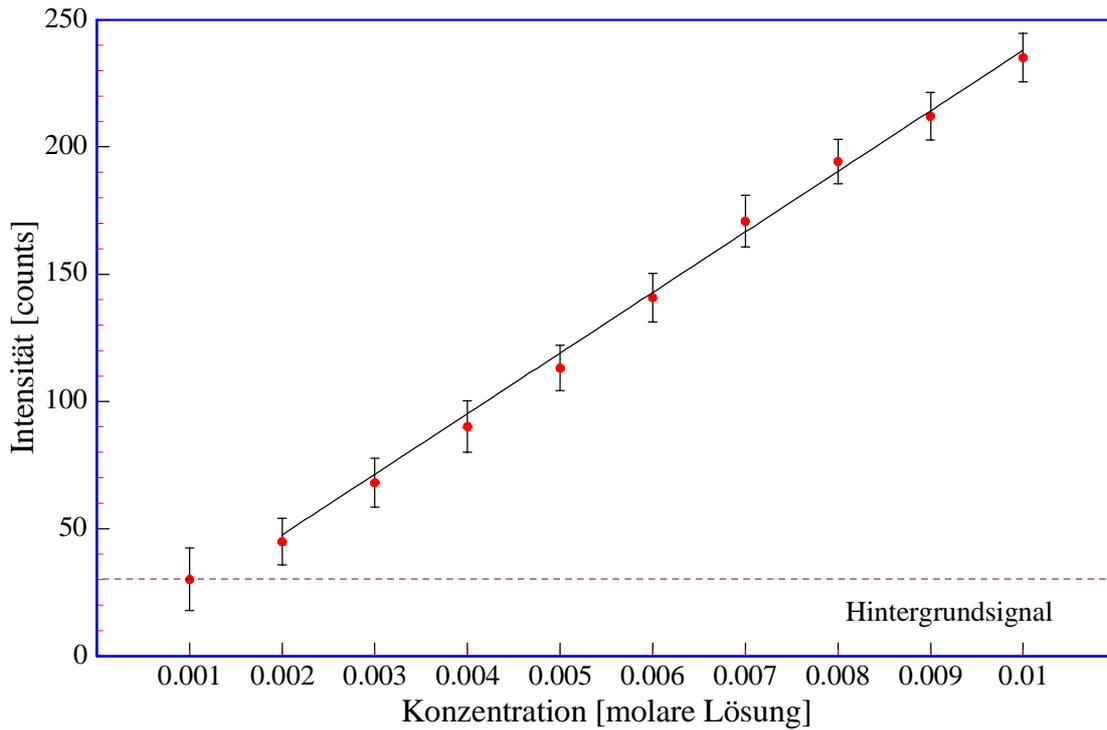
#### **4.1.2 Separate optische Anordnungen**

Die separaten Optiken waren in der in Abschnitt 3.2.1b vorgestellten Anordnung aufgebaut. Da die aufgenommenen Spektren dieselbe Gestalt wie bei der Sonde des Ramansystems hatten, soll an dieser Stelle auf eine Darstellung der einzelnen Spektren verzichtet werden. Es ist auch hier vielmehr von Interesse festzustellen, welche Konzentrationen mit der Anordnung noch bestimmt werden können. Die Besonderheit dieser Anordnung beruht darauf, daß sie zum einen in einer 45°-Anordnung eingesetzt wurde, zum anderen aber auch in einem Winkel von 90°, wodurch es möglich wurde, eine mit der Probe gefüllte Kapillare zu untersuchen (vgl. Abschnitt 3.2.2). Schließlich wurde noch der Aufbau mit Kugellinsen an einer Kapillare ohne elektrisches Feld untersucht.

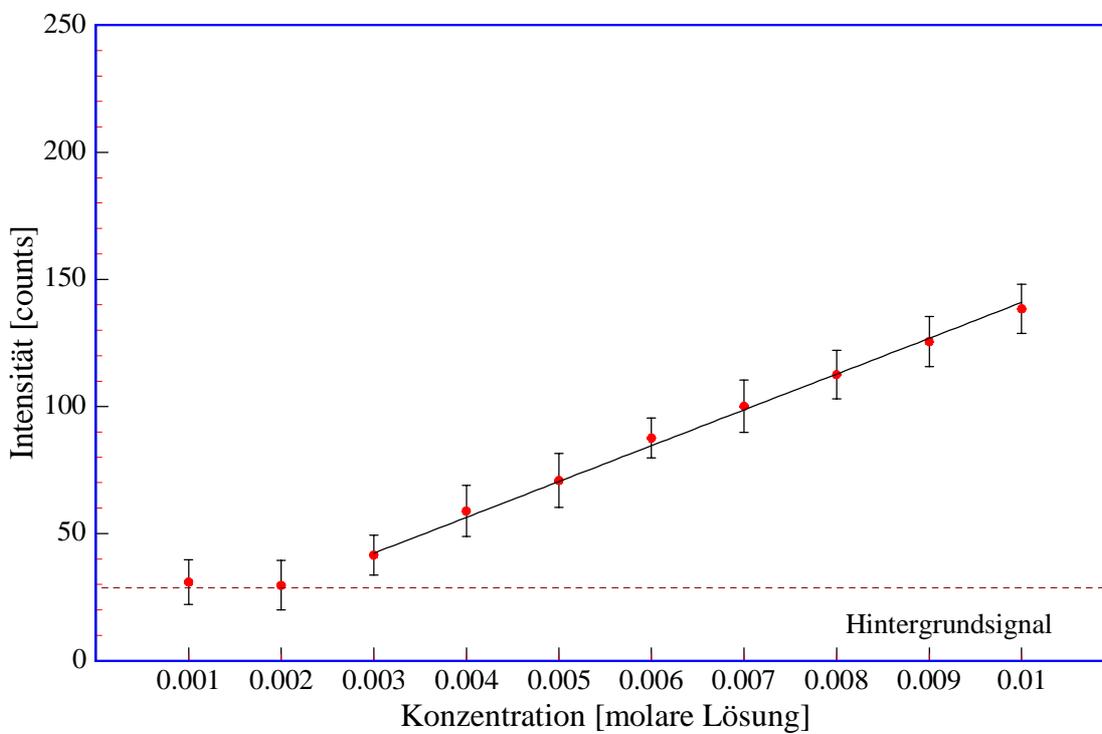
##### **4.1.2.a Separate optische Anordnungen ohne Kapillare**

Zunächst wurden die Ramanspektren der optischen Anordnungen ohne Einsatz einer Kapillare betrachtet. Hierzu wurden beide Linsensysteme direkt auf einen gemeinsamen Brennpunkt auf der Probe fokussiert. Als erstes wurden die Spektren der Natriumnitratlösung aufgezeichnet. Auch hier zeigte sich bei höheren Konzentrationen wieder ein linearer Zusammenhang zwischen Konzentration der Lösung und Intensität der Ramanstreuung. Ebenso ließ sich auch unter Einsatz dieser Optik eine Verschiebung der Ramanstreuung zu größeren Wellenlängen in Abhängigkeit der Lösungskonzentration von Natriumnitrat beobachten, wie sie auch im Falle der Sonde des Ramansystems aufgetreten ist (vgl. Abbildung 4-4). Diese Verschiebung wurde hingegen bei Lösungen von Natriumsulfat auch an den separaten Optiken nicht beobachtet.

Um die Grenzwerte der Empfindlichkeit zu untersuchen, wurden dieselben Lösungen eingesetzt, die im Einsatz der Sonde des Ramansystems Verwendung fanden. Abbildung 4-9 zeigt die Abhängigkeit der Intensität der Ramanlinie von der Konzentration der Natriumnitratlösungen. Auch hier existiert ein Hintergrundsignal, welches mit reinem Aqua Dest. bestimmt wurde.



**Abbildung 4-9:** Intensitäten von  $\text{NaNO}_3$ -Lösungen unterschiedlicher Konzentration, aufgenommen mit der separaten Optik in einer  $45^\circ$ -Anordnung.

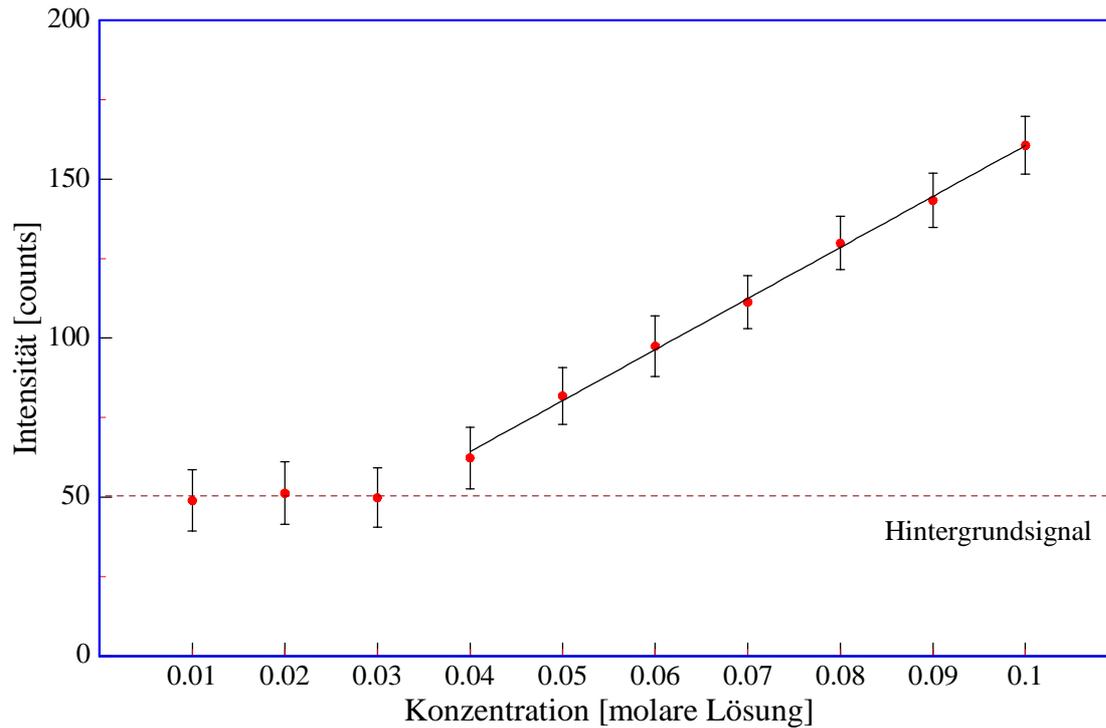


**Abbildung 4-10:** Intensitäten von  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ -Lösungen unterschiedlicher Konzentration, aufgenommen mit der separaten Optik in einer  $45^\circ$ -Anordnung.

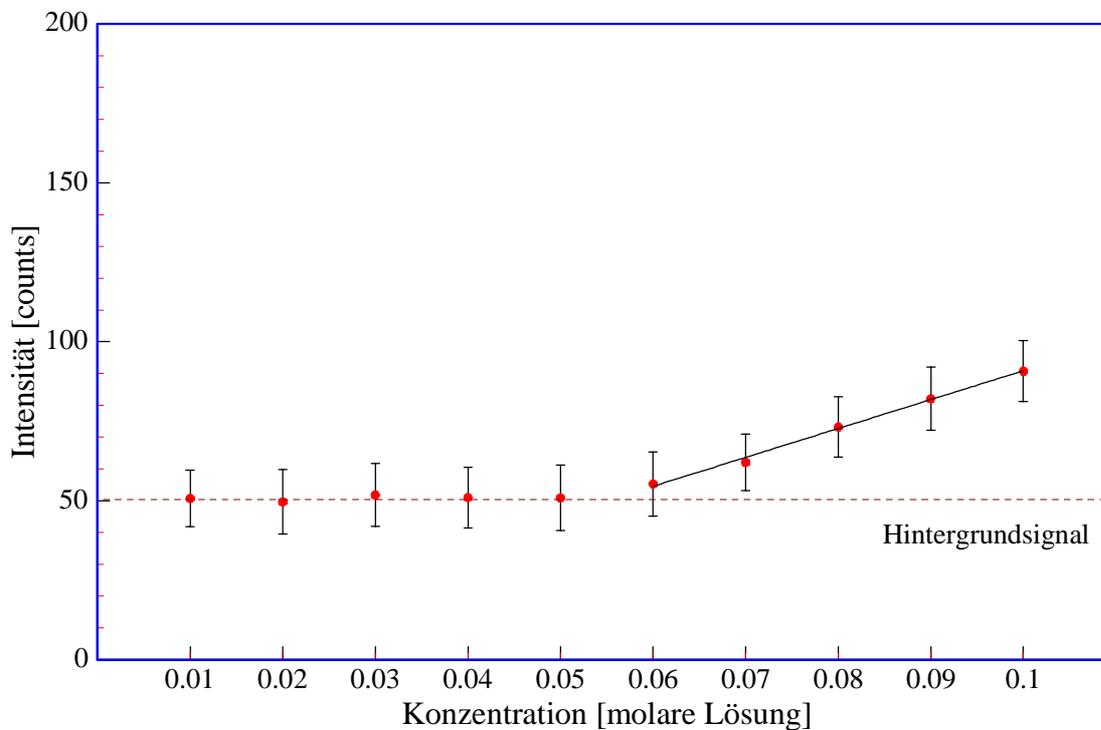
Es wird deutlich, daß die Intensität der Streusignale ebenfalls sehr hoch ist, obwohl im Strahlengang der Anregungsoptik ein Interferenzfilter verwendet wird, das die Strahlung, die aus der Faser austritt, um die Hälfte abschwächt. Dennoch ist die verbleibende Strahlung durch das Fokussieren auf einen Brennpunkt von einem Durchmesser von ca. 0,5 mm so stark, daß das Streusignal sehr intensiv ist. Es muß allerdings gesagt werden, daß es in der Praxis sehr schwer zu realisieren ist, den Brennpunkt der Empfängeroptik ebenfalls genau auf den Brennpunkt der Anregungsoptik fallen zu lassen. In der Regel ist der Brennpunkt der Empfängeroptik ein wenig größer und wird sukzessive auf der Probe verschoben, bis das Ramansignal die größte Intensität aufweist. Ebenso wurden Intensitäten für die Natriumsulfatlösungen verschiedener Konzentrationen bestimmt. Abbildung 4-10 zeigt die gemessenen Werte. Betrachtet man die Abbildungen, so erkennt man, daß mit der 45°-Anordnung für Natriumnitrat eine 0,002 molare Lösung und für Natriumsulfat eine 0,003 molare Lösung noch eindeutig nachweisbar sind, und damit eine deutliche Verringerung der Nachweisgrenze in Vergleich zu den anderen Anordnungen gelungen ist.

#### **4.1.2.b Separate optische Anordnungen mit Kapillare**

Neben der 45° Ausrichtung ohne Kapillare wurde die optische Anordnung auch in einem 90° Winkel um die 100 µm Kapillare eingesetzt, und diese anschließend mit der Probe gefüllt. Abbildung 4-11 zeigt das Streusignal für die Natriumnitratlösungen. Man beachte, daß die eingesetzten Konzentrationen zehnmal so stark sind wie im 45° Fall; die Intensität der Streustrahlung also sehr viel schwächer ist. Dieses liegt zum einen am geringeren Streuvolumen und zum anderen daran, daß sich der Laser nicht gezielt nur auf das Streuvolumen fokussieren ließ. Der Durchmesser des Brennpunktes betrug ca. 0,5 mm, während der Außendurchmesser der 100 µm Kapillare bei 0,36 mm lag. Zum anderen fällt auf, daß das Hintergrundsignal erheblich höher ist. Dieses liegt zum größten Teil daran, daß das Silikat der Kapillare durch seine Streuung ein Hintergrundsignal entstehen läßt, das nicht durch die Filteranordnung beseitigt werden kann (vgl. Abschnitt 3.2). Abbildung 4-12 zeigt dieselben Messungen für die Natriumsulfatlösungen. Auch hier macht sich der erhöhte Hintergrund und das schwächere Signal bemerkbar. Die 90°-Anordnung ist für Messungen ohne elektrisches Feld den beiden vorherigen deutlich unterlegen. Sie wurde an dieser Stelle lediglich aus Gründen der Vergleichbarkeit für die Messungen an den Kapillaren durchgeführt.



**Abbildung 4-11:** Intensitäten von  $\text{NaNO}_3$ -Lösungen unterschiedlicher Konzentration, aufgenommen mit der separaten optischen Anordnung im  $90^\circ$  Winkel um die  $100\ \mu\text{m}$  Kapillare.



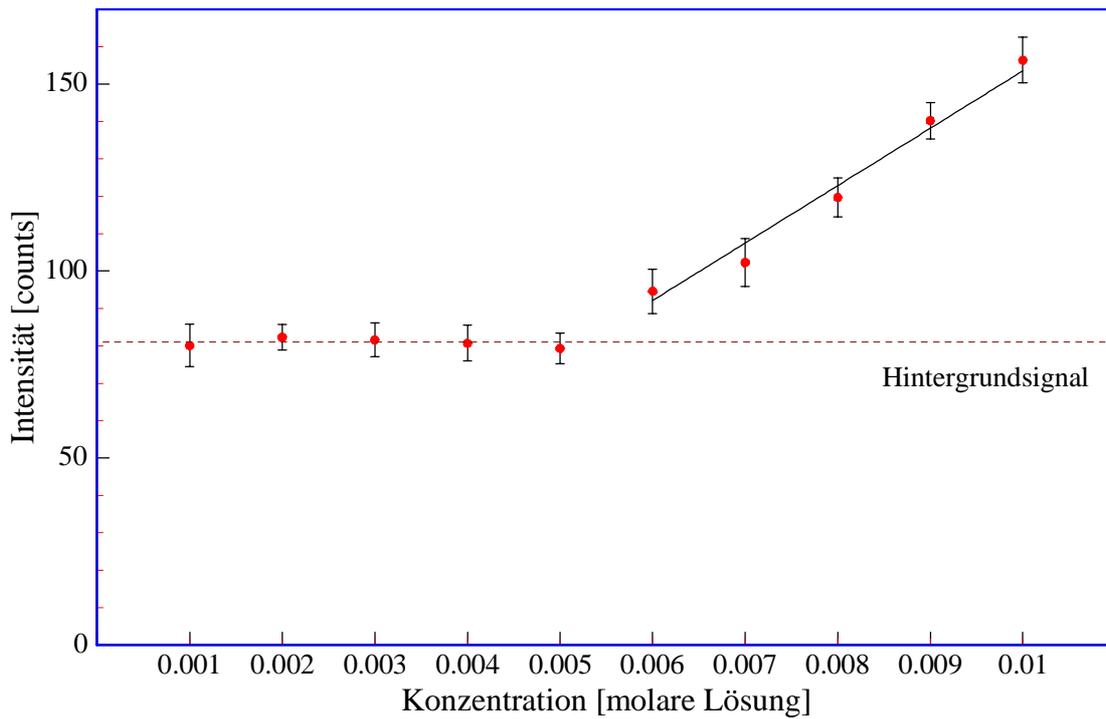
**Abbildung 4-12:** Intensitäten von  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ -Lösungen unterschiedlicher Konzentration, aufgenommen mit der separaten optischen Anordnung im  $90^\circ$  Winkel um die  $100\ \mu\text{m}$  Kapillare.

### **4.1.3 Optische Anordnung mit Strahlteiler**

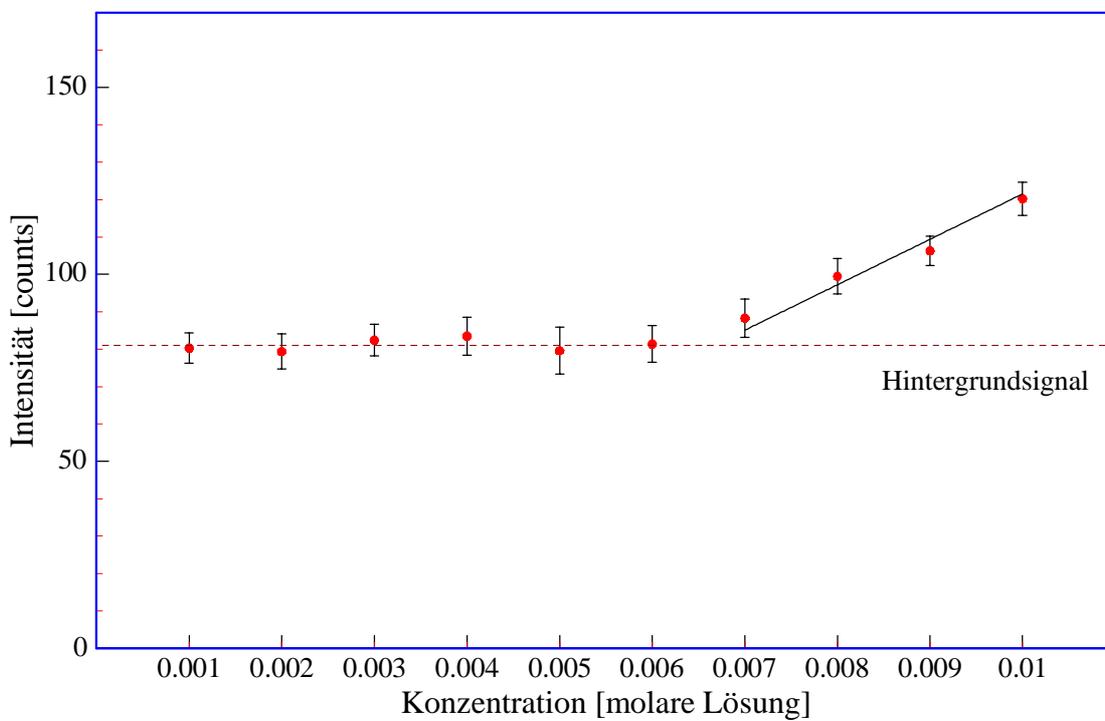
Die optische Anordnung mit Strahlteiler soll an dieser Stelle der Vollständigkeit wegen erwähnt, aber nur kurz diskutiert werden. Auch an ihr wurden analog den vorhergehenden Optiken charakterisierende Untersuchungen mit Natriumnitrat- und Natriumsulfatlösungen durchgeführt. Diese kamen aber zu sehr unbefriedigenden Ergebnissen. Die Nachweisgrenzen, die mit diesem Aufbau erreicht wurden, lagen im Fall von Natriumnitrat bei einer 0,05 molaren Lösung und bei Natriumsulfat bei einer 0,07 molaren Lösung. Der erhoffte Vorteil dieses Aufbaus beruhte darin, daß durch den Strahlengang (vgl. Abbildung 3-7) sowohl Anregungs-, wie auch Empfangsoptik auf einen gemeinsamen Punkt fokussiert sind. Es stellte sich aber heraus, daß diesem Vorteil ein deutlich höheres Hintergrundsignal und ein schwaches Streusignal gegenüberstanden. Dieses mag auch daran liegen, daß die Anregungsoptik im Interferenzfilter die Hälfte ihrer Intensität einbüßt und auf ihrem weiteren Weg dann im Strahlteiler noch einmal halbiert wird, so daß nur 25% der Ausgangsleistung auf die Probe strahlen. Desweiteren erreicht auch nur die Hälfte der Streustrahlung die Empfangsoptik, bzw. das Spektrometer, da die andere Hälfte ebenfalls im Strahlteiler durch Reflexion in die ‚falsche‘ Richtung verloren geht. Aufgrund des schlechten Ergebnisses für den Fall ohne Kapillare, also bei direkter Fokussierung auf die Oberfläche der Probe, wurde der Fall einer in der Kapillare enthaltenen Probelösung gar nicht erst untersucht. Dieses Ergebnis würde weit unter dem der optischen Anordnung im 90° Winkel liegen und war somit nicht interessant für die vorliegende Arbeit.

### **4.1.4 Optische Anordnung mit Kugellinsen**

Als letzte der verschiedenen optischen Anordnung wurden die Kugellinsen betrachtet. Wie oben bereits erwähnt, wurde die Optik nur an Kapillaren untersucht. Auch wenn sich Aufbau und Handhabung als äußerst schwierig erwiesen, war festzustellen, daß eine ausgerichtete Optik für die Kapillare die besten Ergebnisse aufwies. Die Brennpunkte der an die Kapillare grenzenden Kugellinsen lagen genau im Inneren der Kapillare. Das eigentliche Problem bestand darin, die Brennpunkte so aufeinander zu fixieren, daß ein maximales Streusignal resultierte. Diese Einstellung wurde mittels verschiedener Feinmechaniken realisiert. Die Kapillare war im optischen Aufbau fixiert und wurde bei den Versuchen ohne elektrisches Feld in der Kapillare durch Überdruck mit der Probe gefüllt. Abbildung 4-13 zeigt die aufgezeichneten Intensitäten der verschiedenen Nitratkonzentrationen. Es fällt auf, daß das Hintergrundsignal durch das streuende Silikat der Kapillare vergleichsweise hoch ist.



**Abbildung 4-13:** Intensitäten von NaNO<sub>3</sub>-Lösungen unterschiedlicher Konzentrationen, aufgenommen mit der optischen Anordnung mit Kugellinsen an einer 100 µm Kapillare.



**Abbildung 4-14:** Intensitäten von Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-Lösungen unterschiedlicher Konzentrationen, aufgenommen mit der optischen Anordnung mit Kugellinsen an einer 100 µm Kapillare.

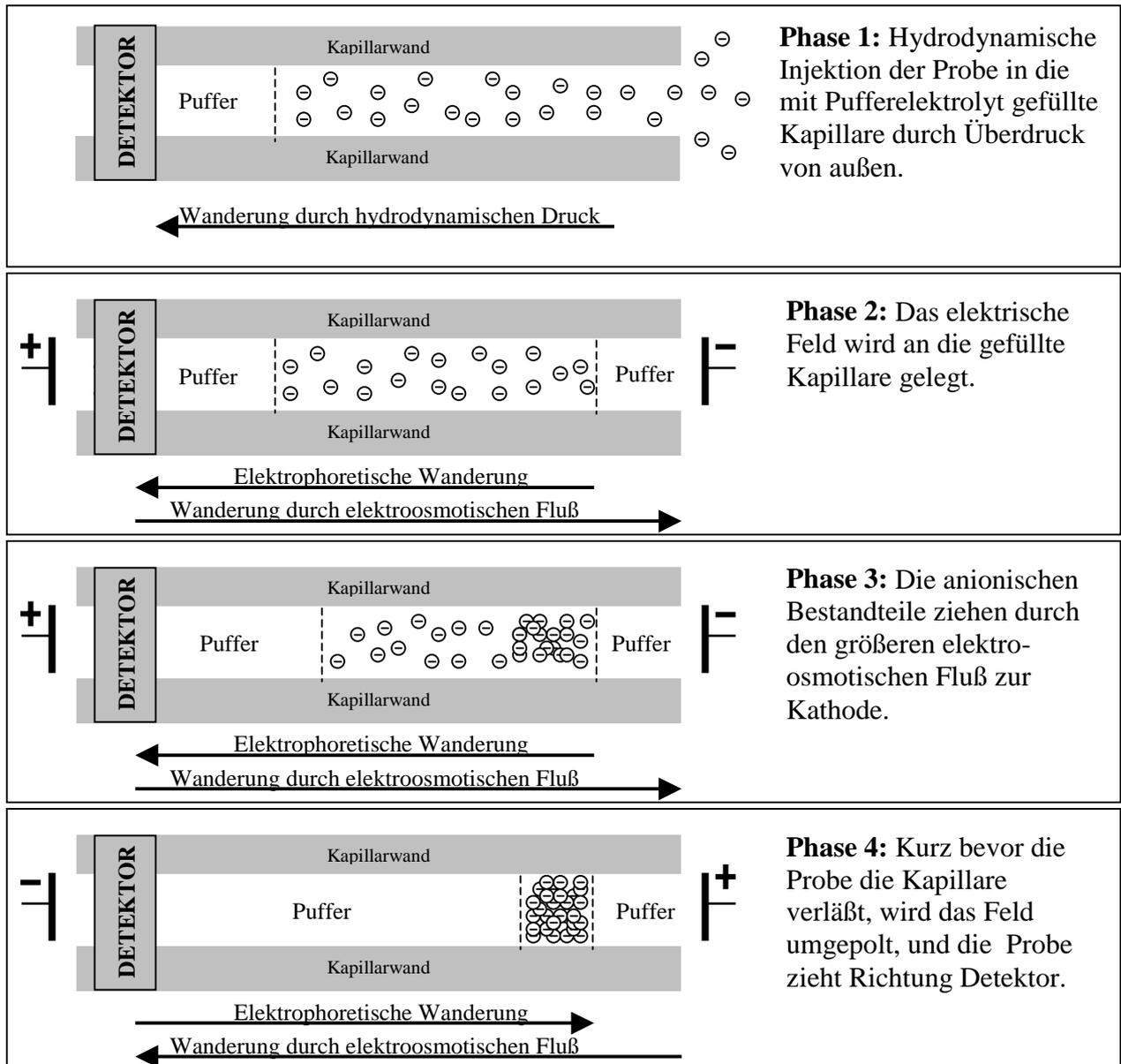
Die Streuung der Intensitäten für die einzelnen Konzentrationen (symbolisiert durch die Fehlerbalken) sind verhältnismäßig gering, obwohl im Falle dieser optischen Anordnung die einzelnen Mittelwerte deutlich weiter von der Regressionsgerade entfernt liegen. Auch im Fall der untersuchten Sulfatkonzentrationen, deren Intensitäten in Abbildung 4-14 dargestellt sind, weisen die Spektren eine geringere Streuung ihrer Intensitäten auf, liegen aber auch hier teils weit von der mittleren Regressionsgerade entfernt. Insgesamt liefert die optische Anordnung mit Kugellinsen ein herausragendes Ergebnis, da die gemessenen Streuintensitäten trotz des geringen Streuvolumens in der 100  $\mu\text{m}$  Kapillare verhältnismäßig hoch liegen. Es lassen sich ohne Elektrophorese in ihr 0,006 molare Natriumnitrat- und 0,007 molare Natriumsulfatlösungen nachweisen. Das Problem des sehr hohen Hintergrundsignals läßt sich bei den elektrophoretischen Messungen als konstante Störung aus dem Spektrum entfernen, so daß lediglich das Hintergrundsignal des Aqua Dest. als Störung im Spektrum verbleibt. Diese ist aber vergleichsweise gering (vgl. Abschnitt 4.2.3). Vergleicht man die beiden Aufbauten, die an den Kapillaren untersucht wurden, so läßt sich eindeutig feststellen, daß die Anordnung mit Kugellinsen aufgrund ihrer geringeren Nachweisgrenze im Fall der elektrophoretischen Messungen eingesetzt werden sollte.

## **4.2 Messungen mit elektrischem Feld in der Kapillare**

Im vorherigen Abschnitt wurden verschiedene optische Anordnungen untersucht und bestimmt, welche geringsten Konzentrationen verschiedener Natriumnitrat- und Natriumsulfatlösungen mit ihnen noch nachweisbar sind. Es stellte sich heraus, daß für die Ramanspektroskopie an einer Kapillare der optische Aufbau mit Kugellinsen die besten Ergebnisse lieferte. In diesem Kapitel geht es nun darum, mit Mitteln der Elektrophorese die Nachweisgrenze der Anordnung mit Kugellinsen zu erhöhen. Wie schon in Abschnitt 2.2.3 erwähnt, wurde die Polarität und Stärke der Hochspannung so gewählt, daß die zu untersuchenden Anionen der Natriumnitrat- und Natriumsulfatlösungen mit dem elektroosmotischen Fluß zur Kathode wandern. Darüber hinaus wurde die Probe durch ein spezielles Verfahren künstlich angereichert, so daß die streuende Probe von höherer Konzentration und somit ihr Signal intensiver war. Hierzu wird im folgenden das experimentelle Verfahren der Probeanreicherung vorgestellt. Die sich daran anschließenden Abschnitte beschäftigen sich mit den verschiedenen elektrophoretischen Messungen an Natriumnitrat- und Natriumsulfatlösungen. Zum Abschluß der Messungen wurden letztendlich einige Untersuchungen mit unterschiedlichen Mischungen aus Natriumnitrat und Natriumsulfatlösungen angestellt.

### **4.2.1 Verfahren der Probeaufgabe**

Bei allen elektrophoretischen Untersuchungen wurde die Kugellinsen-Optik verwendet. Betrachtet man das Streusignal für verschiedene Lösungskonzentrationen, wie es in Abbildung 4-13, bzw. Abbildung 4-14 dargestellt ist, so läßt sich in erster Linie zwar ein Gemisch aus Natriumnitrat und Natriumsulfat elektrophoretisch trennen, eine nennenswerte Verringerung der Nachweisgrenze ist allerdings nicht zu erwarten. Um diese herabzusetzen, wurde in den elektrophoretischen Untersuchungen eine spezielle Methode der Probeanreicherung (engl. „Sample Stacking“ benutzt. Dieses Verfahren wird auch als „Probeanreicherung mit Feldumkehr“ bezeichnet [23],[37]. Abbildung 4-15 zeigt die prinzipiellen vier Phasen im Verlauf einer Probeaufgabe. Anhand dieser Grafik läßt sich außerdem anschaulich darstellen, warum es zu einer sogenannten „Aufkonzentrierung“ kommt, und wie die eigentliche Migration der Ionen in der Kapillare aussieht.



**Abbildung 4-15:** Schematische Darstellung der Probenanreicherung durch Feldumkehr. Dargestellt sind nur die in Lösung befindlichen Anionen. Die Kapillare ist bei Injektion der Probe bereits mit dem Pufferelektrolyten gefüllt.

Zunächst wird in Phase eins die Probe hydrodynamisch durch geringen Überdruck in die Kapillare gefüllt. Diese Befüllung kann fast vollständig geschehen, so daß die Kapillare fast ausschließlich mit der Probelösung gefüllt ist. Anschließend wird noch ein „Tropfen“ des Puffers in die Kapillare gegeben. In Phase zwei wird ein elektrisches Feld an die Kapillare angelegt. Die Stärke des Feldes wird so gewählt, daß der entstehende elektroosmotische Fluß größer ist als die elektrophoretische Wanderung der Ionen. Hierdurch werden auch die Anionen zur Kathode migrieren. Entgegen den Überlegungen aus Abschnitt 2.2.4 wird ein Puffer mit höherer Konzentration und daraus resultierend mit höherer Leitfähigkeit gewählt.

Sein Widerstand ist kleiner als der Widerstand der Probe, so daß das elektrische Feld in einem höheren Maße über der Probe abfällt. Diese führt dazu, daß die Probe-Ionen an der Grenzschicht zwischen Probe und Puffer aufkonzentriert werden. In Phase drei ist deutlich zu erkennen, daß sich die Anionen der Probe an der Grenze zum Puffer sammeln. Verfolgt man den Strom, der durch die Kapillare fließt, so ist erkennbar, daß er sich immer mehr dem Maximalstrom, das heißt dem Strom einer Kapillare mit Puffer aber ohne Probe, nähert. Hieran kann man ablesen, wann die Probe in einem engen Bereich aufkonzentriert ist. Die Literatur gibt hierfür einen Wert von 90% des Maximalstroms an [23]. Dieser hat sich auch in den durchgeführten Untersuchungen bewährt. Längere Wartezeiten können dazu führen, daß die Probe den Puffer verläßt und somit die Messung nicht mehr durchführbar ist. Letztendlich wird in Phase vier das elektrische Feld wieder umgepolt, und die Schicht der aufkonzentrierten Ionen wandert bedingt durch den elektroosmotischen Fluß zur Kathode. Auf diesem Weg kann ihre Ramanstreuung dann am Detektor gemessen werden.

In der Literatur werden Konzentrationsgewinne um den Faktor 2000 angegeben. In den durchgeführten Untersuchungen wurden mit auf die Meßaufgabe abgestimmten Parametern je nach Kapillare tatsächlich auch Konzentrationssteigerungen um den Faktor 1400-2000 erreicht. Um Erfahrung zu gewinnen, wurden zunächst verschiedene Vorversuche durchgeführt. Diese sollten Aufschluß darüber geben, wie die verschiedenen Parameter sich auf das Maß der Probeanreicherung auswirken. Die Parameter, die variiert wurden, waren der Überdruck der Probeinjektion und die dazugehörige Zeit, die Stärke des elektrischen Feldes bei der Aufkonzentrierung, der Zeitpunkt der Feldumpolung, sowie die Konzentrationsverhältnisse zwischen Puffer und Probe. Die genannten Parameter wurden jeweils einzeln verändert und das elektrophoretische Verhalten einer 0,01 molaren Natriumnitrat- und einer 0,01 molaren Natriumsulfatlösung untersucht. Die einzelnen Kapillaren wurden wie bei allen Untersuchungen zwischen den Messungen zunächst mit 0,1 molarer Natronlauge gespült. Anschließend durchfloß die verwendete Pufferlösung über einen Zeitraum von mehreren Minuten die Kapillare.

#### **4.2.1.a Probeinjektion**

Die Probeinjektion war ein vergleichsweise einfach zu untersuchender Punkt, dem aber dennoch eine sehr große Bedeutung beizumessen ist. Letztendlich bestimmte die Injektion der Probemenge zum größten Teil die Reproduzierbarkeit der Messungen und Ergebnisse. Es galt herauszufinden, mit welchem Überdruck und wie lange man die Probe in die Kapillare eindringen lassen mußte, um eine gute Qualität der Messungen zu gewährleisten.

Da verschiedene Kapillarlängen verwendet wurden, jedoch alle Längen vergleichbar sein sollten, wurde an drei Kapillaren mit Innendurchmessern von 50  $\mu\text{m}$ , 75  $\mu\text{m}$  und 100  $\mu\text{m}$  zunächst untersucht, wie lange die Probe benötigt, um in der Kapillare diese 10 cm zurückzulegen. Hierzu wurden die Kapillare jeweils mit einem Puffer von 0,1 molarer Natriumchloridlösung gefüllt (vgl. auch Abschnitt 4.2.1.c) und unter einem Druck von 50 mbar, realisiert durch eine 50 cm Wassersäule, die 0,01 molare Natriumnitrat- bzw. Natriumsulfatlösung in die Kapillare gegeben. Mit der Detektoroptik wurde dann anhand des Ramanspektrums die Zeit bestimmt, während der die Probelösung die 10 cm Strecke zwischen Inlet und Detektor zurückgelegt hatte. Tabelle 4-1 zeigt die gemessenen Zeiten für beide Probelösungen (ermittelt aus 15 Vergleichsmessungen).

<i>Innendurchmesser</i>	<i>50 <math>\mu\text{m}</math></i>	<i>75 <math>\mu\text{m}</math></i>	<i>100 <math>\mu\text{m}</math></i>
<b>Nitrat</b>			
Zeit	312 s	117 s	71 s
Abweichung	$\pm 14$ s	$\pm 9$ s	$\pm 7$ s
100 nl-Zeit	~159 s	~26 s	~9 s
<b>Sulfat</b>			
Zeit	293 s	98 s	63 s
Abweichung	$\pm 15$ s	$\pm 11$ s	$\pm 8$ s
100 nl-Zeit	~150 s	~22 s	~8 s

**Tabelle 4-1:** Laufzeiten der 0,01 molaren Natriumnitrat- und Natriumsulfatlösungen in verschiedenen Kapillaren bei Injektion mit 50 mbar Überdruck und Zeiten, die für ein Füllvolumen von 100 nl benötigt werden.

Es fällt auf, daß die größere Kapillare eine größere Abweichung in den Zeiten hat. Sie beträgt im Fall von Sulfat über 12%, während die Zeiten für die gleiche Lösung in der kleinen Kapillare nur um 5% variieren. Derselbe Effekt wird auch bei Nitrat beobachtet, wobei die Abweichungen hier deutlich geringer sind. In Tabelle 4-1 sind ebenfalls die errechneten Zeiten angegeben, die benötigt werden, um die Kapillare mit ca. 100 nl Probelösung zu füllen. Für die folgenden Untersuchungen wurde aus Gründen der Vergleichbarkeit jeweils eine 100 nl Befüllung angestrebt. Da die Viskosität im Sinne der Aufgabe zu geringeren Konzentrationen nur wenig variiert, wurde auch dort mit den gleichen Zeiten gearbeitet.

#### **4.2.1.b Parameter der Aufkonzentrierung**

Die Parameter der Aufkonzentrierung betreffen im wesentlichen die Feldstärke des umgepolten Feldes (vgl. Abbildung 4-15) und die Dauer, die dieses auf die Probe wirkt. Außerdem darf an dieser Stelle nicht unerwähnt bleiben, daß jeweils im Anschluß an die Probeaufgabe ein Puffervolumen von ca. 50 nl in die Kapillare gegeben wurde. Dieses diente zum einen als Aufkonzentrierungsgrenze, zum anderen brachte es aber auch die Sicherheit, daß die Probe selbst bei längerer Einwirkung des umgepolten Feldes die Kapillare nicht verläßt.

Die Feldstärke mußte so gewählt werden, daß der elektroosmotische Fluß im Falle eines 0,1 molaren Natriumchlorid-Pufferelektrolyten so stark war, daß er die Nitrat- und Sulfat-Anionen mit zur Kathode zog. Eine zu große Feldstärke war auf der anderen Seite aber unerwünscht, da sie in der Praxis dazu führte, daß die Aufkonzentrierung und dadurch auch die eigentlichen Messungen in einem bedeutend geringeren Maße reproduzierbar waren. Um das Maß der elektrischen Feldstärke zu bestimmen, wurde in die verschiedenen Kapillaren jeweils eine Probemenge von 100 nl injiziert und anschließend ein konstantes elektrisches Feld angelegt. Der Detektor befand sich in dieser Anordnung an der Kathode. War das Feld so schwach, daß der elektroosmotische Fluß geringer als die elektrophoretische Migration der Ionen war, so erreichten die Anionen niemals den Detektor. Es stellte sich heraus, daß sowohl bei Nitrat, als auch bei Sulfat eine Feldstärke von  $150 \text{ V}\cdot\text{cm}^{-1}$  ein gutes Mittel bildete. Diese konnte mit der vorhandenen Spannungsversorgung auch noch bei den längeren Kapillaren problemlos realisiert werden. Der Punkt der endgültigen Feldumkehr wurde mit dem Literaturwert 90% des Maximalstroms übernommen. Hierzu wurde vor den eigentlichen Untersuchungen der verschiedenen Kapillare zunächst der jeweilige Strom gemessen, der durch die Kapillare floß, wenn diese ausschließlich mit dem Pufferelektrolyten gefüllt war. Anhand dieses Wertes wurde dann entsprechend für die jeweilige Kapillare die 90% Grenze bestimmt.

#### **4.2.1.c Verwendeter Trennpuffer**

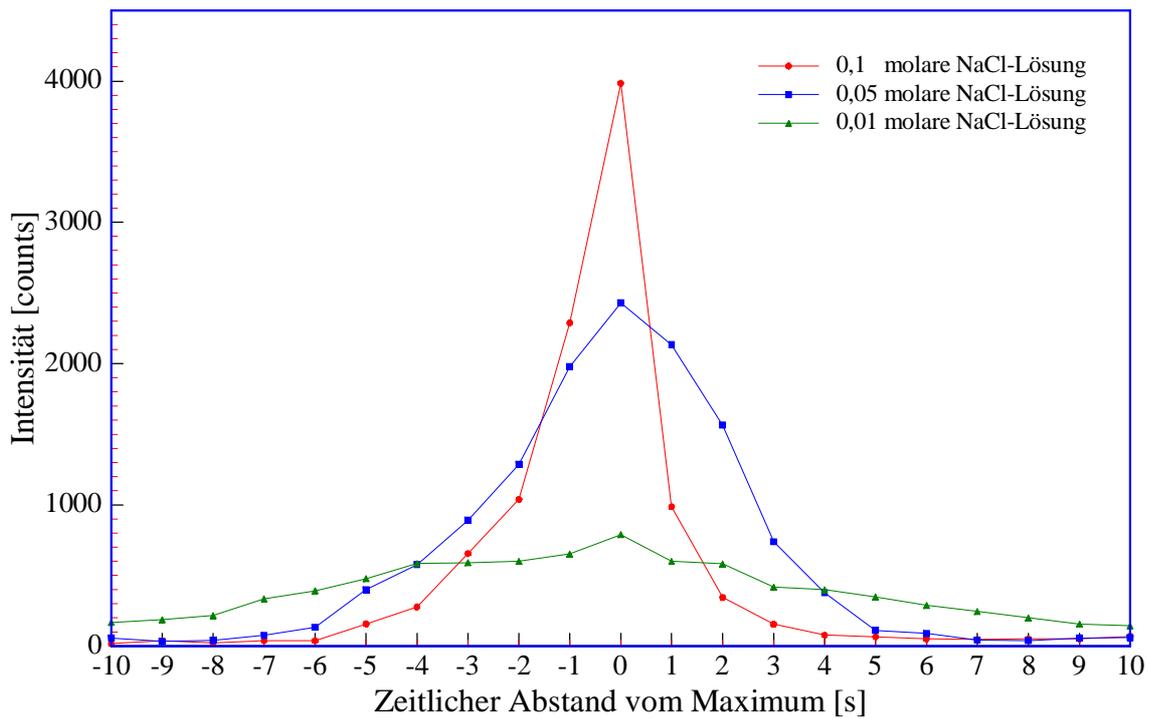
In den Voruntersuchungen war einer der wichtigsten und auch schwierigsten Punkte, einen geeigneten Pufferelektrolyten zu finden. Zum einen hatte er die Aufgabe, die Banden am Detektor durch den Effekt der Elektrodispersion nicht zu breit werden zu lassen (vgl. Abschnitt 2.2.4). Zum anderen mußte er aber auch einen starken elektroosmotischen Fluß hervorrufen, so daß Nitrat- und Sulfat-Anionen durch ihn zur Kathode gezogen werden.

Herkömmliche elektrophoretische Trennsysteme arbeiten in der Regel bei der Trennung von Anionen mit einem Puffer, der aus Chromat/Schwefelsäure-Gemischen in verschiedenen Konzentrationen besteht. Diese Puffer waren bei der Detektion mittels Ramanstreuung nicht zu verwenden, da Chromat selbst bei  $904\text{ cm}^{-1}$  eine Ramanlinie besitzt, welche die durchzuführenden Untersuchungen an Nitrat und stärker noch an Sulfat stören würde. Stattdessen wurde ein Pufferelektrolyt bestehend aus einer Natriumchloridlösung verwendet, der sich nicht störend im Ramanspektrum bemerkbar machte [38].

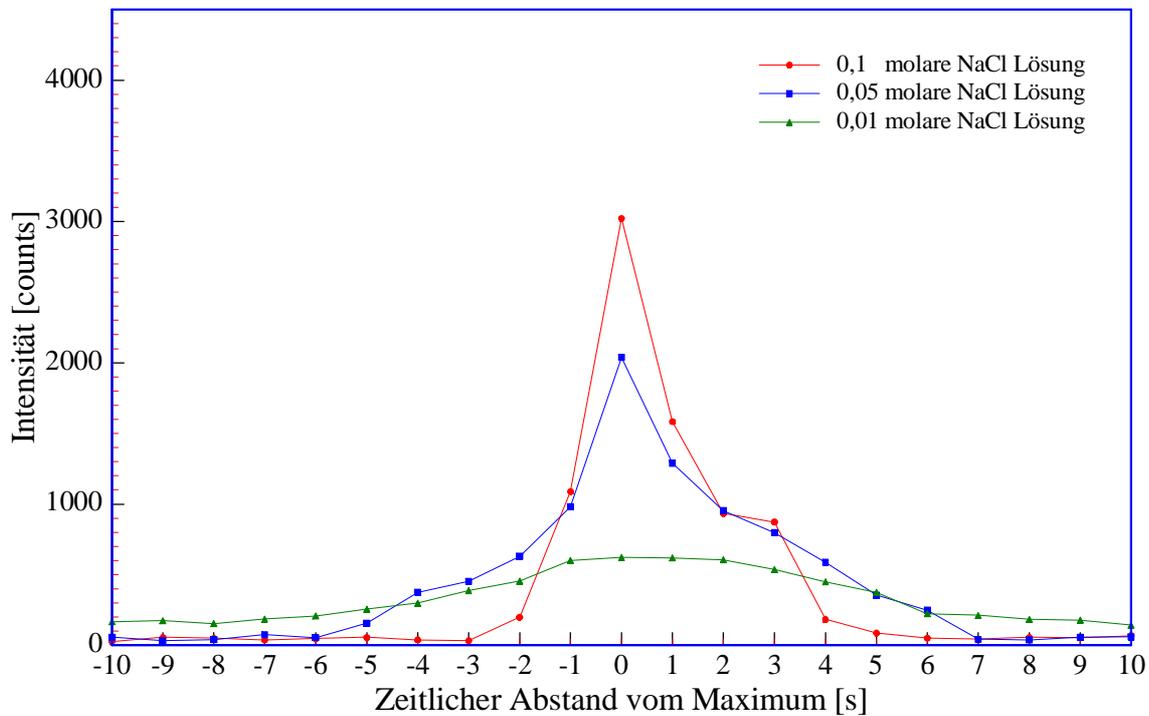
Es wurden zu Beginn jeweils die 0,01 molare Natriumnitrat- und Natriumsulfatlösung mit verschiedenen Pufferkonzentrationen untersucht. Die Messungen fanden an einer Kapillare mit  $75\text{ }\mu\text{m}$  Innendurchmesser und einer Länge (Inlet/Detektor) von 20 cm statt, die einem elektrischen Feld von  $150\text{ V}\cdot\text{cm}^{-1}$  ausgesetzt wurden. Entsprechend den Überlegungen der vorherigen Abschnitte wurde zunächst die Probe durch Überdruck in die Kapillare injiziert. Anschließend wurde zusätzlich Pufferelektrolyt in die Kapillare gegeben und die Probe gemäß dem oben geschilderten Verfahren aufkonzentriert. Als Pufferelektrolyt wurden Natriumchloridlösungen in den Konzentrationen 0,5 / 0,1 / 0,05 und 0,01 molar untersucht. Am Detektor wurde die Intensität der Ramanstreuung im Bereich der Nitrat- bzw. Sulfatlinie gemessen.

Es muß an dieser Stelle erwähnt werden, daß die Ramanlinien für Nitrat und Sulfat merkbar gegenüber den reinen Natriumlösungen verschoben waren. Die Nitratlinie trat nicht bei  $1076\text{ cm}^{-1}$ , sondern bei  $1060\text{ cm}^{-1}$  auf. Ebenso erschien die Sulfatlinie bei  $1005\text{ cm}^{-1}$  und nicht bei  $1027\text{ cm}^{-1}$ . Dieser Effekt war unabhängig von der Pufferkonzentration zu beobachten, so daß die Natriumchloridlösung keinerlei Auswirkungen auf das Streuverhalten zu haben scheint. Für eine erweiterte Betrachtung sei hier auf Abschnitt 5.2 verwiesen.

Abbildung 4-16 zeigt die zeitlichen Verläufe der Intensität am Detektor für Nitrat, Abbildung 4-17 entsprechend für Sulfat. Das Spektrometer verwendete eine Integrationszeit von einer Sekunde. Da die Probelösungen in den Versuchen in Abhängigkeit von der Pufferkonzentration verschiedene Laufzeiten hatten, wurde der Nullpunkt der Zeitachse auf die Intensitätsmaxima der einzelnen Spektren bezogen. Ferner wurde das Spektrum bezüglich des Hintergrundsignals korrigiert, das heißt sowohl Silikathintergrund als auch die Streuung des Puffers wurden aus dem Signal entfernt. Bei beiden Probelösungen führte ein 0,5 molarer Puffer zu einem zu starken Strom. Die entstehende Joulesche Wärme verursachte ein Ausgasen des Puffers. Dieses führte zur Unterbrechung des Stromes, so daß keine elektrophoretischen Messungen möglich waren.



**Abbildung 4-16:** Zeitlicher Verlauf des Nitrat Streusignals für verschiedene Pufferkonzentrationen des NaCl-Elektrolyten (Der Nullpunkt der Zeitachse wird durch die maximale Intensität bestimmt).



**Abbildung 4-17:** Zeitlicher Verlauf des Sulfat Streusignals für verschiedene Pufferkonzentrationen des NaCl-Elektrolyten (Der Nullpunkt der Zeitachse wird durch die maximale Intensität bestimmt).

Ein Puffer von 0,1 molarer Lösung führte in beiden Fällen zu einer weiteren Aufkonzentrierung der Probe und somit zu einer weiteren Verstärkung des Streusignals. Die Streusignale bei geringeren Pufferkonzentrationen hingegen fielen deutlich niedriger aus. Es fällt auf, daß im Fall von Sulfat der zeitliche Verlauf steil ansteigt und dann vergleichsweise langsam abfällt, während bei Nitrat genau das Gegenteil der Fall ist. Ein möglicher Grund hierfür liegt in den Mobilitäten der in der Lösung vorhandenen Anionen. Der Puffer enthält Chlor, das mit seiner Mobilität genau zwischen Nitrat (kleinere Mobilität als Chlor) und Sulfat (größere Mobilität als Chlor) liegt (vgl. Tabelle 2.2).

Ist der Puffer von höherer Konzentration als die Sulfatprobe, so migriert bei der eigentlichen Elektrophorese in erster Linie an der Grenze Probe/Puffer die aufkonzentrierte Sulfatfront. Da die Sulfat-Ionen aber eine höhere Mobilität haben, migrieren sie stärker als die Chlor-Ionen des Puffers mit dem elektrischen Feld, also gegen den elektroosmotischen Fluß. Dieses führt zu einem ‚weichen‘ Abklingen der Intensitäten am Detektor. Betrachtet man Nitrat, so migrieren Nitrat-Ionen aufgrund ihrer geringeren Beweglichkeit stärker mit dem elektroosmotischen Fluß als die Chlor-Ionen. Dieses führt dazu, daß bei Nitrat die Intensitäten vor dem Maximum leicht ansteigen und danach steil abfallen. Beide Fälle treten aber nur auf, wenn die Feldstärke in Probe und Puffer unterschiedlich ist, da die Unterschiede der Mobilitäten sich nur in diesen Fällen deutlich bemerkbar machen [23]. Bei der hohen Pufferkonzentration von 0,1 molarer Natriumchloridlösung im Verhältnis zu den 0,01 molaren Probe ist dieses letztendlich der Fall. In den durchgeführten Untersuchungen konnten diese Verläufe am Detektor dann aber nur zum Teil beobachtet werden. Um überhaupt Spektren mit entsprechenden Intensitäten zu erhalten, mußte das Spektrometer mit einer Integrationszeit von einer Sekunde betrieben werden, so daß der Verlauf nur mit geringer zeitlicher Auflösung bestimmt werden konnte. Eine höhere Abtastrate würde mit hoher Wahrscheinlichkeit auch ein besseres Bild liefern, das dann eher den obigen Überlegungen genügen würde.

Ist der Puffer von gleicher Konzentration wie die Probe, so sind derartige Effekte nicht zu beobachten. Sowohl bei Nitrat als auch bei Sulfat steigen die Intensitäten gleichmäßig an und fallen anschließend auch gleichmäßig wieder ab. In diesem Fall bleibt die Aufkonzentrierung der Probe erhalten, wird aber in einem stärkeren Maße symmetrisch um die Maximalintensität verteilt, da die Feldstärken des Puffers und der Probe durch die gleichen Konzentrationen dieselbe Größenordnung haben.

Ein Puffer geringerer Konzentration bereitet zum einen schon Probleme bei der Aufkonzentrierung, zum anderen sind die Feldstärken im Puffer sehr viel größer als in der Probe, so daß sowohl bei Nitrat als auch Sulfat die Probe gleichermaßen auseinander diffundiert. Dieses führt dazu, daß am Detektor über einen langen Zeitraum geringe Konzentrationen vorbeiziehen (vgl. Abbildung 4-16 und 4-17).

Die Gemeinsamkeit aller Pufferkonzentrationen besteht in der Summe ihrer Intensitäten. Betrachtet man die einzelnen Integrale, die der Summe der am Detektor vorbeiziehenden Ionen entsprechen, so liegen diese in vergleichbaren Größenordnungen.

Resultierend aus diesen Ergebnissen wurde in den elektrophoretischen Messungen eine 0,1 molare Natriumchloridlösung als Pufferelektrolyt verwendet. Dieses gewährleistete zum einen eine einfache Durchführbarkeit, hatte aber den Nachteil, daß geringere Probekonzentrationen höheren Feldstärkegradienten unterworfen waren. Da aber auch hier nur Werte gleicher Konzentrationen in unterschiedlichen Kapillaren untersucht wurden, wirkte sich dieser Nachteil nicht negativ aus.

#### **4.2.2 Untersuchungen der Kapillare**

Im vorherigen Abschnitt wurden Voruntersuchungen bezüglich der Probeanreicherung unternommen, und festgestellt, daß ein Pufferelektrolyt bestehend aus einer 0,1 molaren Natriumchloridlösung für die gestellte Aufgabe die beste Alternative darstellt. Ein weiterer Parameter, der bei diesen Untersuchungen feststand, war die Stärke des elektrischen Feldes. Das Feld wurde bei allen untersuchten Kapillaren auf einer Feldstärke von  $150 \text{ V}\cdot\text{cm}^{-1}$  gehalten. Diese Feldstärke konnte mit dem zur Verfügung stehenden Netzteil problemlos auch noch im Falle der 20 cm Kapillaren realisiert werden. Das Festlegen der Feldstärke diente der besseren Vergleichbarkeit der Werte der verschiedenen Kapillare.

Die Injektionszeiten wurden ebenfalls für die verschiedenen Kapillare so gewählt, daß ein Probevolumen von 100 nl angestrebt wurde. In der Praxis zeigte sich, daß die Reproduzierbarkeit des Probevolumens schwierig zu erreichen war und einiger Erfahrung bedurfte.

Zusammenfassend wurden also Probevolumen, elektrische Feldstärke und Pufferelektrolyt konstant gehalten, während Längen und Innendurchmesser der Kapillare verändert wurden. Die Kapillare wurden bei allen Innendurchmessern in den Längen 10, 15 und 20 cm untersucht, wobei dieses die Entfernungen Inlet/Detektor sind (die Gesamtlänge war jeweils um 5 cm größer).

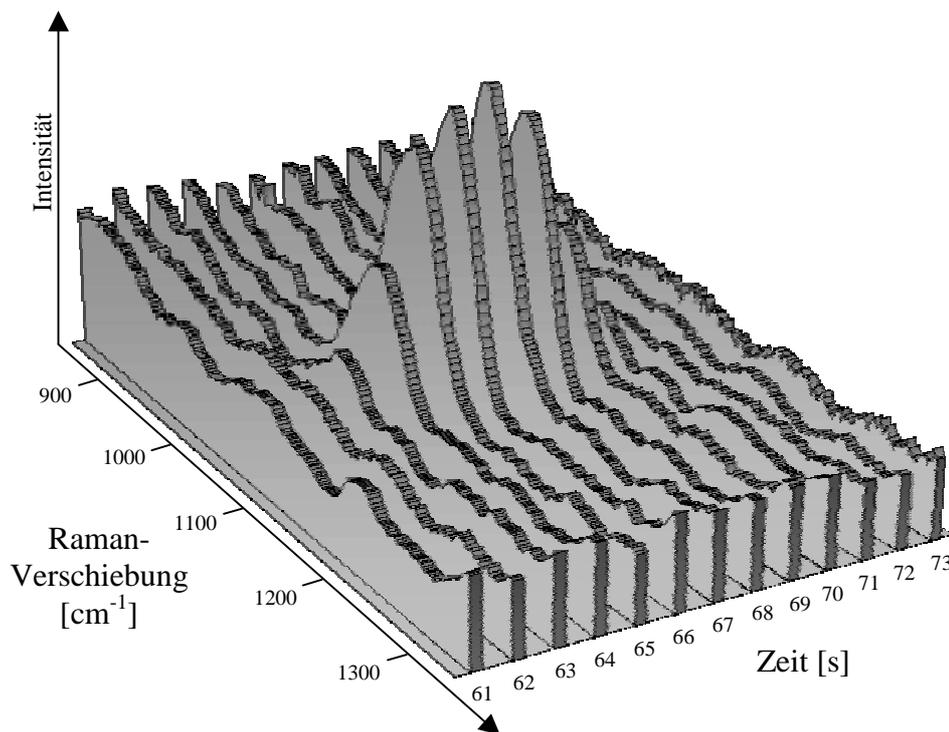
Der Einsatz von Kapillaren in Zusammenhang mit der Messung der Ramanstreuung sollte letztendlich zu einem Empfindlichkeitsgewinn führen. In der herkömmlichen Messung der Ramanstreuung wurden an der 100  $\mu\text{m}$  Kapillare sowohl für Nitrat als auch für Sulfat bereits Konzentrationen in der Größenordnung einer 0,01 molaren Lösung bestimmt, so daß im elektrophoretischen Fall Lösungen untersucht wurden, die schwächer waren und in einem Bereich hinunter bis zu  $1 \cdot 10^{-6}$  molar reichten. Die Aufmerksamkeit galt zwei Dingen: Zum einen sollte die Steigerung der Intensität der Ramanstreuung für die verschiedenen Kapillare beobachtet werden, zum anderen waren die Dauer einzelner Messungen und ihre Reproduzierbarkeit von Interesse. Es sei noch einmal erwähnt, daß alle Untersuchungen an den Kapillaren mit einem 0,1 molaren Natriumchlorid-Pufferelektrolyten, einer Feldstärke von  $150 \text{ V} \cdot \text{cm}^{-1}$  und einer Spektrometer Integrationszeit von einer Sekunde durchgeführt wurden. Exemplarisch sind in den unten folgenden Grafiken einzelne zeitliche Verläufe der Ramanstreuung an der Kapillare dargestellt, die in ihrem Verhalten typisch für die Messungen an der jeweiligen Kapillare waren. Eine genauere Betrachtung der Reproduzierbarkeit und der Fehler folgt in Abschnitt 5.

#### **4.2.2.a 100 $\mu\text{m}$ Kapillare**

Die 100  $\mu\text{m}$  Kapillare hatte den größten verwendeten Innendurchmesser. Das Hauptinteresse der Untersuchungen galt drei verschiedenen Aspekten: Erstens war die Stärke der Intensität der Nitrat- bzw. Sulfatstreuung von Bedeutung. Es sollte bestimmt werden, ob sich die verschiedenen Längen auf die Intensität der Streuung auswirken. Zweitens wurde der zeitliche Verlauf am Detektor erfaßt, um Informationen über die Länge der Probefront in der Kapillare zu erhalten. Als letzter Punkt wurde selbstverständlich die Dauer zwischen Anlegen des Feldes und Erscheinen der Ramanlinien am Detektor bestimmt. Exemplarisch für alle durchgeführten elektrophoretischen Messungen werden in Abbildung 4-18 die Rohdaten der gemessenen Ramanstreuung einer  $1 \cdot 10^{-4}$  molaren Natriumnitratlösung in Abhängigkeit von der Zeit vorgestellt<sup>12</sup>. Das Spektrum zeichnet sich durch das gleichmäßige Untergrundsignal aus, das durch das Silikat der Kapillare verursacht wird. Es läßt sich allerdings als permanente Störung leicht aus dem Spektrum entfernen. Das Maximum der Ramanstreuung des Nitrates ist bei  $1060 \text{ cm}^{-1}$  ist deutlich erkennbar. Während eines Zeitintervalls von sieben Sekunden ziehen die Nitrat-Ionen der aufkonzentrierten Probe an der Detektoroptik vorbei.

---

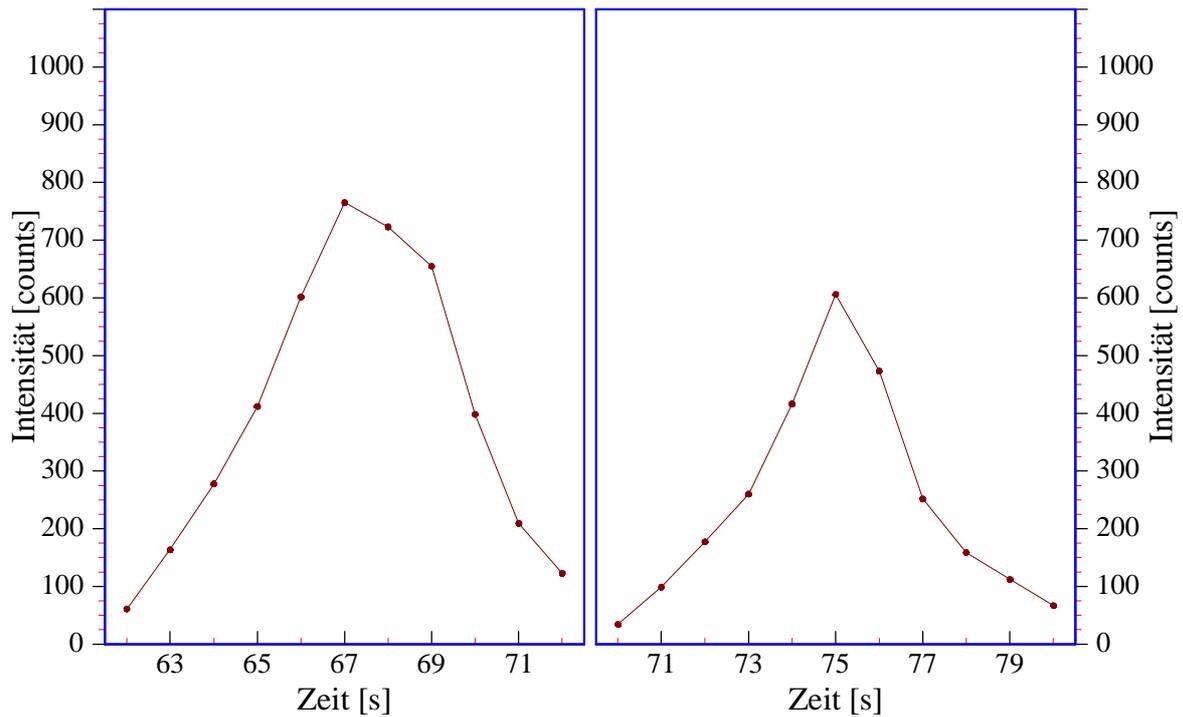
<sup>12</sup> Es ist in der Grafik nur der interessante Zeitbereich von 61 – 73 Sekunden dargestellt, in dem die Nitrat Ionen am Detektor vorbeiziehen. Ansonsten besteht das Spektrum nur aus dem Signal des Silikathintergrunds.



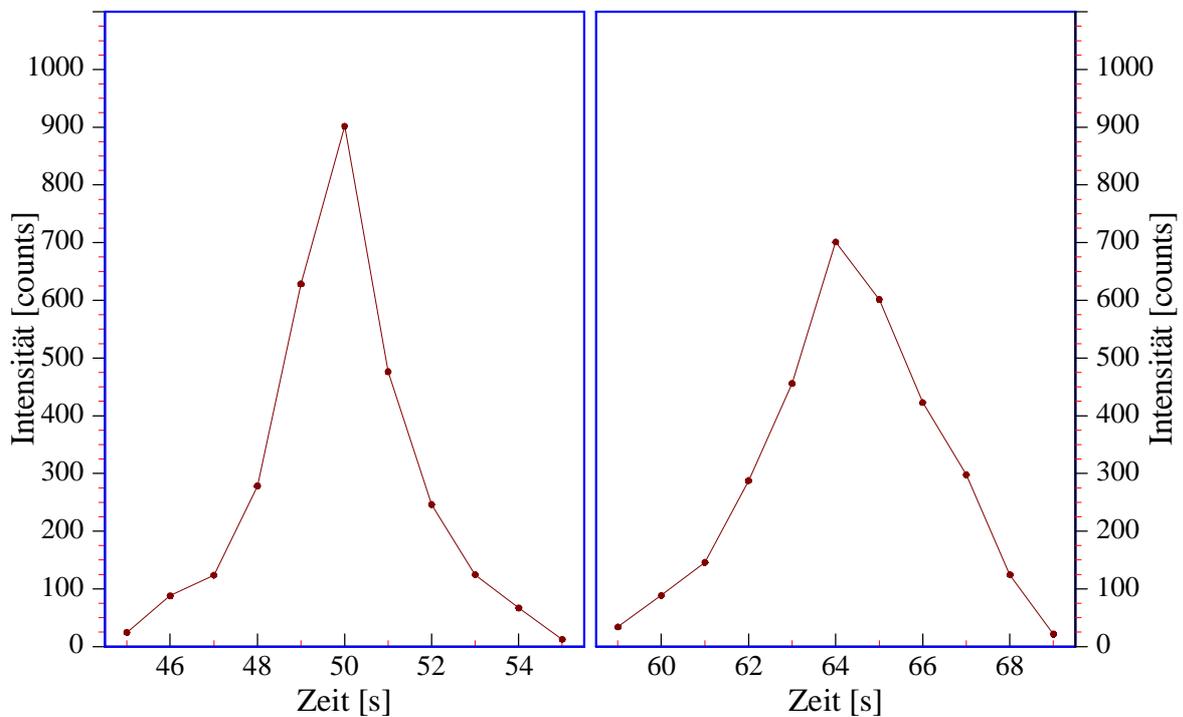
**Abbildung 4-18:** Intensität der Ramanstreuung einer  $1 \cdot 10^{-4}$  molaren Natriumnitratlösung an der  $100 \mu\text{m}$  Kapillare mit einer Länge von  $20 \text{ cm}$  in Abhängigkeit von der Zeit.

Für die eigentliche Auswertung der elektroforetischen Messungen waren weniger die spektralen Verläufe der Ramanstreuung von Interesse. Vielmehr galt es, den zeitlichen Verlauf der Streuung an der Kapillare zu beobachten. Hierzu sind in Abbildung 4-19 lediglich die gemessenen Intensitäten der Ramanstreuung für Natriumnitrat bei  $1060 \text{ cm}^{-1}$  und Natriumsulfat bei  $1005 \text{ cm}^{-1}$  über der Zeit eingezeichnet. Die Abbildung ist in zwei unterschiedliche Grafiken unterteilt, da Nitrat- und Sulfatprobe (jeweils  $1 \cdot 10^{-3}$  molare Konzentration) getrennt voneinander untersucht wurden.

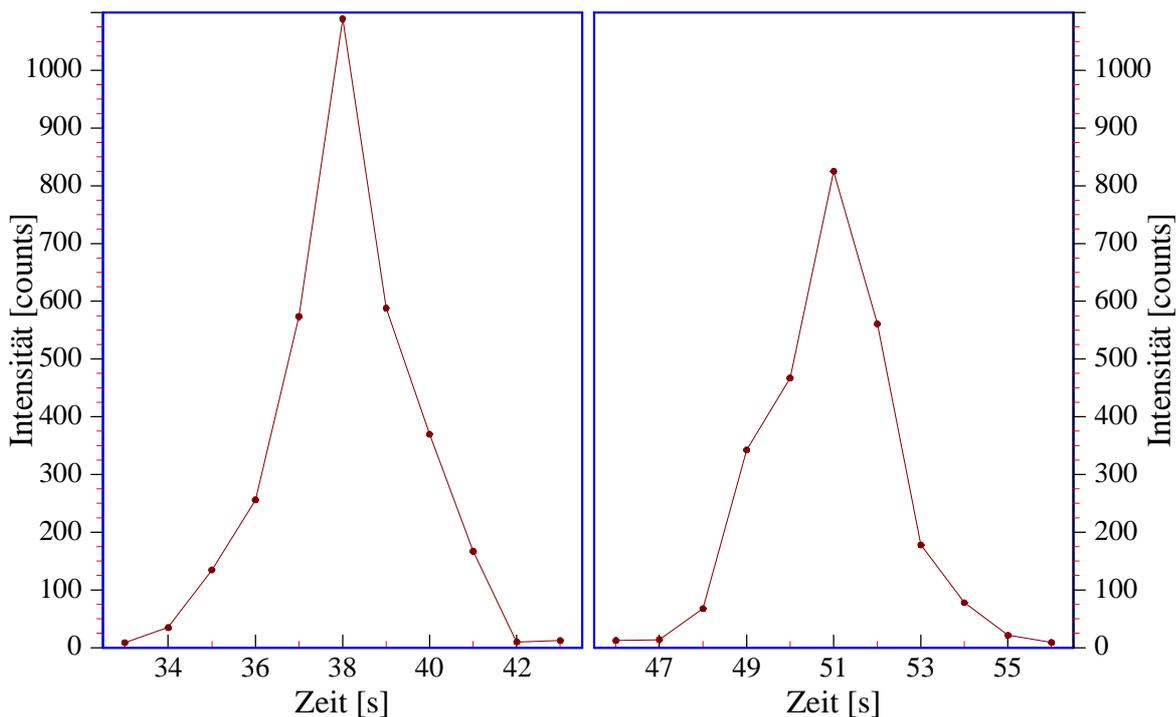
Interessanterweise benötigte die Sulfatprobe für die Migration mit dem elektroosmotischen Fluß deutlich länger als die Nitratprobe. Sulfat ist doppelt negativ geladen und hat eine größere elektroforetische Mobilität, so daß die Kraft des elektrischen Feldes die Ionen stärker als im Fall von Nitrat zur Anode zieht. Hieraus resultiert bei gleichbleibenden elektroosmotischen Fluß eine geringere absolute Mobilität (zusammengesetzt aus elektroforetischer und elektroosmotischer Mobilität) in Richtung der Kathode, so daß die Migrationszeit von Sulfat größer als die von Nitrat ist. Ferner erkennt man die Breite der am Detektor vorbeiziehenden Probe. Bei beiden Lösungen erstreckte sich das Signal über einen Zeitraum von annähernd zehn Sekunden.



**Abbildung 4-19:** Signalverlauf am Detektor für Natriumnitrat (links) und Natriumsulfat (rechts). Die Punkte repräsentieren die eigentlichen Meßwerte.  
 Probekonzentration:  $1 \cdot 10^{-3}$  molar / Kapillare:  $100 \mu\text{m}$  Innendurchmesser,  $20 \text{ cm}$  Länge



**Abbildung 4-20:** Signalverlauf am Detektor für Natriumnitrat (links) und Natriumsulfat (rechts). Die Punkte repräsentieren die eigentlichen Meßwerte.  
 Probekonzentration:  $1 \cdot 10^{-3}$  molar / Kapillare:  $100 \mu\text{m}$  Innendurchmesser,  $15 \text{ cm}$  Länge



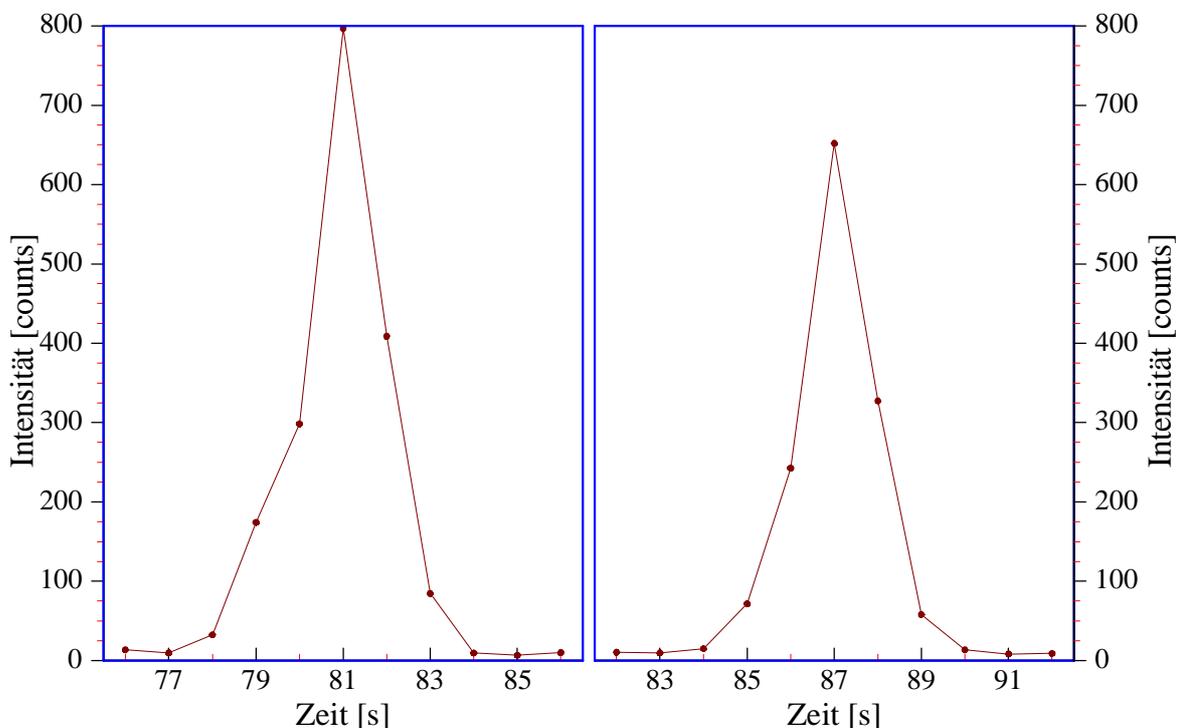
**Abbildung 4-21:** Signalverlauf am Detektor für Natriumnitrat (links) und Natriumsulfat (rechts). Die Punkte repräsentieren die eigentlichen Meßwerte.  
*Probekonzentration:  $1 \cdot 10^{-3}$  molar / Kapillare:  $100 \mu\text{m}$  Innendurchmesser, 10 cm Länge*

Die weiteren Meßreihen bestanden in der Untersuchung der  $100 \mu\text{m}$  Kapillare in den Längen von 15 cm und 10 cm. Abbildung 4-20 und Abbildung 4-21 zeigen die Meßergebnisse. Im Vergleich zur 20 cm Kapillare fällt schnell auf, daß sich die Intensitäten erhöhen, die Zeit der vorbeiziehenden Probe, also die Breite der Front, sich jedoch verringert. Wird die Kapillarlänge weiter verkürzt, verstärkt sich dieser Effekt. Vergleicht man dieses Verhalten mit dem von Kapillaren mit geringerem Innendurchmesser (siehe unten), erkennt man, daß sich im Fall der  $100 \mu\text{m}$  Kapillare die Probefront bei längeren Kapillaren aufzulösen scheint. Dies legt die Vermutung nahe, daß der elektroosmotische Fluß in einer Kapillare von größerem Durchmesser die Probe nach ihrer vorherigen Aufkonzentrierung nicht gleichmäßig zur Kathode transportiert. Die Probe-Ionen in der Nähe der Kapillarwand werden auch in der  $100 \mu\text{m}$  Kapillare mit dem elektroosmotischen Fluß migrieren, die Ionen in der Mitte der Kapillare hingegen unterliegen einem stärkeren elektrophoretischen Einfluß, der zur Anode gerichtet ist. Im Resultat ist ihre Wanderung langsamer als die der äußeren Ionen, was zu einer Auflösung der Front bei längeren Wanderzeiten, also bei längeren Kapillaren führt.

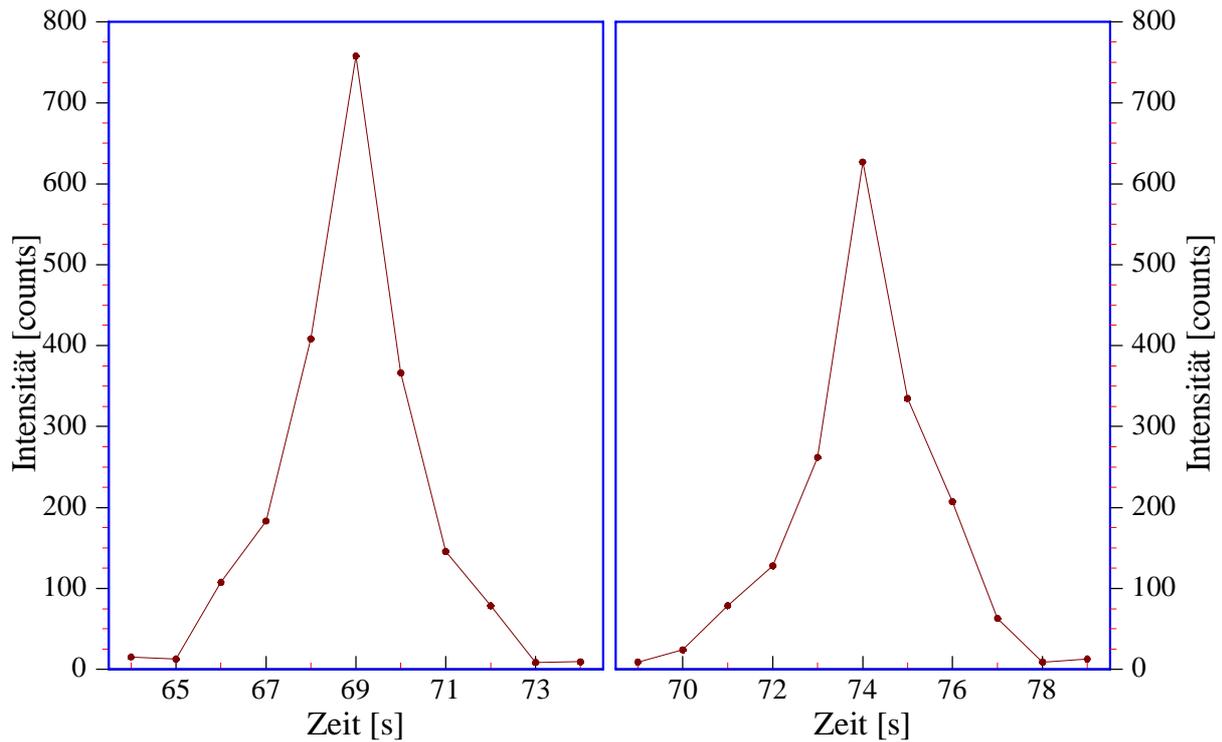
**4.2.2.b 75  $\mu\text{m}$  Kapillare**

An zweiter Stelle der Experimente stand die 75  $\mu\text{m}$  Kapillare. Auch hier wurden die drei Längen 20 cm, 15 cm und 10 cm untersucht, nachdem die Probe, bestehend aus einer  $1 \cdot 10^{-3}$  molaren Natriumnitrat- bzw. Natriumsulfatlösung, entsprechend den Überlegungen aus Abschnitt 4.2.1.b aufkonzentriert wurde. Die Abbildungen 4-22 bis 4-24 zeigen die Ergebnisse der Messungen. Im Vergleich zur 100  $\mu\text{m}$  Kapillare ist erkennbar, daß beide Proben bei größer werdender Kapillarlänge nicht auseinander diffundieren, sondern scheinbar noch weiter aufkonzentriert werden. Besonders die 20 cm Kapillare zeigt einen sehr starken Intensitätsgewinn gegenüber den kürzeren Kapillaren.

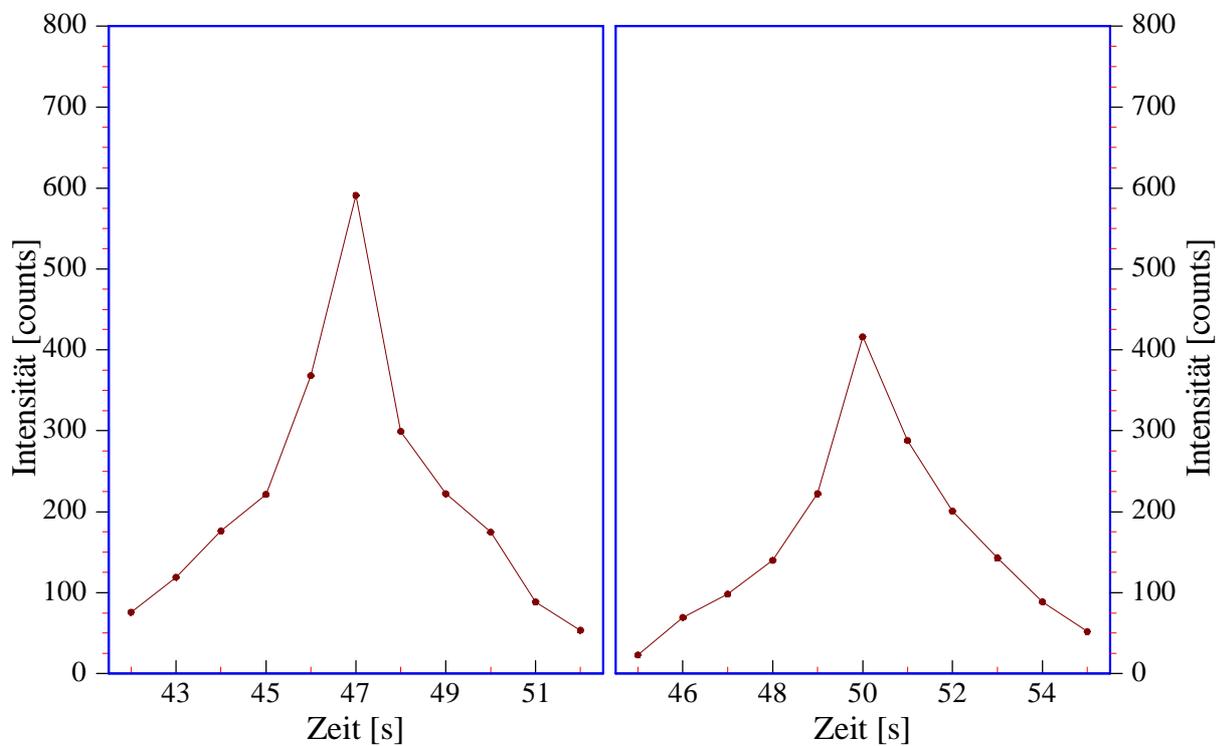
Die an der 75  $\mu\text{m}$  Kapillare durchgeführten Untersuchungen zeichneten sich, wie auch im Falle der 100  $\mu\text{m}$  Kapillare, durch gute Reproduzierbarkeit aus. Allerdings bestand bei der 20 cm Kapillare die Gefahr, daß im ungünstigen Fall aufgrund der schmalen Probefront das Maximum der Intensität verpaßt, und somit zu einem falschen Meßergebnis führen würde. Die 15 cm Kapillare zeichnete sich bei allen Messungen durch einen gleichmäßigen An- wie auch Abstieg der Intensität bei größerer Breite der Front aus, so daß die Meßwerte statistisch aufbereitet werden konnten und auch bei verpaßtem Intensitätsmaximum ein entsprechendes Ergebnis lieferten.



**Abbildung 4-22:** Signalverlauf am Detektor für Natriumnitrat (links) und Natriumsulfat (rechts). Die Punkte repräsentieren die eigentlichen Meßwerte.  
 Probekonzentration:  $1 \cdot 10^{-3}$  molar / Kapillare: 75  $\mu\text{m}$  Innendurchmesser, 20 cm Länge



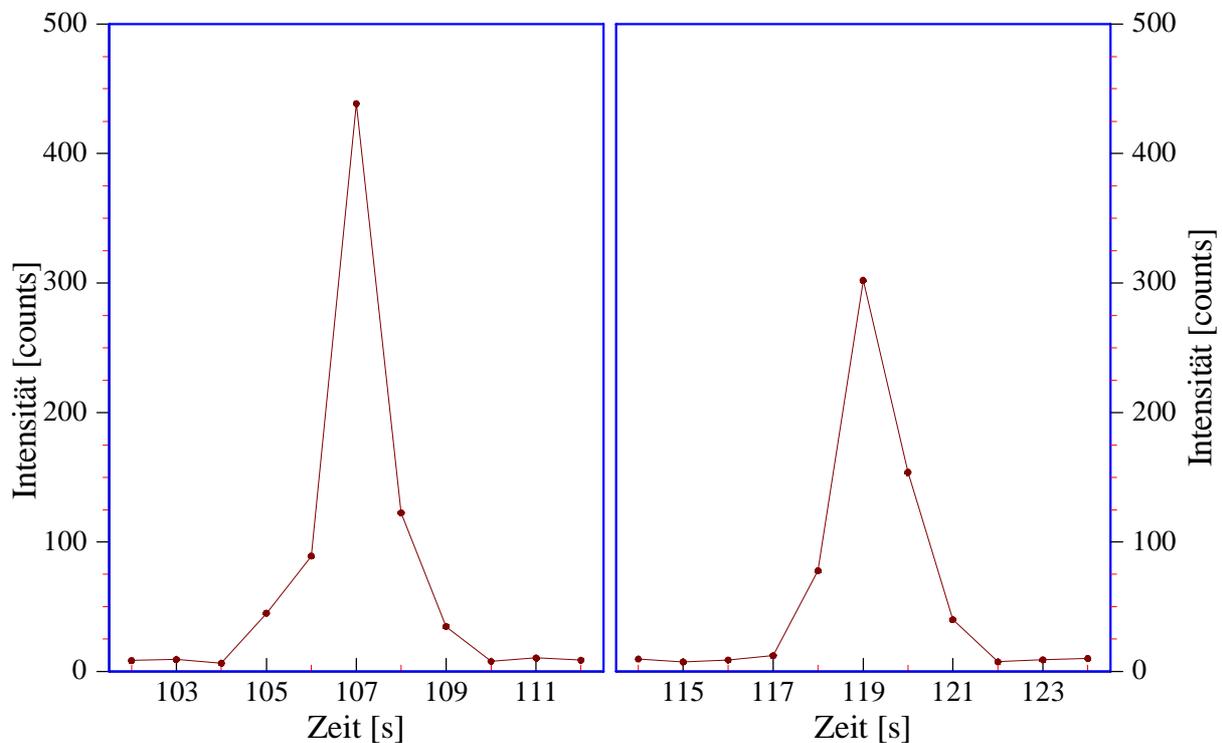
**Abbildung 4-23:** Signalverlauf am Detektor für Natriumnitrat (links) und Natriumsulfat (rechts). Die Punkte repräsentieren die eigentlichen Meßwerte.  
 Probekonzentration:  $1 \cdot 10^{-3}$  molar / Kapillare:  $75 \mu\text{m}$  Innendurchmesser, 15 cm Länge



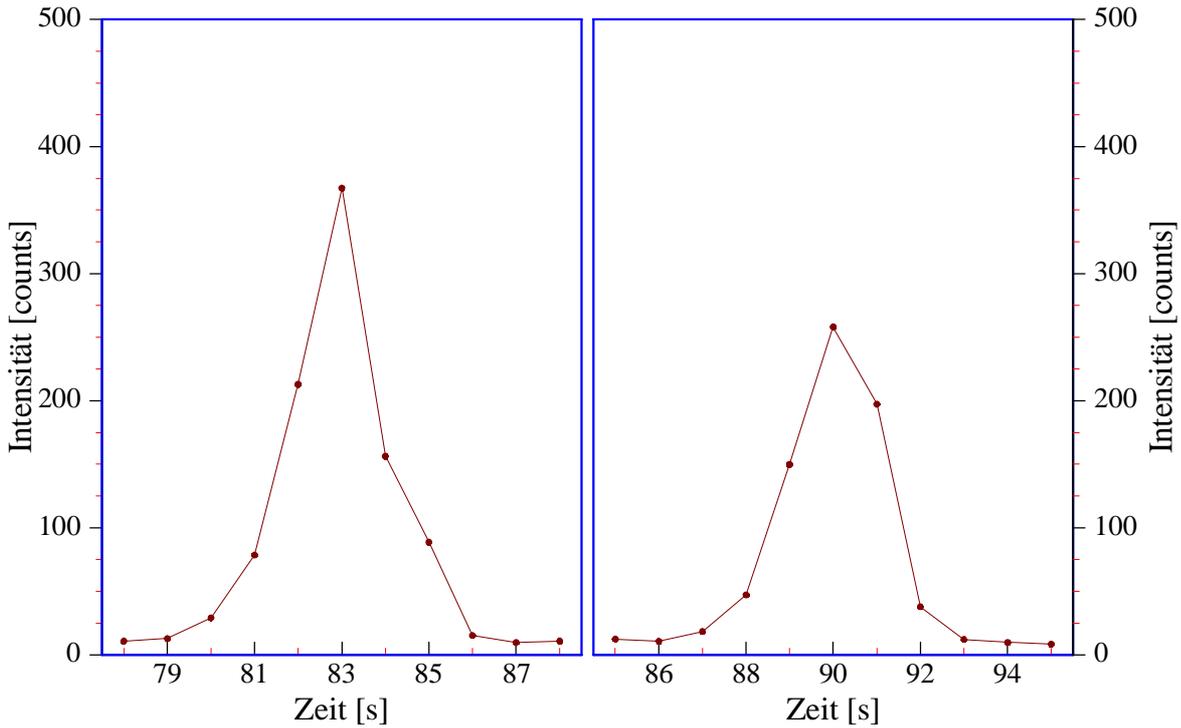
**Abbildung 4-24:** Signalverlauf am Detektor für Natriumnitrat (links) und Natriumsulfat (rechts). Die Punkte repräsentieren die eigentlichen Meßwerte.  
 Probekonzentration:  $1 \cdot 10^{-3}$  molar / Kapillare:  $75 \mu\text{m}$  Innendurchmesser, 10 cm Länge

### 4.2.2.c 50 $\mu\text{m}$ Kapillare

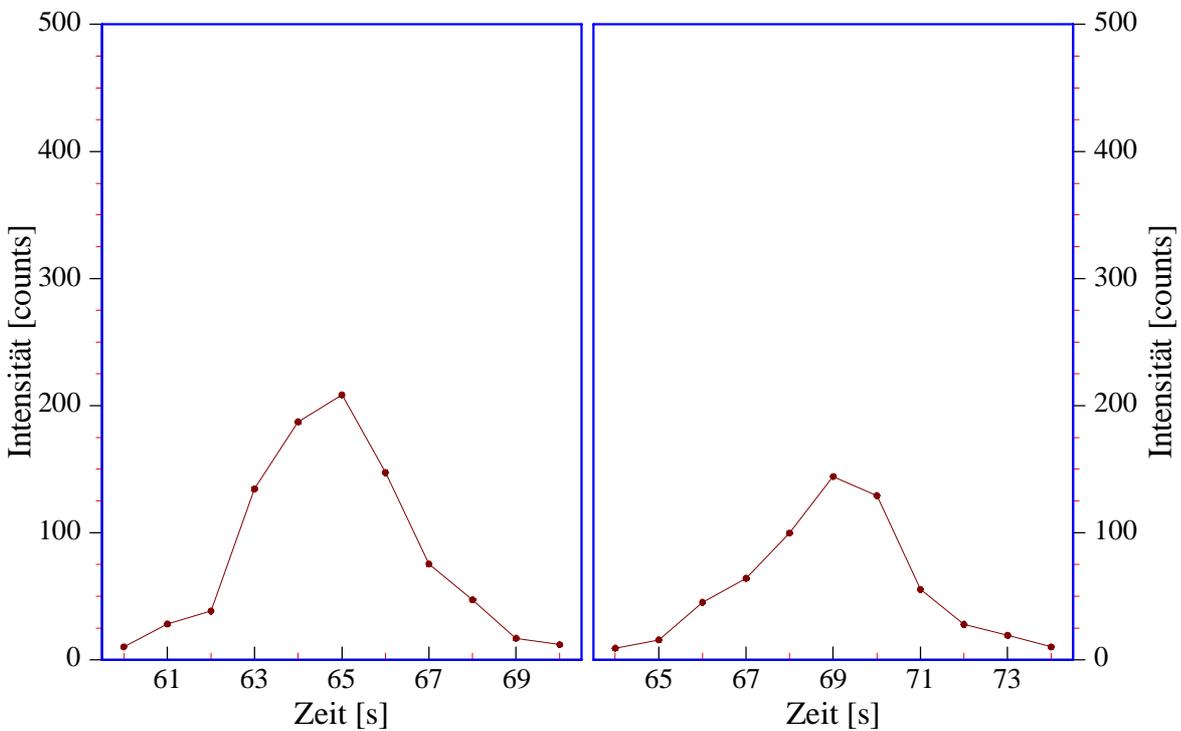
Als letztes wurde die 50  $\mu\text{m}$  Kapillare untersucht. Auch hier wurden eine  $1 \cdot 10^{-3}$  molare Natriumnitrat- bzw. Natriumsulfatlösung als Probe verwendet. Es sei vorweg gesagt, daß die hier dargestellten Verläufe in den Abbildungen 4-25 bis 4-27 bewußt ausgesucht sind. Die Reproduzierbarkeit war aufgrund des geringen Streusignals – bedingt durch das kleine Streuvolumen – eher mäßig. Hinzu kam ein stärkeres Hintergrundsignal des Silikats der Kapillare, da die Kapillare eine höhere Wandstärke als die 75  $\mu\text{m}$  bzw. die 100  $\mu\text{m}$  Kapillare hatte. Ferner waren die Probefronten durchweg schmaler als bei den größeren Kapillaren, was zwar eine bessere Aufkonzentrierung bedeutete, jedoch hier wie auch im Fall der 75  $\mu\text{m}$  / 20 cm Kapillare zu der Gefahr führte, ein vorbeiziehendes Intensitätsmaximum nicht zu erkennen.



**Abbildung 4-25:** Signalverlauf am Detektor für Natriumnitrat (links) und Natriumsulfat (rechts). Die Punkte repräsentieren die eigentlichen Meßwerte.  
Probekonzentration:  $1 \cdot 10^{-3}$  molar / Kapillare: 50  $\mu\text{m}$  Innendurchmesser, 20 cm Länge



**Abbildung 4-26:** Signalverlauf am Detektor für Natriumnitrat (links) und Natriumsulfat (rechts). Die Punkte repräsentieren die eigentlichen Meßwerte.  
 Probekonzentration:  $1 \cdot 10^{-3}$  molar / Kapillare:  $50 \mu\text{m}$  Innendurchmesser, 15 cm Länge



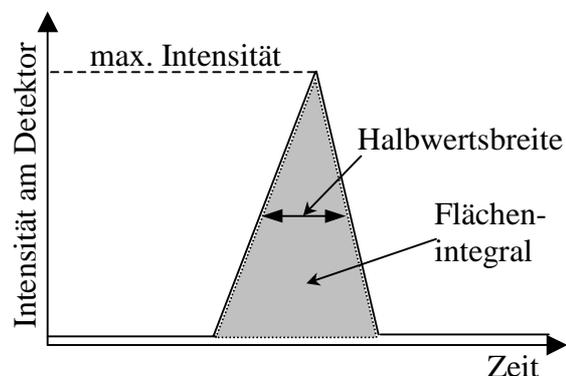
**Abbildung 4-27:** Signalverlauf am Detektor für Natriumnitrat (links) und Natriumsulfat (rechts). Die Punkte repräsentieren die eigentlichen Meßwerte.  
 Probekonzentration:  $1 \cdot 10^{-3}$  molar / Kapillare:  $50 \mu\text{m}$  Innendurchmesser, 10 cm Länge

Aufgrund der an den Kapillaren durchgeführten orientierenden Versuche fanden die Messungen zur Steigerung der Nachweisempfindlichkeit an der 75  $\mu\text{m}$  Kapillare statt. Die 100  $\mu\text{m}$  Kapillare schied aus, da bei ihr die Probefront auseinander diffundierte, während sich die Ergebnisse der 50  $\mu\text{m}$  Kapillare durch eine ungenügende Reproduzierbarkeit und eine sehr geringe Streuintensität auszeichneten. Bedingt durch die oben erwähnte Gefahr, eine schmale vorbeiziehende Probefront nicht richtig zu interpretieren, wurde die 15 cm Kapillare gewählt. Sie gewährleistete zum einen eine Intensitätssteigerung durch weitere Aufkonzentrierung, die Probefront hatte aber zum anderen eine genügende Breite, so daß sich auch mit dem Spektrometer und einer Integrationszeit von einer Sekunde untersucht werden konnte.

### 4.2.3 Nachweisgrenzen der 75 $\mu\text{m}$ Kapillare

Im folgenden wurden an der 75  $\mu\text{m}$  Kapillare mit einer Länge von 15 cm Proben verschiedener Konzentrationen untersucht. Die äußeren Parameter wurden konstant gehalten, das heißt wie auch bei den vorhergehenden Messungen wurde ein 0,1 molarer Natriumchloridpuffer verwendet, und ein elektrisches Feld von  $150 \text{ V}\cdot\text{cm}^{-1}$  angelegt.

Die Untersuchungen der verschiedenen Konzentrationen wurden für Natriumnitrat und Natriumsulfat analog den oben beschriebenen Messungen separat durchgeführt. Neben der maximalen Intensität und deren zeitlicher Erscheinung wurde besonderes Augenmerk auf die Breite der Probefront gelegt. Da die Intensität, also die Konzentration der Front am Detektor, der Theorie nach linear bis zu einem Maximum steigen und danach auch linear abfallen sollte, wurden in die jeweiligen Meßdaten zwei Geraden unterschiedlicher Steigung gelegt, die zum einen den Anstieg und zum anderen den Abfall der Intensität mathematisch beschreiben sollten [23],[24]. Diese einfache Annäherung erwies sich in der Praxis als durchaus sinnvoll und lieferte gute Ergebnisse. Aus diesen Geraden wurde dann stellvertretend für die Breite der Probefront eine Halbwertsbreite ermittelt. Da für die Konzentrationsbestimmung das Integral des Intensitätsverlaufs von Interesse ist, wurde dieses aus den Geraden ermittelt und bildete die eigentliche Meßgröße. Abbildung 4-28 veranschaulicht noch einmal die drei ‚interessanten‘ Größen der durchgeführten Messungen.

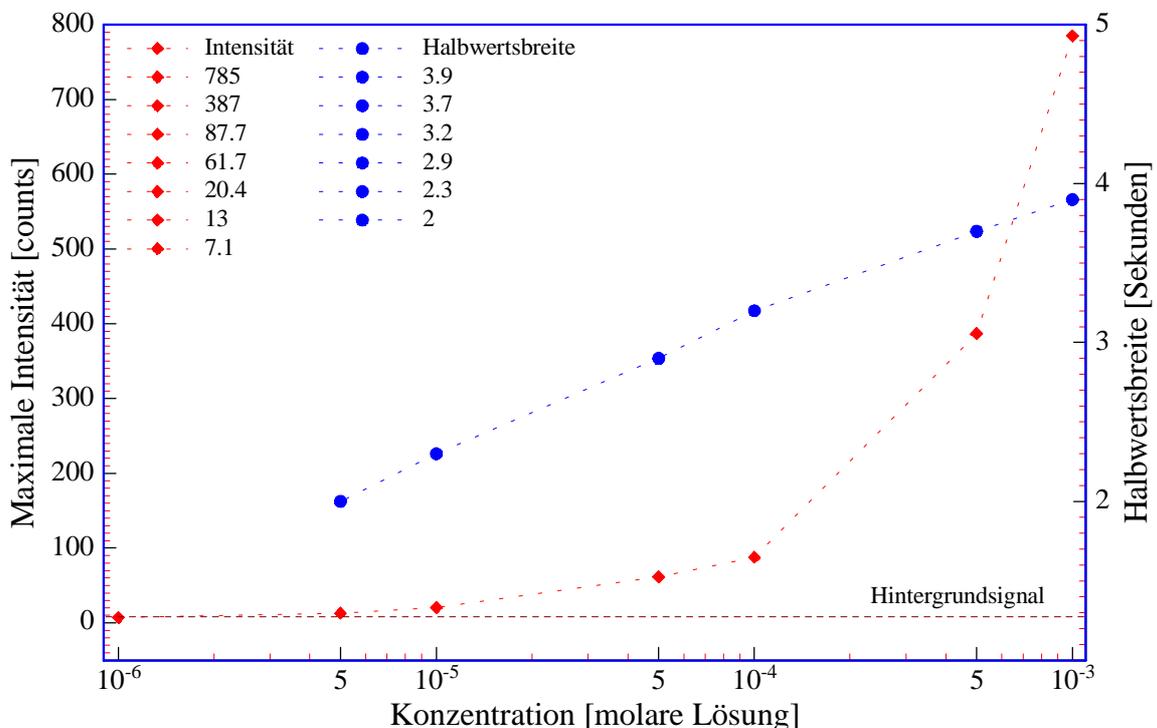


**Abbildung 4-28:** Meßgrößen bei den Messungen zur Bestimmung der Nachweisgrenze.

Im folgenden wird auf die einzelnen zeitlichen Verläufe verzichtet, und stattdessen ein Vergleich dieser Größen für Natriumnitrat und Natriumsulfat durchgeführt. Zunächst wurden Natriumnitratlösungen verschiedener Konzentrationen untersucht; ihnen folgten die Messungen an Natriumsulfat. Die stärkste Konzentration war jeweils eine  $1 \cdot 10^{-3}$  molare, die schwächste eine  $1 \cdot 10^{-6}$  molare Lösung, wobei die Konzentrationen der Lösungen jeweils halbiert wurden.

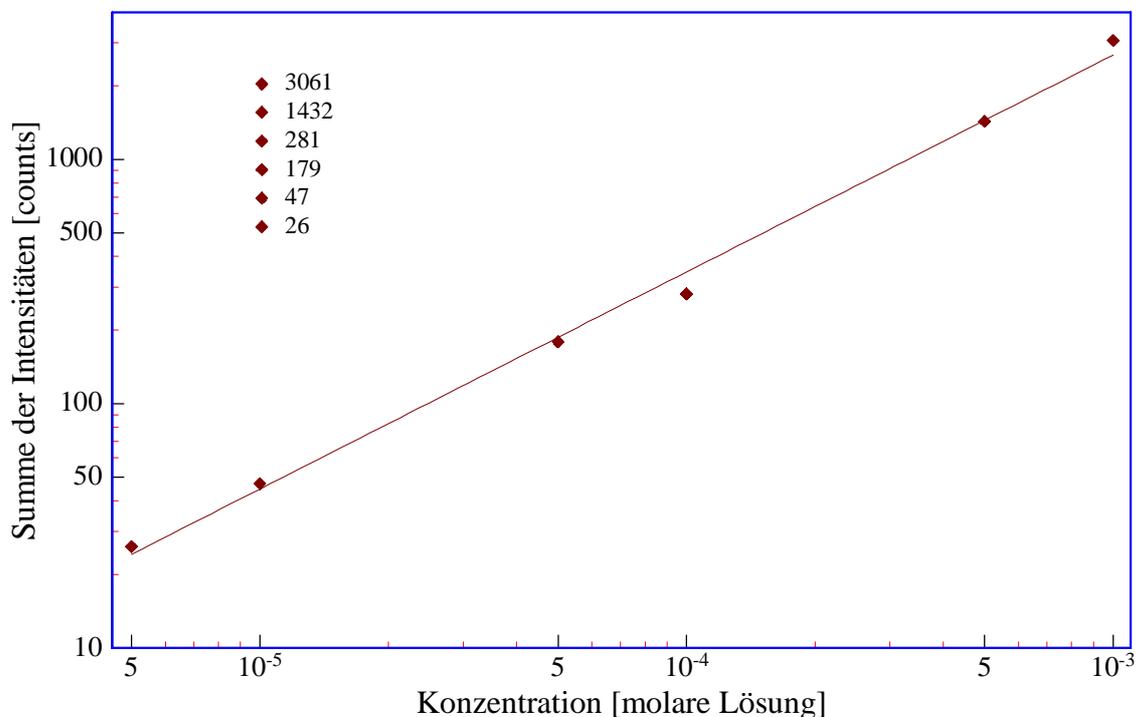
#### 4.2.3.a Nachweisgrenze von Natriumnitrat

Wie oben erwähnt wurden zuerst Natriumnitratlösungen verschiedener Konzentrationen untersucht. In Abbildung 4-29 sind die gemessenen Maximalintensitäten bzw. die Halbwertsbreiten der zeitlichen Verläufe am Detektor für verschiedene Konzentrationen dargestellt. An den Zahlenwerten der Intensitäten ist zu erkennen, daß der Zusammenhang keineswegs linear ist. Ferner scheint bei geringeren Konzentrationen eine stärkere Aufkonzentrierung der Probe zu erfolgen, was zu einer verhältnismäßigen Intensitätssteigerung führt. Diese stärkere Aufkonzentrierung drückt sich letztendlich auch in der geringeren Halbwertsbreite der niedrigeren Konzentrationen aus. Das gemessene Hintergrundsignal entspricht in dieser Abbildung der Störung ohne die Silikatstreuung, das heißt, es resultiert lediglich aus dem Aqua Dest. Spektrum.



**Abbildung 4-29:** Maximale Intensitäten der Ramanstreuung und Halbwertsbreiten für verschiedene Natriumnitratlösungen, elektrophoretisch an der 75  $\mu\text{m}$  Kapillare gemessen.

Eine  $1 \cdot 10^{-6}$  molare Natriumnitratlösung konnte mit dieser Anordnung nicht mehr bestimmt werden, da ein eindeutiges Spektrum vom Hintergrundsignal nicht mehr zu unterscheiden war, somit auch keine Halbwertsbreite bestimmt werden konnte. Zur Bestimmung der absoluten Konzentration war, wie oben bereits erwähnt, nicht die maximale Intensität der Streustrahlung von Bedeutung. Vielmehr waren die Summen bzw. Integrale zu bestimmen. Abbildung 4-30 zeigt die aus den gemessenen Kurven bestimmten Integrale der Natriumnitratlösungen. Die durchgezogene Regressionsgerade veranschaulicht die lineare Abhängigkeit der Summe der Signale bezüglich der Konzentration. Wie erwartet steht die absolute Menge der Detektor vorbeiziehenden Nitrat-Ionen somit in einem direkten linearen Zusammenhang zur Konzentration der Probelösung.

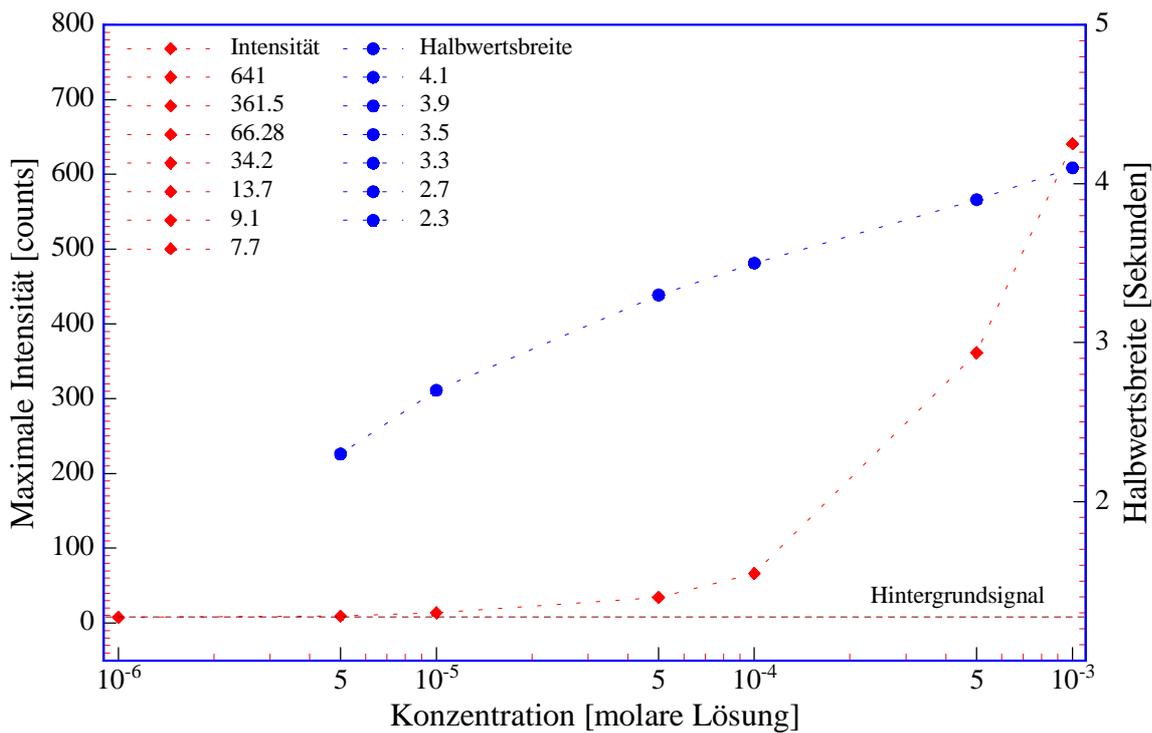


**Abbildung 4-30:** Summe der gemessenen Intensitäten der Ramanstreuung für verschiedene Natriumnitratlösungen, gemessen an der 75  $\mu\text{m}$  Kapillare.

Im Fall der untersuchten Natriumnitratlösungen bleibt festzustellen, daß geringere Lösungskonzentrationen eine stärkere Aufkonzentrierung als höhere erfahren. Da die zeitlichen Halbwertsbreiten jedoch im gleichen Maße abnehmen, ist die Summe der Intensitäten direkt linear von der Lösungskonzentration abhängig. Interpoliert man die maximalen Intensitäten in Abhängigkeit von der Konzentration, so läßt sich feststellen, daß eine  $3 \cdot 10^{-6}$  molare Lösungskonzentration eine Ramanstreuung liefern würde, die noch meßbar wäre.

#### 4.2.3.b Nachweisgrenze von Natriumsulfat

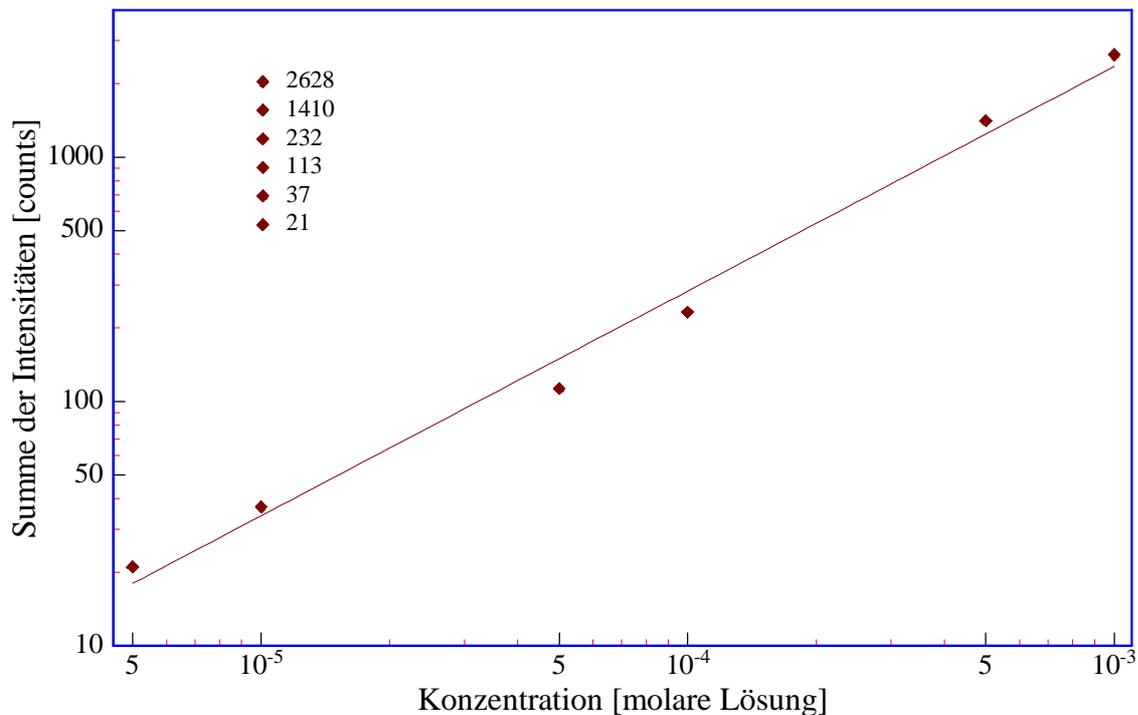
Nachdem Natriumnitrat untersucht wurde, waren die gleichen Messungen für Natriumsulfatlösungen verschiedener Konzentrationen durchzuführen. Auch hier zielten die Messungen nicht nur auf die Bestimmung der maximalen Intensitäten, sondern ebenso auf die Halbwertsbreiten und daraus resultierend die Summe der Intensitäten. Abbildung 4-31 zeigt die gemessenen maximalen Intensitäten und die dazugehörigen Halbwertsbreiten für Natriumsulfat. Wie auch bei Natriumnitrat wird die stärkere Aufkonzentrierung geringerer Konzentrationen deutlich, wobei die Intensität im Verhältnis steigt, während die Halbwertsbreite entsprechend abnimmt. Es fällt auf, daß die Halbwertsbreiten der Probefronten über denen der entsprechenden Nitratprobe liegen, was schon in den vorhergehenden Experimenten zu beobachten war (vgl. Abschnitt 4.2.1.c). Auch hier entspricht das gemessene Hintergrundsignal der Störung ohne die Silikatstreuung.



**Abbildung 4-31:** Maximale Intensitäten der Ramanstreuung und Halbwertsbreiten für verschiedene Natriumsulfatlösungen, elektrophoretisch an der 75  $\mu\text{m}$  Kapillare gemessen.

In den Messungen konnte eine  $5 \cdot 10^{-6}$  molare Lösung noch nachgewiesen werden. Interpoliert man auch hier die Intensitäten der verschiedenen Konzentrationen, läßt sich feststellen, daß diese Konzentration auch die geringste nachzuweisende ist.

Aus den Meßwerten der Intensität und der Halbwertsbreite wurden die Summen gebildet. Sie sind in Abbildung 4-32 dargestellt. Auch die Sulfatprobe zeigt einen linearen Verlauf, wie an der Regressionsgerade zu erkennen ist. Anhand der Summe der Intensitäten lassen sich also ebenso im Fall von Sulfat Rückschlüsse über die Konzentration der Probe schließen.



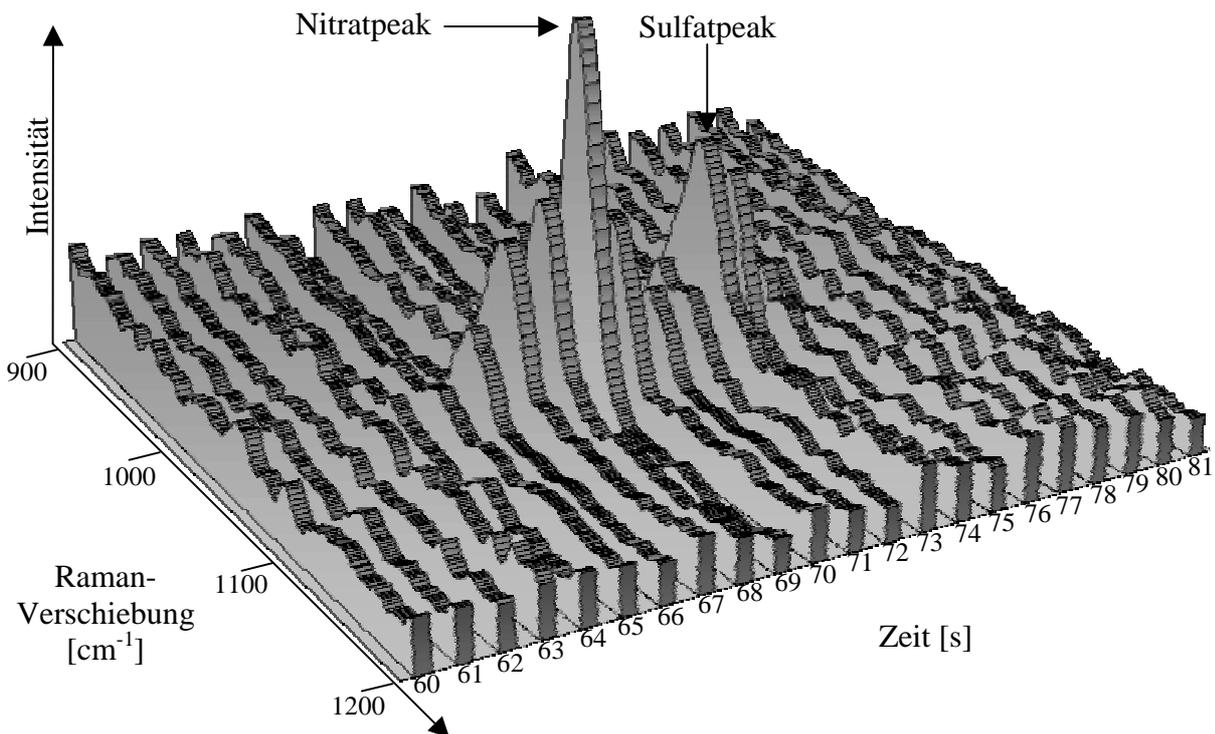
**Abbildung 4-32:** Summe der gemessenen Intensitäten der Ramanstreuung für verschiedene Natriumsulfatlösungen, gemessen an der 75  $\mu\text{m}$  Kapillare.

#### 4.2.4 Nitrat/Sulfat-Gemische

Als letzte Untersuchung der Messungen mit elektrischem Feld wurden Gemische von Nitrat und Sulfatlösungen verschiedener Konzentrationen untersucht. Auch hier wurde eine 75  $\mu\text{m}$  Kapillare verwendet. Diese wurde in zwei verschiedenen Längen eingesetzt, wobei die 10 cm lange Kapillare schlechte Ergebnisse lieferte, da sich die Probe gerade bei verschiedenen Konzentrationen schlecht trennen ließen. Aus diesem Grund sei diese Untersuchung hier nur erwähnt; auf eine nähere Betrachtung soll aber verzichtet werden.

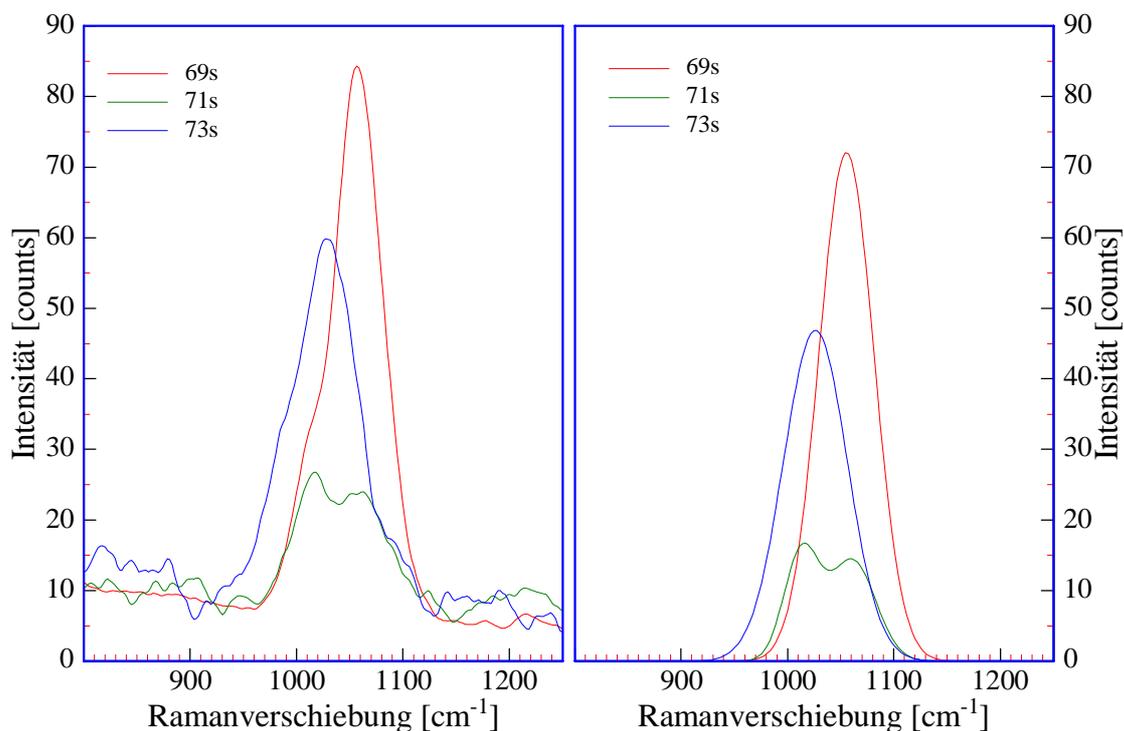
Die andere Kapillare hatte eine Länge von 15 cm, entsprach also der Kapillare, die auch im vorherigen Abschnitt verwendet wurde. An ihr wurden verschiedene Konzentrationen der Nitrat/Sulfat-Gemische untersucht. Es galt zu bestimmen, ob Querempfindlichkeiten dazu führen, daß die Nachweisgrenze sich verringert.

Um einen Eindruck von den aufgezeichneten Spektren zu bekommen, betrachte man Abbildung 4-33. Hier ist der zeitliche Verlauf der Spektren für ein Gemisch bestehend aus einer  $1 \cdot 10^{-4}$  molaren Natriumnitrat- und einer  $1 \cdot 10^{-4}$  molaren Natriumsulfatlösung dargestellt. Nach 69 Sekunden erreicht das Maximum der Nitrat-Ionen den Detektor, während es im Falle der Sulfat-Ionen erst nach 73 Sekunden im Spektrum erscheint. Die Intensität der Sulfatstreuung ist wieder deutlich geringer als die der Nitratstreuung, wobei in diesem Fall vermutlich ein Teil der Sulfat-Ionen nicht gemessen wurde, da er zwischen den beiden Messungen in Sekunde 73 und Sekunde 74 am Detektor vorbeigezogen ist. Deutlich zu erkennen ist der Bereich, in dem sich die beiden Probefronten überlagern. Bei einer längeren Kapillare würde sich dies allerdings auf Kosten der Meßdauer vermeiden lassen.



**Abbildung 4-33:** Intensität der Ramanstreuung eines Gemisches bestehend aus einer  $1 \cdot 10^{-4}$  molaren Natriumnitratlösung und einer  $1 \cdot 10^{-4}$  molaren Natriumsulfatlösung. Gemessen an der  $75 \mu\text{m}$  Kapillare (Länge  $15 \text{ cm}$ ) in Abhängigkeit von der Zeit.

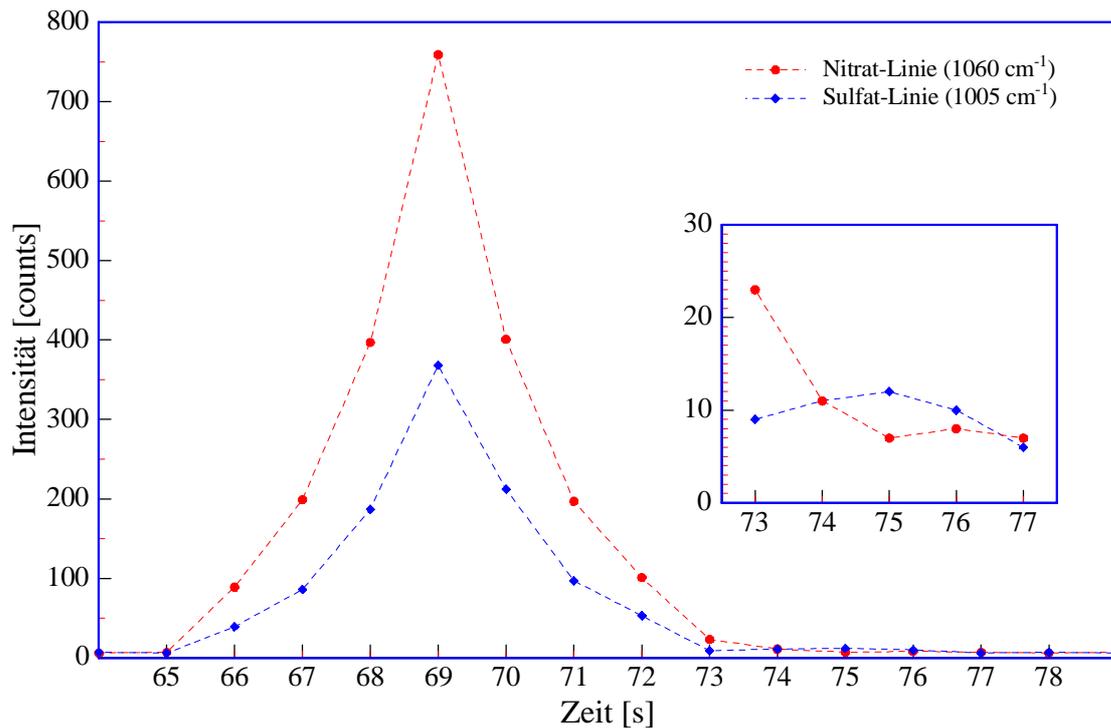
Ein wesentlicher Vorteil der Detektion mittels Ramanstreuung besteht bei den hier durchgeführten Messungen in den unterschiedlichen Ramanverschiebungen von Nitrat und Sulfat. Lassen sich auf direktem Wege, das heißt ohne Elektrophorese, mit der Ramanstreuung Gemische stark unterschiedlicher Konzentration ungenügend bestimmen, so hilft eine Trennung durch das elektrische Feld an dieser Stelle weiter. Abbildung 4-35 zeigt für den obigen Fall die Spektren zu drei Zeiten. Zum einen die maximale Nitratstreuung, zum anderen die maximale Sulfatstreuung. Ferner ist das Spektrum dargestellt, das zwischen den beiden maximalen Intensitäten gemessen wurde. In der Abbildung sind links die Rohdaten dargestellt, während rechts die durch einen Lorentz-Fit berechneten Profile abgebildet sind. Man erkennt, daß zwischen den maximalen Intensitäten ein Spektrum gemessen wurde, das sich anteilig aus der Nitrat- und Sulfatstreuung zusammensetzt, wobei der Anteil der Streuung durch die Sulfat-Ionen schon größer ist. Die maximalen Intensitäten der Nitrat- und der Sulfatstreuung sind in beiden Abbildungen eindeutig trennbar.



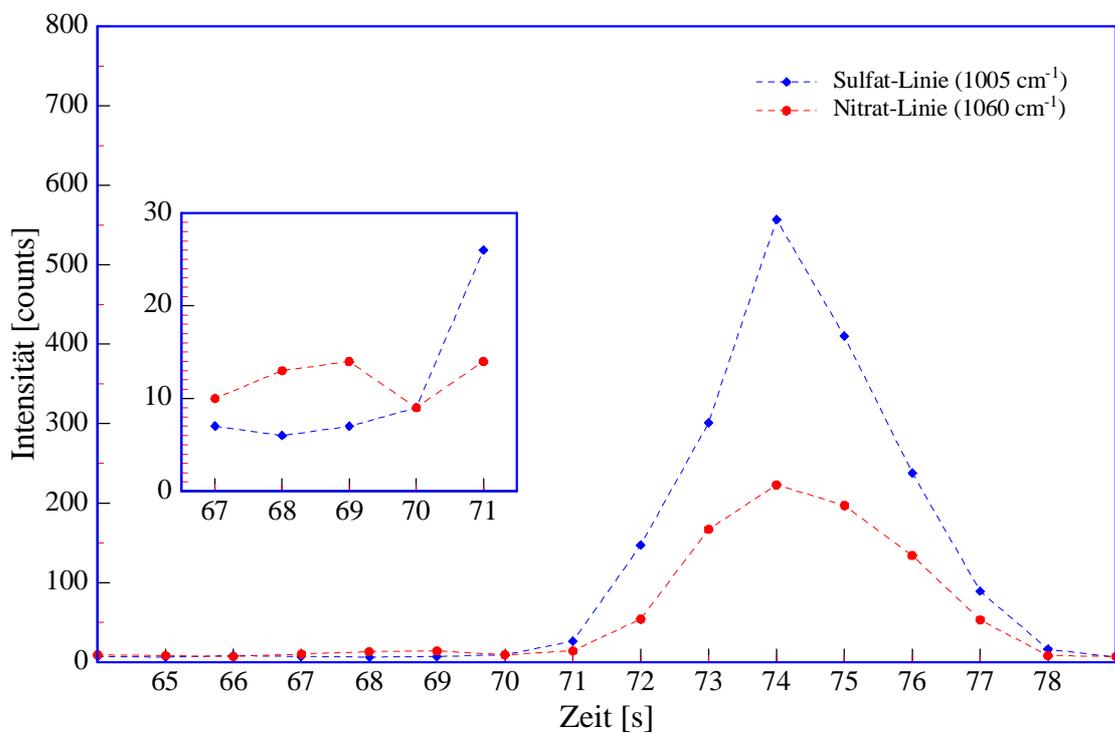
**Abbildung 4-35:** Spektrale Verläufe der Ramanstreuung von Natriumnitrat und Natriumsulfat zu drei verschiedenen Zeiten (*links*: Rohdaten / *rechts*: durch Lorentz-Fit berechnete Profile).  
 Probe: je  $1 \cdot 10^{-4}$  molar / Kapillare: 75  $\mu\text{m}$  Innendurchmesser, 15 cm Länge

Es bleibt die Frage, ob eine geringe Sulfatkonzentration bei einer hohen Nitratkonzentration nachgewiesen werden kann (bzw. umgekehrt eine geringe Nitratkonzentration bei einer hohen Sulfatkonzentration). Hierzu wird anhand der obigen Grafiken klar, daß es auf eine wesentliche Tatsache ankommt: Im ersten Beispiel ist die Linie des Nitrats beim Vorbeiziehen des Sulfats bereits so flach, daß sie eine geringe Sulfatkonzentration spektral nicht „verschluckt“, und diese somit noch nachweisbar ist. Im Falle einer direkten Ramanstreuung, das heißt ohne elektrophoretischen Einfluß, würde die geringere Konzentration nicht nachweisbar sein. Durch die Migration in der Kapillare ziehen die Nitrat-Ionen mit ihrer größten Intensität, bzw. in ihrer höchsten Konzentration allerdings weit vor den Sulfat-Ionen am Detektor vorbei. Die auf der abfallenden Flanke verbleibende Menge der Nitrat-Ionen ist dann zur Zeit des Vorbeiziehens der Sulfat-Ionen im Vergleich sehr gering. Zudem stört die Ramanlinie durch ihre abweichende Ramanverschiebung mit einer dann nur noch geringen spektralen Halbwertsbreite die Messung der Sulfatstreuung nicht mehr. Um dies zu untersuchen, wurden zum einen eine  $1 \cdot 10^{-3}$  molare Natriumnitratlösung mit der geringsten nachweisbaren Natriumsulfatlösung ( $5 \cdot 10^{-6}$  molar) vermischt; zum anderen umgekehrt eine  $1 \cdot 10^{-3}$  molare Natriumsulfatlösung mit einer  $5 \cdot 10^{-6}$  molaren Natriumnitratlösung. Abbildung 4-36 zeigt die gemessenen Verläufe für die schwache Sulfatkonzentration in der starken Nitratlösung, wobei hier bewußt die  $1060 \text{ cm}^{-1}$  Nitratlinie und die  $1005 \text{ cm}^{-1}$  Sulfatlinie einzeln betrachtet wurden. Bei Erscheinen der hohen Nitratkonzentrationen im Bereich von 66 s – 72 s ist die Intensität der Nitratlinie bei  $1060 \text{ cm}^{-1}$  entsprechend groß. Sie ist so stark, daß sie mit ihrer hohen spektralen Linienbreite auch den Bereich der Sulfatlinie bei  $1005 \text{ cm}^{-1}$  überdeckt. Nach 72 Sekunden ist die Nitratfront jedoch fast am Detektor vorbeigezogen, so daß nur noch eine geringe Restintensität bei  $1060 \text{ cm}^{-1}$  zu beobachten ist, während bei  $1005 \text{ cm}^{-1}$  kein Nitratinfluß zu sehen ist. Im vergrößerten Inset-Bild ist der Bereich von 73 s – 77 s vergrößert dargestellt. Hier wird die geringe Intensität der vorbeiziehenden Sulfat-Ionen sichtbar. Diese wiederum beeinflussen die Nitratlinie aufgrund ihres kleinen Signals in keiner Weise.

Abbildung 4-37 zeigt die Messungen für die hohe Sulfatkonzentration im Gemisch mit der  $5 \cdot 10^{-6}$  molaren Natriumnitratlösung. Die Ergebnisse sind analog die gleichen wie im vorherigen Fall. Die starke Sulfatlinie schlägt sich hier auf den Bereich bei  $1060 \text{ cm}^{-1}$  nieder. Aber auch hier ist im Inset-Bild zu erkennen, daß in einem Bereich von 67 s – 70 s sich die Nitratintensität bei  $1060 \text{ cm}^{-1}$  vom Hintergrundsignal abhebt; sogar stärker als beim vorherigen Gemisch die Sulfatintensität.



**Abbildung 4-36:** Intensitäten der 1060 cm<sup>-1</sup> Linie und der 1005 cm<sup>-1</sup> Linie in Abhängigkeit der Zeit. Das Inset-Bild zeigt den Bereich von 73 s – 77 s in einer höheren Auflösung.  
 Probe: Gemisch aus 1·10<sup>-4</sup> molarer NaNO<sub>3</sub>-Lsg und 5·10<sup>-6</sup> molarer Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-Lösung  
 Kapillare: 75 μm / 15 cm



**Abbildung 4-37:** Intensitäten der 1060 cm<sup>-1</sup> Linie und der 1005 cm<sup>-1</sup> Linie in Abhängigkeit der Zeit. Das Inset-Bild zeigt den Bereich von 73 s – 77 s in einer höheren Auflösung.  
 Probe: Gemisch aus 1·10<sup>-4</sup> molarer Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-Lösung und 5·10<sup>-6</sup> molarer NaNO<sub>3</sub>-Lösung  
 Kapillare: 75 μm / 15 cm

Zusammenfassend kann man sagen, daß mit der 15 cm langen 75 µm Kapillare auch Gemische von Natriumnitrat und Natriumsulfat mit stark unterschiedlichen Konzentrationen nachgewiesen werden können. Die Kapillare hat eine ausreichend große Länge, die Nitrat- und Sulfat-Ionen elektrophoretisch zu trennen, so daß diese sich im Ramanspektrum nicht mehr merkbar beeinflussen. Gleichwohl sei an dieser Stelle auf den nachfolgenden Abschnitt verwiesen, in dem die gewonnen Ergebnisse kritisch diskutiert werden. Trotzdem darf schon einmal das Resümee gezogen werden, daß durch den Einsatz der Kapillarelektrophorese zum einen die Nachweisgrenze für Natriumnitrat- und Natriumsulfatlösungen deutlich erhöht wird, und zum anderen auch Gemische unterschiedlicher Konzentrationen ohne Probleme in einer relativ kurzen Zeit (ca. 80 Sekunden) vermessen werden können, ohne daß die Nachweisgrenze darunter leidet.

## **5 Diskussion**

Im Rahmen dieser Arbeit wurden umfangreiche Untersuchungen durchgeführt, deren Kern im vorherigen Kapitel dargestellt ist. In diesem Abschnitt sollen die dargestellten Meßreihen zum einen näher betrachtet und verglichen werden, zum anderen bezüglich ihrer Genauigkeit und Reproduzierbarkeit evaluiert werden. Eine Trennung zwischen den Messungen anhand der Existenz des elektrischen Feldes macht an dieser Stelle wenig Sinn. Vielmehr sind die verschiedenen Meßergebnisse näher zu begutachten. Hierzu gehören die apparativen Parameter ebenso wie die Gestalt der Ramanlinien oder ein Vergleich der Nachweisgrenzen der untersuchten Meßanordnungen. Ferner hat eine Analyse möglicher Fehlerquellen zu erfolgen, die zum Beispiel in der Streuung der optischen Spektren oder der Varianz der elektrophoretischen Wanderzeiten liegen.

### **5.1 Apparative Parameter**

Die apparativen Parameter, die hier behandelt werden sollen, beinhalten die Einstellungen bzw. Meßgrößen des Lasers und des Spektrometers. Der Laser zeigte in seiner Ausgangsstrahlung sowohl bezüglich seiner Leistung als auch seiner Wellenlänge eine hohe Konstanz, wie bereits in Abschnitt 3.1.1 festgestellt werden konnte. Das Spektrometer zeichnete sich durch ein geringes Eigenrauschen aus (vgl. Abbildung 3-2). Es blieb festzustellen, wie stabil das Spektrometer eine konstante Wellenlänge auf ein bestimmtes Element des CCD-Arrays streute. Hierzu wurden Lösungen verwendet, die auch zur Kalibrierung anderer Ramanspektrographen genutzt werden. Neben Ethanol (vgl. Abschnitt 4.1.1) wurden Cyclohexan (flüssig) und Naphthalin (fest) eingesetzt. Bei allen aufgezeichneten Spektren blieben die Ramanlinien konstant auf einer Wellenlänge; es ließ sich keine „Wanderung“ der Linie feststellen.

Die Integrationszeit bei den Messungen ohne elektrisches Feld betrug durchweg vier Sekunden; im Fall der Untersuchungen unter Einfluß des elektrischen Feldes generell eine Sekunde. Diese Integrationszeiten wurden durch zwei unterschiedliche Aspekte bestimmt. Bei den Messungen ohne elektrisches Feld fand das in Abschnitt 3.4.1 vorgestellte „Dunkelstromkriterium“ Anwendung. Hierbei ergab sich, daß eine Integrationszeit von vier Sekunden die besten Ergebnisse lieferte. Dies konnte sowohl an Messungen mit Cyclohexan, als auch mit Naphthalin bestätigt werden. Es bleibt somit festzustellen, daß durch die Betrachtung der Dunkelspektren in Kombination mit einer hierfür optimierten Integrationszeit von vier Sekunden bessere Ergebnisse erzielen lassen als bei größeren Belichtungszeiten.

Ein solches Ergebnis war nicht zu erwarten, da im allgemeinen in der Spektroskopie zur Erhöhung der Streuintensität die Integrationszeit verlängert wird. Im Fall der Messungen mit elektrischem Feld blieb nur eine Belichtungszeit von einer Sekunde. Kürzere Zeiten lieferten ein ungenügendes Streusignal, während bei längeren Zeiten die Gefahr bestand, ein am Detektor vorbeiziehendes Konzentrationsmaximum zu verpassen (vgl. Abschnitt 2.2.4 und die Messungen aus Abschnitt 4.2.2.c). Bei diesen Messungen mußte im übertragenen Sinn die Kapillare an die Integrationszeit angepaßt werden.

## **5.2 Gestalt der Ramanlinien**

Es war sicherlich nicht die Hauptaufgabe dieser Arbeit, die Gestalt der Ramanlinien zu untersuchen, es ließen sich jedoch einige interessante Beobachtungen machen. Es zeigte sich, daß verschiedene Nitrat- bzw. Sulfatverbindungen unterschiedliche Ramanspektren hatten. Obwohl die drei untersuchten Nitrat- wie auch die zwei Sulfatverbindungen sich durch eine einheitliche konzentrationsabhängige Intensität und entsprechende Linienbreiten auszeichneten, konnte jedoch festgestellt werden, daß die Ramanverschiebung je nach Kation variierte. Um einen Vergleich zu erhalten, wurden die Ramanverschiebungen der reinen Salze extra bestimmt. In Tabelle 5-1 sind die Ramanverschiebungen aufgeführt.

	<b>NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub></b>	<b>KNO<sub>3</sub></b>	<b>NaNO<sub>3</sub></b>	<b>K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></b>	<b>Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></b>
<b>Reines Salz</b>	1044 cm <sup>-1</sup>	1047 cm <sup>-1</sup>	1048 cm <sup>-1</sup>	995 cm <sup>-1</sup>	1002 cm <sup>-1</sup>
<b>Wäßrige Lösung</b>	1040 cm <sup>-1</sup>	1051 cm <sup>-1</sup>	1076 cm <sup>-1</sup>	1001 cm <sup>-1</sup>	1027 cm <sup>-1</sup>

**Tabelle 5-1:** Ramanverschiebungen verschiedener Nitrat- und Sulfatverbindungen. Zum einen bestimmt an reinem Salz, zum anderen in wäßriger Lösung.

Die Werte der reinen Salze unterscheiden sich nur unwesentlich von den in der Literatur angegebenen (vgl. Abschnitt 4.1.1 und [6],[7],[16],[19]). Die Ramanlinien von Nitrat bzw. Sulfat werden in den reinen Salzen nur gering beeinflußt, das heißt, es existiert nur eine geringe energetische Verschiebung der Ramanlinie in Abhängigkeit zur chemischen Zusammensetzung. Bei den wäßrigen Lösungen hingegen liegen die Ramanlinien der Kaliumverbindungen bzw. der Ammoniumverbindungen noch nahe an der Ramanlinie des reinen Salzes. Bei den Natriumverbindungen findet jedoch eine deutliche Verschiebung zu größeren Wellenlängen statt.

Die Ramanverschiebung ist hier ungleich höher. Natrium hat in der wäßrigen Lösung sowohl für Nitrat als auch für Sulfat anscheinend einen größeren Einfluß als Kalium oder Ammonium. Hinzu kommt ein weiteres Phänomen: Im Fall der elektrophoretischen Untersuchungen verschieben sich die Ramanlinien von Natriumnitrat und Natriumsulfat wieder in Richtung der reinen Salze. Natriumnitrat hat hier seine Ramanlinie bei  $1060\text{ cm}^{-1}$ , Natriumsulfat bei  $1005\text{ cm}^{-1}$ . Es liegt die Vermutung nahe, daß die Ramanlinie in Abhängigkeit der Konzentration wandert. Diese Wanderung wurde im Fall von Nitrat schon in Abbildung 4-4 beobachtet und prägte sich bei den elektrophoretischen Messungen noch stärker aus. Auch bei den Untersuchungen von Natriumsulfat wurde ein solches Verhalten beobachtet, wenn auch nicht in einem so starkem Maße wie bei Natriumnitrat. Korreliert man jedoch die elektrophoretisch gemessenen Intensitäten der Ramanlinien als zweites Maß für die Konzentration mit der Änderung der Ramanverschiebung, so läßt sich feststellen, daß die Konzentration als alleiniger Verursacher dieser Änderung nicht in Frage kommen kann. Auch die Kapillare in Verbindung mit dem Elektrolyten, der zusätzlich unter dem Einfluß des elektrischen Feldes steht, trägt einen Teil zur Abweichung der Ramanstreuung bei. Die komplexen physikalischen Vorgänge in engen Kapillaren waren allerdings nicht Teil dieser Arbeit; sie bilden vielmehr ein eigenes zu untersuchendes Gebiet, bei dem eine hochauflösende Ramanspektroskopie sehr gute Dienste zur Bestimmung energetischer Zustände von Molekülen in der Kapillare liefern könnte.

Es darf an dieser Stelle nicht unerwähnt bleiben, daß die Ramanstreuung der Sulfate in ihrer Intensität geringer ausfällt. Jedoch ist bei den elektrophoretischen Messungen festzustellen, daß die Summe der Intensitäten sich weniger stark von Nitrat unterscheidet als bei den vergleichbaren Untersuchungen ohne elektrisches Feld. Betrachtet man die optische Anordnung mit Kugellinsen ohne elektrisches Feld, so hat Natriumnitrat eine Intensität von 156 counts, während die Linie von Natriumsulfat bei 120 counts liegt. Nitrat streut also ungefähr mit 25% höherer Intensität als Sulfat. Die Summen der Messungen mit elektrischem Feld (Natriumnitrat: 3061 counts / Natriumsulfat: 2628 counts) ergeben jedoch mit nur ~16% ein ganz anderes Verhältnis. Dieses bedeutet im wesentlichen, daß verhältnismäßig mehr Sulfat- als Nitrat-Ionen am Detektor aufgezeichnet werden. Es führt zur Annahme, daß nicht alle Nitrat-Ionen durch das elektrische Feld gleichmäßig bewegt werden, und ein Teil der Nitrat-Ionen weit außerhalb des Konzentrationsmaximums der wandernden Bande migriert, und somit im Signal des Silikathintergrunds untergeht. Die Sulfat-Ionen hingegen ziehen zu einem größeren Teil innerhalb der Bande, so daß weniger Ionen im Elektrolyten „verloren gehen“.

### **5.3 Toleranz der Messungen**

Unter dem Begriff Toleranz soll an dieser Stelle eine wesentliche Betrachtung der Qualität der Untersuchungen folgen. Die in dieser Arbeit dargestellten Untersuchungen sind, wie jede physikalische Messung, fehlerbehaftet. Es gilt, ein Maß für die Fehler zu finden, um Aussagen über die Güte und Reproduzierbarkeit der Meßdaten treffen zu können. Neben den in Abschnitt 3.1 beschriebenen apparativen Fehlern, sind die Fehlerquellen in den Experimenten zu untersuchen. Hierbei macht eine Trennung zwischen den optischen und elektrophoretischen Anordnungen Sinn, da es sich um zwei grundlegend verschiedene Meßprinzipien handelt. Bei der Elektrophorese resultieren die grundsätzlichen Fehler in verschiedenen Laufzeiten der Ionen in der Kapillare, während die Optik fehlerhafte Intensitäten abbildet, so daß die Fehlerquellen sich dementsprechend nicht direkt beeinflussen.

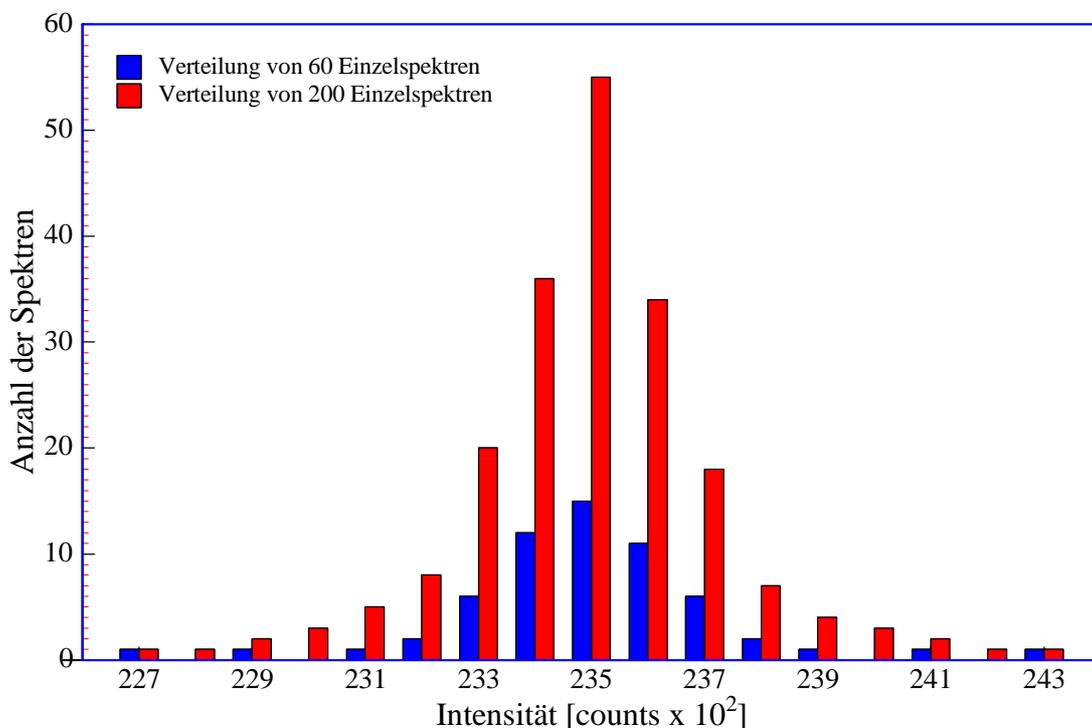
#### **5.3.1 Varianz der Messungen an den optischen Anordnungen**

Aus der Vielzahl der untersuchten Optiken, sollen hier lediglich die Messung an zwei Optiken evaluiert werden: Zum einen die separate Optik im  $45^\circ$  Winkel, zum anderen die Kugellinsen-Optik. Letztere weil sie auch bei den Kapillaren eingesetzt wurde, und die separate Optik, da sie ohne Elektrophorese die vielversprechendsten Ergebnisse lieferte. In Abschnitt 3.4 wurde bereits erklärt, daß die Spektren anhand der Laserleistung normiert wurden, so daß hier von Fehlern bezüglich der einstrahlenden Laserintensität abgesehen werden soll. Der apparative Fehler des Spektrometers soll in diese Betrachtungen im schlechtesten Fall einfließen. Das heißt, bei einer Integrationszeit von vier Sekunden ergibt sich gemäß den Minimal/Maximal Messungen aus Abschnitt 3.1.2 am Spektrometer eine Schwankung von  $\pm 2,2$  counts (vgl. Abbildung 3-4). Für den Fall, daß die Intensität der Ramanlinien keine Schwankung hätte, wäre dies der einzige Fehler. Da die aufgezeichneten Streuspektren einer konstanten Probelösung aber in ihrer Intensität variieren, muß für den Fall eines einzelnen Spektrums eine Fehlerabschätzung geschehen. Um diese Streuung zu bestimmen, wurde nicht nur der Mittelwert der gemessenen Spektren, sondern auch die statistische Verteilung der Intensitätswerte betrachtet. Hierzu wurden die Messungen an den separaten Optiken mit einer 0,01 molaren Natriumnitrat- bzw. Natriumsulfatlösung erneut analysiert. Es wurden 200 Spektren daraufhin untersucht, wie groß die Intensität ihrer Nitrat- bzw. Sulfatlinie ist<sup>13</sup>.

---

<sup>13</sup> Die für die statistische Verteilung berücksichtigten Grenzen der Intensitätsklassifizierung lagen bei  $\pm 0,5$  counts.

Betrachtet man die Meßdaten in den Abbildungen 4-9 (Nitrat) und 4-10 (Sulfat), so variieren die Intensitäten in beiden Fällen bei einer konstanten Konzentration um einen Wert von  $\pm 10$  counts. Da sich der apparative Fehler des Spektrometers zusätzlich additiv auf die Meßdaten auswirken könnte, erhält man im schlechtesten Fall eine Schwankung von  $\pm 12,2$  counts, was einer Ungenauigkeit in der Bestimmung der Konzentration in Höhe einer  $5,1 \cdot 10^{-4}$  molaren Lösung im Fall von Nitrat, bzw. einer  $9,4 \cdot 10^{-4}$  molaren Lösung für Sulfat entspricht. Diese Fehler beziehen sich jedoch auf eine einzige Messung. Führt man mehrere Meßreihen an der Probe durch, so lassen sich die Meßdaten statistisch bearbeiten. Abbildung 5-1 zeigt unter anderem die statistische Verteilung für die 200 Meßwerte, die sich in einer Gauß-Verteilung um einen Mittelwert anordnen (vgl. Anhang). Die Bestimmung anhand des Mittelwertes der Intensitäten reduziert den Fehler jedoch nicht tatsächlich, da auch hier im schlechtesten, wenngleich auch unwahrscheinlichsten Fall, alle Meßwerte mit ihrem maximalen Fehler neben dem Erwartungswert liegen könnten. Es ist jedoch unter Zuhilfenahme der statistischen Kenngrößen Mittelwert, Standardabweichung oder der Varianz (als das Quadrat der Standardabweichung) möglich, weitere Aussagen über die Schwankung und somit die Qualität der Meßwerte zu treffen.



**Abbildung 5-1:** Histogramm der Intensitäten der Ramanstreuung an einer 0,01 molaren  $\text{NaNO}_3$ -Lösung, gemessen an der Ramanlinie.

Von weiterem Interesse war eine Abschätzung, bei welcher Anzahl gemessener Spektren sich eine Normalverteilung einstellt, wie sie auch bei den 200 Spektren zu erkennen ist. Es zeigt sich schnell, daß sich bereits bei einer Anzahl von 60 Meßspektren diese Verteilung einstellt. Aus diesem Grund wird in Abbildung 5-1 ebenfalls die Verteilung von 60 Spektren präsentiert<sup>14</sup>. Bei einer geringeren Anzahl Spektren besteht die Gefahr, daß ein einziger „fehlerhafter“ Meßwert zu einem falschen Mittelwert führt. Betrachtet man die Verteilung der 60 Spektren genauer, so ergibt sich für den Mittelwert eine Intensität von 234,93 counts, gegenüber 234,98 counts bei 200 Spektren, was einer Abweichung von weniger als 0,1% entspricht. Die Spannweiten in Höhe von  $\pm 8$  counts sind bei beiden gleich. Die Standardabweichungen betragen 2,39 counts (60 Spektren) bzw. 2,26 counts (200 Spektren), die Varianzen entsprechend 5,74 counts (60 Spektren) bzw. 5,1 counts (200 Spektren). Es sei hier erwähnt, daß mit den Sulfatproben analoge Ergebnisse erzielt werden. Auch hier präsentiert sich schon bei 60 Spektren eine Gauß-Verteilung, die sich statistisch auswerten läßt.

Zwei wesentliche Erkenntnisse können aus den obigen Überlegungen gewonnen werden: Zum einen ergibt eine statistische Betrachtung mit dem berechneten Mittelwert der Intensitäten die Möglichkeit einer qualitativ besseren Messung. Gleichwohl muß anhand der statistischen Kenngrößen eine weitere Abschätzung der Güte der Messung erfolgen. Zur Verdeutlichung sei auf die dargestellte lineare Anordnung der Mittelwerte in den Abbildungen 3-9 und 3-10 hingewiesen. Zum anderen ergibt sich aus den durchgeführten Untersuchungen, daß eine Anzahl von 60 Spektren für eine Auswertung ausreicht, während die Literatur für eine verlässliche Abschätzung einen Bereich von 50 Messungen [39] bis zu 100 Messungen [40] voraussetzt.

Für die Kugellinsen-Optik sind die gleichen Abschätzungen durchzuführen. Betrachtet man die Abbildungen 4-13 (Nitrat) und 4-14 (Sulfat), so ergeben sich für beide Schwankungen um  $\pm 6$  counts, was unter zusätzlicher Berücksichtigung des apparativen Fehlers einer Konzentrationsänderung in Höhe einer  $5 \cdot 10^{-4}$  molaren Lösung (Nitrat) bzw. einer  $8,2 \cdot 10^{-4}$  molaren Lösung (Sulfat) entspricht.

Bei der Kugellinsen-Optik ist zu ferner zu beachten, daß sie auch bei den elektrophoretischen Messungen geringer Konzentration eingesetzt wurde. Da bei diesen Untersuchungen eine Aufkonzentrierung in der Kapillare stattfindet, die wiederum zu einem zeitabhängigen Konzentrationsverlauf am Detektor führt, kann der Fehler mit seinen hier bestimmten Absolutwerten nicht bestehen bleiben.

---

<sup>14</sup> Es wurden verschiedene Mengen von je 60 Spektren untersucht, von denen die hier gezeigte den schlechtesten Fall darstellt.

Vielmehr muß auf den zeitlichen Verlauf am Detektor und die Summenbildung der Intensitäten eingegangen werden. Geht man davon aus, daß die Erfassung einer am Detektor vorbeiziehenden Probefront eine Zeit von acht Sekunden (vgl. Messungen in 4.2.2) in Anspruch nimmt, so werden entsprechend acht Spektren aufgezeichnet. Jedes hat eine Integrationszeit von einer Sekunde und somit einer maximalen apparativen Fehler von  $\pm 0,55$  counts, der sich auf die Streuung der Intensitäten addiert. Diese verhalten sich bezüglich der Integrationszeit von vier Sekunden keineswegs linear, so daß sie in einem Extraversuch bestimmt wurden. Sie haben sowohl für Nitrat, wie auch für Sulfat eine Größe von  $\pm 2$  counts, so daß sich für jedes gemessenen Spektrum ein Fehler von  $\pm 2,55$  counts ergibt. Für einen Meßzyklus von zehn Sekunden ergibt sich somit ein maximaler Fehler von  $\pm 20,4$  counts. Der eigentliche Meßwert der elektropheretischen Messungen besteht, wie oben erwähnt, im Integral der gemessenen Spektren. Dieses Integral zeigt in den Abbildungen 4-30 (Nitrat) und 4-32 (Sulfat) einen linearen Zusammenhang, bei dem eine Schwankung von  $\pm 20,4$  counts einer Lösungskonzentration in der Größe einer  $6,2 \cdot 10^{-6}$  molaren Lösung (Nitrat) bzw. einer  $7,4 \cdot 10^{-6}$  molaren Lösung (Sulfat) entspricht. Man beachte, daß dieses der maximale Fehler ist. Die Untersuchungen haben gezeigt, daß gerade geringere Konzentrationen eine stärkere Aufkonzentrierung erfahren, und daß die Halbwertsbreite der vorbeiziehenden Front kleiner wird (vgl. Abschnitte 4.2.3.a und 4.2.3.b). Dieses bedeutet aber auch, daß die Anzahl der fehlerbehafteten Spektren geringer wird. Im Fall einer  $5 \cdot 10^{-6}$  molaren Lösung wurden für Nitrat lediglich vier Spektren und für Sulfat 5 Spektren für die vorbeiziehende Front bestimmt. Mit diesen Werten würde sich der gesamte Fehler auf  $\pm 10,2$  counts (Nitrat) bzw.  $\pm 12,75$  counts reduzieren. Dies hätte eine Abweichung in der Größe von einer  $3,9 \cdot 10^{-6}$  molaren Lösung (Nitrat) bzw. einer  $4,6 \cdot 10^{-6}$  molaren Lösung (Sulfat) zur Folge. Auf eine Angabe in  $\frac{mg}{l}$  sei an dieser Stelle verzichtet; sie findet sich in Abschnitt 5.4, in dem auch die Nachweisgrenzen behandelt werden.

### **5.3.2 Varianz der Messungen zur elektropheretischen Wanderung**

Die zeitlichen Schwankung der elektropheretischen Wanderung, das heißt die Änderung der Migrationszeit der Probe, war ein nicht zu unterschätzendes Problem. Die zeitlichen Schwankungen von Nitrat und Sulfat lagen auch hier im Bereich eines gemeinsamen Wertes. Im schlechtesten Fall lag die 20 cm Kapillare bei  $\pm 8$  Sekunden, die 15 cm Kapillare bei  $\pm 6$  Sekunden und die 10 cm Kapillare bei  $\pm 5$  Sekunden.

Da in den Untersuchungen jedoch zum einen nur reine Nitrat- bzw. Sulfatlösungen behandelt wurden, und zum anderen die Ramanstreuung als Detektionsquelle diente, schadeten diese Schwankungen den eigentlichen Messungen nicht. Lediglich bei der Untersuchung der Gemische bestand die Gefahr, daß verschiedene schwankende Migrationszeiten der Ionen dazu führen könnten, daß sich die Spektren zu gleichen Zeiten überlagern. Es stellte sich jedoch heraus, daß die Schwankungen der Migrationszeiten in einem Gemisch sowohl Nitrat-Ionen wie auch Sulfat-Ionen gleichermaßen betrafen. Einer um fünf Sekunden „verspätete“ Nitratprobe folgte eine um fünf Sekunden verschobene Sulfatprobe. Somit bereiteten diese Schwankungen auch bei Gemischen keine Probleme. Man könnte sogar sagen, daß durch die zusätzlich zu messende Ramanverschiebung etwaige Änderungen in den Migrationszeiten kompensiert werden können. Dieses wäre mit einer Leitfähigkeitsdetektion, wie sie in der Kapillarelektrophorese häufig Anwendung findet, unmöglich.

Ein weiterer zu untersuchender Punkt bestand in der Bestimmung der exakten Breite der Probefronten. Eine Abschätzung fiel aber anhand der durch die Integrationszeit von einer Sekunde bedingten geringen zeitlichen Auflösung schwer. Zudem präsentierten sich die zeitlichen Breiten der Probefront am Detektor im Rahmen der möglichen Auflösung von hervorragender Reproduzierbarkeit. Aus diesen Gründen sei an dieser Stelle von weiteren Betrachtungen abgesehen.

## **5.4 Nachweisgrenzen**

Die Nachweisgrenzen bilden ein interessanten Teil dieser Arbeit. Dieser Abschnitt soll wieder in zwei Teile untergliedert werden. Auf der einen Seite steht die Nachweisgrenze einer optischen Versuchsanordnung ohne den Einsatz der Elektrophorese; auf der anderen Seite der Gewinn, der durch die Migration der Ionen im elektrischen Feld innerhalb der Kapillare erzielt wird. In den vorangegangenen Überlegungen wurde bereits der Einfluß der Fehler evaluiert, der in die Messungen eingebracht wird, und der in den folgenden Überlegungen wieder beachtet werden muß.

### **5.4.1 Ohne elektrisches Feld**

Die Messungen ohne elektrisches Feld fanden an diversen optischen Versuchsanordnungen statt. Wie bereits bei der Fehlerbetrachtung soll auch hier nur eine Optik ausgewählt werden: Die separate Optik im 45° Winkel. Anhand der Abbildungen 4-9 (Nitrat) und 4-10 (Sulfat) lassen sich die Nachweisgrenzen gut ableiten (vgl. auch Abschnitt 4.1.2.a). In Verbindung mit der Fehlerbetrachtung aus Abschnitt 5.3.1 ergibt sich für Natriumnitrat an den separaten Optiken im 45° Winkel eine Nachweisgrenze in der Größe einer  $2 \cdot 10^{-3} \pm 5,1 \cdot 10^{-4}$  molaren Lösung. Die Nachweisgrenze von Natriumsulfat liegt hier bei einer Konzentration in der Größe einer  $3 \cdot 10^{-3} \pm 9,4 \cdot 10^{-4}$  molaren Lösung. Umgerechnet lassen sich die Nachweisgrenzen für Natriumnitrat auch mit einer Konzentration von  $124 \pm 31 \text{ mg/l}$ , bzw. für Natriumsulfat mit einer Konzentration von  $288 \pm 90 \text{ mg/l}$  angeben. Letztendlich wurde aus Gründen dieser geringen Empfindlichkeit versucht, die Konzentration der Probe elektrophoretisch zu erhöhen. Im folgenden Abschnitt soll nun verglichen werden, inwieweit die Nachweisgrenzen durch die Elektrophorese erhöht werden können.

### **5.4.2 Mit elektrischem Feld**

Die Messungen an Kapillaren unter Einfluß eines elektrischen Feldes machen deutlich, daß sich eine Verringerung der Nachweisgrenze sowohl für Natriumnitrat, wie auch für Natriumsulfat realisieren läßt. Die in Abschnitt 4.2.3 durchgeführten Experimente und die Fehlerbetrachtung in 5.3.1 haben gezeigt, daß an der 75 µm Kapillare im schlechtesten Fall noch Natriumnitrat mit einer Konzentration in der Größe einer  $3 \cdot 10^{-6} \pm 1,1 \cdot 10^{-5}$  molaren Lösung und bei Natriumsulfat in der Größe einer  $5 \cdot 10^{-6} \pm 1,3 \cdot 10^{-5}$ . Man erkennt, daß die Schwankung der Meßwerte größer ist als die Nachweisgrenze an sich.

Dies ist kein Widerspruch, da hier für die Toleranzen der größtmögliche Fehler angenommen wurde. Beachtet man die stärkere Aufkonzentrierung geringerer Konzentrationen (vgl. Abschnitt 5.3.1), so müssen die Toleranzen der Nachweisgrenze noch einmal korrigiert werden. Man erhält eine Konzentration in der Größe einer  $3 \cdot 10^{-6} \pm 3,9 \cdot 10^{-6}$  molaren Lösung (Nitrat) und in der Größe einer  $5 \cdot 10^{-6} \pm 4,6 \cdot 10^{-6}$  molaren Lösung (Sulfat). Diese Lösungen entsprechen einer Natriumnitratlösung mit einer Konzentrationen von  $0,2 \pm 0,24 \text{ mg/l}$  und einer Natriumsulfatlösung mit einer Konzentrationen von  $0,5 \pm 0,44 \text{ mg/l}$ . Vergleicht man diese Nachweisgrenzen mit denen der optischen Anordnungen ohne Einfluß des elektrischen Feldes, so wird deutlich, daß die Nachweisgrenze durch den elektrophoretischen Einfluß massiv herabgesetzt wird. Im Vergleich zur separaten optischen Anordnung im  $45^\circ$  Winkel unterscheidet sich die Nachweisgrenze um einen Faktor von mehr als 650 bei Natriumnitrat und um einen Faktor von 600 im Fall von Sulfat. Ein weiterer interessanter Vergleich bietet sich bei der Kugellinsen-Optik an. Diese wurde zum einen an der  $100 \mu\text{m}$  Kapillare untersucht, zum anderen aber auch an der  $75 \mu\text{m}$  Kapillare bei den elektrophoretischen Messungen genutzt. Obgleich die  $100 \mu\text{m}$  Kapillare ein deutlich größeres Streuvolumen als die  $75 \mu\text{m}$  Kapillare hat, wird hier der Gewinn noch deutlicher. Ein Vergleich der  $100 \mu\text{m}$  Kapillare ohne elektrisches Feld mit der  $75 \mu\text{m}$  Kapillare mit elektrischem Feld ergibt für die elektrophoretische Anordnung eine Steigerung um den Faktor 2000 (Nitrat) bzw. 1400 (Sulfat).

## 6 Zusammenfassung und Ausblick

Diese Arbeit beschäftigte sich in der Hauptsache mit der Evaluierung einer alternativen Meßmethodik für Gemische von wäßrigen Sulfat- und Nitratlösungen. Hierzu wurde überprüft, inwieweit sich ein verhältnismäßig kostengünstiges Ramansystem für derartige Messungen eignete. Obwohl verschiedene optische Aufbauten untersucht wurden, lagen die Nachweisgrenzen für Nitrat und Sulfat bestenfalls in einem Konzentrationsbereich von  $124 \pm 31 \text{ mg/l}$  (Nitrat), bzw.  $288 \pm 90 \text{ mg/l}$  (Sulfat). Mit diesen Grenzen könnten lediglich die hohe Sulfatgehalte im Meerwasser bestimmt werden, eine in situ Bestimmung des Nitratgehalts wäre allerdings undenkbar. Mögliche Verbesserungen im optischen Aufbau würden mit Sicherheit auch eine deutliche Erhöhung der Nachweisempfindlichkeit mit sich führen, so daß eine solche Anordnung in der Trinkwasserüberwachung einzusetzen wäre. Hier liegen die Grenzen im Rahmen der deutschen Trinkwasserverordnung bei  $50 \text{ mg/l}$  für Nitrat und bei  $240 \text{ mg/l}$  für Sulfat. Eine deutlich stärkere Erhöhung der Nachweisgrenze ist aber durch den störenden Hintergrund der streuenden Wassermoleküle nicht realisierbar. Somit wäre ein solcher Meßaufbau mit seiner Auflösung keine Alternative zur gängigen Meßtechnik.

Zudem zeigten die Untersuchungen deutlich, daß mit dem verwendeten Spektrometer Nitrat- und Sulfatkonzentrationen stark unterschiedlicher Konzentration nicht bestimmt werden können, da sie spektroskopisch nicht mehr zu unterscheiden sind. Erst recht ist der Einfluß verschiedener Kationen nicht zu unterschätzen. Es wurde gezeigt, daß gerade die Ramanlinien von Nitrat in wäßriger Lösung in Abhängigkeit ihrer Kationen stark variieren, was die Messung verschiedener Nitrate und Sulfate in einer Probe unmöglich macht.

Die Integrationszeit eines einzelnen Meßzyklus ist mit vier Sekunden vergleichsweise kurz. Es ist jedoch zu beachten, daß sowohl vor als auch nach der eigentlichen Messung ein Dunkelspektrum aufgenommen werden muß, so daß sich die Meßzeit auf zwölf Sekunden erhöht. Mit dem in dieser Arbeit beschriebenen Dunkelstromkriterium kann festgestellt werden, daß bereits 60 Spektren für eine statistisch auszuwertende Meßreihe ausreichen. Dennoch würde eine Messung dieser 60 Spektren entsprechend zwölf Minuten in Anspruch nehmen. Auch wenn sich der Aufbau einfach automatisieren ließe, erscheint eine Realisierung aufgrund der Dauer eines Meßzyklus in Verbindung mit der Nachweisgrenze selbst für Reingösungen als nicht praktikabel.

Der zweite Teil der Untersuchungen bestand im Nachweis von Nitrat- und Sulfatlösungen anhand der Elektrophorese in Verbindung mit der Ramanstreuung. Es zeigt sich, daß die Nachweisgrenze durch die Kombinationen dieser beiden Meßprinzipien deutlich erhöht werden kann. Es werden mit einer 15 cm langen 75 µm Kapillare Nachweisgrenzen von  $0,2 \pm 0,24 \text{ mg/l}$  (Nitrat) und  $0,5 \pm 0,44 \text{ mg/l}$  (Sulfat) erreicht.

Die Steigerung gegenüber den herkömmlichen ramanspektroskopischen Untersuchungen ist mit den Faktoren 2000 (Nitrat) bzw. 1400 (Sulfat) deutlich. Die in der DIN EN ISO 10304-1<sup>15</sup> vorgeschriebenen Nachweisgrenzen liegen sowohl bei Nitrat als auch bei Sulfat bei  $0,5 \text{ mg/l}$ . Die aufgebaute Versuchsanordnung erfüllt diese Grenze also gerade. Häufig findet eine präzise Analyse von Wasserproben mit Hilfe der Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC) statt. Gängige HPLC-Systeme liegen mit Empfindlichkeiten im Bereich von  $0,1 \text{ mg/l}$  ebenfalls am Rande ihrer Möglichkeiten. Der in dieser Arbeit beschriebene Meßaufbau erreicht somit in seinen Nachweisgrenzen die Größenordnung der HPLC-Automaten. Allerdings könnte auch die Empfindlichkeit der hier dargestellten Versuchsanordnung noch gesteigert werden. Eine mechanisch fest mit der Kapillare verbundene Optik, wie sie sich zum Beispiel in einem Glasblock realisieren ließe, wäre ein weiterer Schritt in Richtung geringerer Konzentrationen. Gleichwohl soll an dieser Stelle nicht verschwiegen werden, daß erst sehr viel Erfahrung für die Versuchsreihen der elektrophoretischen Messungen gesammelt werden mußte, um reproduzierbare Messungen zu erhalten. Dennoch ließe sich ein Meßaufbau bestehend aus elektrophoretischen und ramanspektroskopischen Teil einfach automatisieren. Die automatisierte Aufnahme der Spektren war bereits weitgehend realisiert. Lediglich die Befüllung und Spülung der Kapillare wäre eine neue Aufgabe, die sich jedoch mit speziellen Küvetten und einem geeigneten automatisierten hydraulischen Aufbau umsetzen ließe.

Für die Kapillarelektrophorese muß ein Pufferelektrolyt und Natronlauge für die Konditionierung vorrätig gehalten werden. Deren Einsatz wird zum einen bei der elektrophoretischen Migration, zum anderen bei der Spülung der Kapillare benötigt. Betrachtet man die 15 cm / 75 µm Kapillare, so hat diese ein Volumen von 0,66 µl. Selbst bei einer an die Messung anschließenden Spülung mit dem zehnfachen des Kapillarvolumens würden bei einem Meßzyklus 7,26 µl verbraucht, so daß ein Volumen von einem Liter Pufferelektrolyt für über 100000 Messungen reichen würde.

---

<sup>15</sup> Die DIN EN ISO 10304-1 wird auch bei der Beschreibung der Trinkwasserqualität angewendet.

Eine analoge Rechnung ist für die Natronlauge aufzustellen, die ebenfalls nach jeder Messung durch die Kapillare gespült wurde, um sie für die nächste Messung zu konditionieren. Es wird deutlich, daß diese beide Verbrauchsmaterialien die Standzeiten des Meßsystems nicht einschränken. Vielmehr dürfte die Kapillare an sich zum Problem werden. Etwaige Langzeituntersuchungen konnten allerdings nicht durchgeführt werden.

Ein weiteren interessanten Punkt bildet die Dauer eines Meßzyklus. Führt man eine grobe Einschätzung durch, so erhält man im Fall der 15 cm / 75 µm Kapillare für die eigentliche Messung eine Dauer von 80 s. Unter Berücksichtigung einer ausreichenden Spülung mit Natronlauge und Pufferelektrolyt verlängert sich diese auf ungefähr zehn Minuten. Diese Zeit kann durchaus mit gängigen Analyseautomaten konkurrieren. Hier liegen zum Teil die reinen Meßzeiten bei zehn Minuten; die Zeiten für eine Vorbereitung und Konditionierung des Meßsystems addieren sich zudem noch zusätzlich auf diese Zeiten auf.

Resümierend läßt sich feststellen, daß mit der Kombination aus Elektrophorese und Ramanstreuung eine Meßanordnung untersucht wurde, mit der sich sowohl wäßrige Nitrat- und Sulfatproben, wie auch Gemische aus diesen bestimmen lassen. Mit dem verwendeten „Low-Cost“ Ramansystem liegen die nachzuweisenden Konzentrationen im Bereich gängiger Meßtechnik, wobei durch eine weitere Verbesserung und Stabilisierung des Meßaufbaus die Grenzen weiter nach unten verschoben werden könnten. Selbst bei umfangreicher Konditionierung der Meßapparatur liegen die Zeiten eines Meßzyklus im Bereich einiger Minuten. Aufgrund dieser Überlegungen bilden die in dieser Arbeit vorgestellten Meßanordnungen und Meßabläufe eine meßtechnische Alternative zur Bestimmung der Nitrat- und Sulfatkonzentration, die aufgrund ihrer physikalischen und chemischen Struktur unabhängig davon ist, ob die Konzentration in einer Meeres- oder Süßwasserprobe bestimmt werden soll. Es muß allerdings beachtet werden, daß reine Meerwasserproben mit ihren hohen Salzgehalten möglicherweise zu einem sehr hohen Stromfluß innerhalb der Kapillare führen. Dieses wiederum könnte ein Ausgasen des Puffers oder der Probe zur Folge haben, wie es auch in den Untersuchungen an Pufferelektrolyten verschiedener Konzentrationen beobachtet wurde. Eine Alternative würde in diesem Fall Kapillare geringeren Durchmessers bieten, in denen der Stromfluß weniger stark ausgeprägt ist.

Künftige Experimente könnten sich damit beschäftigen, ob und mit welcher Auflösung andere ramanaktive Ionen in wäßrigen Proben nachgewiesen werden können. Es blieb im Rahmen der Experimente die Zeit, Phosphat- und Carbonatverbindungen zu untersuchen. Beide zeigten ein ramanaktives Spektrum und ließen sich auch in die elektrophoretischen Messungen integrieren. Weitere Untersuchungen dieser beiden Ionen hätten allerdings die Grenzen der hier durchgeführten Untersuchungen überstiegen. Sicherlich finden sich neben diesen noch andere Ionen, die mit einer Kombination aus Kapillarelektrophorese und Ramanspektroskopie zu bestimmen sind. Gerade auf dem Gebiet der Meeres- bzw. Wassermess-technik sollten weitere Studien und Untersuchungen folgen, die eine automatisierte Erfassung der chemischen Zusammensetzung von Wasserkörpern entscheidend verbessern könnten.

## Anhang

### A Statistische Überlegungen

In diesem Teil des Anhangs sollen zwei grundlegende statistische Verteilungen betrachtet werden, die für das Verständnis der verwendeten mathematischen Analysen nötig sind. Während die Verteilung gemessener Streuintensitäten an einer Lösung konstanter Konzentration einer Gaußschen Form gehorcht, entspricht das ideale spektroskopische Profil der gestreuten Linie einer Lorentz-Verteilung. Allerdings darf an dieser Stelle nicht unerwähnt bleiben, daß dies nur für eine ideale Profil gilt. Reale Profile zeigen durch verschiedene physikalische Effekte zum Teil andere Profilformen, so daß sich auch an der Spektrallinie eine Gauß-Verteilung präsentieren kann. In den durchgeführten Untersuchungen und Analysen zeigte sich jedoch, daß eine Annäherung an die spektroskopischen Meßdaten mit Hilfe der Lorentz-Verteilung die aussichtsreichsten Ergebnisse lieferte.

Beiden Verteilungen gleich ist die prinzipielle mathematische Annäherung. Die Bestimmung der Güte der durchgeführten Anpassung der Verteilung geschah unter Verwendung des sogenannten  $\chi^2$ -Anpassungstests. Es wurden jeweils die Parameter der mathematischen Gauß- bzw. Lorentz-Verteilung sukzessive verändert, bis die Abweichung der Verteilung von den Meßdaten minimal war.

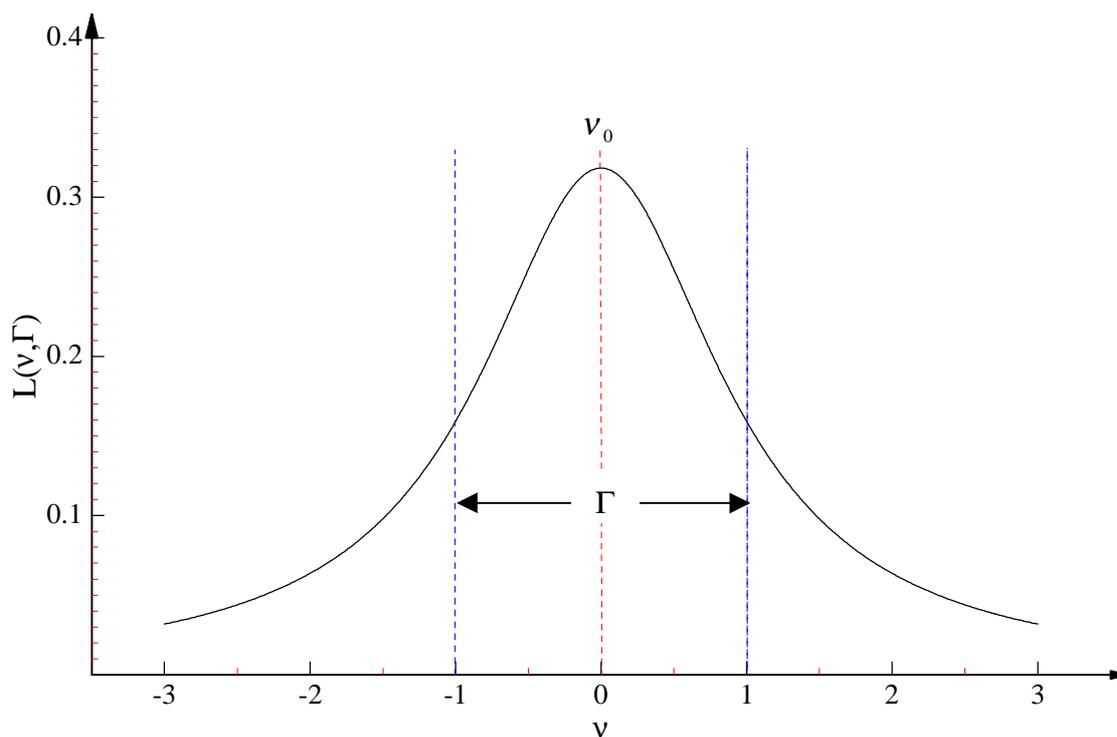
Aus diesen Gründen sollen in diesem Anhang drei Abschnitte getrennt werden. Als erstes werden die Lorentz- und Gauß-Verteilung näher vorgestellt. Ihnen folgt eine kurze Darstellung des  $\chi^2$ -Anpassungstests.

### A.1.1 Lorentz-Verteilungen

Eine auf eins normierte Lorentz-Verteilung  $L$  in Abhängigkeit der Halbwertsbreite  $\Gamma$  und der Frequenz  $\nu$  gehorcht der mathematischen Funktion:

$$L(\nu, \Gamma) = \frac{1}{\pi} \cdot \frac{\frac{\Gamma}{2}}{(\nu - \nu_0)^2 + \frac{\Gamma^2}{4}} \quad (i)$$

$\nu_0$  entspricht der Frequenz der maximalen Intensität. Abbildung A-1 zeigt die grafische Darstellung der Lorentz-Verteilung aus (i).



**Abbildung A-1:** Normierte Lorentz-Verteilung um einen Wert  $\nu_0$  mit einer Halbwertsbreite von  $\Gamma = 2$  (Die Normierung bezieht sich auf das Flächenintegral unter der Kurve der Verteilung).

Die Lorentz-Verteilung in Abbildung A-1 besitzt mit  $\nu_0$  und  $\Gamma$  zwei Parameter, die zur Korrelation mit den Meßdaten verändert werden können. Ferner kommt bei der Annäherung der Lorentz-Verteilung an die realen Meßwerte zudem noch die Intensität  $I_0$  der Linie bei  $\nu_0$  als Multiplikator hinzu. Für eine Auswertung sind also die Parameter  $\nu_0$ ,  $\Gamma$  und  $I_0$  sukzessive zu ändern, bis die Abweichung der durch sie bestimmten Lorentz-Verteilung von den Meßdaten ein Minimum erreicht. In diesem Fall repräsentieren die Werte von  $\nu_0$ ,  $\Gamma$  und  $I_0$  die eigentlichen Meßdaten.

Die Güte der Beschreibung der Meßdaten durch die Parameter der Lorentz-Verteilung kann mit Hilfe des in Abschnitt A.2.1 beschriebenen  $\chi^2$ -Anpassungstests evaluiert werden. Während der Analyse der durchgeführten Untersuchungen zeigte sich, daß in der Regel eine Lorentz-Verteilung gefunden werden konnte, welche den Verlauf der gemessenen Profile mit nur geringen Abweichungen entsprach.

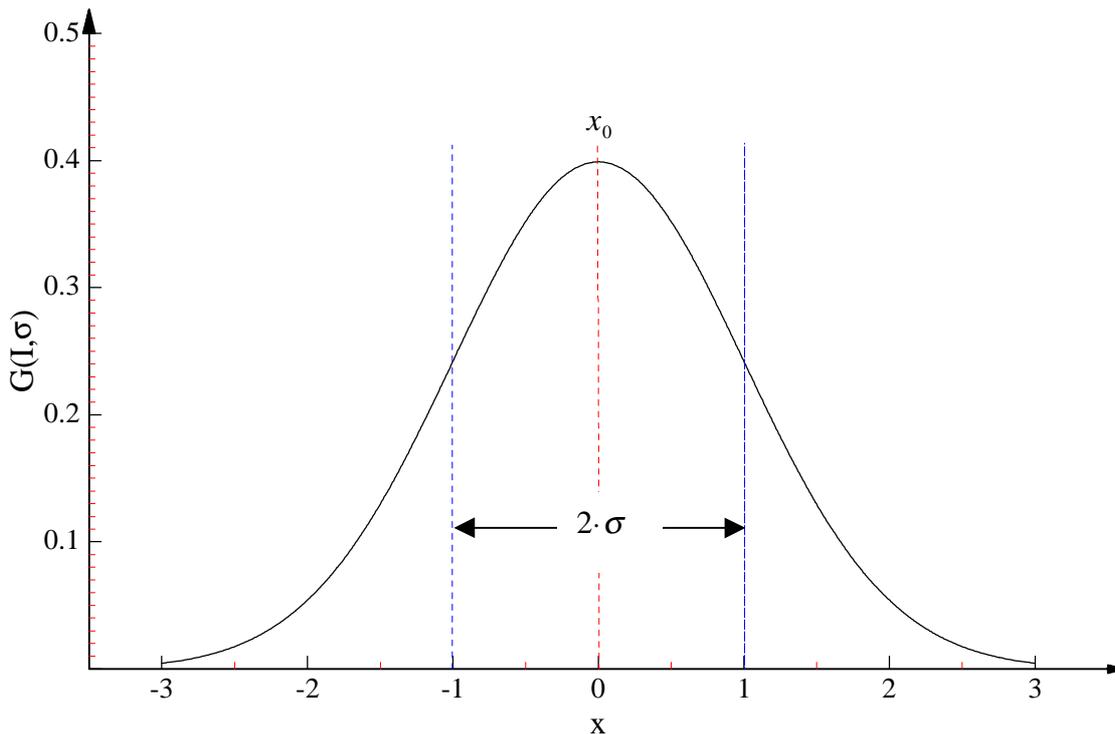
### A.1.2 Gauß-Verteilungen

Die zweite verwendete statistische Anordnung war die Gauß-Verteilung  $G$ . Normiert hat sie für beliebige Werte  $x$ , die sich um einen Mittelwert  $x_0$  anordnen, die mathematische Form:

$$G(x, \sigma) = \frac{1}{\sigma \sqrt{2\pi}} \cdot e^{-\frac{1}{2} \frac{(x-x_0)^2}{\sigma^2}} \quad (\text{ii})$$

$\sigma$  stellt in Gleichung (ii) die Standardabweichung dar. Abbildung A-2 zeigt die grafische Darstellung der Gleichung (ii). Es ist zu bemerken, daß die Standardabweichung  $\sigma$  im Verlauf der Verteilung durch die Wendepunkte zu beiden Seiten des Maximums gebildet wird. Sie bietet im Zuge der Analyse ein wichtiges Mittel zur Bewertung der Streuung und somit zur Qualität der Meßdaten.

Es wird schnell deutlich, daß bei einer Korrelation zwischen Meßdaten und Gauß-Verteilung der Mittelwert  $x_0$ , die Standardabweichung  $\sigma$  die wesentlichen Parameter darstellen. In Analogie zur Normierung der Intensität  $I_0$  der Lorentz-Verteilung (vgl. Abschnitt A.1.1) hat allerdings auch bei der Gauß-Verteilung eine Normierung aus statistischen Gründen zu erfolgen. Auch die Qualität der Annäherung an die Meßdaten durch einen Gauß-Verteilung ist mit dem in Abschnitt A.2.1 beschriebenen  $\chi^2$ -Anpassungstests zu überprüfen.



**Abbildung A-2:** Normierte Gauß-Verteilung um einen Wert  $x$  mit einer Standardabweichung von  $\sigma = 2$  (Die Normierung bezieht sich auf das Flächenintegral unter der Kurve der Verteilung).

Der wesentliche Unterschied der Gauß- und der Lorentz-Verteilung besteht in ihrer Verwendung im Laufe der durchgeführten Analysen. Während die Lorentz-Verteilung bei der mathematischen Behandlung der aufgezeichneten Rohspektren im Vordergrund stand, kam die Gauß-Verteilung bei der Auswertung der Häufigkeit gemessener Intensitäten an einer konstanten Probe zum Zuge. Hieraus resultierend wird deutlich, daß bei der Lorentz-Verteilung das vorrangige Interesse den Parametern Frequenz der Maximalintensität, das heißt Frequenz der Streulinie, und ihrer Intensität galt. Bei der Gauß-Verteilung hingegen waren der Mittelwert der Intensität und die Standardabweichung die bedeutenden Größen. Selbstverständlich sind diese Überlegungen nicht so zu verstehen, daß die nicht erwähnten Parameter der Verteilungen keine Rolle spielen. Auch über diese, wie zum Beispiel die Linienbreite der Lorentz-Verteilung, lassen sich wichtige Erkenntnisse gewinnen.

### A.1.3 Anpassungstest

Die Qualität der statistischen Annäherungen wurden mathematisch durch den  $\chi^2$ -Anpassungstest evaluiert. Hierzu wurde eine Verteilung mit einem definierten Satz von Parametern als gegeben vorausgesetzt. Im Sinne des Tests bildeten die Werte dieser berechneten Verteilung einen Satz von  $n$  Erwartungswerten  $e_i$  mit  $i=1..n$ . Die Meßdaten bildeten einen zweiten Satz, den der Observablen  $o_i$  mit  $i=1..n$ .

Mit den Erwartungswerten der Verteilung und dem Satz der Observablen läßt sich der Unterschied beider Wertemengen durch den  $\chi^2$ -Anpassungstest beschreiben. Mathematisch gilt für ihn folgende Definition:

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^n \frac{(o_i - e_i)^2}{e_j} \quad (\text{iii})$$

Hat  $\chi^2$  den Wert null, so entsprechen sich die Werte der Verteilung und die Meßdaten exakt. In der Realität sind jetzt die Parameter der Verteilung sukzessive zu ändern, bis der Wert von  $\chi^2$  sein absolutes Minimum hat. In diesem Fall sind sich Observablen (Meßdaten) und Erwartungswerte (berechnete Werte der Verteilung) am ähnlichsten. Jedoch lassen sich mit dem Wert von  $\chi^2$  auch Aussagen über die Qualität der Annäherung treffen. Es ist leicht ersichtlich, daß ein zu hoher Wert, selbst wenn er das absolute Minimum bildet, eine Repräsentation durch die Parameter der Verteilung unsinnig erscheinen läßt.

Durch den Einsatz von Computern lassen sich in kürzester Zeit alle Parameter einer Verteilung verändern und gleichzeitig ihre Güte mit Hilfe des  $\chi^2$ -Anpassungstests überprüfen. Durch diese Automatisierung lassen sich online Lorentz- oder Gauß-Verteilungen mit minimalen Abweichungen berechnen, so daß sehr schnell eine Aussage über einen Satz von Meßdaten getroffen werden kann.

## **Literaturverzeichnis**

- [1] RAMAN, C.V., KRISHNAN, K.S., „*Nature*“ Bd. 121 (1928)
- [2] LANDSBERG, G., MANDELSTAM, L., „*Naturwiss.*“ Bd. 16 (1928)
- [3] LOMMEL, E., „*Poggendorffs Ann.*“ Bd. 143 (1871)
- [4] SMEKAL, A., „*Naturwiss.*“ Bd. 11 (1923)
- [5] DIRAC, P. A. M., „*Proc. Roh. So.*“, Bd. 114 (1927)
- [6] BRANDMÜLLER, J., MOSEL, „*Wiss. Forschungsberichte*“ Bd. 70 (1962)
- [7] SUSCHTSCHINSKIJ, M.M., „*Ramanspektren von Molekülen und Kristallen*“, Verlag Nauka (1974)
- [8] PLACZEK, G., „*Rayleighstreuung und Ramaneffekt*“, Leipziger Vorträge (1931)
- [9] KLEIN, O., „*Z. Physik*“, Bd. 41 (1927)
- [10] SCHWABL, F., „*Quantenmechanik*“, Springer Verlag (1992)
- [11] HERZBERG, G., „*Molecular Spectra and Molecular Structure*“, Bd. 1, Van Nostrand Reinhold Company (1950)
- [12] EYRING, H., WALTER, J., KIMBALL, G.E., „*Quantum Chemistry*“, John Wiley & Sons (1965)
- [13] WILSON, E.B., JR, DECIUS, J.C., CROSS, P.C., „*The Theory of Infrared and Raman Vibrational Spectra*“, London (1955)
- [14] BOERNER, H., „*Darstellung von Gruppen*“, Berlin-Göttingen-Heidelberg (1955)
- [15] MATOSSO, F., „*Gruppentheorie der Eigenschwingungen von Punktsystemen*“, Berlin-Göttingen-Heidelberg (1961)
- [16] LASERNA, J.J., „*Modern Techniques in Raman Spectroscopy*“, John Wiley & Sons (1996)
- [17] WOODWARD, L.A., in „*Raman-Spectroscopy: Theory and Practice*“, Plenum Press (1967)
- [18] HENDRA, P., JONES, C., WARNES, G., „*Fourier Transform Raman Spectroscopy*“, Ellis Horwood Series in Analytical Chemistry (1991)
- [19] HESTER, R.E., in „*Raman Spectroscopy: Theory and Practice*“, Plenum Press (1967)
- [20] DEMTRÖDER, W., „*Laser-Spektroskopie*“, Springer-Verlag (1993)
- [21] SCHANDA, E., „*Remote Sensing for Environmental Sciences*“, Springer-Verlag (1976)
- [22] DIETRICH, G., KALLE, K., KRAUSS, W., SIEDLER, G., „*Allgemeine Meereskunde*“, Gebr. Borntraeger (1975)
- [23] ENGELHARDT, H., BECK, W., SCHMITT, T., „*Kapillarelektrophorese*“, Vieweg (1994)
- [24] CAMILLERI, P., „*Capillary Electrophoresis*“, CRC Press (1993)

- [25] STÖCKER, H., „*Taschenbuch der Physik*“, Verlag Harri Deutsch (2000)
- [26] WESTERMEIER, R., „*Elektrophorese-Praktikum*“, VCH (1990)
- [27] ADAMSON, A.W., „*Physical Chemistry of Surfaces*“, John Wiley & Sons (1982)
- [28] KNOX, J.H., „*Chromatographia*“, Bd 26 (1988)
- [29] WAGNER, H., BLASIUS, E., „*Praxis der elektrophoretischen Trennmethode*n“, Springer Verlag (1989)
- [30] NN, „*Produktbeschreibung und Handbuch Ramansystem R2000*“, Ocean-Optics (1997)
- [31] NN, „*Datenblatt optische Filter*“, Linos-Photonics (1999)
- [32] NN, „*Datenblatt Strahlteiler*“, Linos-Photonics (2000)
- [33] NN, „*Katalog Optiken*“, Thorlabs inc. (1999)
- [34] NN, „*Datenblatt Kugellinsen*“, Linos-Photonics (2000)
- [35] NN, „*Optische Gläser*“, Schott (2000)
- [36] NN, „*High Voltage Power Supplies – Product Specifications*“, Ortec (1992)
- [37] THOMPSON, T.J., FORET, F., VOUREUS, B.L., in *Analytical Chemistry*, Bd. 65 (1993)
- [38] KOWALCHYK, W.K., WALKER, P.A. III, MORRIS, M.D., „*Rapid Normal Raman Spectroscopy on Sub-ppm Oxy-Anion Solutions*“, *Applied Spectroscopy* Bd. 49 (1995)
- [39] BRONSTEIN, I.N., SEMENDJAJEW, K.A., „*Taschenbuch der Mathematik*“, Verlag Harri Deutsch (1991)
- [40] SPIEGEL, M.R., STEPHENS, L.J., „*Theorie and Problems of Statistics – Third Edition*“, McGraw-Hill (1999)
- [41] MIKKERS, F.E.P., EVERAERTS, F.M., VERHEGGEN, T.P.E.M., „*Journal of Chromatography*“, Bd. 169 (1979)
- [42] JORGENSON, J.W., LUKACS, K.D., „*Journal of Chromatography*“, Bd. 218 (1981)



An dieser Stelle möchte ich zunächst meinem Doktorvater Prof. Dr. Peter Koske für die Bereitstellung des Themas und seine Unterstützung bei der Durchführung dieser Arbeit danken. Besonders dafür, daß er mir bei all meinen wissenschaftlichen Ideen freie Hand gelassen hat, und ich die Dinge realisieren konnte, die mir wichtig und sinnvoll erschienen.

Herrn Prof. Dr. Arne Körtzinger vom Institut für Meereskunde der Universität Kiel gebührt mein Dank für seine fachlichen Aussagen und Anregungen bezüglich meereschemischer Problemstellungen.

Ferner gilt mein Dank den – übriggebliebenen – Mitarbeitern der Arbeitsgruppe Meeresmeßtechnik, die mit mir den Umzug in das provisorische ‚ZAM‘ wagten (*vielmehr wagen mußten*). Herrn Dr. Tobias Boehme, Herrn Dr. Eckart Fahrun und Herrn Dr. Thorsten Knutz sei gedankt, nicht nur für die unzählig zelebrierten Kaffeerunden, sondern vielmehr auch für ihre fachliche Unterstützung und ihre Ideen in den verschiedensten Punkten meiner Arbeit, die zum Gelingen dieser wesentlich beitrugen.

Jürgen Mielke und Stefan Daniel sei gedankt für die ‚mechanischen‘ Ideen und Lösungen aus ihrem reichhaltigen Erfahrungsschatz, die von nicht zu unterschätzender Bedeutung und eine große Hilfe waren.

Herrn Gunnar Schlumbohm danke ich für die ‚unbürokratische‘ Möglichkeit, meine Arbeit zu vervielfältigen, die mir viel Zeit und nerven sparte.

Nicht vergessen möchte an dieser Stelle meine alten Kommilitonen Arman Madani und Stephan Wohler, die mich durch das Studium begleiteten und währenddessen über den ein (*und* anderen) ‚Hänger‘ hinweggeholfen haben.

Ein besonderes Dankeschön – eigentlich das größte – gebührt meinen Eltern, die mir es erst ermöglichten, in ein Studium der Physik einzutauchen und mit dieser Arbeit einen weiteren Eckpunkt zu setzen.

Danke für die Unterstützung, das Verständnis und die Zusprache, die ich ausnahmslos und jederzeit von Euch erhalten habe ...



## Lebenslauf

### CARSTEN GREEN

#### PERSÖNLICHE INFORMATION

---

1. Geburtsdatum: 10.03.1969
2. Geburtsort: Kiel / Schleswig-Holstein / Deutschland
3. Eltern: Hans-Jürgen Green, Ursula Green, geb. Majehrzack
4. Familienstand: ledig
5. Staatsangehörigkeit: deutsch

#### SCHULAUSSBILDUNG

---

- 1976 – 1979    Grundschule Sternstraße / Kiel
- 1979 – 1988    Gymnasium Humboldt-Schule / Kiel
- Abitur 1988

#### WEHRDIENSTZEIT

---

1988 – 1990

#### UNIVERSITÄTSAUSBILDUNG

---

- 1990 – 1996    Christian-Albrechts-Universität zu Kiel  
                  Studium der Physik
- 1992 Vordiplom
  - 1996 Abschluß als Diplom-Physiker
- 1996 – 2001    Christian-Albrechts-Universität zu Kiel  
                  Studium der Philosophie

#### BERUFSTÄTIGKEITEN

---

- 1996 – 1998    Werkverträge am IEAP der Universität Kiel
- 1998 – 1999    Wissenschaftlicher Mitarbeiter am IEAP der  
                  Universität Kiel
- 1999 – 2001    Wissenschaftlicher Mitarbeiter am FTZ-Westküste
- 2001 – heute    Mitarbeiter der Firma GO-Systemelektronik in Kiel

Hiermit erkläre ich an Eides statt, daß ich die vorliegende Dissertation selbständig angefertigt habe und dabei als Hilfsmittel nur die genannten Quellen benutzt habe.  
Des weiteren versichere ich, daß die vorliegende Dissertation weder ganz, noch zum Teil bei einer anderen Stelle im Rahmen eines Prüfungsverfahrens vorgelegt wurde.