universität wien

DIPLOMARBEIT

Titel der Diplomarbeit

Reflexionsspektroskopische Messungen von Fliederblättern

angestrebter akademischer Grad

Magister der Naturwissenschaften (Mag. rer.nat.)

Verfasser:	Nikolaus Koch
Matrikel-Nummer:	9600111
Studienrichtung (lt. Studienblatt):	A 411 Physik
Betreuer:	Univ.-Prof. i.R. Dr.Helmuth Horvath

Wien, am 12.11.2008

1. Einleitung 5
2. Spektroskopische Grundlagen 7
2.1. Licht und Wechselwirkungen mit Materie 7
2.1.1. Absorption 9
2.1.2. Molekülspektren 10
2.1.3. Chlorophylle 11
2.1.4. Carotinoide und andere pflanzliche Chromophore 15
2.2. Extinktion und Streuung 16
2.2.1. Extinktion 17
2.2.2. Streuung 18
2.2.3. Mie Streuung 19
2.2.4. Rayleigh-Streuung 20
2.3. Geometrische Optik 22
2.3.1. Reguläre und diffuse Reflexion 22
2.3.2. Brechung 25
2.3.3. Fresnel Gleichungen 26
3. Die Kubelka-Munk Theorie 28
4. Das Blatt 39
4.1. Die Pflanzenzelle 39
4.2. Die Anatomie eines Pflanzenblattes 40
4.3. Die optischen Eigenschaften von Pflanzenblättern 42
4.3.1. Computersimulationen des Photonentransportes 42
4.3.2. Reflexions- und Transmissionsmessungen 46
5. Spektroskopische Methoden 51
5.1. Leuchtquellen 52
5.2. Monochromatoren 53
6. Experimente 55
6.1. Messung der Filtertransmissionen 57
6.2. Transmissionsspektrum eines einzelnen Fliederblattes 59
6.3. Reflexionsmessungen bei Bestrahlung mit weißem Licht 60
6.4. Reflexionsmessungen bei Bestrahlung mit rotem Licht 62
6.5. Reflexionsmessungen bei Bestrahlung mit grünem Licht 64
6.6. Reflexionsmessungen bei Bestrahlung mit blauem Licht 66

6.7. Ergebnisse für die winkelabhängigen Reflexionen 68
6.8. Fehlerabschätzung 70
6.9. Qualitative Diskussion des winkelabhängigen Kurvenverlaufs 71
Literaturverzeichnis 73
Zusammenfassung 75
Abstract 75
Curriculum Vitae 76

1. Einleitung

Die spektroskopische Untersuchung von Pflanzenblättern wird zunehmend ein stark beforschtes Gebiet der Naturwissenschaften. Das hat mehrere Gründe. Zum einen ist es von grundsätzlichem Interesse, wie sich Pflanzen im Laufe der Jahrmilliarden an ihre Umwelt angepasst und effizient in ihrer jeweiligen ökologischen Nische die Energie der Sonne für ihre Zwecke zu nutze gemacht haben. Dafür haben sich verschiedene Pigmente zur Lichtassimilation entwickelt, die in ein Blattgewebe eingebaut sind, das ebenfalls eine optimale Lichtausbeute garantiert. Es stellt sich in immer mehr Details heraus, wie ein Pflanzenblatt aufgrund seiner Anatomie die Aufgabe, Licht zu „ernten“ erfüllt. Andererseits kann man mit reflexionsspektroskopischem Wissen auch durch „remote-sensing“ (Fernerkundung) von Erdbeobachtungssatelliten oder Flugzeugen aus ganze Ökosysteme und landwirtschaftliche Felder überwachen. Dies hat entweder den Sinn, dass man über den Gesundheitszustand von z.B. Wäldern Informationen gewinnen will oder in der industriellen Landwirtschaft die Produktion von Nahrungsmitteln kontrollieren möchte. Der Einfluss von Umweltverschmutzung, Düngemitteleinsatz, Wasserverfügbarkeit und vielem anderen mehr wirkt sich beispielsweise auf den Chlorophyllgehalt einer Pflanzenkultur aus, was sich in einem veränderten Reflexionsspektrum der Blätter widerspiegelt. Um aber Daten aus der Fernerkundung überhaupt auswerten zu können, müssen Blattspektren auch im Labor erforscht werden.

Die Reflexionsspektroskopie wird grundsätzlich dort angewendet, wo Proben nicht lichtdurchlässig sind oder stark absorbieren. Mit ihrer Hilfe ist es möglich, Daten über die Oberflächenbeschaffenheit eines Untersuchungsobjektes zu sammeln. Absorbiert ein Stoff wie z.B. ein Pflanzenblatt, dann dringt Licht in ihn ein und ein Reflexionsspektrum liefert auch Informationen über seine innere Beschaffenheit. Eine schon seit Jahrzehnten erfolgreich angewandte Theorie für die Interpretation von Reflexionsspektren ist die Kubelka-Munk-Theorie. Sie ermöglicht es, durch Annahme von Vereinfachungen, komplizierte optische Phänomene im Probeninneren teilweise zu erklären. Diese Vereinfachungen sind natürlich auch Einschränkungen und ein gewisser Nachteil, wenn man genauere Modelle benötigt. Für den Photonentransport in Pflanzenblättern wurden daher auch Computersimulationen erstellt. Die Ergebnisse einer solchen Simulation werden in dieser Arbeit präsentiert,

um eine Vorstellung zu erhalten, wie die optischen Eigenschaften von Pflanzenblättern entstehen.
Das Ziel der Experimente dieser Arbeit war jedoch das Aufnehmen winkelabhängiger Reflexionsspektren von Pflanzenblättern und die Auswertung mit der Kubelka-Munk-Theorie, um Streu- und Absorptionskoeffizienten zu berechnen. Zusätzlich werden spektroskopische Grundlagen erläutert und zusammengestellt.

2. Spektroskopische Grundlagen

Die Erforschung der optischen Eigenschaften von Pflanzenblättern erfordert ein Analyseverfahren, mit dem es möglich ist, spektrale Intensitätsunterschiede zu bestimmen. Dieses Gebiet der Naturwissenschaften ist die Spektroskopie. In der optischen Spektroskopie benützt man alle Formen von Licht, wobei unter diesem Begriff nicht nur die sichtbare Region der Spektrums gemeint ist, sondern auch die daran angrenzenden Wellenlängenbereiche wie das langwelligere Infrarote und das kurzwelligere Ultraviolette. Um aus einem gewonnenen Spektrum Informationen über einen Untersuchungsgegenstand zu ziehen, braucht man Wissen über die Interaktionsmöglichkeiten des „Scanners" Licht. Dessen grundsätzliche Eigenschaften und Wechselwirkungen mit Materie und damit auch biologischen Proben wie Pflanzen werden im folgenden Kapitel beschrieben.
Lange Zeit wurde in Wissenschaftlerkreisen darüber diskutiert und gestritten, was denn die wahre Natur des Lichts sei. Manche wie Isaak Newton vertraten die Ansicht, Licht bestehe aus Korpuskeln oder Teilchen. Andere z.B. Christiaan Huygens meinten, es sei eine Welle, die sich ähnlich wie Wasserwellen auf der Oberfläche eines Sees ausbreite. Doch „die Natur" schlichtete den Disput, indem sie quasi beiden Anschauungen recht gab: Heute spricht man vom Welle-Teilchen-Dualismus, der dem Licht die Eigenschaften von beidem zuordnet. Trotzdem oder gerade weil das Licht so widersprüchlich scheint, gibt es drei prinzipielle Modelle, um optische Phänomene zu beschreiben. [1]

2.1. Licht und Wechselwirkungen mit Materie

In der Elektrodynamik, die von James Clerk Maxwell in der zweiten Hälfte des neunzehnten Jahrhunderts entwickelt wurde, wird Licht als elektromagnetische Welle beschrieben. Es setzt sich aus einer transversalen elektrischen und normal dazu stehenden magnetischen Welle zusammen, die sich im materiefreien Raum mit der Vakuumlichtgeschwindigkeit $c_0 = 299\,792\,458\ \mathrm{m/s}$ ausbreiten. Wie alle Wellenphänomene hat auch das Licht daher eine Frequenz ν und eine Wellenlänge λ. Ihr quantenmechanischer Zusammenhang mit der Energie E eines Lichtquants,

eines Photons, lässt sich mit dem Planckschen Wirkungsquantum $h = 6{,}626 \cdot 10^{-34}\,Js$ anschreiben als

$$E = h\nu = \frac{hc}{\lambda} = h \cdot c \cdot k\,. \qquad (2\text{-}1)$$

Die Wellenzahl (wavenumber) k ist der Reziprokwert von λ und damit proportional zur Energie [2].

Das sichtbare Licht ist aber nur eine sehr schmale Region im gesamten EM-Spektrum (elektromagnetisches Spektrum) zwischen etwa 400 - 750nm Wellenlänge. Dieses wird in verschiedene spektroskopische Bereiche unterteilt, die sich durch ihre Wechselwirkungen mit Materie unterscheiden. Die hochenergetische γ-Strahlung entsteht bei der Umwandlung oder Umstrukturierung in Atomkernen. Geringere Energien erfordern die Elektronenübergänge in den inneren Schalen von Atomen und Molekülen wobei Röntgenstrahlen emittiert oder absorbiert werden. Äußere Schalensprünge, unter anderem von Valenzelektronen, in Molekülen und Atomen entsprechen UV- oder sichtbaren (auch „VIS“ für visible) Lichtfrequenzen. Noch geringere Energien haben molekulare Schwingungs- und Rotationszustandsenderungen und wechselwirken daher im Infraroten oder Mikrowellenbereich. Spin-Umkehrprozesse in Atomkernen und von Elektronen haben die Energie von Radiowellen. Eine Übersicht darüber bietet Abb. (2-1). [9]

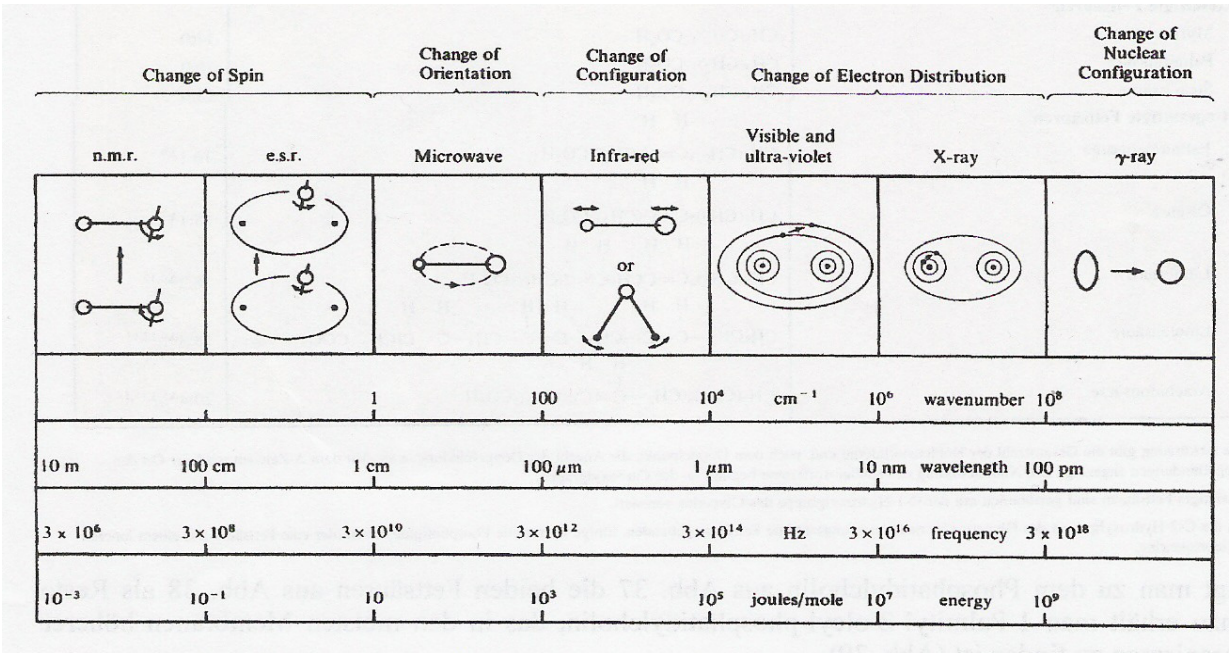

Abb.(2-1) Das elektromagnetische Spektrum mit schematisch angedeuteten Materie-Wechselwirkungen für verschiedene Energiebereiche. Aus [9]

2.1.1. Absorption

Diskrete Linienspektren kann man nur mit Hilfe der Quantenmechanik verstehen. Grundprinzipien lassen sich mit dem Modell des harmonischen Oszillators verdeutlichen. Es beschreibt die Schwingung eines Teilchens um einen Ruhepunkt (in dem sich der Atomkern oder der Massenschwerpunkt eines Moleküls befindet), auf das eine proportional zur Auslenkung wachsende, rücktreibende Kraft F wirkt. Für ein im Atom gebundenes Elektron oder ein 2-atomiges Molekül ist das eine erste Annäherung an reale Verhältnisse. Im klassischen harmonischen Oszillator sind die rücktreibende Kraft F, die hier z.B. von einer Feder verursacht werden kann, und das dazugehörige Potential V(x)

$$F = -kx, V(x) = \frac{k}{2}x^2 \tag{2-2}$$

mit der Federkonstante k. Die Lösung dieses Problems ergibt eine Sinusschwingung

$$x(t) = A \cdot \sin \omega t \,, \tag{2-4}$$

die durch eine Amplitude A und die Kreisfrequenz ω charakterisiert wird. Die Energie eines Teilchens in so einem Potential hängt von der Auslenkung ab, die kontinuierlich veränderbar ist und daher auch alle E-Zustände erlaubt. Das Energiespektrum ist ebenfalls kontinuierlich.
Hingegen erhält man beim Lösen des quantenmechanischen harmonischen Oszillators nur Möglichkeiten für diskrete Energieeigenwerte:

$$E_n = (n + \frac{1}{2})h\nu, n = 1,2,3,... \tag{2-5}$$

Die Quantenzahl n ist eine ganze, positive Zahl, zu der jeweils ein bestimmter Energieeigenwert E_n gehört. Ändert hier das Teilchen seine Energie, dann kann es also nur von einem E_n-Zustand zum nächsthöheren oder –niedrigeren „springen“ und absorbiert bzw. emittiert dabei ein Photon mit der Energie entsprechend Gl. (2-1) [8].

Mit quantenmechanischen Überlegungen kommt man für Elektronen in einem Atom zu Schalen- und Orbitalschemen, die unterschiedliche Energieniveaus beschreiben. Sie können ebenfalls mittels Photonenenergie gewechselt werden.

2.1.2. Molekülspektren

Verbinden sich Atome zu Molekülen ergeben sich neue Orbitale, die Molekülorbitale. Aus den s- und p- Orbitalen z.B. werden die σ- und π-Orbitale, die auch die Grundlage optischen Eigenschaften von Molekülen bilden. Abb. (2-2) zeigt das Prinzip anhand eines zweiatomigen Wasserstoff-Moleküls.

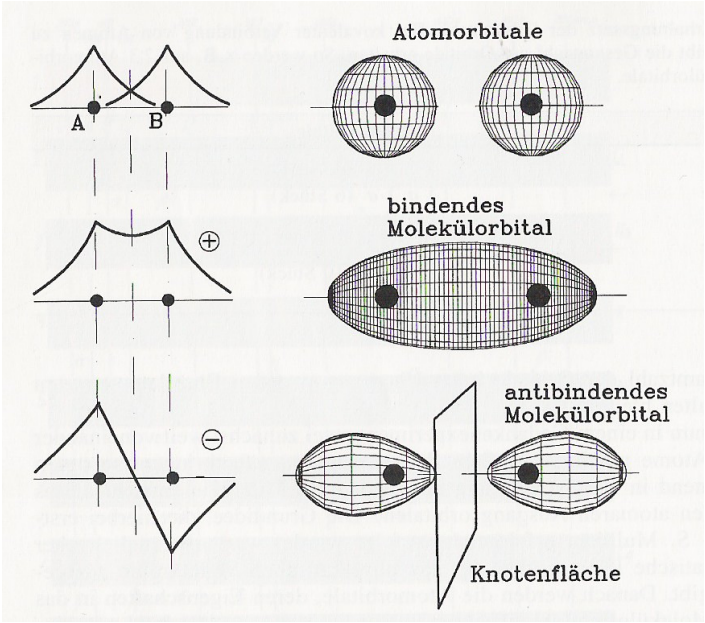

Abb.(2-2) Beim Zusammenführen zweier Atome (hier Wasserstoffatome A und B) ergeben sich neue bindende und antibindende Molekülorbitale. Aus [2]

Die Energien der Übergänge liegen für die π-Orbitale, die eher schwache Bindungen sind, im Sichtbaren und sind für viele Pigmente farbgebend. Essentiell sind hier die aus einer Kombination von σ- und π-Orbitalen gebildeten Doppelbindungen, die z.B. in einer ungesättigten Kohlenstoffkette oder in Benzolringen vorliegen.
In realen Molekülen führt die Kombination vieler verschiedener Orbitale zu einem Spektrum mit Absorptionsbanden. Manche dieser Banden haben z.B. die Form einer Gauß-Glockenkurve. Um komplexe Spektren zu deuten, addiert man mehrere solcher Kurven, die man anhand von bekannten Komponenten eines Stoffes durch chemische Analyse vermutet, und hofft auf Übereinstimmung mit den Messungen. Überlagern sich mehrere Banden, entstehen charakteristische, so genannte

molekulare „Fingerprints“, anhand derer man eine bestimmte Substanz spektroskopisch erkennen kann. Schwierig wird es dann, wenn viele verschiedene Stoffe in einem Gemisch existieren. Zusätzlich ist außerdem ein Molekülspektrum in unterschiedlichen Lösungsmitteln nicht gleich. Daher ist es immer notwendig, dieses mit anzugeben. In Pflanzenblattzellen z.B. gibt es viele verschiedene Farbstoffe oder auch Chromophore wie das Chlorophyll, die im Zytoplasma, Lipiden oder Proteinen eingebettet sind. Die Bezeichnung Chromophor meint den reinen Farbstoff, der in Lebewesen selbstverständlich nicht isoliert vorkommt. Wenn er verbunden mit einem anderen Molekül oder in einem Molekülkomplex vorliegt, nennt man ihn Pigment. In dieser Verbindung mit anderen Stoffen verschieben sich also, wie schon erwähnt, Absorptionsmaxima oder ihre Intensitätsverhältnisse. Welche Farbe eine Substanz aufweist, wird von den Frequenzbereichen bestimmt, die sie reflektiert und absorbiert. Anhand von Chlorophyll erklärt, ergibt sich die grüne Farbe dadurch, dass es im Grünen sehr schwach aber im blauen und roten Spektralbereich sehr stark absorbiert. Wird es mit weißem Licht bestrahlt, so reflektiert es dann hauptsächlich den Grünanteil davon, der das menschliche Auge erreicht. [2], [5]

2.1.3. Chlorophylle

Die vertraute grüne Färbung von Pflanzen stammt von einer einzigen Klasse von Molekülen, den Chlorophyllen. Ihr spektroskopisch wirksamer struktureller Aufbau und die chemischen Zusammensetzung wird nun im Folgenden gezeigt.

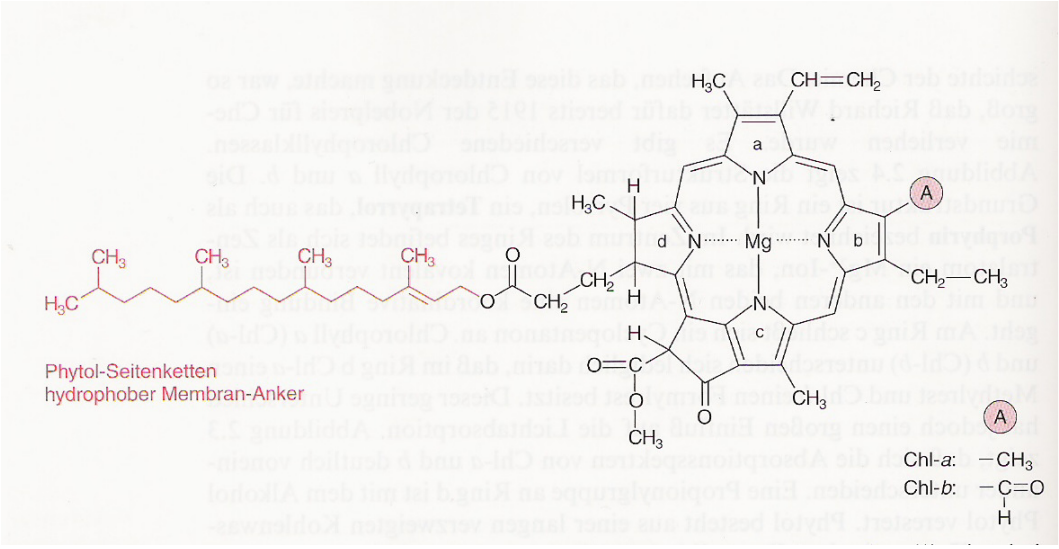

Abb. (2-3) Struktur von Chlorophyll a und b. Rechts: Tetrapyrrolring, links eine hydrophobe Seitenkette. An der mit rotem Kreis umrahmten Stelle A sind die r.u. gezeichneten chemischen Gruppen hinzuzufügen. Aus [5].

Die Struktur des Chlorophyll a und b ist im Wesentlichen ein Tetrapyrrolring, der aus mehreren 5- bzw. 6-eckigen Kohlenstoff-Stickstoffringen besteht und ein kreisförmig-geschlossenes System von zehn konjugierten Doppelbindungen enthält (Abb.2-3). Sie sind ein typisches Merkmal der Chromophore. In einem solchen konjugierten System wechseln sich die Plätze von Einfach- und Doppelbindungen zwischen den einzelnen Atomen zeitlich ab. Die Molekülorbitale, die Doppelbindungen hervorrufen, sind die π- Orbitale. Elektronen in diesem Zustand sind innerhalb des konjugierten Systems relativ frei beweglich und nicht etwa fix an ein Atom gebunden und haben eher kleine Anregungsenergien im Sichtbaren. Es ist bekannt, dass sie für Elektronen in Doppelbindungen umso geringer sind, je mehr von diesen vorhanden sind. In Butadien, einem Kohlenwasserstoff mit zwei konjugierten Doppelbindungen, ist energiereiches UV-Licht zur Elektronenanregung erforderlich, während im Chlorophyll dagegen dunkelrotes ausreicht. Zusätzlich können angeregte Elektronen im konjugierten Ring zirkulieren und emittieren erst nach einer für molekulare Verhältnisse langen Halbwertszeit von ungefähr $5*10^{-4}$ Sekunden wieder ein Photon [4]. Das ist notwendig für die Möglichkeit, die Anregungsenergie an andere Moleküle weiterzugeben oder in chemische Prozesse einzuschleusen. Im Zentrum des Tetrapyrrolringes sitzt ein Mg^{2+}-Ion, das gemeinsam mit diversen Seitenketten am Ring die Energie der Elektronenübergänge beeinflusst. Chlorophyll a (Chl-a) beispielsweise besitzt eine Methylgruppe $–CH_3$ wo bei Chlorophyll b (Chl-b) eine Formylgruppe –COH hängt [5]. In Abb. (2-4) sind die Absorptionsspektren mehrerer Formen des Chlorophylls dargestellt.

Man sieht deutlich, dass für alle Formen dieser Molekülgruppe eine starke Energieaufnahme im Blauen unterhalb von 480nm und Roten ab etwa 600nm gemeinsam ist. Grüne Lichtanteile dazwischen werden hingegen wenig beeinflusst. Wieso liegen die Absorptionsmaxima gerade an diesen Stellen? Interessanterweise ist ja das Maximum der Energie der Sonnenstrahlung genau in der Grünlücke der Chlorophylle zu finden. Jedoch ist für die Photosyntheserate die Anzahl der absorbierten Photonen wichtig und die ist im Sonnenspektrum bei etwa 640nm maximal [2].

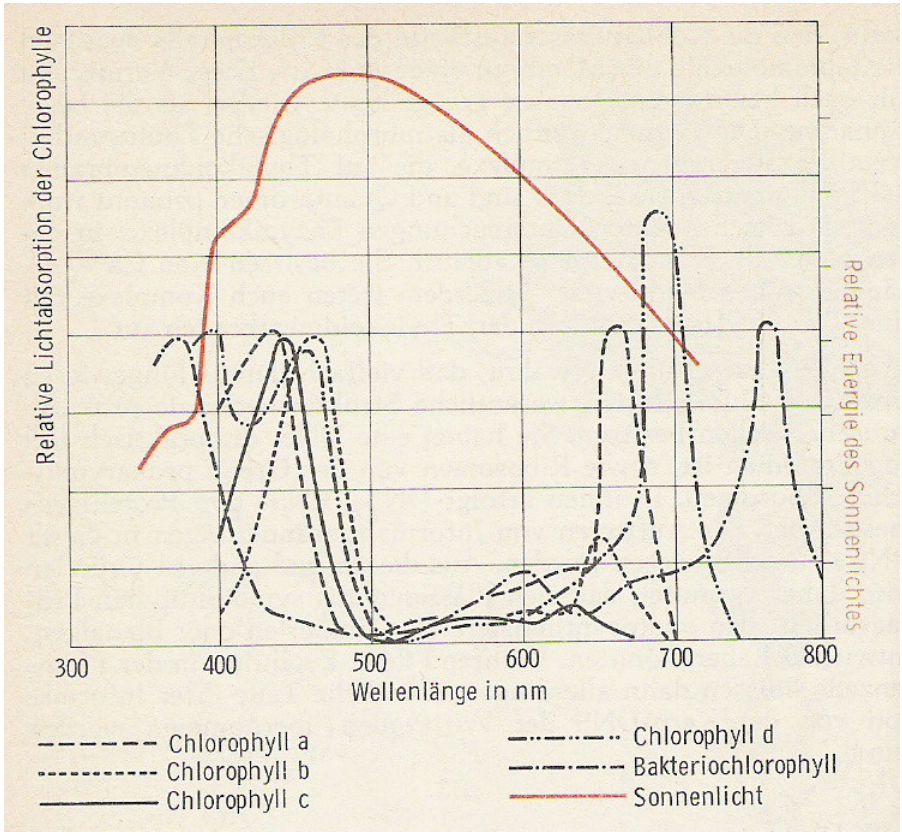

Abb. (2-4) Absorptionsspektren einiger Chlorophylle. Im Vergleich dazu rot eingezeichnet die Wellenlängenverteilung des Sonnenlichts. Aus [4]

Wie ein Molekül absorbiert hängt von den möglichen Energiezuständen für Elektronen ab. Dabei muss man zwischen drei Typen unterscheiden:

1. Elektronische Übergänge sind bestimmt durch den Orbitalaufbau und wechselwirken im UV- Vis-Bereich.
2. Vibratorische Übergänge kommen aufgrund von Schwingungen der Atome zueinander zustande. Ihre Energien entsprechen dem nahen Infrarot.
3. Rotatorische Übergänge sind quantisierte Molekül-Rotationen, die ebenfalls ein Energiespektrum hervorrufen und im Infraroten emittieren oder absorbieren.

Für detailiertere Beschreibungen sei auf die Literatur verwiesen (z.B. [2], [6]). Abb. (2-5) zeigt ein Molekülorbital-Diagramm für Chl-a. Man erkennt die für blaues und rotes Licht zugehörigen Energieniveaus für die Absorption. Als Wellenlinien angedeutet sind ausgewählte Emissionsübergänge.

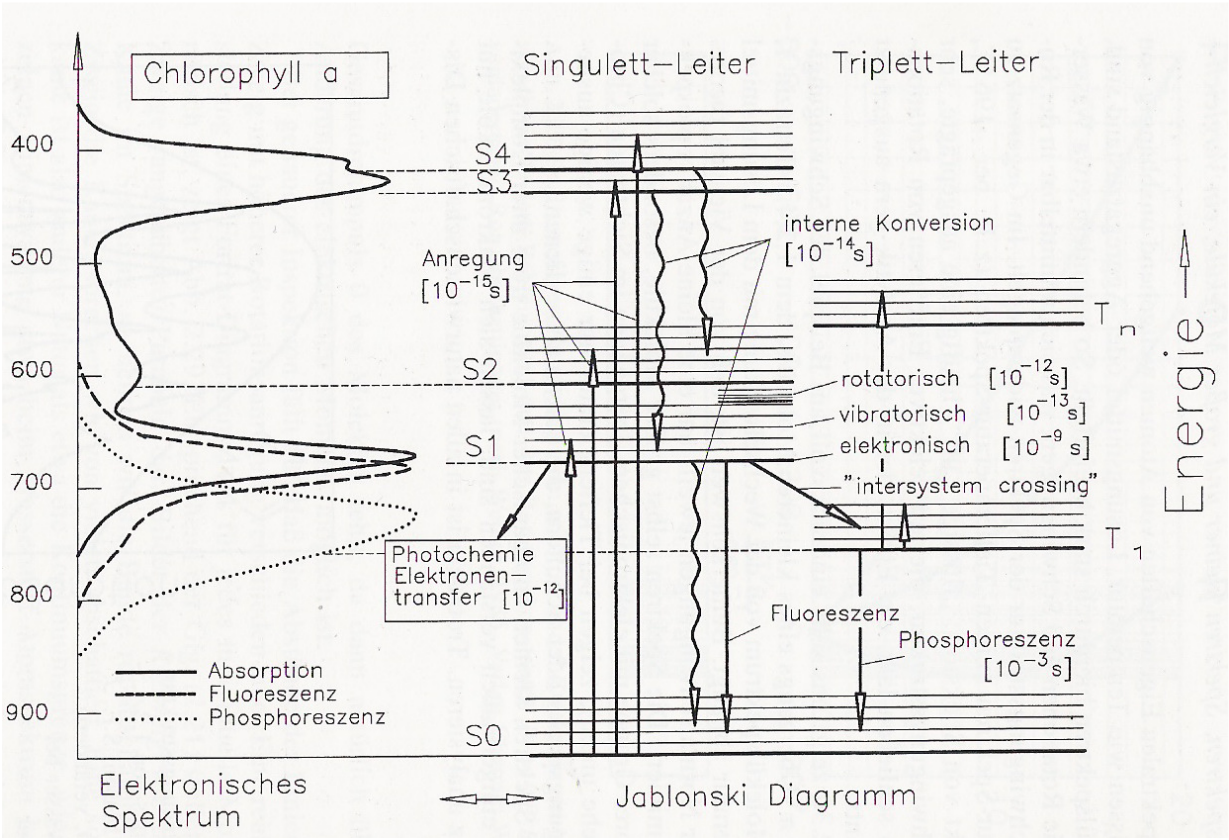

Abb. (2-5) Energie-Termschema von Elektronenübergängen (Jablonski Diagramm) für Chlorophyll a. Die linke Achse gibt die Wellenlängen für das Absorptionsspektrum an. Auf gleicher Höhe in der Mitte und Rechts sind dazugehörige Energieniveaus und ihre Übergänge schematisch dargestellt. Aus [2].

Die Bezeichnungen S1, S2 usw. und T1, Tn weisen auf Singulett- bzw. Triplettniveaus hin, die mit der Spinausrichtung zu tun haben und Übergangsmöglichkeiten weiter auffächern. Es sei hier nur erwähnt, dass diese unterschiedliche Lebensdauern haben und daher z.B. zu Phosphoreszenz führen können.

Nach der Anregung eines Elektrons mit einem Photon der passenden Wellenlänge strebt es wieder einen energieärmeren Zustand an. Das kann auf unterschiedlichen Wegen passieren:

1. Das angeregte Elektron wird auf einen Elektronenakzeptor also z.B. ein anderes Molekül übertragen und für die Verrichtung chemischer Arbeit verwendet. Nachdem es eine Elektronentransportkette durchlaufen und dabei wieder im energetischen Grundzustand ist, kehrt es zum ionisierten Chl-Molekül zurück.
2. Die Anregungsenergie verliert sich in Schwingungen und Rotationen und wird daher in Wärme umgewandelt.

3. Abzüglich von Wärmeverlusten wird ein Teil der Elektronenenergie als Photon remittiert. Je nach der Lebensdauer des Niveaus, von dem das passiert, handelt es sich dabei um Fluoreszenz oder Phosphoreszenz.
4. Die eingestrahlte Energie wandert quantisiert, man nennt das ein Exiton, zum nächsten benachbarten Chromophormolekül. [2]

2.1.4. Carotinoide und andere pflanzliche Chromophore

Außer den Mitgliedern aus der Familie der Chlorophylle gibt es in Blättern auch andere akzessorische Pigmente, deren bekannteste Vertreter die Carotinoide sind. Sie sind gelb, orange oder rot und werden im Frühling und Sommer vom dominierenden Chlorophyll überlagert. Zu ihren Funktionen gehören eine teilweise Schließung der Grünlücke der Chlorophylle, indem sie großflächig in Lichtsammelkomplexen zusammen mit anderen Farbstoffen angeordnet, Photonen ihrer Absorptionswellenlängen in Form von Exitonen zu Photosynthese-Reaktionszentren weiterleiten. Der bekannteste Vertreter der Klasse der Carotinoide ist das gelb-orange β-Carotin, das neben Stoffwechselfunktionen noch eine andere Aufgabe erfüllt: Der oben erwähnte Triplettzustand des Chlorophylls kann Sauerstoffradikale erzeugen, die mithilfe des β-Carotin wieder unschädlich gemacht werden. Sein Aufbau ist charakterisiert durch eine lange Kohlenstoffkette mit konjugierten Doppelbindungen, die wiederum die Eigenschaft als Pigment verursachen. Außer in Blättern ist es noch in Karotten enthalten, von denen diese Pigmentklasse auch ihren Namen hat. Zu den Carotinoiden gehören auch die Xanthophylle mit dem Lutein als wichtigem Vertreter.

In höheren, grünen Pflanzen beträgt das Verhältnis Chl-a zu Chl-b ungefähr drei zu eins. Diese beiden Stoffe kommen auch in Grünalgen vor, die in oberen Gewässerschichten leben. Sie lassen daher für darunterlebende Organismen wie Rot- und Blaualgen nur grünes Licht übrig, wodurch diese tiefer lebenden Einzeller Pigmente entwickeln mussten, die stark im Grünen absorbieren können. Als Beispiele dafür seien die Phycobilisomen wie das Phycoerytrin und das Phycocyanin erwähnt. Von mehreren Vertretern diverser Chromophor-Klassen ist im Vergleich zu Chl-a und Chl-b das Absorptionsspektrum in Abb.(2-6) gezeigt. [5]

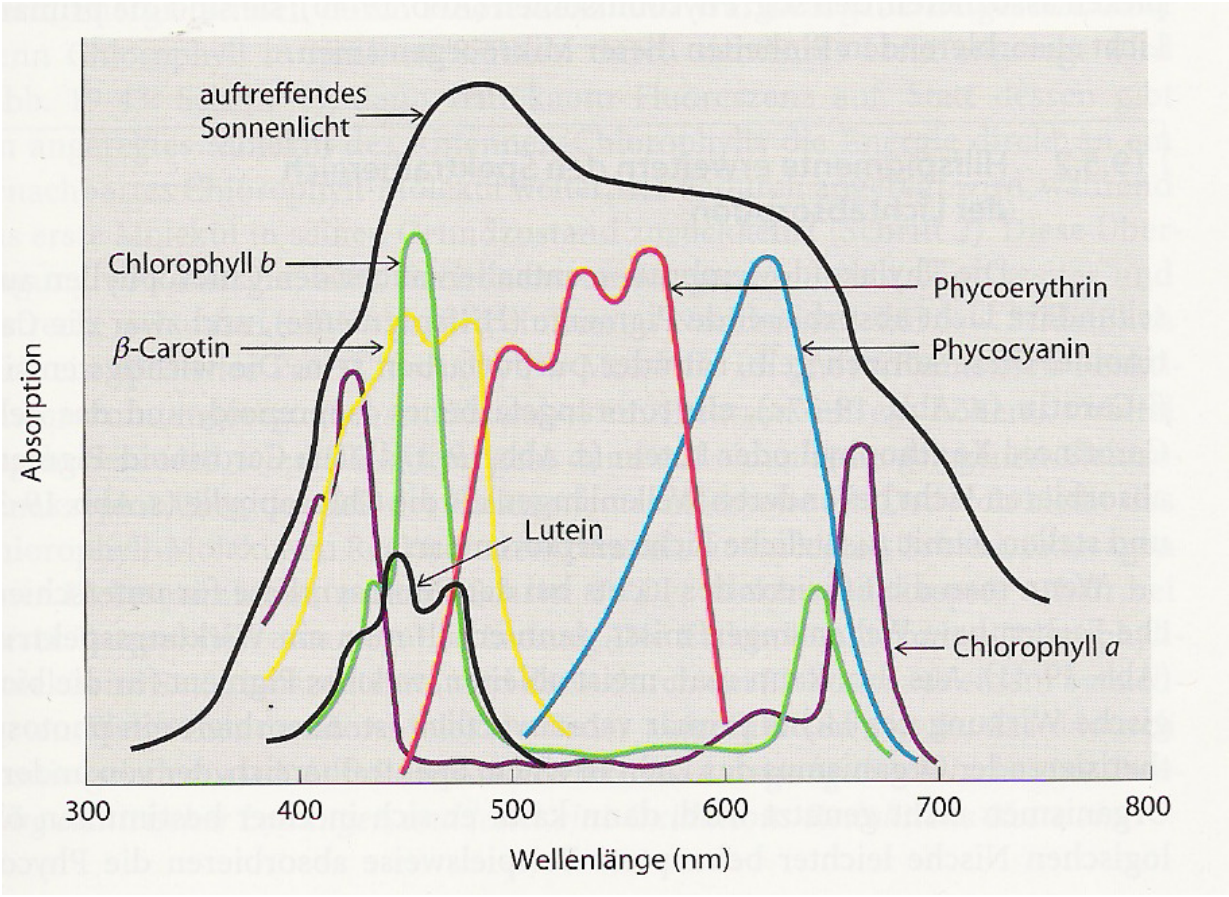

Abb. (2-6) Absorptionsspektren einiger pflanzlicher Farbstoffe. Aus [11]

2.2. Extinktion und Streuung

Die Absorption ist aber nur eine Möglichkeit, wie Licht von Materie beeinflusst werden kann. In Gasen und zumindest teilweise lichtdurchlässigen Festkörpern und Flüssigkeiten werden Photonen von ihrer geometrisch vorgegebenen Bahn durch Interaktion mit Teilchen abgelenkt. Diese Lichtanteile erreichen bei der spektralen Messung einer Probe einen Photodetektor nicht mehr und man misst eine Lichtschwächung. Man nennt das die Streuung.

Einerseits spricht man von Streuung, wenn ein Körper relativ groß im Verhältnis zur Wellenlänge des eingestrahlten Lichts ist. Dann erfährt dieses eine Veränderung durch Reflexionen an der Oberfläche, Brechungen in das Körpermedium und es wird um das Streuzentrum gebeugt. Verringert man nun die Dimension des streuenden Teilchens so, dass es gleich groß oder gar kleiner als die Lichtwellenlänge wird, kann

man die drei oben genannten Phänomene, die man aus der Geometrischen Optik kennt, nicht mehr unterscheiden. In gewisser Weise ist das der eigentliche Streuprozess.

Ein anschauliches Beispiel für Streuung lässt sich einfach selbst herstellen. Man fügt einem Glas Wasser einen Tropfen Milch bei. Bestrahlt man nun das Glas von einer Seite mit weißem Licht, kann man in gerader Durchtrittsrichtung eine gelblich-rötliche Färbung erkennen, währenddessen normal zum einfallenden Licht die Strahlen bläulich aufscheinen. Die Milch streut hauptsächlich und absorbiert eher weniger. Es ist auch notwendig, dass die Konzentration der Milch gering ist, damit jedes Photon nur einem einzelnen Streuprozess unterworfen wird, also die mittlere Streuweglänge kleiner als die durchdrungene Schichtdicke bleibt. Das beschriebene „Experiment“ ist ein Beispiel für die Rayleigh-Streuung (siehe unten).

Im Modell des Hertzschen Dipols kann man die Streuung für kleine Partikel so verstehen, dass das von einer durchlaufenden Lichtwelle zur Schwingung angeregte Molekül oder Atom nach den Maxwellschen Gesetzen in alle Raumrichtungen Energie abstrahlt. Weil das eine Abschwächung der einlaufenden Welle bedeutet, wird ihre Intensität in geradliniger Durchlaufrichtung geringer. Je nach Streuwirkung ergibt sich eine winkelabhängige Intensitätsverteilung, die isotrop genannt wird, wenn sie für alle Winkel gleich groß ist. Das ist aber ein Idealfall, der in der Natur höchstens angenähert vorkommt. Verändert eine Streuung auch die Energie bzw. Wellenlänge des einfallenden Lichts spricht man von inelastischer sonst von elastischer Streuung.

Damit die Beobachtung von Streulicht mit der Theorie übereinstimmt, muss man zusätzlich annehmen, dass zwischen den streuenden Teilchen ein genügend großer Abstand existiert und sie außerdem zufällig im Raum verteilt sind. Dann können sich die einzelnen Streuamplituden addieren, ohne dass sie miteinander interferieren. [1]

2.2.1. Extinktion

Bei realen Experimenten treten in der Regel immer Streuung und Absorption gleichzeitig auf und schwächen die eintreffende Lichtintensität. Die Summe von beiden heißt Extinktion. Dafür gilt das Lambert-Beer-Gesetz:

$$I = I_0 e^{-\alpha(\lambda)cx} \tag{2-6}$$

Es beschreibt den Zusammenhang der ursprünglichen Intensität I_0 und der austretenden Intensität I. Diese hängt von der durchstrahlten Schichtdicke und dem materialspezifischen Extinktionskoeffizienten α ab. Der molare Extinktionskoeffizient ε(λ) bezieht sich auf eine bestimmte Konzentration und Schichtdicke.

$$\varepsilon(\lambda) = \alpha(\lambda)\log(e) \tag{2-7}$$

Im Falle der stark überwiegenden Absorption heißt α der Absorptionskoeffizient. Das Lambert-Beer-Gesetzes gilt nur für monochromatisches Licht und eine Probe mit stark verdünnter Lösung, in der die Teilchen homogen verteilt sein müssen. Sonst würde zu viel Licht durch „Konzentrationslöcher" transmittieren. [2].

2.2.2. Streuung

Für die gesamte Streuleistung eines Materials gilt ein dem Lambert-Beer Gesetz analoger Zusammenhang. Für hauptsächlich streuende Proben wird dann der Streukoeffizient S als

$$S = N\sigma \tag{2-8}$$

beschrieben, wobei N die Teilchenzahldichte und σ die Streuquerschnittsfläche ist. Letztere quantifiziert die Fläche, in der ein Photon eine Streuwirkung durch ein Partikel erfährt.
Streumechanismen hängen in erster Linie von ihren Dimensionen ab und man definiert einen Größenparameter a, dem Verhältnis der Größe d eines Partikels zur Wellenlänge λ des Streulichts:

$$a \approx \frac{d}{\lambda} \tag{2-9}$$

Ist a<<1, dann kann man die Theorie der Rayleigh-Streuung anwenden. Mit Geometrischer Optik und einer Kombination aus Reflexion, Brechung und Beugung lassen sich Situationen berechnen, in denen a>>1 ist.

2.2.3. Mie Streuung

Für die elastische Einfachstreuung von Licht an kugelförmigen Teilchen verschiedener Größe gilt allgemein die Theorie von Mie. Sie wurde Anfang des zwanzigsten Jahrhunderts vom deutschen Physiker Mie entwickelt und berücksichtigt die Streuung an einem Partikel auch mit Absorption.

Zur Berechnung der Streuintensitäten verwendet man eine komplizierte Funktion, die vom Streuwinkel Θ, dem Größenparameter a und dem Brechungsindex n des Teilchens abhängt. Ihre Lösung ergibt eine Summe aus vom Streuteilchen auslaufender Wellen, die miteinander interferieren und dadurch eine Gesamtstreuintensität erzeugen. Ein interessantes Ergebnis sei hier erwähnt: Im Gegensatz zur Rayleigh-Streuverteilung, für die Vorwärts- und Rückwärtsstreuung gleich groß sind, ergibt die Mie-Streuung bei größeren Partikeln einen Trend zu Vorwärtsstreuung, wie in Abb. (2-7) gezeigt.

Weil die Mie-Theorie sehr rechenaufwendig ist und aufgrund ihrer Komplexität wegen benützt man allerdings wenn möglich die beiden oben genannten, einfacheren Modelle, die in der umfassenden Mie-Theorie als Grenzfälle hervorgehen. [1], [2]

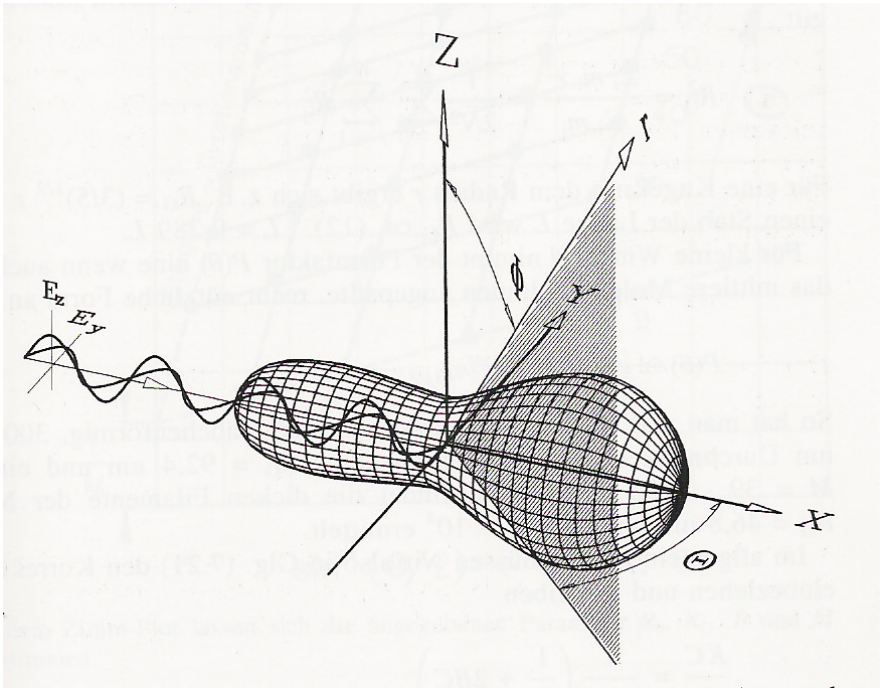

Abb. (2-7) Vorwärtsstreuung bei sphärischen Partikeln. Aus [2].

2.2.4. Rayleigh-Streuung

Die Rayleigh-Streuung beschreibt einen elastischen, einzelnen Streuprozess an einem Partikel. Dazu muss wie schon erwähnt das Teilchen viel kleiner als die Wellenlänge einer eintreffenden Lichtwelle sein. Dieser Fall ist beispielsweise bei Molekülen und sichtbarem Licht gegeben. In einem anschaulichen, klassischen Modell kann man sich die Wechselwirkung der Lichtwelle mit Atomen und Molekülen als Hertzsche Dipole oder mikroskopisch kleine Antennen vorstellen, die vom vorbeiziehenden elektrischen Wechselfeld der monochromatischen EM-Welle zu erzwungenen Schwingungen angeregt werden. Die Theorie ist deshalb für kleine Teilchen gültig, da alle seine Elektronen aus der „Sicht" der Wellenlänge nahe beieinander liegen und daher in Phase schwingen so, als wären sie ein Ladungsträger. Da hier keine Absorption vorhanden sein soll, muss die Photonenfrequenz viel kleiner als die Eigenfrequenz der Elektronen im Molekül sein. Wäre die Frequenz der Welle gleich oder ähnlich der Eigenfrequenz der Dipolschwingung käme es zur Resonanz und damit zur Absorption des Lichtquants. Mit einem sich ändernden Dipolmoment

$$\vec{\mu} = |q| \cdot \vec{r}\,, \tag{2-10}$$

mit Ladungen q und ihrem Abstand r zueinander, führt das zu einer oszillierenden Ladungsverteilung im Teilchen. Das bedeutet, dass es nur bei polaren oder polarisierbaren Molekülen zu Interaktion mit Licht kommt. Für das Verhältnis Streuintensität zu Ursprungsintensität einer polarisierten Welle lautet die berühmte Rayleigh-Gleichung:

$$\frac{I_S}{I_0} = \frac{8\pi^4 a^2}{r^2 \lambda^4} \sin^2 \varphi \tag{2-11}$$

Sie beschreibt das Intensitätsverhältnis der einlaufenden Welle I_0 und gestreuten Welle(n) I_S in Abhängigkeit vom Beobachtungswinkel φ. Die Polarisierbarkeit a hängt von der Art des Moleküls ab und macht eine Aussage über die „Leichtigkeit" mit der es sich zur Schwingung anregen lässt. Dass die Intensität einer

Strahlungsquelle im Raum mit der zweiten Potenz von der Entfernung abnimmt ist bekannt.

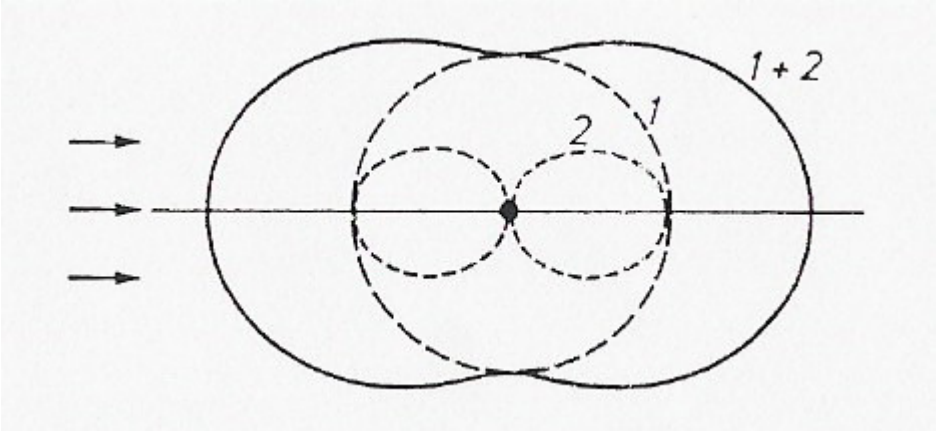

Abb. (2-8) Die Intensitätsverteilung bei der Rayleighstreuung mit unpolarisiertem Licht. Die Pfeile links deuten die Einfallswelle an. Aus [1]

Abb. (2-8) zeigt, dass die winkelabhängige Intensität um die horizontale Achse rotationssymmetrisch ist und Vorwärts- und Rückwärtsstreuung gleich groß sind. [1], [2].
Interessant ist vor allem, dass die Wellenlänge mit der minus-vierten Potenz eingeht. Kurzwelliges Licht wird also wesentlich stärker gestreut als Langwelliges. Das ist auch der Grund für die Tatsache, dass der Himmel blau ist. Beim Durchqueren der Atmosphäre werden die Blauanteile des weißen Sonnenlichts etwa 16mal stärker gestreut als Rotanteile und strahlen diffus in alle Richtungen. Bei einem sehr steilen Einfallswinkel der Sonnenstrahlung, also bei Sonnenauf- und -untergang wird die Atmosphären-Schichtdicke für Photonen größer und blaues Licht wird noch stärker herausgestreut. Das ergibt dann das bekannte Morgen- und Abendrot.

Alle diese Streutheorien beschreiben allerdings nur die Einfachstreuung, also einen einzelnen Streuprozess. Blätter sind aber stark streuend und absorbieren obendrein in einigen Bereichen viel Licht. Wie der Weg eines Lichtstrahls durch so ein stark streuendes Medium verläuft, womöglich noch durch eine große Schichtdicke und dabei Absorption auch berücksichtigt werden soll, ist nicht vorherzusagen. Für solche Proben muss entweder ein Computermodell herangezogen werden, das den Zufall simuliert oder man trifft stark vereinfachende Annahmen, um eine phänomenologische Theorie zu entwickeln, die im Idealfall mit Experimenten

ausreichend übereinstimmende Ergebnisse liefert. Diese Theorie ist die von Kubelka und Munk.

2.3. Geometrische Optik

In der Geometrischen Optik geht man von Licht als Strahlen aus. Auf gedachten Linien breitet sich die Lichtenergie aus, wobei die Bahnen nach geometrischen Regeln zu berechnen sind. Damit lassen sich die Reflexion und die Brechung von Strahlen beschreiben. Bei der Reflexion unterscheidet man zwischen der regulären oder Spiegelreflexion und der diffusen Reflexion.

2.3.1. Reguläre und diffuse Reflexion

Sehr einfach ist das bekannte Gesetz für die reguläre Reflexion. Es sagt aus, dass ein mit dem Einfallswinkel φ auf eine ebene Oberfläche auftreffender Strahl mit einem Ausfallswinkel ψ, der gleich dem Einfallswinkel ist, zurückgeworfen wird. Der reflektierte Strahl liegt in der Ebene, die vom Einfallstrahl und seinem Schnittpunkt mit der Oberfläche entsteht. Die beiden Winkel werden vom Lot, also der Normalen zur Oberfläche gemessen. Das Reflexionsgesetz sagt allerdings nur etwas über den Verlauf der Strahlung aber nichts über ihre Intensitätsveränderung aus.

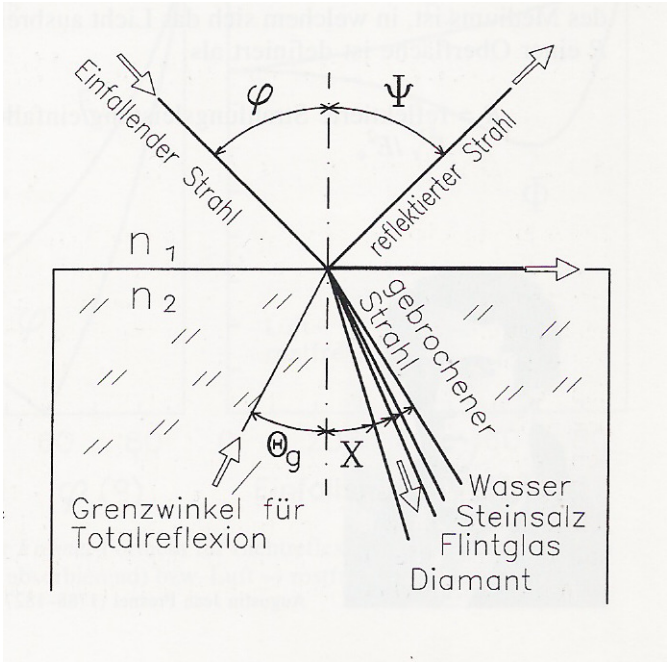

Abb. (2-9) Zur Reflexion und Beugung Aus [2]

Bei realen Körpern ist die Oberfläche allerdings selten eine mathematisch perfekte Ebene. Sie besteht aus vielen kleinen „Bergen“ und „Tälern“, die eine Spiegelwirkung unmöglich machen. Beispiele dafür sind feine Pulver, die menschliche Haut, die Oberfläche von Blättern und diverse „matte“ Oberflächen wie weiße Hauswände. Genau daran hat im 18. Jahrhundert Lambert die Beobachtung gemacht, dass sie gleich hell erscheinen, wenn sie von der Sonne bestrahlt werden, egal von welcher Seite man sie betrachtet. Er meinte, dass sie sich wie selbst leuchtende Körper verhielten, egal aus welchem Winkel das Licht eingestrahlt würde. Das nach ihm benannte Lambertsches Gesetz oder Lambertsches Cosinusgesetz lautet:

$$\frac{dI_r}{df \cdot d\omega} = B\cos\vartheta \tag{2-12}$$

mit dem Faktor B

$$B = \frac{A \cdot I_0}{\pi}\cos\alpha \tag{2-13}$$

In Worten ausgedrückt, bedeutet es, dass die reflektierte Intensität I_r pro Fläche df in einem Raumwinkel $d\omega$ proportional zum Cosinus des Betrachtungswinkels ϑ ist. Im Faktor B stecken die Einfallsintensität I_0, der Einfallswinkel α und Konstante A, die häufig Albedo genannt wird. Die Indikatrix der sich daraus ergebenden richtungsabhängigen Intensitätsverteilung zeigt Abb. (2-10)

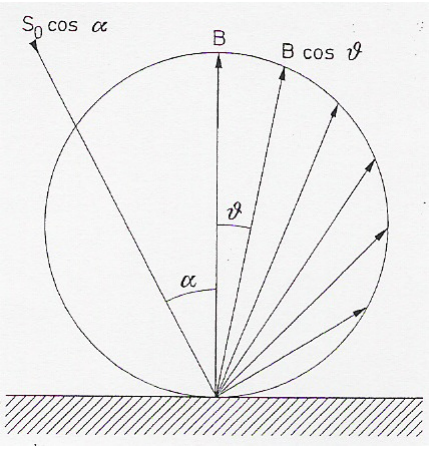

Abb. (2-10) Indikatrix des Lambertstrahlers Aus [1].

Weitere Beispiele für Lambert-Strahler sind weißes Papier, wenn es nicht fluoresziert und Magnesiumoxid-Pulver, das in den Experimenten im Rahmen dieser Arbeit als Weißstandard verwendet wurde.

Als Erklärung für diffuses Reflektieren wird oft argumentiert, dass die unebene Oberfläche aus mikroskopischen Elementarspiegeln besteht und aufgrund der statistisch verteilten Winkel dieser kleinen Flächen einstrahlendes Licht in verschiedenste Winkel abgelenkt wird, egal von wo aus man beleuchtet. Ein Teil der Elementarspiegel bleibt aber so ausgerichtet, dass sie Licht regulär zurückwerfen, was bei matten Oberflächen vor allem bei großen Einfalls- und Ausfallswinkeln als „Glanz“ erkennbar ist. Es ist allerdings im Allgemeinen nicht möglich, die beiden Reflexionsarten getrennt voneinander zu messen. Quantifiziert können die regulären und diffusen Anteile mit folgender Überlegung:

Eine Probe wird wieder mit einer Intensität I_0 bestrahlt. Die messbare Gesamtreflexion besteht dann aus der mit der Intensität $\alpha \cdot I_0$ teils regulär reflektierten und teils diffus reflektierten Strahlung I_{Diff}:

$$R_{Ges} = \frac{I_{diff} + \alpha I_0}{I_0} \tag{2-14}$$

Die nicht direkt messbare diffuse Reflexion lautet

$$R_{Diff} = \frac{I_{Diff}}{(1-\alpha) I_0} \tag{2-15}$$

wodurch sich für die Gesamtreflexion durch Eliminierung von I_{Diff} aus beiden Gleichungen

$$R_{Ges} = R_{Diff}(1-\alpha) + \alpha \tag{2-16}$$

ergibt. Der Faktor α liegt zwischen Null und Eins und verschwindet, wenn es keine Spiegelreflexion gibt, wodurch die gesamte Reflexion rein diffus wäre. [1], [2]

2.3.2. Brechung

Die Brechung von Licht ist ein Phänomen, das beim Durchgang eines Strahls durch die Grenzfläche zweier Medien mit unterschiedlichen Geschwindigkeiten für die Lichtausbreitung auftritt. Dadurch erfährt er eine Richtungsänderung und pflanzt sich im zweiten Medium mit einem Brechungswinkel X fort. Mit dem Gesetz von Snellius lässt sich das quantifizieren:

$$n_1 \sin\varphi = n_2 \sin X \tag{2-17}$$

In der Gleichung bedeuten φ und X den Eintritts- bzw. Brechungswinkel, beide wieder gemessen vom Lot zur Oberfläche, und n_1, n_2 sind die Brechungsindizes im jeweiligen Medium. Kommt ein Strahl aus dem dichteren Medium an die Grenzfläche, dann gibt es einen größten Winkel θ, ab dem der Ausfallswinkel 90° wäre und die gesamte Energie geht in den reflektierten Strahl. Gl. () wird dann zu

$$\sin\theta = \frac{n_1}{n_2} \tag{2-18}$$

Das ist die Totalreflexion, die unter anderem technisch für Datenübertragung durch Licht z.B. in Glasfaserkabeln und in den Experimenten dieser Arbeit als Verbindung Objektiv – Spektrometer ausgenützt wird. Die Brechungsindizes berechnen sich mit dem Umgebungsmedium Luft als das Verhältnis der Medium-Lichtgeschwindigkeit zur Vakuumlichtgeschwindigkeit c_0, die hier aufgrund der minimalen Unterschiede mit der Luft-Lichtgeschwindigkeit gleichgesetzt wurde :

$$n = \frac{c_0}{c_m} \tag{2-19}$$

Sie nehmen Werte ab eins (im Vakuum) und darüber an. Für Wasser ist bei einer Temperatur von 20℃ und der Wellenlänge λ=589nm n=1,33. Es existiert also eine Temperatur- und Wellenlängenabhängigkeit des Brechungsindex, weshalb man den Wert üblicherweise für die genannten Bedingungen angibt. 589nm entspricht der Emissionslinie einer Natriumdampflampe und eignet sich deshalb, weil es etwa in der

Mitte des sichtbaren Spektrums liegt. Die Abhängigkeit des Brechungsindex´ n von der Farbe des Lichts, die ja nichts anderes ist, als die physiologisch-subjektive Interpretation einer Wellenlänge, nennt man Dispersion. Durch sie lässt sich weißes Licht mittels Prismen in sein Spektrum aufspalten. [10]
Ebenfalls aufgrund der Brechung können Linsen Licht ablenken und im Falle bikonvexer, dünner Sammellinsen auch fokussieren. Dabei gilt die bekannte Beziehung für die Brennweite f, die Gegenstandsweite g und die Bildweite b

$$\frac{1}{f} = \frac{1}{b} + \frac{1}{g}. \tag{2-20}$$

Umgekehrt kann man auch kollimiertes Licht, das aus parallelen Strahlenbündeln besteht erzeugen, wenn eine fast punktförmige Lichtquelle im Brennpunkt der Linse steht. [2], [10]

2.3.3. Fresnel Gleichungen

Der Vollständigkeit halber seien hier noch die Fresnelgleichungen erwähnt. Durch sie lassen sich die Abhängigkeit der Reflexionsintensitäten für verschieden polarisiert einfallende Wellen berechnen, wie Abb. zeigt. Die beiden Einfallstrahlen sind parallel bzw. normal zur Einfallsebene polarisiert. Im Fall eines transparenten, nicht absorbierenden Mediums wird der parallel polarisierte Strahl bei einem Winkel φ_p, dem Brewsterwinkel, überhaupt nicht mehr reflektiert. Man kann so linear polarisiertes Licht herstellen. Für ein nichtabsorbierendes Medium in Luft ergibt sich die (reguläre) Reflexionsfähigkeit zu

$$R = \left(\frac{n-1}{n+1}\right)^2, \tag{2-21}$$

wenn senkrecht auf die Probe eingestrahlt wird. Für das Beispiel Fensterglas, das einen Brechungsindex von etwa n=1,5 hat, wird R=0,04, daher werden 4% reflektiert. Diamant hat mit einem höheren Brechungsindex von n=2,4 ein Reflexionsvermögen von 17%. Reflexionen sind also nicht zu vermeiden, was in der Optik störend ist.

Zumindest ist es möglich, z.B. Linsen für einen gewissen Wellenlängenbereich durch dünne Schichten zu entspiegeln,

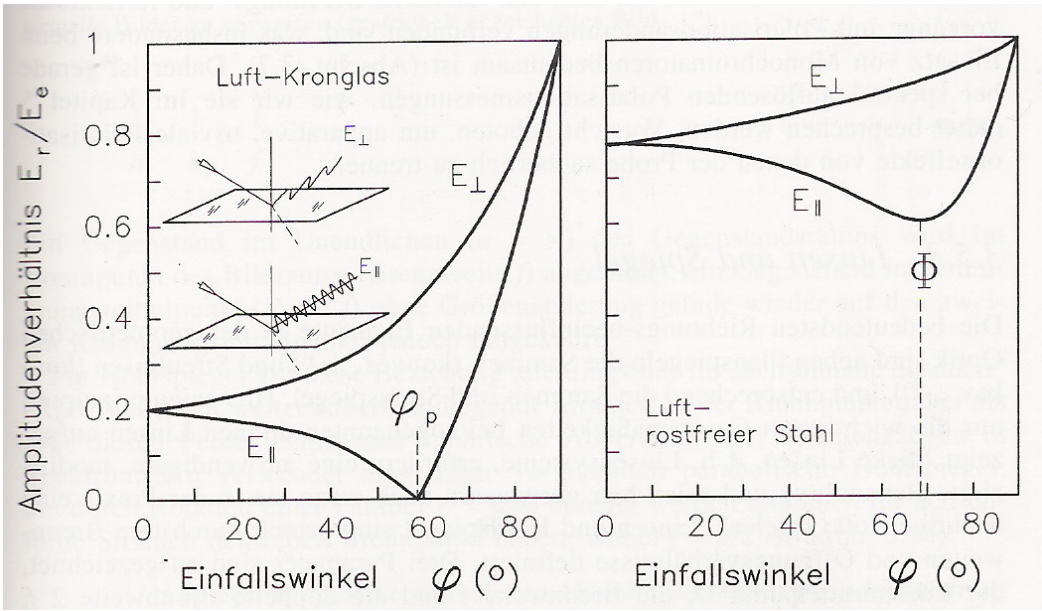

Abb. (2-11) Amplitudenverhältnis von Einfalls- und Reflexionsstrahl normal aufeinander polarisierter Strahlen. Links für ein transparentes Material (Kronglas), rechts für stark absorbierenden Stahl. Aus [2]

Wenn allerdings eine Probe stark absorbiert, muss man das berücksichtigen indem man den komplexen Brechungsindex m einführt, der im Imaginärteil den Extinktionskoeffizienten ε und die Wellenlänge λ enthält. Damit verändert sich die Reflexionsfähigkeit R zu

$$R = \frac{(n-1)+\left(\frac{\varepsilon\lambda}{4\pi}\right)^2}{(n+1)+\left(\frac{\varepsilon\lambda}{4\pi}\right)^2} \qquad (2\text{-}22)$$

Wie man in Abb. (2-11) auch sieht, ist dann keine vollständige Polarisierung des reflektierten Strahls mehr gegeben. Für die parallel polarisierte Komponente des Reflexionsstrahls bleibt aber ein Haupteinfallswinkel Φ unter dem er minimale Intensität erreicht. Das ist nicht nur für das Beispiel Stahl in der Abb. (2-11) gegeben, sondern gilt auch für biologische Untersuchungsobjekte, wenn sie stark absorbieren. [2], [10]

3. Die Kubelka-Munk Theorie

Wie oben schon gesagt wurde, gibt es nur vollständige Theorien für die Einfachstreuung. Selbst diese kann sehr komplizierte Mathematik erfordern und daher wundert es nicht, dass chaotische Streuprozesse von unüberschaubar vielen Photonen und Streuzentren in einer zusätzlich absorbierenden Probe von keinem Modell allgemein beschrieben werden kann. In so einem Fall hilft man sich mit Vereinfachungen. Daher suchte man nach einem Modell, das mit dem Experiment übereinstimmende Werte lieferte. In der ersten Hälfte des zwanzigsten Jahrhunderts gab es verschiedene Ansätze und Theorien, die versuchten, dem Problem habhaft zu werden. Eine allgemeine und weithin akzeptierte war und ist die Theorie von Kubelka und Munk (Z.Tech.Physik, 12, 593, 1931), die auch als „Zweikonstanten-Theorie“ der diffusen Reflexion und Transmission optisch trüber Proben bezeichnet wird. Sie ist in ihrer Bedeutung für die Reflexionsspektroskopie mit dem Lambert-Beer-Gesetz für klare Substanzen in der Absorptionsspektroskopie vergleichbar [2]. Die folgende Ableitung der exponentiellen Lösung entspricht der Darstellung von Kortüm [1].

Sie geht von einer planparallelen, in y-z Richtung unendlich ausgedehnten Probe der Dicke d aus, von der Strahlung sowohl gestreut als auch absorbiert wird. Zur Vereinfachung nimmt man an, dass die Streuverteilung im Inneren der Probe isotrop ist und es gelte das Lambertsche Cosinusgesetz, was auch bedeutet, dass es nur diffuse Reflexionsanteile gibt. Die streuenden Teilchen sollen im Medium homogen verteilt und viel kleiner als die Schichtdicke d sein.

Nun wird die Probe von –x Richtung aus mit monochromatischem, diffusen Licht der Strahlungsleistung I_0 bestrahlt (die Vorzeichen dienen zur Vereinfachung der späteren Rechnung). Erfasst wird das Phänomen der Mehrfachstreuung so, indem es nur zwei Ausbreitungsrichtungen für Strahlen gibt: Einen Strahl I in –x Richtung und einen Strahl J in +x Richtung, der aus gestreuten Anteilen von I (und J) hervorgeht.

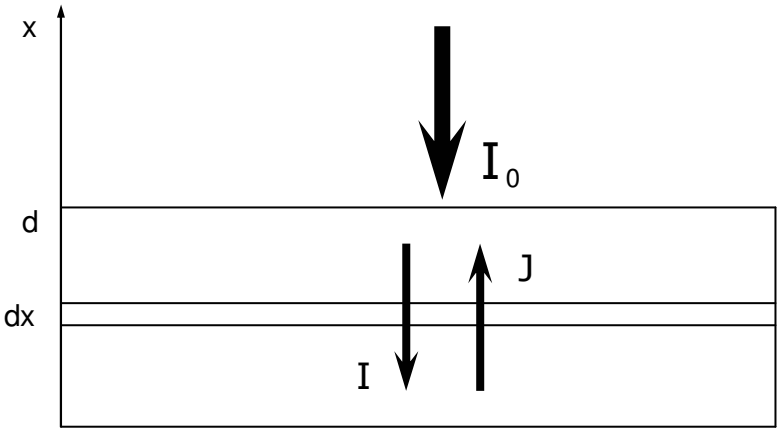

Abb. (3-1) Der Strahlungsverlauf im Kubelka-Munk-Modell

Eine zur Oberfläche parallele, dünne Schichte dx innerhalb der Probe wird aber eigentlich aus allen möglichen Raumrichtungen durchstrahlt, weil das Streulicht ja jeden beliebigen Streuwinkel annimmt. Dies kann man berücksichtigen, indem die *mittlere Weglänge* $\overline{d\xi}$ der Strahlen durch die Schicht für alle Winkel berechnet wird. Ist die Weglänge für einen Winkel φ

$$d\xi = \frac{dx}{\cos\varphi} \tag{3-1}$$

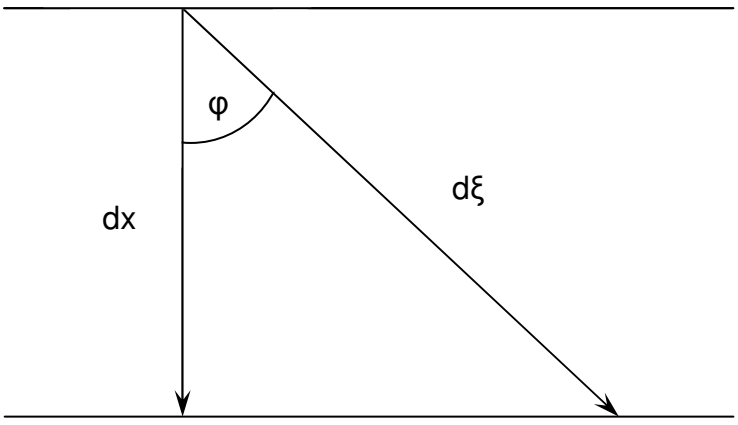

Abb.(3-2) Zur mittleren Weglänge in einer Schicht dx

und die relative, winkelabhängige Intensität

$$\frac{I_\varphi}{I_0} = \frac{1}{I_0}\frac{\partial I}{\partial \varphi} d\varphi, \tag{3-2}$$

dann berechnet sich der Mittelwert der Strahlungsweglänge in einen Halbraum der Schicht dx als Summe aller Weglängen multipliziert mit der Intensität in diese Richtung:

$$\overline{d\xi} = dx \int_0^{\pi/2} \frac{1}{I_0 \cdot \cos\varphi}\frac{\partial I}{\partial \varphi} d\varphi . \tag{3-3}$$

Um das Integral zu lösen, muss man also noch $\frac{\partial I}{\partial \varphi}$ kennen. Folgende Überlegung führt zu diesem Ausdruck: Von einem infinitesimalen Flächenelement df wird Strahlungsenergie auf ein anderes Flächenelement df´, das auf einem Halbkreis mit dem Radius R und dem Mittelpunkt am Ort von df liegt, unter einem Winkel φ emittiert. Der Anteil der Strahlung, der auf df´ fällt, beträgt

$$dI = \frac{B \cdot df \cdot \cos\varphi \cdot df'}{R^2}, \tag{3-4}$$

wobei B die Strahlungsdichte ist. Dies folgt aus dem Lambertschen Cosinusgesetz, das ja besagt, dass die Bestrahlstärke auf eine Fläche von einem Lambertstrahler (hier $B \cdot df$) unter einem Winkel φ proportional zu cos φ ist. Denkt man sich df' als eine Kreiszone auf der Kugel, so ergibt sich

$$df' = 2\pi dr = 2\pi R \sin\varphi \cdot R \cdot d\varphi \tag{3-5}$$

und eingesetzt in (3-4)

$$dI = B \cdot df \cdot \pi \cdot 2\sin\varphi\cos\varphi \cdot d\varphi = B \cdot df \cdot \pi \sin(2\varphi) \cdot d\varphi . \tag{3-6}$$

Integriert man Gl. (3-6) über den Halbraum, ergibt sich die Gesamtintensität:

$$I_0 = \int_0^{\pi/2} B \cdot df \cdot \pi \sin(2\varphi) d\varphi = B \cdot df \cdot \pi \tag{3-7}$$

Damit bekommt man für Gl. (3-3) den gewünschten Ausdruck:

$$\frac{dI}{d\varphi} = I_0 \cdot 2 \sin\varphi \cos\varphi \tag{3-8}$$

und erhält für die mittlere Weglänge

$$\overline{d\xi} = 2dx \int_0^{\pi/2} \sin\varphi \cdot d\varphi = 2dx\,. \tag{3-9}$$

Man sieht hier, dass $\overline{d\xi}$ in einem isotrop streuenden Medium zweimal so groß wie die Schichtdicke dx wird. Oder anders ausgedrückt heißt das, dass isotrop gestreutes Licht einen doppelt so langen Weg zurücklegt als normal durch die Probe Transmittierendes. Nach Gl. (3-1) hätten Strahlen, die mit 60° Einfallswinkel auf die Probe eintreffen, also für die cosφ=1/2 wird, und sich innerhalb des Mediums geradlinig ausbreiten, den gleichen Weg zurückzulegen, wie die Streustrahlen. Für diese Annahme ist es also äquivalent, ob eine Probe diffus oder mit parallelem Licht unter 60° bestrahlt wird.

Für die Beschreibung der Änderung der Intensitäten I und J innerhalb der Probe definiert man einen *Absorptionskoeffizienten* k und einen *Streukoeffizienten* s. Beim Durchgang durch die Schicht der Dicke dx verringert sich I durch einen Absorptionsanteil $-kI2dx$ und einen Streuanteil $-sI2dx$, der nach rückwärts zu J addiert wird; der nach +x laufende Strahlungsfluss J erleidet ebenfalls Absorption $-kJ2dx$ und Streuung $-sJ2dx$, wobei dieser wiederum I verstärkt:

$$-dI = -kI2dx - sI2dx + sJ2dx \tag{3-10}$$

$$dJ = -kJ2dx - sJ2dx + sI2dx\,. \tag{3-11}$$

Aufgrund der Laufrichtung von I und J haben die Änderungen dI und dJ umgekehrte Vorzeichen. Fasst man nun 2k zu K und 2s zu S zusammen, erhält man die gekoppelten Differenzialgleichungen, die für dieses Modell die Absorptions- und Streuvorgänge beschreiben:

$$-\frac{dI}{dx} = -(K+S)I + SJ\,, \tag{3-12}$$

$$\frac{dJ}{dx} = -(K+S)J + SI\,. \tag{3-13}$$

Vereinfacht man mit $\frac{S+K}{S} = 1+\frac{K}{S} = a$, lassen sich die oberen Gleichungen schreiben als

$$-\frac{dI}{Sdx} = -aI + J\,, \tag{3-14}$$

$$\frac{dJ}{Sdx} = -aJ + I \tag{3-15}$$

Jetzt dividiert man Gl. (3-14) durch I und Gl. (3-15) durch J und addiert sie miteinander

$$\frac{1}{Sdx}\left(-\frac{dI}{I}+\frac{dJ}{J}\right) = \frac{1}{Sdx}\left(\frac{-dI\cdot J + dJ\cdot I}{I\cdot J}\right) = -2a + \frac{J}{I} + \frac{I}{J}\,, \tag{3-16}$$

wodurch man mit $r = \frac{J}{I}$ und $dr = \frac{dJ\cdot I - dI\cdot J}{I^2}$

$$\frac{dr}{Sdx} = r^2 - 2ar + 1 \tag{3-17}$$

oder

$$\int_{R_g}^{R} \frac{dr}{r^2 - 2a + 1} = S\int_0^d dx \tag{3-18}$$

erhält, wobei über die ganze Schichtdicke von 0 bis d integriert wird. Die Integralgrenzen auf der linken Seite von (3-18) bedeuten die Reflexion R_g=J/I des Untergrundes bei x=0 und die Reflexion R=J/I der Probe bei x=d. Das Integral löst man mittels der Partialbruchzerlegung

$$\frac{1}{r^2-2ar+1}=\frac{A}{r-a-\sqrt{a^2-1}}+\frac{B}{r-a+\sqrt{a^2-1}} \tag{3-19}$$

und durch Koeffizientenvergleich von

$$A\left(r-a+\sqrt{a^2-1}\right)+B\left(r-a-\sqrt{a^2-1}\right)=1, \tag{3-20}$$

wodurch sich mit A+B=0 ergibt, dass

$$A=\frac{1}{2\sqrt{a^2-1}}, B=\frac{-1}{2\sqrt{a^2-1}}. \tag{3-21}$$

Damit wird (3-18) zu

$$\int_{R_g}^{R}\left(\frac{1}{r-a-\sqrt{a^2-1}}-\frac{1}{r-a+\sqrt{a^2-1}}\right)dr=2\sqrt{a^2-1}\cdot S\int_0^d dx, \tag{3-22}$$

was integriert

$$\ln\frac{\left(R-a-\sqrt{a^2-1}\right)\left(R_g-a+\sqrt{a^2-1}\right)}{\left(R_g-a-\sqrt{a^2-1}\right)\left(R-a+\sqrt{a^2-1}\right)}=2Sd\sqrt{a^2-1} \tag{3-23}$$

ergibt. Denkt man sich nun eine unendlich dicke Probenschicht, dann wird natürlich die Reflexion R_g des Untergrundes verschwinden und der Nenner in (3-23) wird Null, weil die rechte Seite mit d unendlich wird:

$$\left(-a-\sqrt{a^2-1}\right)\left(R_\infty-a+\sqrt{a^2-1}\right)=0. \tag{3-24}$$

Nach R_∞, der so genannten diffusen Reflexion einer Probe, aufgelöst, erhält man

$$R_\infty = \frac{1}{a+\sqrt{a^2-1}} = a-\sqrt{a^2-1} = 1+\frac{K}{S}-\sqrt{\frac{K^2}{S^2}+2\frac{K}{S}} = \frac{S}{S+K+\sqrt{K(K+2S)}} \quad (3\text{-}25)$$

Man sieht, dass die *diffuse Reflexion* nur vom Verhältnis K/S abhängt und daher nicht von den Absolutwerten der Absorptions- und Streukoeffizienten. Sie ist eine leicht messbare Größe, z.B. indem man die Reflexion mehrerer hintereinander gelegter Lagen Papier oder Pflanzenblätter bzw. einer genügend dicken Farbschicht misst. Und es zeigt sich, wie schwierig oder gar unmöglich es ist, einen ideal weißen Stoff herzustellen. Es wird angenommen, dass der Streukoeffizient einer Russ-Lösemittel-Mischung konstant ist, weil er bei nicht allzu großen Konzentrationen hauptsächlich vom Lösemittel und nicht von den Verunreinigungen bestimmt wird. Dann ist K/S der Russkonzentration proportional. Wird nun zu einer weißen Anstrichfarbe ansteigend etwas Russ dazugemischt und zeichnet dann R_∞ als Funktion von K/S auf, so fällt das Reflexionsvermögen schon bei sehr kleinen Zusätzen stark ab. Die diffuse Reflexion reagiert, salopp gesagt, bei reinen Stoffen sehr empfindlich auf die Anwesenheit eines oder mehrerer absorbierender Beimischungen.

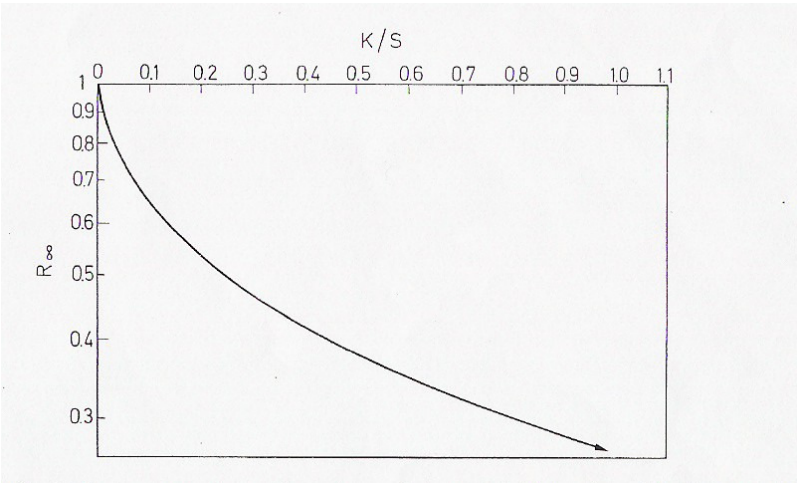

Abb.(3-3) Die Abhängigkeit der diffusen Reflexion bei Zusatz von absorbierenden Stoffen zu einem Weißpigment. Aus [1]

Einen bei spektroskopischen Reflexionsmessungen gewünschten idealen, weißen Reflektor mit $R_\infty = 1$ als Standard gibt es also leider nicht. Drückt man durch Umformen der Gl. (3-25) K/S explizit als Funktion von R_∞ aus, erhält man die „Kubelka-Munk-Funktion“

$$\frac{K}{S} = \frac{(1-R_\infty)^2}{2R_\infty} = F(R_\infty)\,. \tag{3-26}$$

Wie der Zusammenhang von der diffusen Reflexion einer unendlich dicken Probe und ihrer Kubelka-Munk-Funktion aussieht, zeigt Abb. (3-4)In ihrer Bedeutung zueinander sind sie analog der Extinktion und der Transmission aus der Absorptionsspektroskopie.

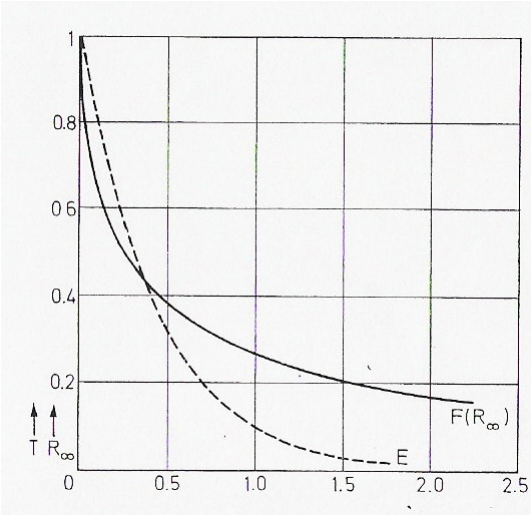

Abb. (3-4) Die Kubelka-Munk-Funktion gegen R_∞ im Vergleich zur Extinktion gegen die Transmission aufgetragen. Aus [1]

Aus (3-25) ergeben sich mit der Abkürzung $b = \sqrt{a^2 - 1}$ und

$$\begin{aligned} a &= \frac{1}{2}\left(\frac{1}{R_\infty} + R_\infty\right) \\ b &= \frac{1}{2}\left(\frac{1}{R_\infty} - R_\infty\right) \end{aligned} \tag{3-27}$$

in Gleichung (3-23) eingesetzt

$$\ln\frac{(R-1/R_\infty)(R_g-R_\infty)}{(R_g-1/R_\infty)(R-R_\infty)}=Sd(1/R_\infty-R_\infty) \tag{3-28}$$

und mit weiterem Umformen ein Ausdruck für die diffuse Reflexion R einer endlich dicken Probe:

$$R=\frac{(1/R_\infty)(R_g-R_\infty)-R_\infty(R_g-1/R_\infty)\exp[Sd(1/R_\infty-R_\infty)]}{(R_g-R_\infty)-(R_g-1/R_\infty)\exp[Sd(1/R_\infty-R_\infty)]} \tag{3-29}$$

Die Variablen dieser Funktion sind also die Reflexion des Untergrundes R_g, das *Streuvermögen* Sd und die diffuse Reflexion einer gleichartigen aber unendlich dicken Schicht.
Setzt man $R_g=0$ und nennt dann $R=R_0$, dann wird (3-28) zu

$$R_0=\frac{\exp[Sd(1/R_\infty-R_\infty)]-1}{(1/R_\infty)\exp[Sd(1/R_\infty-R_\infty)]-R_\infty} \tag{3-30}$$

verkürzt. $R_g=0$ beschreibt einen ideal schwarzen, nicht reflektierenden Probenhintergrund, der nicht nur ein Material sondern auch einfach der leere Raum sein kann, in den die Strahlung entweicht und die Probe daher als freitragend bezeichnet wird. Mit dieser Bedingung wird (3-23) zu

$$\ln\frac{1-R_0R_\infty}{1-R_0/R_\infty}=Sd(1/R_\infty-R_\infty) \tag{3-31}$$

woraus der Streukoeffizient S explizit ausgedrückt werden kann:

$$S=\frac{2{,}303}{d}\frac{R_\infty}{1-R_\infty^2}\log\frac{R_\infty(1-R_0R_\infty)}{R_\infty-R_0} \tag{3-32}$$

Schließlich bekommt man damit und Gleichung (3-25) auch den Absorptionskoeffizienten K:

$$K = \frac{2{,}303}{2d}\frac{1-R_\infty}{1+R_\infty}\log\frac{R_\infty(1-R_0R_\infty)}{R_\infty - R_0}. \tag{3-33}$$

Als Grenzfälle der Kubelka-Munk-Theorie kann man den Absorptions- oder den Streukoeffizienten Null setzen. Für z.B. ein nichtstreuendes Material ist daher S=0 und die Differentialgleichungen (3-10) und (3-11) verkürzen sich zu

$$-\frac{dI}{dx} = -kI \tag{3-34}$$

und

$$\frac{dJ}{dx} = -kJ \tag{3-35}$$

was durch integrieren für die Reflexion

$$R = R_g e^{-2kd} \tag{3-36}$$

Ergibt. Mit einem ideal schwarzen, nicht reflektierenden Hintergrund, bei dem $R_g = 0$ ist, verschwindet auch die Reflexion R. Das heißt, dass ohne Spiegelreflexion an der Oberfläche eines Körpers und ohne Streuung im Innern des Mediums keine Strahlungsleistung zurückgeworfen wird, wenn zusätzlich auch kein reflektierender Hintergrund existiert. Ebenso würde mit gegen unendlich anwachsender Schichtdicke d die unendliche diffuse Reflexion $R_\infty = 0$.

Die Kubelka-Munk-Theorie ist für diffuse Einstrahlung aus dem gesamten Halbraum vor der Probe und für diffuse Reflexionsmessung ebenfalls über den Halbraum abgeleitet. Daher ist es messtechnisch prinzipiell gar nicht möglich, diese Vorgaben zu erfüllen. Mit einer Photometerkugel lässt sich zwar nahezu ideal diffuse Bestrahlung realisieren, diese verhindert dann aber die Messung der Reflexion für den ganzen Halbraum. Kortüm (S. 175) berichtet allerdings, dass selbst wenn man gerichtet einstrahlt und auch misst, trotzdem brauchbare Resultate erreicht werden können. Unter anderem bewirken stark streuende Materialien trotz Bestrahlung mit

kollimiertem Licht schon nach einigen Streuvorgängen im Inneren der Probe eine isotrope Streuverteilung.

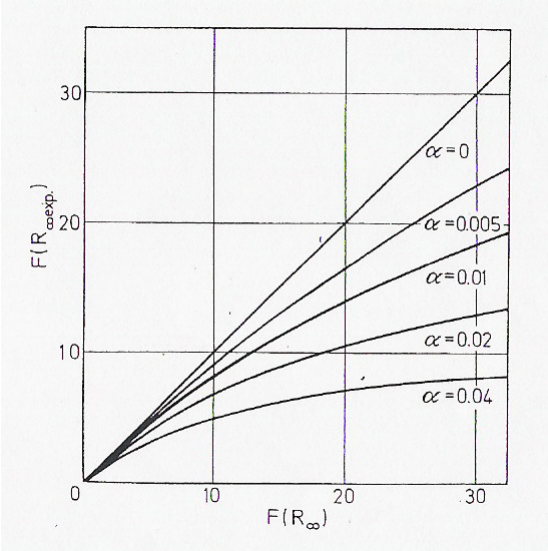

Abb. (3-5) Kubelka-Munk-Funktion und reguläre Reflexion. Aus [1]

Die Ursache für unterschiedliche Werte der Reflexion bei gerichteter zu diffuser Einstrahlung kommt zum Teil von minimalen Schatten auf der Probenoberfläche zustande, wenn diese nicht glatt genug ist. Außerdem begünstigt eine gerichtete Bestrahlung die Möglichkeit von Spiegelreflexionen auf der Probenoberfläche. Diese sind in der Ableitung der Kubelka-Munk-Theorie nicht mit berücksichtigt. Die Abb. (3-5) zeigt den Einfluss von Spiegelreflexionsanteilen auf die Kubelka-Munk-Funktion $F(R_\infty)$ durch Auftragung von berechneten zu gemessenen Werten.

Zusammenfassend ist zu sagen, dass es also möglich ist, sich durch Messung der Reflexion einer „unendlich“ bzw. genügend dicken Probenschicht und einer einzelnen Schicht mit schwarzem Hintergrund den Streu- und den Absorptionskoeffizienten zu berechnen. Sie findet auch heute noch Anwendung z.B. in der Lackindustrie, wo man ja deckende Schichten mit geringstem Aufwand an Farbpigmenten erzeugen möchte. Und natürlich wird sie in der wissenschaftlichen Untersuchung biologischer Proben wie Pflanzenblättern eingesetzt. [2], [12]

4. Das Blatt

Um die optischen Eigenschaften von Blättern zu verstehen, ist es sinnvoll, gewisse Grundzüge ihres prinzipiellen Aufbaues zu kennen, der von höchst unterschiedlichen Ursachen bestimmt wird. Dazu gehören unter anderem auch biochemische und metabolische Notwendigkeiten, evolutionäre Entwicklungsprozesse und Zufälle, inter- und intraspezielle Konkurrenz, Fressfeinde, Klimafaktoren sowie optische Umweltbedingungen. Letztere betreffen die Hauptfunktion eines Blattes: Das Auffangen und Absorbieren von Lichtenergie, die von verschiedenen Pigmenten in mehreren Schritten zu Photosynthese-Reaktionszentren geleitet und in der so genannten Lichtreaktion in chemische Energie transformiert wird. In als Dunkelreaktion zusammengefassten Prozessen wird diese Energie zur Biosynthese komplexer Moleküle wie z.B. Kohlenhydraten, Fett- und Aminosäuren verwendet. Diese können dann aus dem Blatt in andere Pflanzenteile transportiert werden. Auch zu dieser Aufgabe leisten die Blätter ihren Beitrag: Aufgrund der normalerweise nicht mit Wasser gesättigten Atmosphäre und des dadurch entstehenden Dampfdruckgefälles verlieren die Blattzellen von Landpflanzen ständig Wasserdampf, was zu einem Sog in den Wasserleitungsbahnen des Xylems führt. Um die beiden Funktionen der Assimilation und des Transportes von Licht und Materie optimal erfüllen zu können, hat sich bei den meisten Pflanzenblättern ein grundsätzliches „Design“ durchgesetzt.

4.1. Die Pflanzenzelle

Zellen sind die Bausteine, aus denen Pflanzen zusammengesetzt sind. Es gibt naturgemäß viele verschiedene Typen, die sich auch in ihrer Größe unterscheiden. Die Schwankungsbreite reicht von 1µm bei einigen Bakterien bis zu einem halben Meter bei manchen Faserzellen. Im Schnitt allerdings sind sie 20-200 µm im Durchmesser. Das entspricht einer Wellenlänge von infrarotem Licht, das an Zellen daher nach der Theorie von Mie gestreut wird. Bei Licht im visuellen Bereich muss man dagegen schon von Reflexion, Brechung und Beugung sprechen. Die Zelle selbst besteht aus einer zellulosehaltigen Zellwand, die im Gegensatz zur äußeren

Membran bei tierischen Zellen relativ formstabil und fest ist. Das Innere ist von verschiedenen Organellen, die in einer wässrigen Lösung, dem Zytoplasma oder Zytosol, liegen, erfüllt. Die für spektroskopische Untersuchungen interessantesten Organellen sind die Plastiden. Es gibt sie in mehreren Formen, die sich aus Proplastiden differenzieren und etwa 1-1,5 µm groß sind. Chromoplasten beinhalten Chromophore, also Farbstoffe, wie Carotinoide (z.B. Beta-Carotin) und Xantophylle, die gelb, orange oder rot sind. Diese Stoffe sind es, die Gemüse wie Paprika, Paradeiser und Karotten oder auch Blüten in ihrer charakteristischen Farbe erscheinen lassen.
Die bekanntesten Plastiden sind sicher die Chloroplasten, die definitionsgemäß Chlorophylle aber auch andere Chromophore wie die Carotinoide enthalten. In ihnen findet die Photosynthese statt, bei der mithilfe von Sonnenenergie Zucker aus Kohlendioxid und Wasser entsteht. Sie sind linsenförmig, 3 bis 10µm groß und können sich in eine optimale Lage für die Lichtabsorption drehen. In ihrem Inneren befinden sich die Thylakoidmembranen, die übereinander geschichtet eine verhältnismäßig große Oberfläche besitzen. Wie die meisten Zellmembranen sind auch die Thylakoidmembranen aus Lipiden aufgebaut, in denen verschiedene Moleküle eingelagert sind, so hier Pigmente wie das Chlorophyll. Die meisten Chlorophyllmoleküle haben aber die Funktion von Antennen in Lichtsammelkomplexen (engl. Light harvesting complexes, LHC), wo sich auch Carotinoide befinden und damit einen Teil der „Grünlücke“ in der Absorption des Cholorphylls abdecken. Die absorbierten Photonen werden von Molekül zu Molekül als „Excitonen“, also elektronischen Anregungszuständen, zu Photosynthese-Reaktionszentren geleitet, in denen die Lichtenergie schließlich zu einer Elektronentransportkette führt. Diese bildet ein H^+-Potential, das in einer Kaskade von chemischen Reaktionen zur Bildung diverser Biomoleküle verwendet wird.

4.2. Die Anatomie eines Pflanzenblattes

Der allgemeine Aufbau eines bifazialen Laubblattes besteht aus einer Deckschicht genannt Epidermis, und dem inneren Blattgewebe, dem Mesophyll, das sich in das Palisadenparenchym und das Schwammparenchym gliedert. Bifazial bedeutet, dass das Blatt asymmetrisch aufgebaut ist, also eine unterschiedliche obere und untere

Fläche besitzt. Auf der oberen Blattfläche schützt die Epidermis das innere Blattgewebe. Sie ist meist nur eine Zelllage dick und von einer dünnen Wachsschicht, der Cuticula, überzogen. Hier befinden sich keine Chloroplasten und sehr wenige im sichtbaren Bereich absorbierende Farbstoffe, wodurch die Epidermis also für photosynthetisch aktive Strahlung (photosynthetically active radiation, PAR) transparent wird. Einzig in den Schließzellen der Spaltöffnungen, die dem Gasaustausch, im Speziellen dem Wasserhaushalt dienen, befinden sich Chloroplasten. Allerdings wird je nach Pflanzenart ein Teil der Strahlung im UV-A und UV-B Bereich von der Cuticula und durch Flavonoide, das sind wasserlösliche Pflanzenfarbstoffe, reflektiert bzw. absorbiert. Im Jahr 1914 stellte der deutsche Botaniker Haberlandt die Vermutung auf, dass die konvex gekrümmten Epidermiszellwände als Linsen fungieren, die Licht auf Chloroplasten unterer Zellen fokussieren, was später in Computersimulationen bestätigt wurde. Dadurch erhöht sich z.B. der Photonenfluss in Chloroplasten von Blättern am schattigen Boden von Regenwäldern um das Zehnfache.

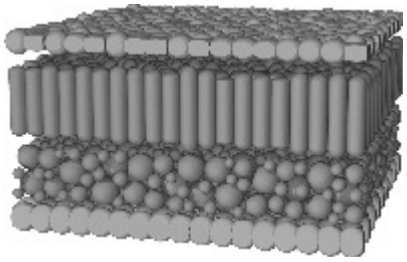

Abb. (4-1) Schematischer Blattaufbau im Querschnitt: Oben und unten jeweils eine Epidermisschicht. Auf der oberen Seite die zylindrischen Palisadenparenchymzellen, darunter die locker angeordneten Schwammparenchymzellen. Aus [13]

Die nächste Zone bezeichnet man als Palisadenparenchym. Es ist eine Lage länglich-zylindrischer, normal zur Oberfläche ausgerichteter Zellen, die sehr dicht nebeneinander aufgereiht sind. Sie sind es, die aufgrund ihres hohen Chlorophyllgehaltes den Grossteil der Lichtenergie im Blatt absorbieren, die Photosyntheserate ist hier am höchsten. Das Palisadenparenchym ist bei so genannten Sonnenblättern, die also dem direkten Sonnenlicht ausgeliefert sind, mehrschichtig und kleinzellig, während es bei Schattenblättern in tiefer liegenden, dunkleren Vegetationszonen einschichtig angelegt ist und aus größeren Zellen besteht.

Daran angrenzend befindet sich das Schwammparenchym, welches aus locker aneinander liegenden Zellen mit großen luftgefüllten Zwischenräumen besteht. Diese dienen dem Gasaustausch (v.a. Sauerstoff, Kohlendioxyd und Wasserdampf) des Blattes mit seiner Umgebung. Die Zellen sind hier weniger reich an Chlorophyll dafür wird sichtbares und infrarotes Licht im Schwammparenchym durch die große Anzahl an Übergängen Luft-Zellwand mehrfach gestreut. Es wurde gezeigt, dass die zylindrischen Palisadenparenchym-Zellen viel effizienter kollimiertes (paralleles) Licht auf Chloroplasten bündeln können, als es die Schwammparenchym-Zellen vermögen. [7], [13]

4.3. Die optischen Eigenschaften von Pflanzenblättern

4.3.1. Computersimulationen des Photonentransportes

Computersimulationen haben den Vorteil, dass man schnell überprüfen kann, ob bisherige Theorien ausreichen, die Eigenschaften eines komplexen Objektes zu erklären. In einer Arbeit von Ustin, Jacquemoud und Govaerts [13] wurde ein Computermodell für den Photonentransport in Pflanzenblättern und seine Auswirkungen auf die Photosynthese erstellt und ausgewertet. Es ist das erste 3-dimensionale Modell für diese Anwendung. Frühere Modelle nahmen stärkere Vereinfachungen in Kauf, wie zum Beispiel die Untersuchung eines nur 2-dimensionalen Blattquerschnitts, in dem kreisförmige Zonen die Zellen repräsentierten, die in einem Medium eines anderen Brechungsindex´ eingebettet waren.

Für diese Arbeiten wurde ein ray-tracing-Programm verwendet, das pro Experiment 10 Millionen Strahlen simulierte, die in das virtuelle Blatt eindringen, absorbiert werden oder wieder daraus entkommen konnten. Für die Absorptionswahrscheinlichkeit eines Strahls verwendete man das Lambert-Beer-Gesetz und für Brechungen und Reflexionen die Fresnelgleichungen. Das Blatt wurde in 19 Schichten aufgeteilt, zwischen denen und an den Blattaußengrenzen 20 virtuelle Detektoren hinauf- und hinunterlaufende Strahlen zählten und durch die Gesamtzahl emittierter Strahlen dividierten. Damit konnte eine Photonenflussdichte berechnet werden. Die verschiedenen Zellarten wurden von Kugeln, Ellipsoiden oder

Zylindern unterschiedlicher Größe repräsentiert und „enthielten“ als einziges Pigment Chlorophyll. Die Ergebnisse stimmen mit bekannten Messungen z.B. mit mikrooptischen Sonden zur Lichtgradientenbestimmung in realen Blättern überein.
Die Simulationen umfassten vier verschiedene Blattorientierungen (Abb. (4-2)) bezüglich des einfallenden Lichts:

1. Ein horizontales Blatt mit dem Palisadenparenchym (adaxiale Seite) dem Licht zugewandt;
2. ein vertikales Blatt mit dem Schwammparenchym (abaxiale Seite) zum Licht;
3. ein horizontales Blatt, auf dessen abaxiale Seite das Licht fällt, und
4. ein vertikal orientiertes Blatt auf der abaxialen Seite beleuchtet.

Die erste Variante entspricht dem Normalfall und auch die Varianten 2 und 4 kommen häufig vor. Einzig die Orientierung 3 ist eher ungewöhnlich und für windige Tage oder niedrige Sonnenstände am Morgen oder Abend repräsentativ. Wie aus Abb. (4-2) hervorgeht, „kam“ das Licht immer aus derselben Richtung, was einen Einfallswinkel von 25° (Fall 1) und 65° (Fall 2) (bzw. 155° und 115° für 3 und 4) für die jeweiligen Blattorientierungen bedeutete.

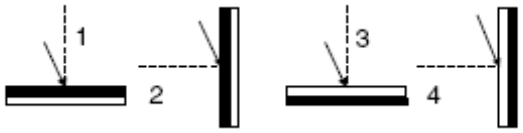

Abb. (4-2) Blattorientierungen: dunkle Streifen sind die adaxialen Seiten, helle die abaxialen. Aus [13]

Die Ergebnisse für die Lichtabschwächung innerhalb des Blattes mit der jeweiligen Orientierung sind in den Abb. (4-3) und (4-4) gezeigt. Das kollimiert auf das Blatt eingestrahlte Licht wird noch komplett diffus, bevor es das Palisadenparenchym verlässt. Aufgrund der starken Streuwirkung des Gewebes wurden gleiche Strahlen eventuell mehrmals gezählt, wodurch der relative Fluss auf über 100% ansteigen konnte. Das ergab z.B. für den NIR-Bereich einen Lichtfluss, der drei- bis viermal höher ist, als der von der eingestrahlten Intensität. Diese Beobachtung wurde auch bei Messung der Lichtgradienten bei echten Blättern gemacht.

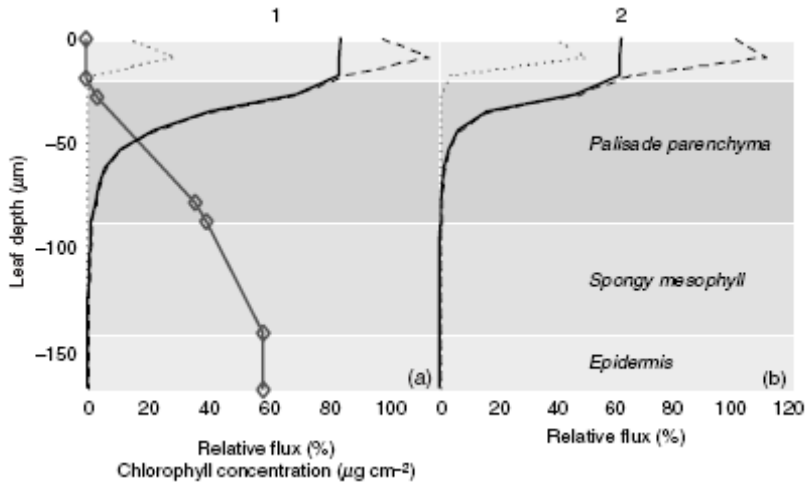

Abb. (4-3) Relativer Strahlungsfluss (dunkle, durchgezogene Linien) im simulierten Blatt für Orientierung 1 und 2. Links die kumulative Chlorophyll-Konzentration (grau). Abwärtsfluss (gestrichelt), Aufwärtsfluss (gepunktet). Aus [13]

Für eine untersuchte Wellenlänge von 675nm ist die Transmission von Blättern nahe Null und mit der Formel für die relative Reflexion, Transmission und Absorption R+T+A=1, muss also alles, was das Blatt nicht reflektiert, absorbiert werden. Es wurden Absorptionen der verschiedenen Orientierungen ermittelt zu 0,862 (Fall 1), 0,618 (Fall 2), 0,900 (Fall 3) und 0,706 (Fall 4). Die höchste Lichtaufnahme findet also bei den beiden horizontalen Blättern (Fälle 1 und 3) statt. Deshalb sind natürliche, vertikale Blätter meistens nicht bifazial sondern symmetrisch aufgebaut und haben auf beiden Seiten ein Palisadenparenchym. Es absorbiert fast 100% und daher erfolgt eine schnelle Lichtabschwächung, wenn es zum Licht zugewandt ist. Aufgrund des großen Luftvolumens im Schwammparenchym, das, wie hier angenommen wurde, 45% vom Gesamtvolumen ausmacht, haben die Photonen eine viel größere Weglänge zwischen den Zellen und es wird weniger absorbiert.

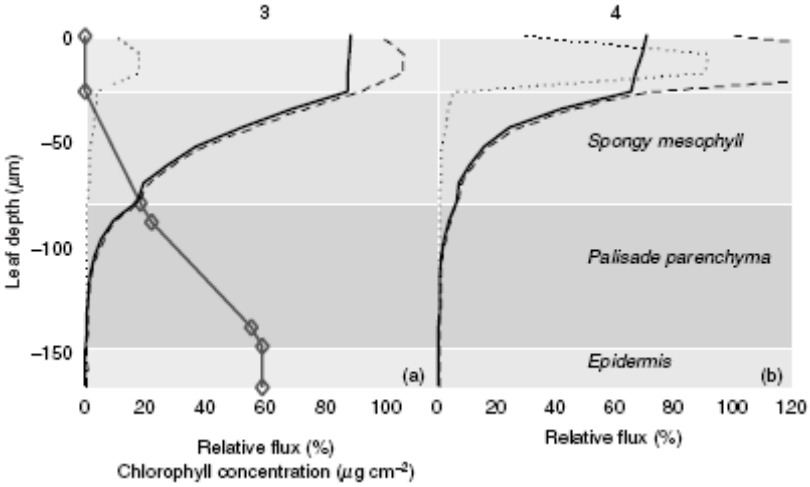

Abb. (4-4) Wie Abb. (4-2) nur für die Orientierungen 3 und 4. Aus [13]

Um nun zu berechnen, wo im Blattgewebe die Photosyntheserate P wie groß ist, wurde die damit verbundene CO_2-Fixierung durch die Absorption einer einzelnen Schicht und anderer Parameter ermittelt und anschließend aufsummiert, wie in Abb. (4-5) ersichtlich. Die horizontalen Orientierungen mit der adaxialen Seite wiesen die höchsten Gesamtwerte auf. Bei einer vertikalen Ausrichtung fiel einfach aufgrund der geometrischen Anordnung um 47% weniger Licht ein und hatte auch eine stärkere Reflexion zu folge, was natürlich geringere Lichtausbeute für die Photosynthese bedeutet.

Grundsätzlich ist es von Vorteil für die Photosyntheserate, wenn die adaxialen Blattseiten dem Licht zugewandt sind. In Abb. (4-5) ist auch zu sehen, dass es beim Ansteigen der eingestrahlten Intensität von 400 auf 2000 µmol Photonen zu einer Sättigung im CO_2-Umsatz gibt, wobei dessen Maximum immer im Palisadenparenchym zu finden ist. Bestrahlt man das Blatt auf der abaxialen Seite an, stellt sich die Sättigung im Schwammparenchym schnell ein und nur im lichtabgewandten Palisadenparenchym steigt die Photosynteserate noch an.

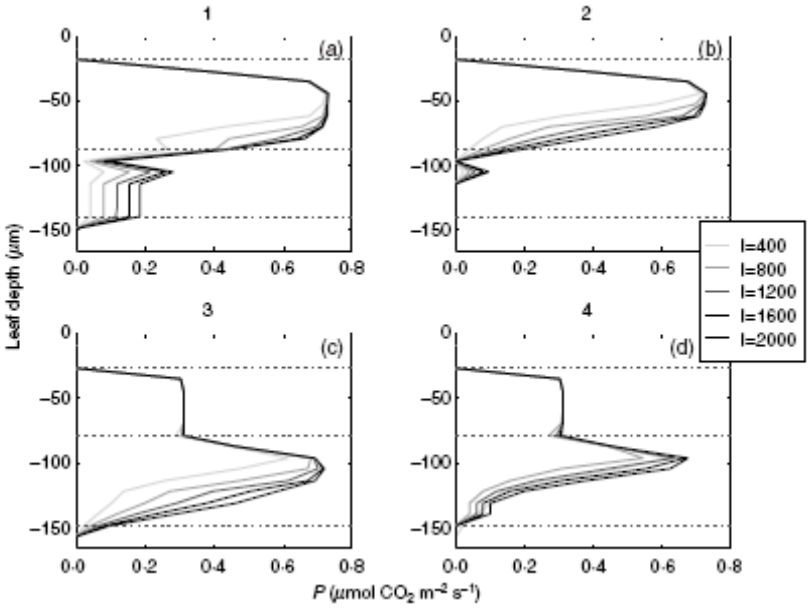

Abb. (4-5) Die Photosyntheseraten der vier Orientierungen in Abhängigkeit der Blatttiefe und bei unterschiedlichen Bestrahlungsintensitäten I. Die gestrichelten Linien deuten die Grenzen der Gewebetypen an. Aus [13]

Obwohl die Ergebnisse dieser Computersimulation in den allermeisten Fällen mit Messungen an nicht-simulierten Blättern übereinstimmen, gibt es im manchen Bereichen noch Verbesserungsmöglichkeiten. So wurden z.B. die Konzentration des Chlorophylls in den Membranen als homogen angenommen oder andere Pigmente

wie Carotinoide ignoriert. Einige der erforderlichen Informationen sind jedoch derzeit nicht zugänglich und erfordern daher Forschung an realen Blättern. [13]

4.3.2. Reflexions- und Transmissionsmessungen

Woolley Joseph T. [14] hat Transmissions- und Reflexionsmessungen der Vorder- und Rückseiten von Blättern mehrerer Pflanzenarten (z.B. Mais, Soja, Philodendron) im sichtbaren und infraroten Spektralbereich (450-2700nm) aufgenommen. Die dadurch gewonnenen Informationen sollten vor allem für die Interpretation von Fernerkundungsaufnahmen (remote-sensing) zur Verfügung stehen. Es wurden für Einstrahlwinkel zwischen 15° und 80° die Intensitäten jeweils vieler Beobachtunswinkel (-80° bis +80°) gemessen.

Er betrachtete Blätter zunächst als Objekte, die an der transparenten Oberfläche durch den Unterschied ihres Brechungsindex´ zu dem des Umgebungsmediums Luft das Licht nach den Fresnelgleichungen brechen und reflektieren. Dadurch und wegen kleiner Unregelmäßigkeiten auf der Oberfläche ergibt sich eine diffuse Rückstrahlung. Im Inneren werden Strahlen wieder durch viele abrupte bzw. graduelle Änderungen des Brechungsindex´ multipel gebrochen und reflektiert. Dabei verursachen plötzliche Änderungen stärkere Reflexionen.

Das theoretische, anatomische Blattmodell, von dem auch er ausgeht, ist das von zwei transparenten Epidermisschichten umgebene Mesophyllgewebe. Die obere Begrenzungsschicht der adaxialen „face“-Seite des Blattes liegt quasi am Palisadenparenchym direkt an. Auftreffendes Licht kann hier also leicht ins weitere Blattinnere eindringen, wo es auf die dicht gepackten Palisadenparenchym-Zellen Trifft. Er gibt das Luftvolumen der Zellzwischenräume mit 5-20% des Gesamtvolumens an.

An der abaxialen „back“-Seite eines Blattes ist die abdeckende Epidermis durch einen Luftpolster vom Schwammparenchym-Gewebe getrennt und es existieren für Strahlen zwei Schichten, die reflektieren und brechen bevor das Licht ins Blattgewebe weiter vordringen kann. Das hat bei großen Einfallswinkeln einen noch stärkeren Effekt und erhöht die Reflexionen. Die kleineren Zellen im Schwammparenchym sind locker angeordnet und die luftgefüllten Zwischenräume machen 50-80% des Gewebevolumens aus. Eine weitere Auswirkung der streuenden Eigenschaften der Blattrückseiten ist, dass sie eine Barriere auch für schon im Blatt befindliche Photonen darstellen. Diese können vor allem bei

kollimierter Bestrahlung in der face-Seite eindringen, werden schon im Mesophyll diffus gestreut und werden an der back-Seite am Austritt aus dem Blatt gehindert.
Durch diese anatomischen Eigenschaften ergeben sich für die beiden unterschiedlichen Seiten eines Blattes verschiedene Reflexions- und Transmissionswerte. Bei Maisblättern gilt das beispielsweise nicht. Die abaxiale Unterseite erscheint im visuellen Spektralbereich heller, weißlich blass-grün gefärbt und weist höhere Reflexion auf. Umgekehrt dazu reflektieren die Vorderseiten im nahen Infraroten (800-1300nm) viel heller und haben ein kleineres Transmissionsvermögen. Diese Unterschiede sind natürlich durch den asymmetrischen Aufbau begründet.
Bei den Messungen zeigen die Transmissionskurven stets stärkere Peaks als die Reflexionen. Das liegt daran, dass bei der Reflexion ein großer Teil des Lichts nicht sehr weit in das Blatt eindringt und mit den Pigmenten interagiert. Diese absorbieren im Allgemeinen stark im UV- und manchen sichtbaren Wellenlängenbereichen, was auch ein geringes Transmissionsvermögen verursacht. Im Infraroten dagegen sind sie nicht aktiv und beeinflussen Licht wenig.
Im nahen Infrarot zwischen etwa 800 und 1100nm Wellenlänge macht z.B. die Summe aus Reflexion und Transmission bei Sojablättern 96% der Einstrahlungsleistung aus. Die übrigen 4% werden daher absorbiert. Der Autor zweifelt zwar an der Exaktheit dieses Wertes, aber dass es auch hier Absorptionen gibt, beweisen Messungen an gestapelten Blättern, die höhere Werte liefern als Einzelblattmessungen.

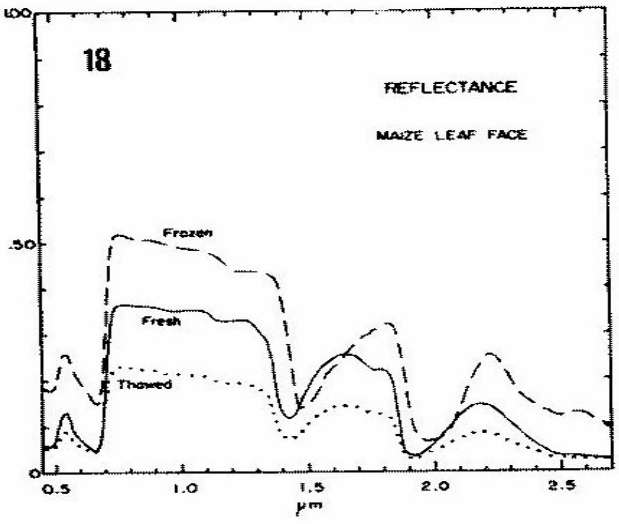

Abb. (4-6) Reflektanz der Vorderseite eines frischen, gefrorenen und eines wieder aufgetauten Maisblattes im VIS und IR. Aus [14]

Der bekannte sprunghafte Anstieg der Reflexion vom Visuellen zum nahen Infrarot bei ungefähr 750nm („red edge“) ist für Einzelblätter stärker ausgeprägt als bei gestapelten Blättern, wo die Kurven zusätzlich abgerundeter sind. Gleiches gilt für die Absorption dieses Bereichs, allerdings ist hier die Änderung nicht so extrem.

Die spektralen Eigenschaften im Infrarotbereich werden wesentlich vom Wassergehalt eines Blattes bestimmt. Sowohl die Reflexions- als auch die Transmissionskurven weisen deutliche Signaturen auf, die als Vergleich bei Messungen an dünnen Wasserschichten ebenfalls gefunden wurden. Um den Einfluss des Trockenmaterials zu untersuchen, wurden Blätter getrocknet und anschließend vermessen. Sie zeigen größere Reflexionen, die der Reflektanz der Zellulose entsprechen, als es bei frischen Blättern der Fall ist.

Weiters wurde die Rolle der Luftzwischenräume untersucht. Diese bilden die offensichtlichsten und extremsten Grenzen von Zonen unterschiedlicher Brechungsindizes und treten zwischen den feuchten Zellulosewänden und Luft auf. Verschiedene Blattarten wurden mit unterschiedlichen flüssigen Substanzen getränkt, also Wasser und diverse Öle mit Brechungsindizes zwischen 1,42-1,52. Bei Sojablättern zeigte sich die geringste Reflexion bei einem Füllmaterial mit Brechungsindex 1,47-1,48, was scheinbar die beste Annäherung an den Durchschnitts-Brechungsindex der feuchten Mesophyll-Zellwände darstellt. Allerdings bleibt ein signifikanter Reflexionsanteil erhalten, der durch andere Mechanismen entstehen muss.

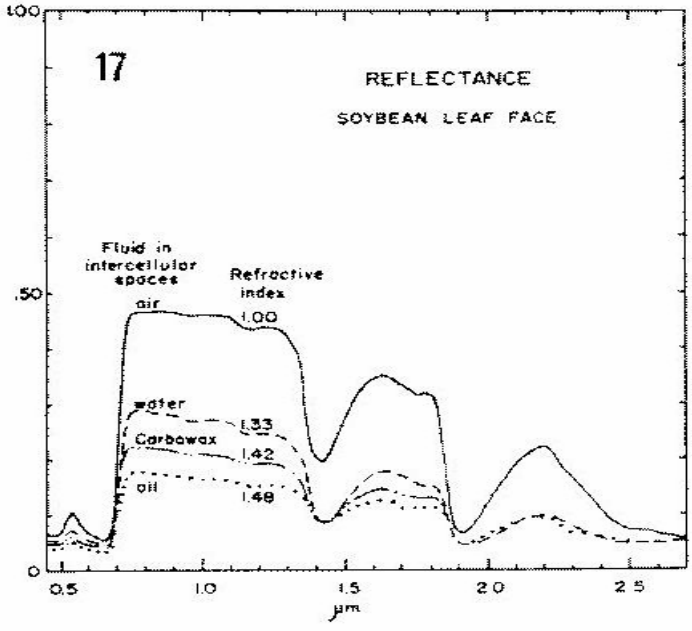

Abb. (4-7) Unterschiede der Reflektanz eines Sojablattes mit verschiedenen Flüssigkeiten getränkt. Aus [14]

Auch der Einfluss des Einfrierens und wieder Auftauens wurde erforscht. Friert man ein Blatt ein, dann bilden sich Wasserkristalle mit scharfen Kanten, die die Zellwände durchstoßen. Beides, die Kristalle alleine und ihre zerstörende Wirkung auf das Gewebe, erhöhten erwartungsgemäß die Fähigkeit des Blattes zu reflektieren. Dies lässt sich wieder mit einer Änderung von Brechungsindex-Inhomogenitäten verstehen, die in diesem Fall steigt. Ein darauf aufgetautes Blatt weist hingegen ein kleineres Reflexionsvermögen auf als ein Frisches, weil die Eiskristalle wieder schmelzen und sich die verschiedensten Materialien im Gewebe aufgrund der durchbohrten Zellwände vermischen.

Im Speziellen wurden Blätter einer Philodendronart untersucht. Sie sind deshalb interessant, weil sie grüne und weiße Sprenkel aufweisen. Die weißen Bereiche hatten eine durchschnittliche relative Reflexion im Sichtbaren von 0,41, die als eine Überlagerung von diffusen und regulären Anteilen betrachtet werden kann, wobei die Kurve (Abb.4-8) eines idealen diffusen Reflektors mit einer Reflektanz von 0,48 angenommen wurde. Dagegen reflektierten die Grünanteile der Blätter weniger regulär und viel weniger diffus mit einer durchschnittlichen Reflektanz von 0,055 im visuellen Bereich.

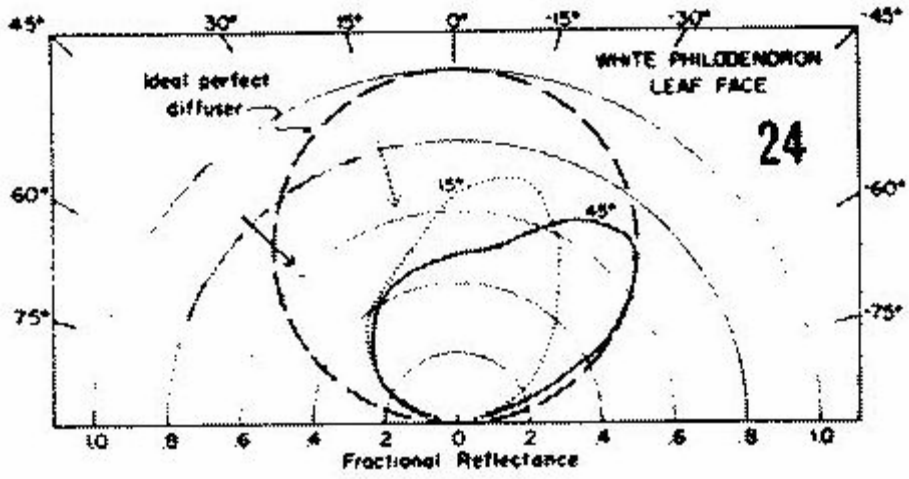

Abb. (4-8) Die winkelabhängige Reflektanz der adaxialen Seite eines weißen Philodendronblattsprenkels für den sichtbaren Spektralbereich bei 45° Einstrahlung. Der gestrichelte Kreis zeigt im Vergleich dazu die Intensitätsverteilung eines idealen, diffusen Reflektors. Aus [14]

Die Intensität des regulären Reflexionsanteiles bei einem Bestrahlungswinkel von 45° wurde abgeschätzt und man kam für die weiße Probe auf 4%, für die grünen Sprenkel auf 3% der gesamten Einstrahlintensität. Auch wenn das nicht viel

erscheint, ist diese Intensität für einen Beobachter von großer Bedeutung. Sie macht nämlich etwa die Hälfte des überhaupt abgestrahlten sichtbaren Lichts aus und wird noch dazu in einen sehr schmalen Winkelbereich von weniger als einem Sterradianten reflektiert. Daher ändert sich die auftretende Helligkeit mit dem Beobachtungswinkel um den Faktor 10. Des Weiteren ist die Spiegelreflexion unabhängig von der Blattfarbe und teilweise polarisiert. [14]

5. Spektroskopische Methoden

Das Gebiet der Untersuchung von wellenlängenabhängigen Wechselwirkungen von Licht mit Materie wird als Spektroskopie zusammengefasst. Es kann in mehrere Bereiche unterteilt werden, die verschiedene Aspekte der Messobjekte erforscht. Zwei prinzipielle Methoden sollen hier genannt werden, für die jeweils ein spezieller grundsätzlicher Messaufbau erforderlich ist.
Die Absorptionsspektroskopie betrachtet die Lichtabschwächung beim Durchlaufen einer Probe. Gemessen werden soll die Transmission T

$$T(\lambda) = \frac{I}{I_0}, \tag{5-1}$$

die der Anteil vom durchgelassenen Licht I zum eingefallenen Teil I_0 ist, bzw. die Absorption A

$$A(\lambda) = -\log T(\lambda)\,. \tag{5-2}$$

Unter geeigneten Bedingungen lässt sich mit Hilfe des Lambert-Beer-Gesetztes der Absorptionskoeffizient ermitteln.

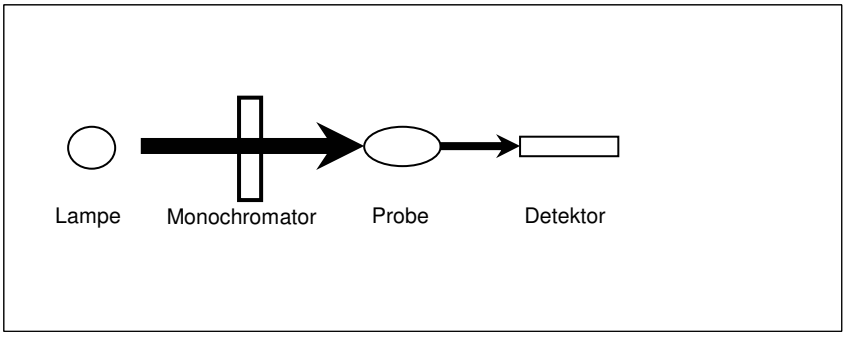

Abb.(5-1) Prinzipielle Anordnung für Absorptionsmessungen

Reflexionsmessungen untersuchen die durch Reflexion von einer Probenoberfläche und eventuell aufgrund von Streuung im Inneren der Probe zurückgeworfene Strahlung. Da es hier nicht möglich ist, im Experiment absolute Größen zu messen,

verwendet man einen Reflexionsstandard, von dem man ausgeht, dass er die einfallende Strahlungsleistung quasi ideal zurückwirft und erhält die Reflektanz R

$$R(\lambda) = \frac{R_{\mathrm{Pr}obe}}{R_0} \tag{5-3}$$

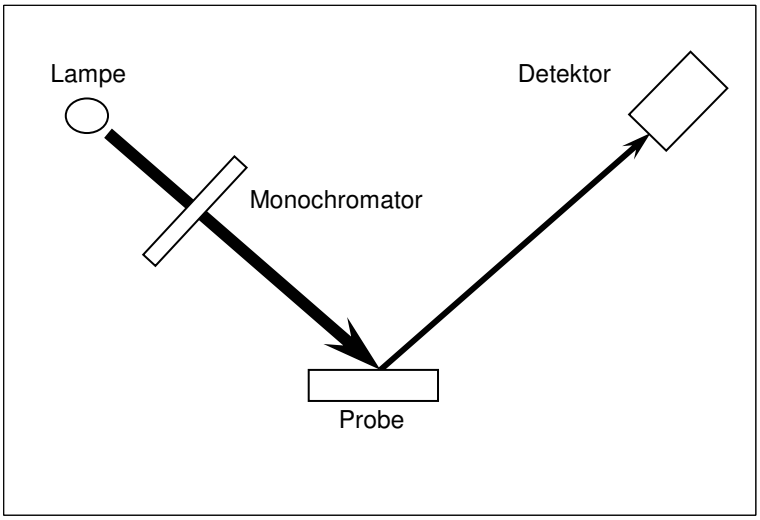

Abb. (5-2) Aufbau für Reflexionsmessungen

Wie man anhand von Abb. und sehen kann, sind für Reflexionsspektroskopische Messaufbauten einige Komponenten notwendig, die im Folgenden erklärt werden.

5.1. Leuchtquellen

Die Aufgabe der Leuchtquelle ist das für den erforderlichen Spektralbereich notwendige Licht zur Verfügung zu stellen. Meist wird elektrische Energie in Strahlung umgewandelt. Man unterscheidet Temperaturstrahler und Lumineszenzstrahler wie LEDs (Leuchtdioden), Laser oder Gasentladungslampen. Bei Letzteren beruht die Photonenemission auf Relaxationsprozessen nach einer direkten elektronischen Anregungen der Atome. Sie sollen hier nicht weiter beschrieben werden, da im Experiment eine „Osram Xenophot © 64610“-Lampe verwendet wurde, die eine Halogenlampe ist und daher zu den Temperaturstrahlern gehört.

Wie in Glühlampen auch fließt in einer Halogenlampe elektrischer Strom durch einen dünnen Wolframdraht, der sich aufgrund seines hohen Ohmschen Widerstandes

aufheizt und von einem Glaskolben geschützt ist. Er entspricht damit angenähert einem Schwarzen Strahler, der nach dem Planckschen Strahlungsgesetz

$$u(\omega) = \frac{\hbar}{\pi^2 c^3} \frac{\omega^3}{e^{(\hbar\omega/kT)} - 1} \tag{5-4}$$

die spektrale Leucht- oder Energiedichte u(ω) (Energie pro Volumen und Kreisfrequenz ω) emittiert. T ist die Temperatur und k die Boltzmann-Konstante. Das Emissionsspektrum eines Schwarzen Strahlers ist kontinuierlich und hat für jede Temperatur bei einer bestimmten Wellenlänge oder Energie ein Maximum. Je heißer ein Körper, desto höher die Energie mit der höchsten Die Temperatur des Drahtes beträgt ungefähr 2500K und dabei verdampfen nach und nach Wolframatome, die sich bei normalen Glühlampen als Schwärzung auf der Innenseite des Glaskolbens niederschlagen. Weil das natürlich die Intensität mit der Zeit verringert und der Draht durch die Materialverluste an einzelnen Stellen immer dünner wird und durchbrennt, füllt man den Glaskolben mit einem Halogengas. Die Halogenatome bilden bei Betriebstemperatur der Lampe Wolframhalogenide, die sich wieder am Draht ablagern und damit einen geschlossenen Kreislauf bilden. Dadurch erhöht sich die Lebensdauer der Lampe und es bildet sich fast kein Intensitätsverlust durch Schwärzungen aus. Im Falle der „Osram Xenophot © 64610“-Lampe ist zusätzlich noch Xenon dem Füllgas beigemengt, wodurch sich die Wärmeleitfähigkeit verringert und damit die Effizienz der Lichtausbeute steigt [10].

5.2. Monochromatoren

Um monochromatisches Licht zu erzeugen, benötigt man Monochromatoren. Früher gebrauchte man dazu Prismen, die heute allerdings kaum mehr verwendet werden. Stattdessen sind z.B. in Spektrometern Dispersionsgitter im Einsatz. Sie bestehen aus einem feinen Gitter von Linien, die in ein Trägermaterial eingeätzt sein können und einen konstanten Abstand zueinander haben, die Gitterkonstante a. Die Funktionsweise ist analog zur Beugung von Licht an zwei Spalten, welche in ihrer Breite und ihrem Abstand zueinander der Lichtwellenlänge entsprechen müssen.

Dann gehen nach dem Huygens´schen Prinzip von beiden Spalten kugelförmige Elementarwellen aus, die miteinander in gewissen Winkeln positiv interferieren:

$$\sin\varphi = \frac{n\lambda}{a}, \quad n = 1,2,3,.. \tag{5-6}$$

Damit ergibt sich ein Interferenzbild auf einem Schirm oder Detektor mit mehreren Beugungsmaxima. Dazwischen löschen sich die Wellen aus. Strahlt man nun nicht mit monochromatischem sondern mit vielfarbigem Licht auf das Gitter, erhält man das Spektrum der Wellenlängenkomponenten, aus dem es sich zusammensetzt. Fällt das Spektrum auf einen Photodetektor, lässt sich die Intensität für jede Wellenlänge bestimmen. Solche Gitter sind seit langem in Spektrometern vieler verschiedener Typen im Einsatz.

Farbglasfilter liefern zwar kein rein monochromatisches Licht, sie sind dafür kostengünstig und leicht handhabbar. In den folgenden Experimenten wurden ein blauer (BG 12), ein grüner (VG 9) sowie ein roter (RG 2) Filter verwendet, um angenähert monochromatisches Licht zu erhalten.

6. Experimente

Ziel der Messungen war die Aufnahme verschiedener Spektren von Pflanzenblättern. Um auch Streu- und Absorptionskoeffizienten bestimmen zu können, wurden drei Farbglasfilter mit den Farben rot (RG 2), grün (VG 9) und blau (BG 12) verwendet. Damit konnte angenähert die von der Kubelka-Munk-Theorie geforderte Bedingung nach Bestrahlung mit monochromatischem Licht erfüllt werden. Zusätzlich wurden auch Aufnahmen mit weißem Licht gemacht, die das generelle Reflexionsvermögen von Blättern im visuellen Bereich zeigen sollen. Die Blätter stammten alle von einer einzigen Fliederpflanze (Gattung Syringa, Art unbekannt) und wurden von der obersten, der Sonne am stärksten ausgesetzten Blattschichte („canopy“) entnommen. Die Zeit zwischen der Entnahme von der Pflanze und dem Messbeginn betrug etwa eine halbe bis maximal eine Stunde, daher waren die Blätter die Experimente hindurch noch frisch. Bevor die spektroskopischen Aufnahmen begannen, wurden die Proben vorsichtig mit einem fusselfreien Zellulosetuch von Staub und anderen Verunreinigungen an der Oberfläche befreit. Die Feuchtigkeit vom Reinigen war verdunstet, bevor die Fliederblätter vermessen wurden. Um sie leichter handhaben zu können, wurden sie in kleinere Teile geschnitten und an einem Probenhalter befestigt. Dieser bestand aus schwarzem Papier mit einer kleinen Öffnung von 1,55cm Durchmesser, damit die nach der Kubelka-Munk-Theorie erforderlichen Messungen mit „ideal schwarzem Hintergrund, der in diesem Fall der dunkle Raum hinter dem Probenhalter war, gemacht werden konnten.

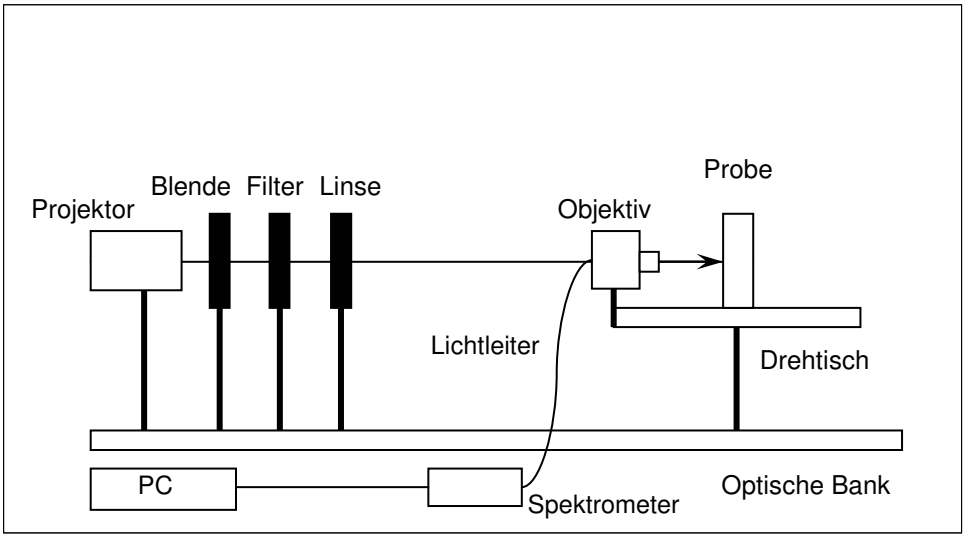

Abb.(6-1) Messaufbau Seitenansicht

Der Messaufbau bestand aus einer optischen Bank, worauf mehrere Komponenten mit Reitern montiert waren und wurde von einer selbstgebauten „Dunkelkammer“ mit einem Gerüst aus Stahlstangen von äußeren Lichteinflüssen abgeschirmt. Als Materialien für die Innenverkleidung der Kammer dienten zum Teil schwarzer Stoff bzw. schwarzer Samt. Weiters wurden die Messungen am Abend oder in der Nacht gemacht und die Laborbeleuchtung ausgeschaltet. Allerdings waren gewisse Reflexionen der Komponenten und der Wände vom Projektorlicht nicht vermeidbar und führten zu einem gewissen Dunkelstrom.
Als Lichtquelle diente ein Projektor mit einer „Osram Xenophot © -Halogenlampe“. Direkt davor war eine Blende platziert, um den Lichtstrom regulieren und mit einer in Brennweite eintfernten Sammellinse der Brennweite 100mm parallele Strahlengänge erzeugen zu können. Zwischen Blende und Linse stand eine Halterung, in die bei bedarf die Farbfilter eingeschoben werden konnten.

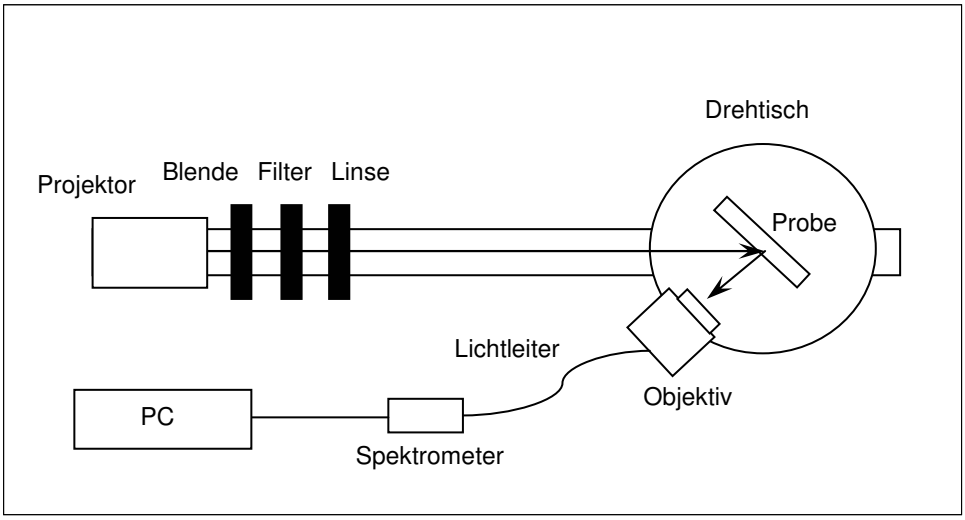

Abb. (6-2) Messaufbau von oben

In 55cm Abstand von der Sammellinse stand der drehbare Tisch, auf dem die Proben platziert wurden. Am Rand der Tisches war in einem Probenabstand von etwa 19cm ein „Jashica 50mm“ Objektiv in einen Adapter geschraubt. An dessen Rückseite führte aus einer eigens dafür gebohrten, passgenauen Öffnung ein Lichtleiter das Licht zum Spektrometer „BTC 111e TE cooled CCD Array Spectrometer“, das an einen Computer angeschlossen war. Mithilfe der mitgelieferten Software „BWSpec 3.23“ konnten einzelne Spektren vom PC aus gestartet und in eine „Microsoft Excel ©“-Datei exportiert werden.

6.1. Messung der Filtertransmissionen

Für die Filter (rot: RG 2; grün: VG 9; blau: BG 12) wurden die Intensitäten bei Durchsichtsmessung aufgenommen und die Transmissionen T berechnet. Die Halbwertsbreiten HWB wurden berechnet als der Abstand derjenigen Wellenlängen λ0,5 in Nanometern, bei denen die Durchlassintensitäten links und rechts auf die Hälfte des Maximalwertes abgefallen war (Tabelle (6-1)). Sie wurden als „Gültigkeitsbereich“ für die Farbmessungen der Probenspektren verwendet.

	Max	li λ 0,5	re λ 0,5	HWB
rot	648	626,5	753	126,5
grün	525,5	484	573	89
blau	465,5	410	492,5	82,5

Tabelle (6-1) Wellenlängen der maximalen Filtertransmissionen und Wellenlängen mit halber Transmission li λ 0,5 bzw. re λ 0,5.

Im Folgenden sind nun die Aufnahmen für die relativen Intensitäten aller drei Filter mit der Lampenintensität und dem Dunkelstrom gezeigt.

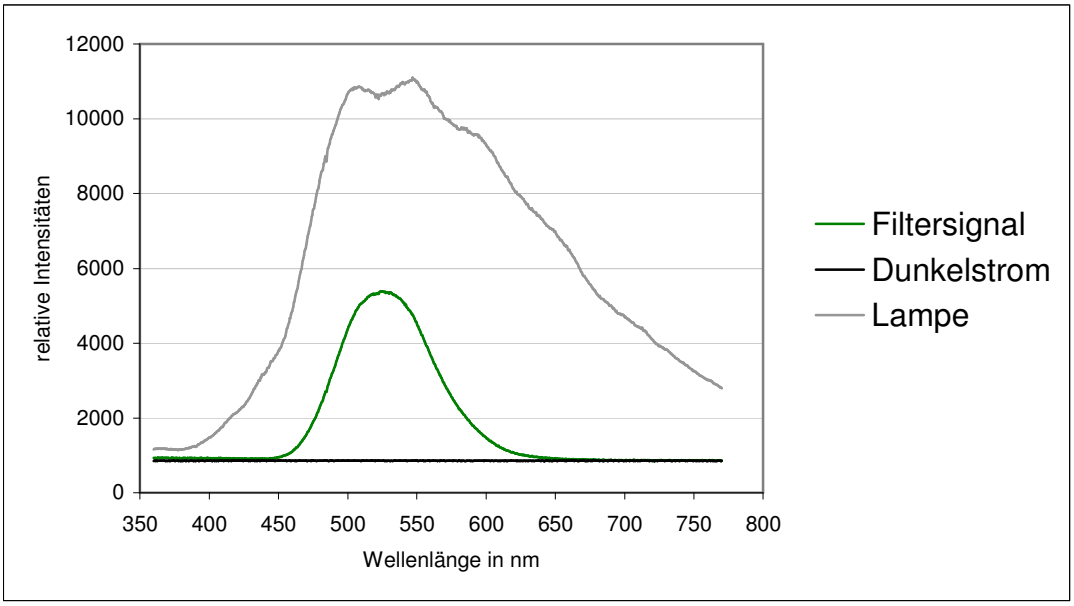

Abb. (6-3) Emissionsspektrum der Lampe, Durchsichtsspektrum des Grünfilters, sowie Dunkelstrom

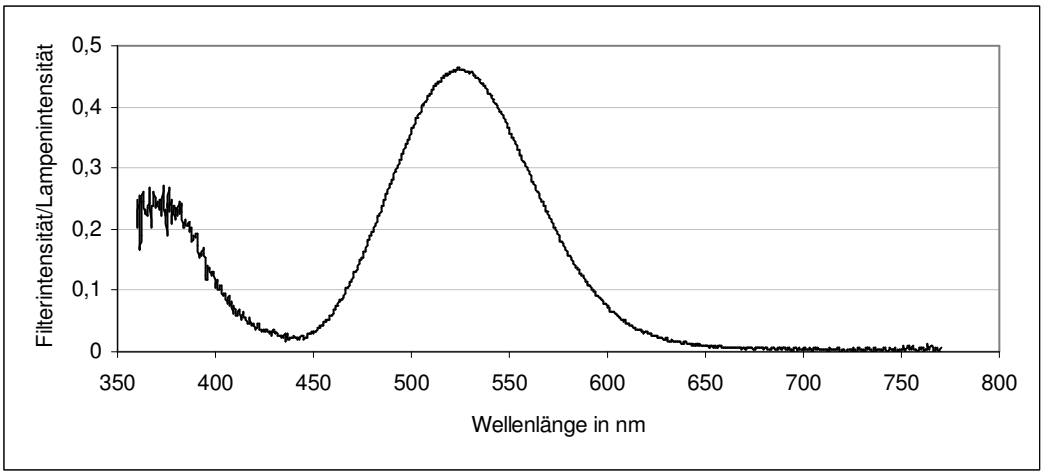

Abb. (6-4) Transmissionsspektrum des Grünfilters. Die erhöhte Intensität für den verrauschten Bereich von etwa 350 bis 450nm entsteht durch die hier sehr geringe Emission der Lampe.

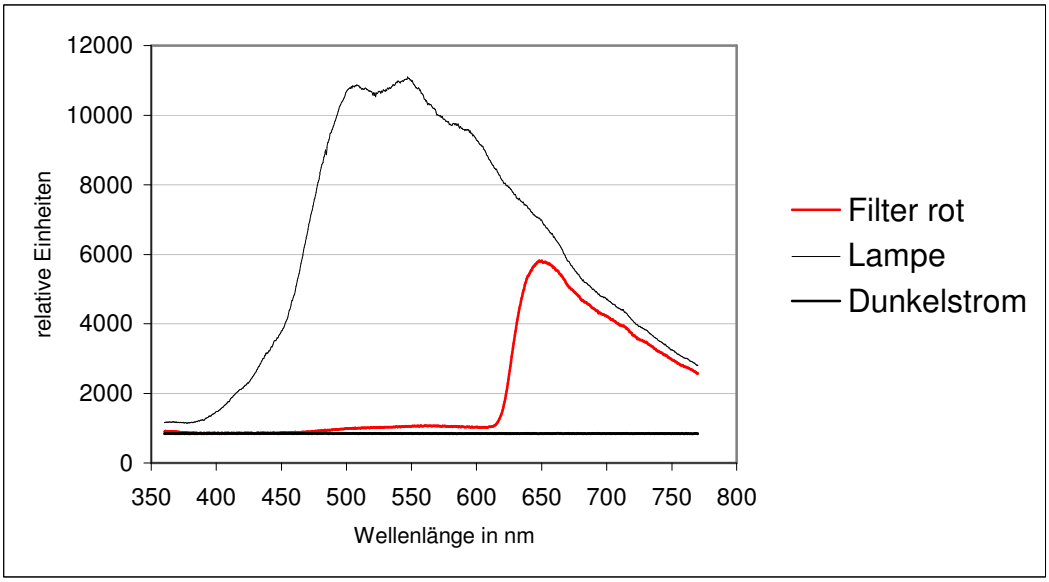

Abb. (6-5) Emissionsspektrum der Lampe und Durchsichtsspektrum des Rotfilters, sowie Dunkelstrom

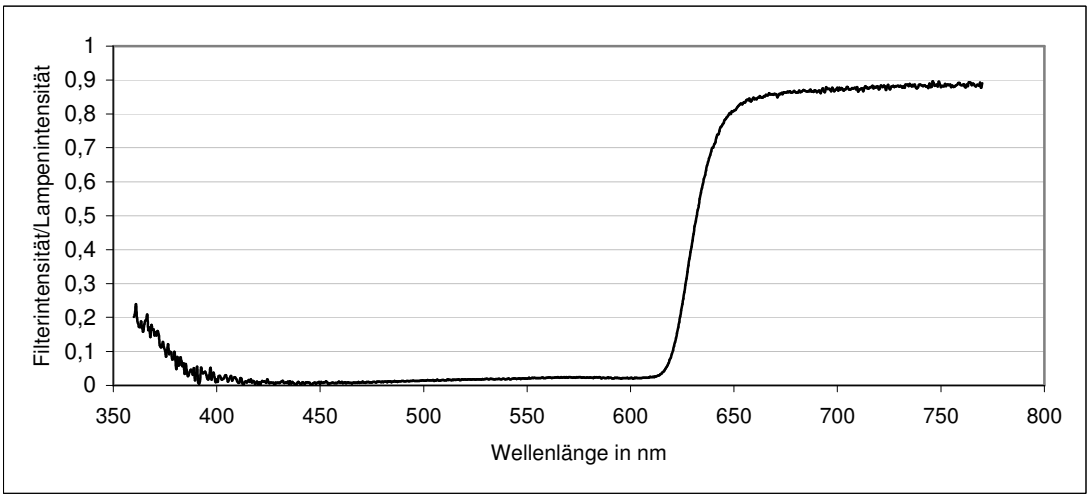

Abb. (6-6) Transmission des Rotfilters

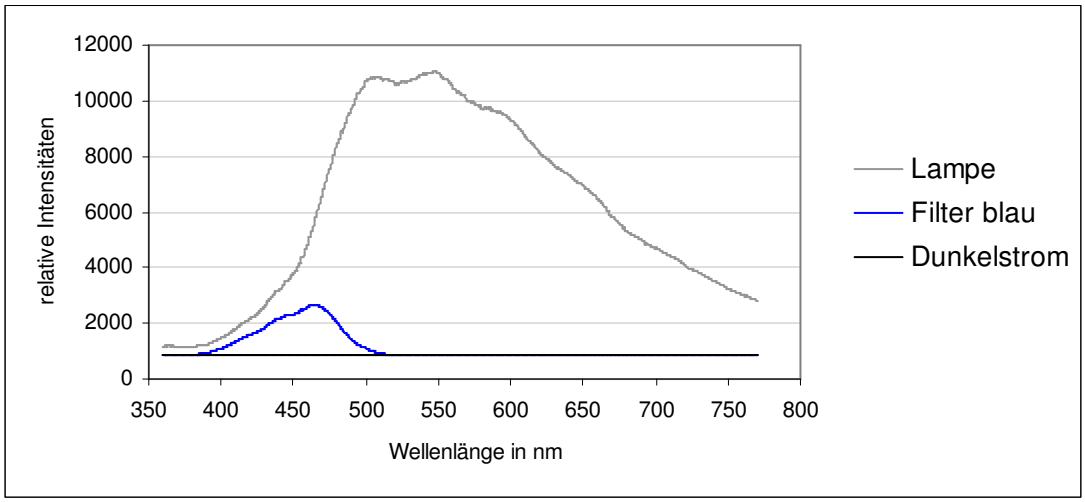

Abb. (6-7) Emissionsspektrum der Lampe und Durchsichtsspektrum des Blaufilters, sowie Dunkelstrom

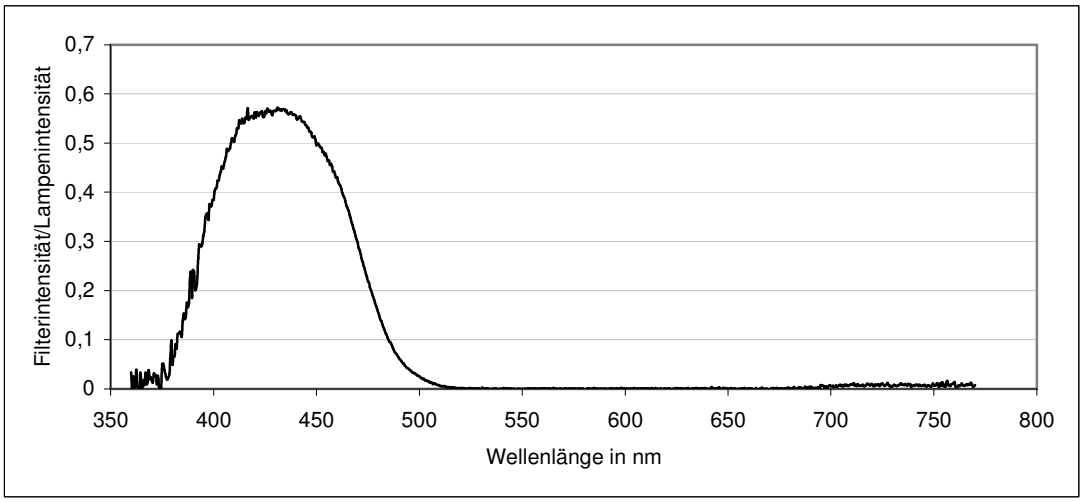

Abb. (6-8) Transmission des Blaufilters

6.2. Transmissionsspektrum eines einzelnen Fliederblattes

Die Transmission eines einzelnen Fliederblattes wurde bei Bestrahlung mit weißem Licht aufgenommen. Die Messanordnung entspricht dem Absorptionsaufbau aus Abb. (5-1).

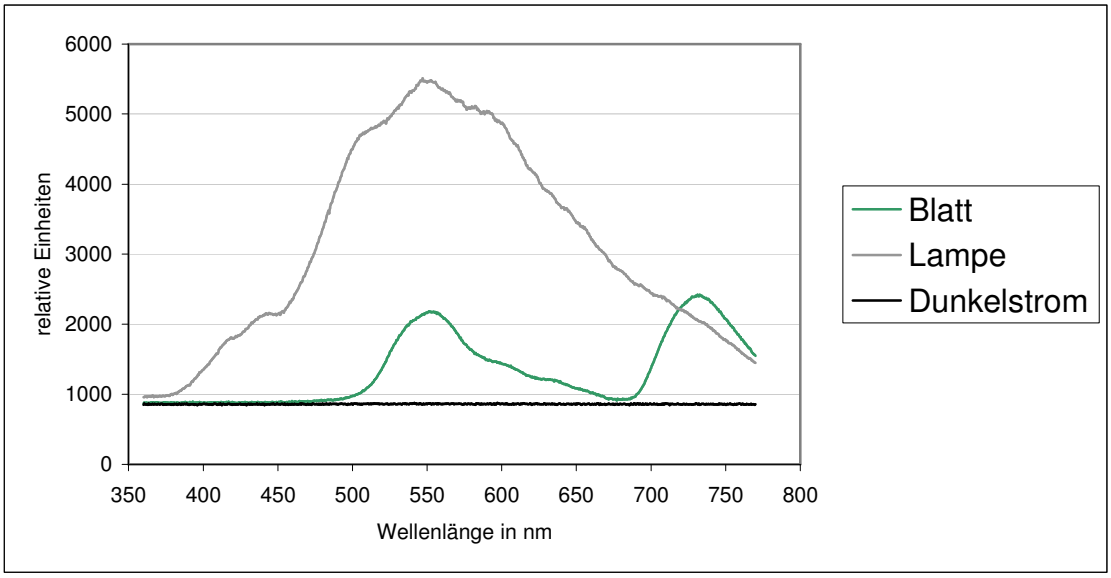

Abb. (6-9) Emissionsspektrum der Lampe und Durchsichtsspektrum eines einzelnen Fliederblattes mit adaxialer Seite dem Licht zugewandt, sowie Dunkelstrom. Zur Transmission im Rotbereich addiert sich ein Fluoreszenzanteil des Chlorophylls.

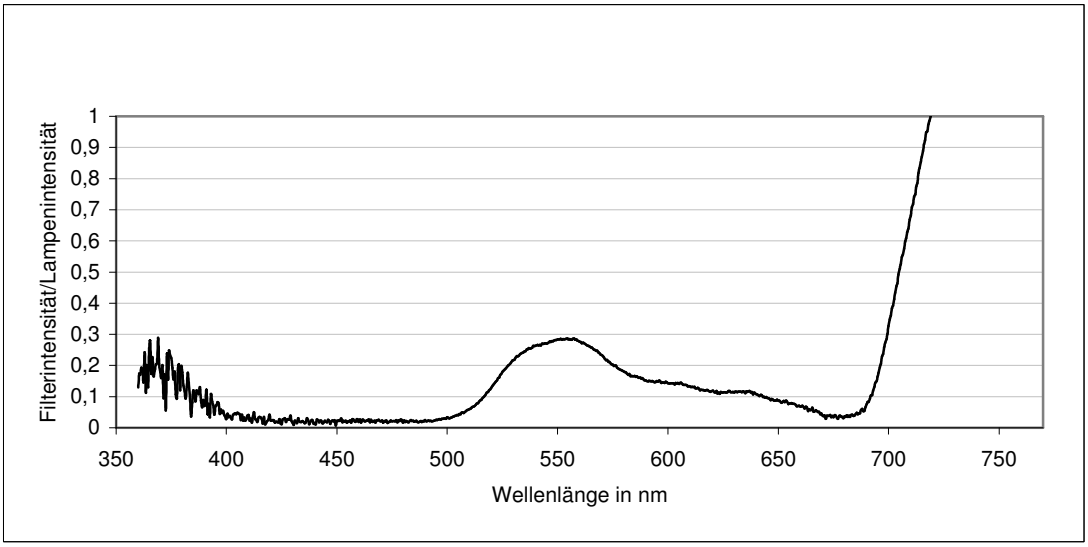

Abb. (6-10) Transmissionsspektrum eines einzelnen Fliederblattes mit adaxialer Seite dem Licht zugewandt. Die Transmission übersteigt im Roten wegen der Chlorophyll-Fluoreszenz den Wert eins. Durch geringen Intensitätsunterschied von Fliederblatt zu Lampe ist der Bereich unterhalb von 400nm stark verrauscht.

6.3. Reflexionsmessungen bei Bestrahlung mit weißem Licht

Für die winkelabhängigen Reflexionsmessungen wurden ein einzelnes Fliederblatt bzw. zwölf Lagen Fliederblätter übereinander geschichtet, unter Einfallswinkeln von 20°, 30°, 40°, 50°, 60° und 70° mit weißem Licht bestrahlt und die Reflexion bei 0°

aufgenommen. Als Weißstandard wurde Magnesiumoxid verwendet, das auf eine Metallplatte aufgeraucht wurde. Die relativen Reflexionen R0 (einzelnes Blatt) und R unendlich (zwölf Lagen Blätter) sind nach Gl. (5-3) das Verhältnis von Probenintensität durch die Intensität des Magnesiumoxids, von denen jeweils der Dunkelstrom abgezogen wurde. Es sind die Ergebnisse für die Einstrahlwinkel 20°, 30°, 60° und 70° abgebildet.

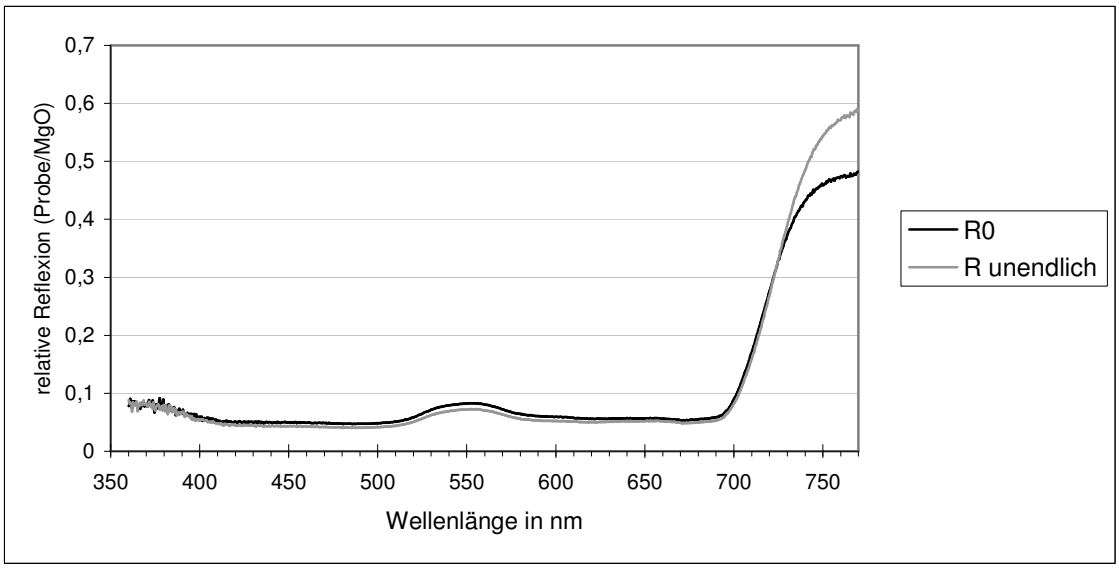

Abb. (6-11) Reflexionsspektrum eines Fliederblattes R0 sowie von zwölf Lagen von Fliederblättern bei Bestrahlung mit weißem Licht. Einstrahlwinkel ist 20°, Beobachtungswinkel 0°.

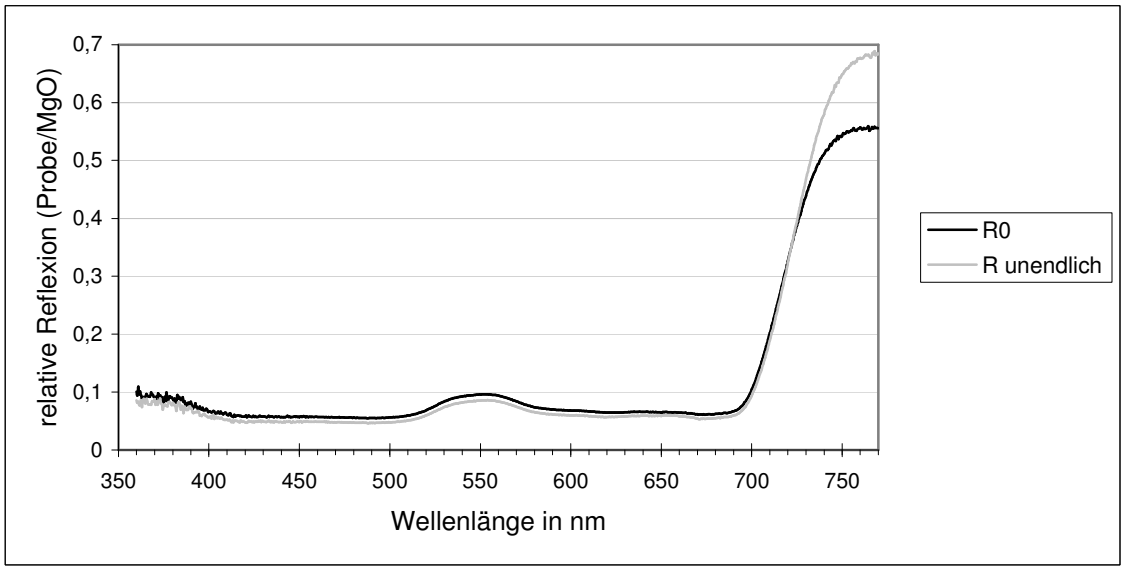

Abb. (6-12) Reflexionsspektrum eines Fliederblattes R0 sowie von zwölf Lagen von Fliederblättern bei Bestrahlung mit weißem Licht. Einstrahlwinkel ist 30°, Beobachtungswinkel 0°.

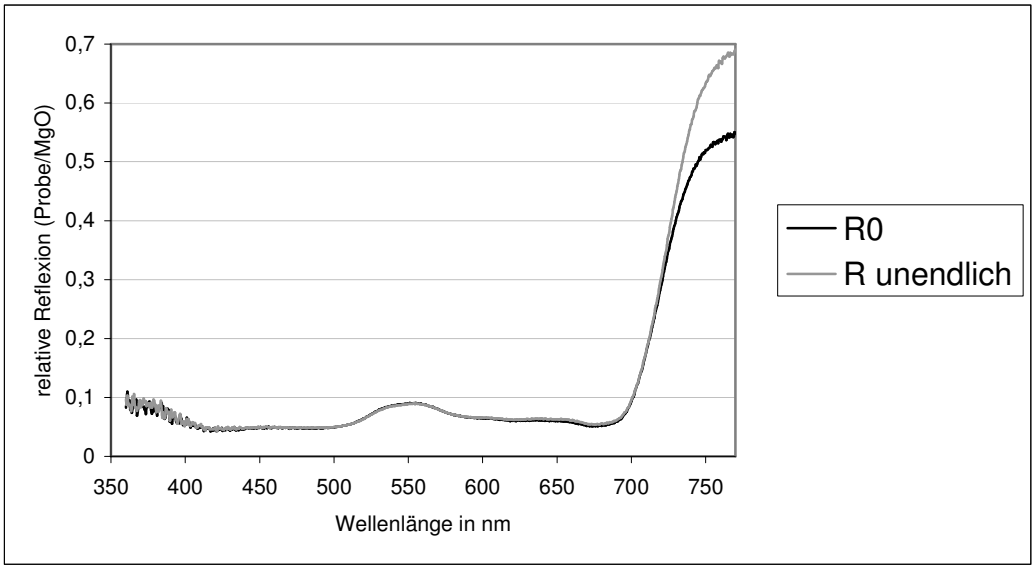

Abb. (6-13) Reflexionsspektrum eines Fliederblattes R0 sowie von zwölf Lagen von Fliederblättern bei Bestrahlung mit weißem Licht. Einstrahlwinkel ist 60°, Beobachtungswinkel 0°.

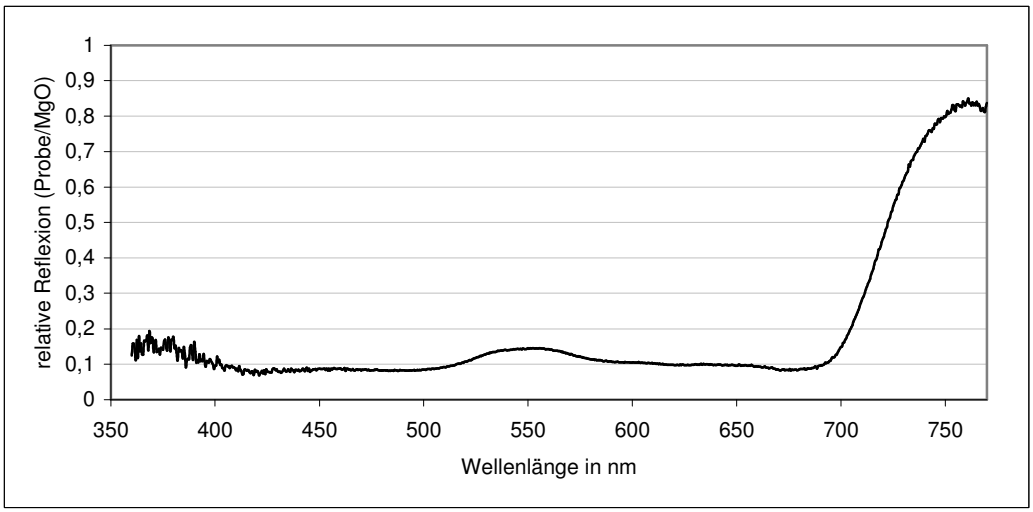

Abb. (6-14) Reflexionsspektrum eines Fliederblattes R0 bei Bestrahlung mit weißem Licht. Einstrahlwinkel ist 70°, Beobachtungswinkel 0°.

6.4. Reflexionsmessungen bei Bestrahlung mit rotem Licht

Für die winkelabhängigen Reflexionsmessungen wurden ein einzelnes Fliederblatt bzw. zwölf Lagen Fliederblätter übereinander geschichtet, unter Einfallswinkeln von 20°, 30°, 40°, 50°, 60° und 70° mit rotem Licht bestrahlt und die Reflexion bei 0° aufgenommen. Als Weißstandard wurde Magnesiumoxid verwendet, das auf eine Metallplatte aufgeraucht wurde. Die relativen Reflexionen R0 (einzelnes Blatt) und R unendlich (zwölf Lagen Blätter) sind nach Gl. (5-3) das Verhältnis von

Probenintensität durch die Intensität des Magnesiumoxids, von denen jeweils der Dunkelstrom abgezogen wurde. Es sind die Ergebnisse für die drei Einstrahlwinkel 20°, 60° und 70°, für die Absorptions- und Streukoeffizienten berechnet werden konnten, abgebildet.

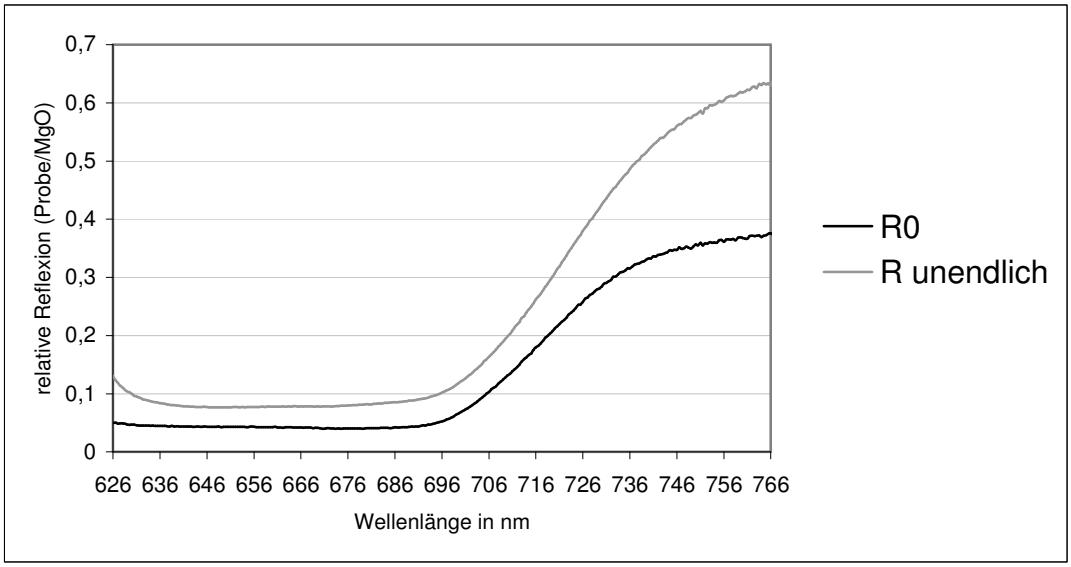

Abb. (6-15) Relative Reflexionen von einer bzw. zwölf Lagen Fliederblätter R0 bzw. R unendlich bei Bestrahlung mit rotem Licht unter 20° Einfallswinkel und 0° Beobachtungswinkel.

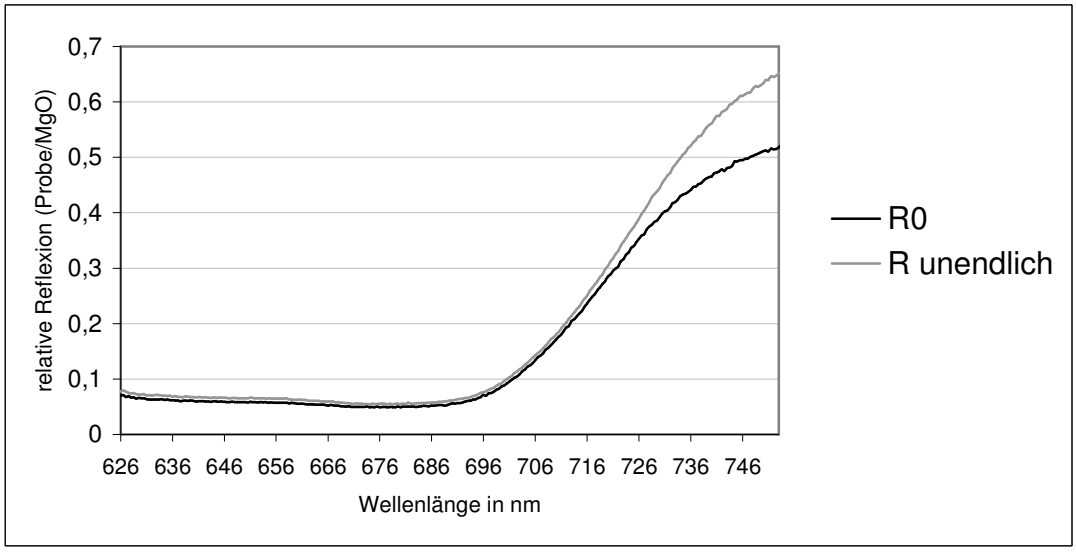

Abb. (6-16) Relative Reflexionen von einer bzw. zwölf Lagen Fliederblätter R0 bzw. R unendlich bei Bestrahlung mit rotem Licht unter 60° Einfallswinkel und 0° Beobachtungswinkel

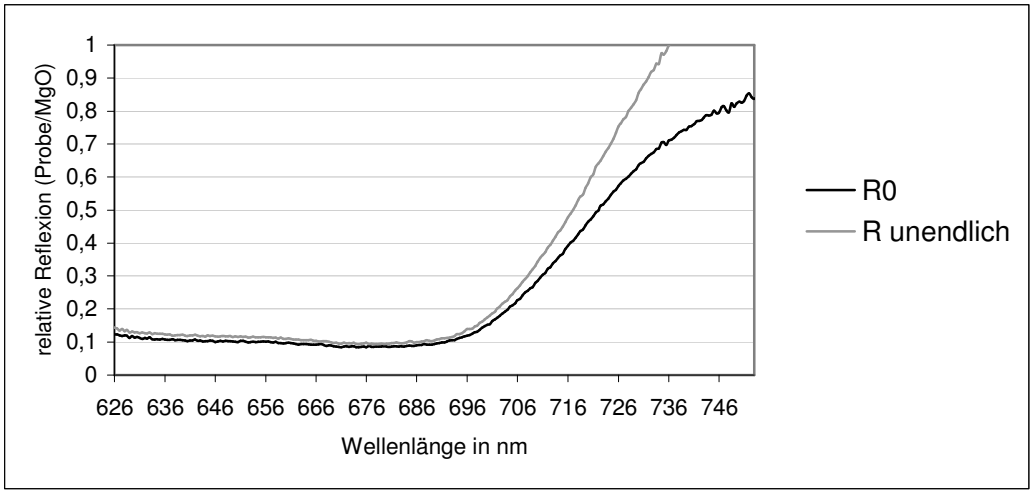

Abb. (6-17) Relative Reflexionen von einer bzw. zwölf Lagen Fliederblätter R0 bzw. R unendlich bei Bestrahlung mit rotem Licht unter 70° Einfallswinkel und 0° Beobachtungswinkel

6.5. Reflexionsmessungen bei Bestrahlung mit grünem Licht

Für die winkelabhängigen Reflexionsmessungen wurden ein einzelnes Fliederblatt bzw. zwölf Lagen Fliederblätter übereinander geschichtet, unter Einfallswinkeln von 20°, 30°, 40°, 50°, 60° und 70° mit grünem Licht bestrahlt und die Reflexion bei 0° aufgenommen. Als Weißstandard wurde Magnesiumoxid verwendet, das auf eine Metallplatte aufgeraucht wurde. Die relativen Reflexionen R0 (einzelnes Blatt) und R unendlich (zwölf Lagen Blätter) sind nach Gl. (5-3) das Verhältnis von Probenintensität durch die Intensität des Magnesiumoxids, von denen jeweils der Dunkelstrom abgezogen wurde. Es sind die Ergebnisse für die drei Einstrahlwinkel 20°, 60° und 70°, für die Absorptions- und Streukoeffizienten berechnet werden konnten, abgebildet.

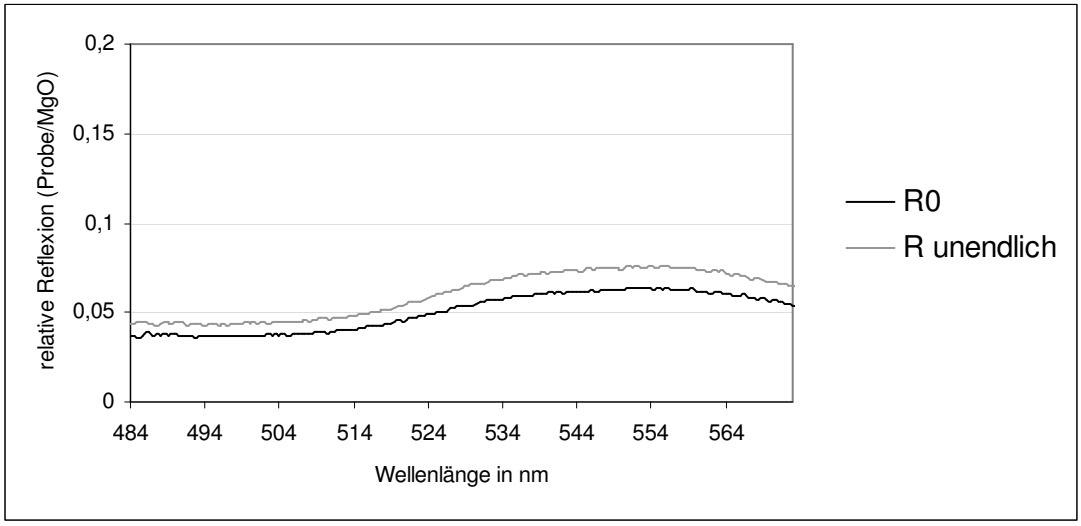

Abb. (6-18) Relative Reflexionen von einer bzw. zwölf Lagen Fliederblätter R0 bzw. R unendlich bei Bestrahlung mit grünem Licht unter 20° Einfallswinkel und 0° Beobachtungswinkel

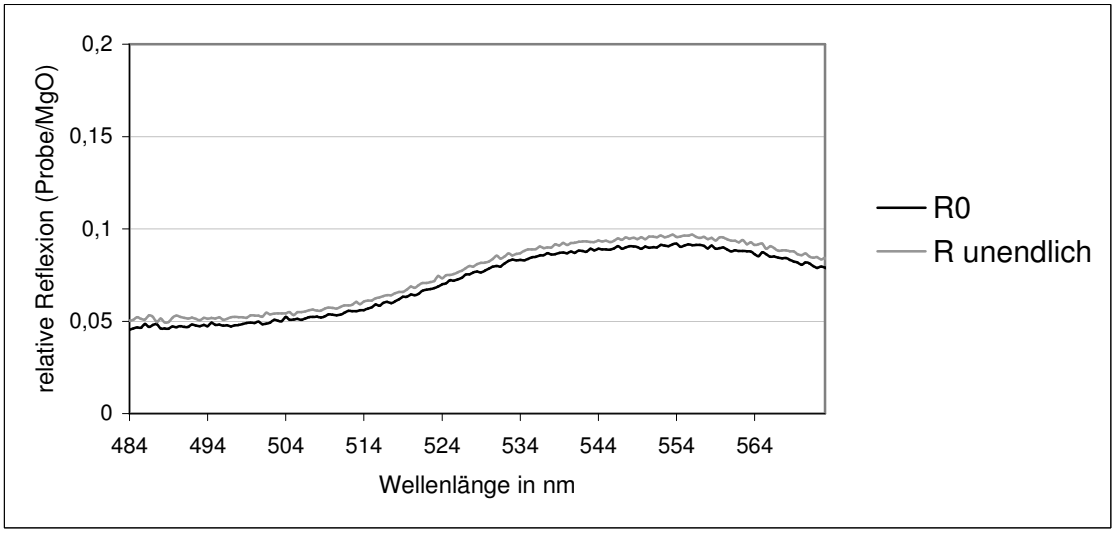

Abb. (6-19) Relative Reflexionen von einer bzw. zwölf Lagen Fliederblätter R0 bzw. R unendlich bei Bestrahlung mit grünem Licht unter 60° Einfallswinkel und 0° Beobachtungswinkel

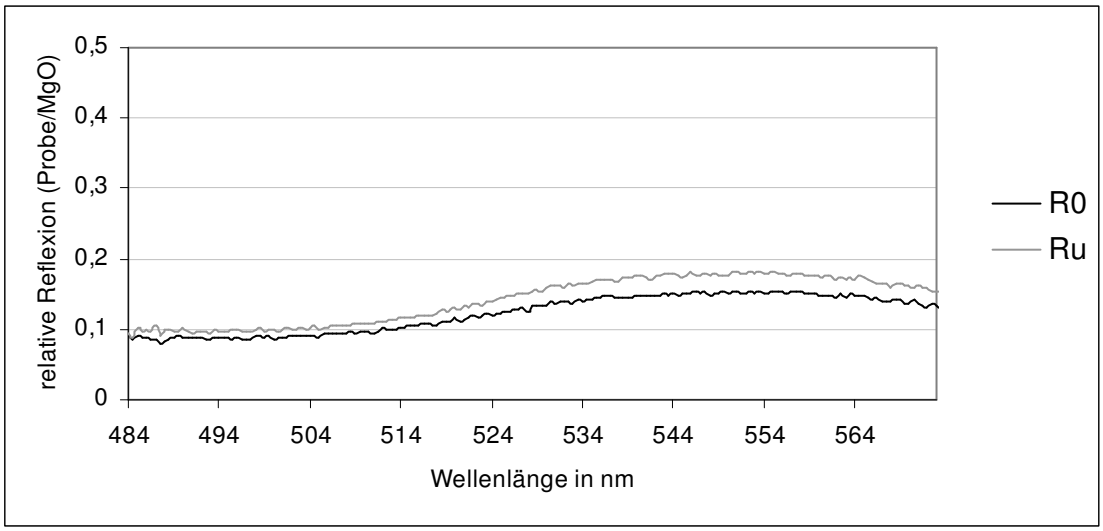

Abb. (6-20) Relative Reflexionen von einer bzw. zwölf Lagen Fliederblätter R0 bzw. R unendlich bei Bestrahlung mit grünem Licht unter 70° Einfallswinkel und 0° Beobachtungswinkel

6.6. Reflexionsmessungen bei Bestrahlung mit blauem Licht

Für die winkelabhängigen Reflexionsmessungen wurden ein einzelnes Fliederblatt bzw. zwölf Lagen Fliederblätter übereinander geschichtet, unter Einfallswinkeln von 20°, 30°, 40°, 50°, 60° und 70° mit blauem Licht bestrahlt und die Reflexion bei 0° aufgenommen. Als Weißstandard wurde Magnesiumoxid verwendet, das auf eine Metallplatte aufgeraucht wurde. Die relativen Reflexionen R0 (einzelnes Blatt) und R unendlich (zwölf Lagen Blätter) sind nach Gl. (5-3) das Verhältnis von Probenintensität durch die Intensität des Magnesiumoxids, von denen jeweils der Dunkelstrom abgezogen wurde. Es sind die Ergebnisse für die drei Einstrahlwinkel 20°, 60° und 70°, für die Absorptions- und Streukoeffizienten berechnet werden konnten, abgebildet.

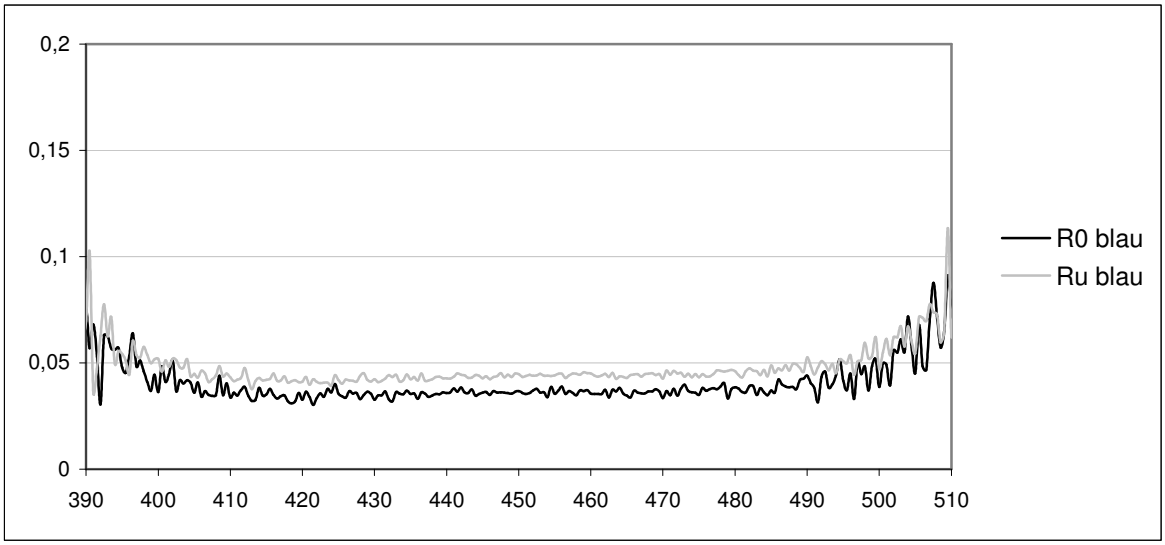

Abb. (6-21) Relative Reflexionen von einer bzw. zwölf Lagen Fliederblätter R0 bzw. R unendlich bei Bestrahlung mit blauem Licht unter 20° Einfallswinkel und 0° Beobachtungswinkel

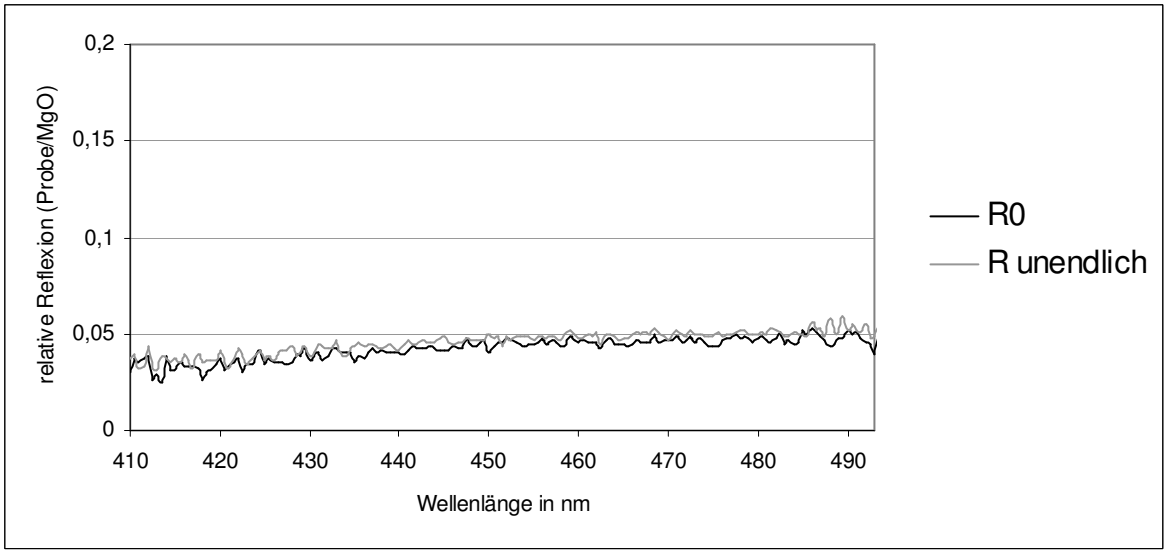

Abb. (6-22) Relative Reflexionen von einer bzw. zwölf Lagen Fliederblätter R0 bzw. R unendlich bei Bestrahlung mit blauem Licht unter 60° Einfallswinkel und 0° Beobachtungswinkel

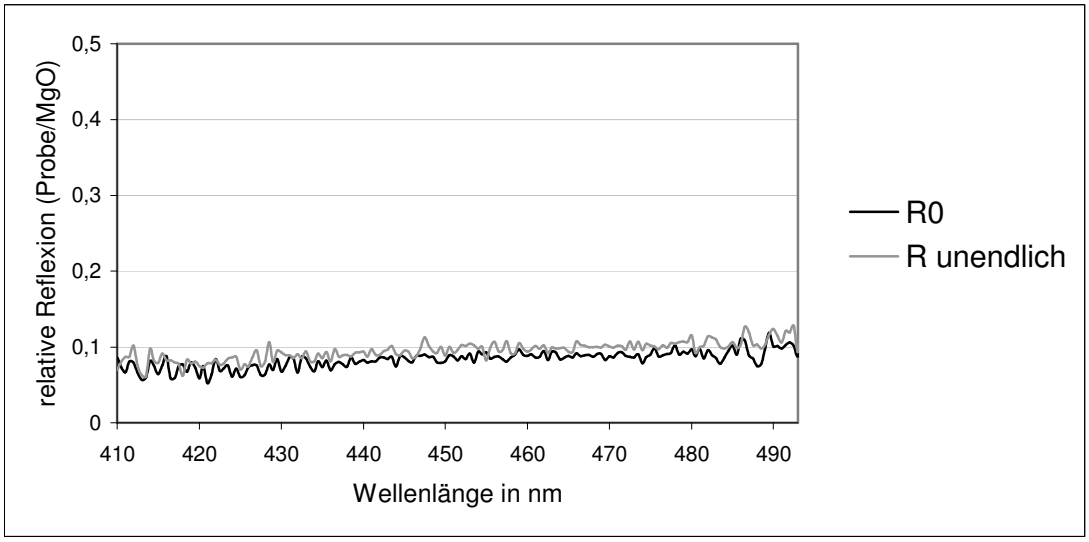

Abb. (6-23) Relative Reflexionen von einer bzw. zwölf Lagen Fliederblätter R0 bzw. R unendlich bei Bestrahlung mit blauem Licht unter 70° Einfallswinkel und 0° Beobachtungswinkel

6.7. Ergebnisse für die winkelabhängigen Reflexionen

Aus den Reflexionsmessungen mit den Farbfiltern wurden die Werte für Einzelblätter R0 und für zwölf Blattlagen R unendlich bei den Wellenlängen 670nm (rot), 550nm (grün) und 465nm (blau) und den jeweiligen Einstrahlwinkeln verwendet (Tabelle (6-2)).

	R0 rot	R0 grün	R0 blau	R unendl. rot	R unendl. grün	R unendl. blau
20	0,0406711	0,06257099	0,03462164	0,07797533	0,074261249	0,042908302
30	0,0603488	0,09750377	0,05717684	0,05523325	0,088254762	0,048420732
40	0,50978203	0,63956725	0,41659666	0,3938627	0,486917139	0,303455312
50	0,22476821	0,35835215	0,23741559	0,20666105	0,329198183	0,190795395
60	0,05057439	0,09037232	0,04478395	0,05653907	0,094445295	0,047846974
70	0,08642547	0,15083973	0,08857842	0,09792299	0,176536615	0,094133346

Tabelle (6-2): Die verwendeten Werte der Reflexionen R0 (Einzelblatt) bzw. R unendlich (zwölf Blattlagen) für verschiedene Einstrahlwinkel (ganz links) und Wellenlängen (rot, grün, blau).

In Abb. (6-24) sind die relativen Reflexionen R0 eines einzelnen Fliederblattes und in Abb. (6-25) die relativen Reflexionen R unendlich für zwölf Lagen Fliederblätter in Abhängigkeit des Einstrahlwinkels aufgetragen. Man sieht, dass erwartungsgemäß die Reflexionswerte für den Grünanteil am höchsten sind, während sie bei den Wellenlängen der Absorption des Chlorophylls im Roten und besonders im Blauen geringer ausfällt. Auffällig ist der Peak um 40°.

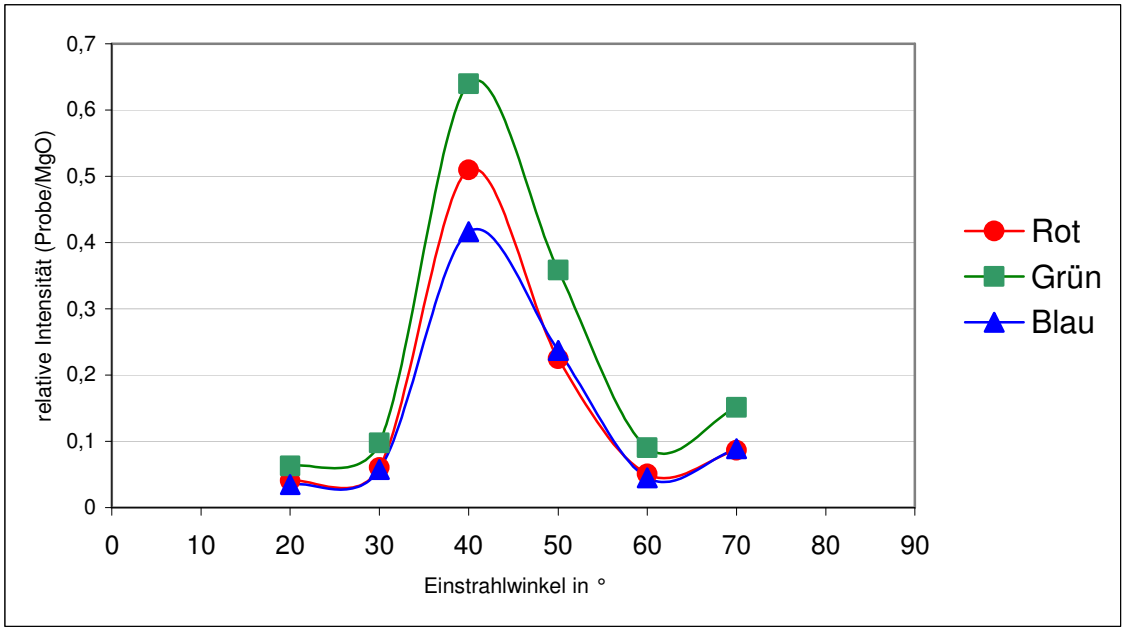

Abb. (6-24) Zusammenstellung der Winkelabhängigkeit der relativen Reflexionen für ein einzelnes Fliederblatt mit Bestrahlung bei drei Wellenlängen (rot: 670nm, grün:550nm, blau:465nm)

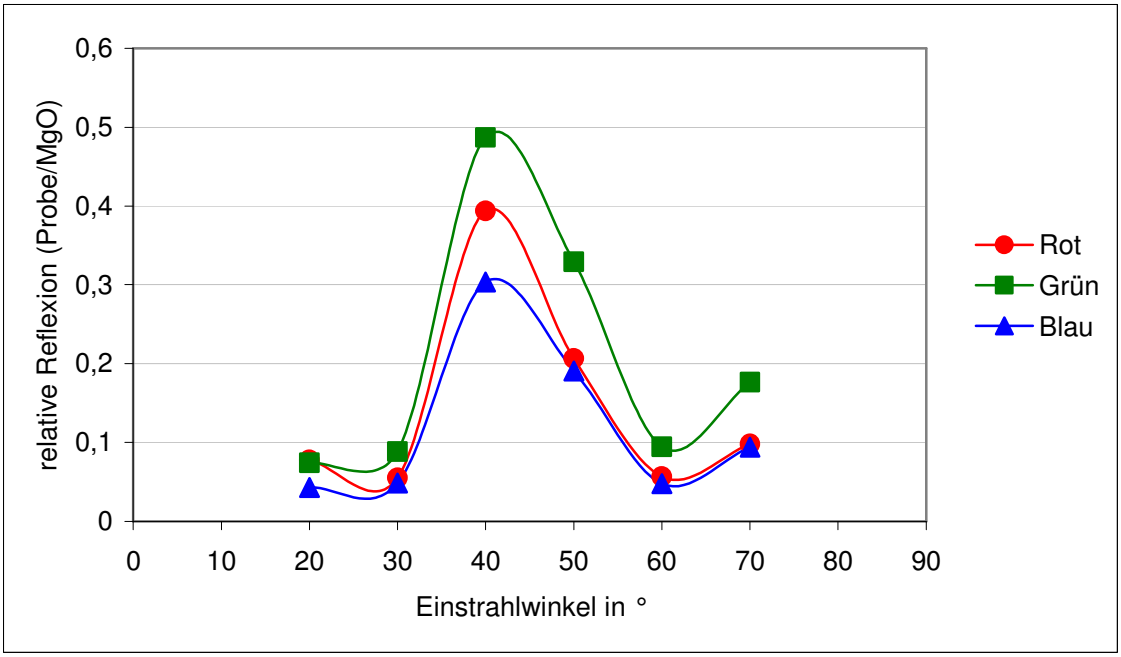

Abb. (6-25) Zusammenstellung der Winkelabhängigkeit der relativen Reflexionen für zwölf Lagen Fliederblätter mit Bestrahlung bei drei Wellenlängen (rot: 670nm, grün: 550nm, blau:465nm)

Um Absorptions- und Streukoeffizienten K bzw. S zu berechnen, wurden die Werte für R0 und R unendlich in Gl. (3-32) und (3-33) mit einer Blattdicke d=0,34mm eingesetzt. Leider war es nur möglich, für die Einstrahlwinkel 20°, 60° und 70° Ergebnisse (siehe Tabelle (6-3) und (6-4) zu berechnen, weil in den anderen Winkelbereichen die Reflexionswerte des Einzelblattes höher als bei zwölf Lagen waren. Laut Kubelka-Munk- Theorie entspricht die Einstrahlung kollimierten Lichts

unter 60° der Bestrahlung der Probe mit diffusem Licht (siehe Gl. (3-1) und Gl. (3-9)) und wird daher als einziges Ergebnis mit Aussagekraft betrachtet.

	K [mm-1] grün	K [mm-1] rot	K [mm-1] blau
20°	2,33749254	0,92355748	2,217667059
30°	-	-	-
40°	-	-	-
50°	-	-	-
60°	3,81537967	2,950249277	3,67072176
70°	1,95614192	2,57836308	3,436110104

Tabelle (6-3): Die Absorptionskoeffizienten berechnet mit Gl. (3-32) aus der Kubelka-Munk-Theorie

	S [mm-1] grün	S [mm-1] rot	S [mm-1] blau
20°	0,40065955	0,167372781	0,20699573
30°	-	-	-
40°	-	-	-
50°	-	-	-
60°	0,86331793	0,372402791	0,385686063
70°	0,95696943	0,608754815	0,774488856

Tabelle (6-4): Die Streukoeffizienten berechnet mit Gl. (3-33) aus der Kubelka-Munk-Theorie

Die erhaltenen Koeffizienten spiegeln nur zum Teil die erwarteten Eigenschaften von Pflanzenblättern wider. Die Absorptionen sollten für blaue und rote Wellenlängen stärker ausfallen als für grüne. Die Abweichungen können durch die Verwendung von kollimiertem statt diffusem Licht, für das die Kubelka-Munk-Theorie eigentlich abgeleitet ist, entstanden sein. Dass der Streukoeffizient dafür im Grünbereich höher ausfällt scheint logisch, da Licht dieses Frequenzbereichs tiefer in ein Blatt eindringen kann als andere Farben und bei geringer Absorption daher stärker gestreut wird.

6.8. Fehlerabschätzung

Die Reflexionsmessungen für den Magnesiumoxid-Standard und die Blattproben wurden jeweils sechsmal für jeden Einstrahlwinkel und Wellenlänge aufgenommen, um den Einfluss des Rauschens zu reduzieren. Es wurden die Mittelwerte gebildet und mittels Fehlerfortpflanzung nach Gauß die jeweiligen Unsicherheiten ermittelt (Tabelle (6-5).

	R0 rot	R0 grün	R0 blau	R unendl. rot	R unendl. grün	R unendl. blau
20	0,00169402	0,00195106	0,00585421	0,001590502	0,001797807	0,002276182
30	0,00103157	0,00291034	0,00445922	0,001824303	0,001550687	0,003362341
40	0,01289596	0,01641189	0,02859203	0,015817601	0,016153656	0,04532992
50	0,0109696	0,01305141	0,03307826	0,009349852	0,007133752	0,055241436
60	0,00120925	0,0053298	0,0029804	0,001350774	0,005939559	0,004248473
70	0,0048755	0,00963463	0,02082202	0,007976867	0,010627892	0,018078662

Tabelle (6-5): Die Unsicherheiten der Reflexionen R0 und R unendlich für verschiedene Einstrahlwinkel (ganz links) und Wellenlängen (rot, grün, blau).

Für die Streu- bzw. Absorptionskoeffizienten S und K wurde die Fehlerfortpflanzung für den Einstrahlwinkel 60° berechnet. In Prozent ergeben die Unsicherheiten für die Streukoeffizienten 2,5% (rot), 4,3% (grün) und 6,2% (blau) bzw. für die Absorptionskoeffizienten 4,9% (rot), 9,4% (grün) und 16% (blau). Vor allem die Unsicherheiten der Absorptionskoeffizienten zeigen, dass diese nur sehr ungenaue Werte liefern und daher nicht die realen Verhältnisse widerspiegeln. Die Messungen der blauen Reflexionen waren grundsätzlich stärker verrauscht und haben dementsprechend höhere Unsicherheiten aufzuweisen.

	Unsicherheit S	Unsicherheit K
rot	0,00941194	0,14566299
grün	0,03679638	0,35896437
blau	0,02406358	0,5498264

Tabelle (6-6): Die Unsicherheiten der Streukoeffizienten S und Absorptionskoeffizienten K für 60° Einstrahlwinkel.

6.9. Qualitative Diskussion des winkelabhängigen Kurvenverlaufs

Der Verlauf der Reflexion mit steigenden Einfallswinkeln lässt sich qualitativ verstehen, wenn man in Betracht zieht, dass sich gleichzeitig mehrere Parameter ändern.

Bei einem einzelnen Fliederblatt teilt sich die Gesamteinstrahlungsleistung nach R+T+A=1 auf Reflexion R, Transmission T und Absorption A auf. Ist der Einstrahlwinkel gering, wie das bei 20° der Fall ist, dringt in das Blatt viel Licht ein wodurch die Reflexion eher gering bleibt und transmittierte und absorbierte Anteile sind noch relativ hoch. Diese sinken jedoch bei steigendem Bestrahlungswinkel stark ab und die Reflexion wächst, bis sie ein Maximum erreicht. Aufgrund des in Abb. (2-

11) gezeigten Minimums der Reflexion für parallel zur Einstrahlebene polarisierten Lichtanteile dringt im Bereich um den Haupteinfallswinkel Φ≈60° wieder mehr Strahlung in das Blatt ein und folglich sinkt die Gesamtreflexion ab. Bei noch höheren Einstrahlwinkeln nimmt die Reflexion dann erneut zu.

Im Fall der 12 Blattlagen gibt es keine Transmission durch die gesamte Schicht, hingegen wird der Teil des Lichts, der in hintere Blattlagen vordringt und nicht absorbiert wird, zurückgestreut und liefert einen gewissen Anteil zur Gesamtreflexion. Diese ist daher bei Bestrahlung aus 20° und auch im Bereich um den Haupteinfallswinkel für viele Blattlagen höher als für ein Einzelblatt. Also immer dann, wenn eine genügend große Lichtmenge in die Blätter eindringen kann, gibt es einen nennenswerten Rückstreuanteil für gestapelte Blätter.

Dagegen übersteigt die Reflexion des Einzelblattes die der vielen Blattschichten bei Einstrahlwinkeln von 30°, 40° und 50°, weil seine Transmission und die Rückstreuung bei mehreren Lagen abnehmen.

Literaturverzeichnis

[1] Kortüm, Gustav, 1969. Reflexionsspektroskopie – Grundlagen, Methodik, Anwendungen. Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York

[2] Schmidt, Werner, 2000. Optische Spektroskopie – Eine Einführung. Wiley-VCH

[3] Laskowski, Wolfgang und Pohlit, Wolfgang, 1974. Biophysik Band 1. Georg Thieme Verlag Stuttgart

[4] Laskowski, Wolfgang und Pohlit, Wolfgang, 1974. Biophysik Band 2. Georg Thieme Verlag Stuttgart

[5] Heldt, Hans W., 1999. Pflanzenbiochemie. Spektrum Akademischer Verlag

[6] Hollas, J. Michael, 1995. Moderne Methoden in der Spektroskopie. Vieweg Lehrbuch Physikalische Chemie

[7] Nultsch, Wilhelm, 1971. Allgemeine Botanik. Georg Thieme Verlag Stuttgart

[8] Schwabl, Franz, 2007. Quantenmechanik 1. Springer

[9] Banwell CN, 1972. Fundumentals of molecular spectroscopy, 2nd edition, Mc Graw Hill

[10] Gottwald W., Heinrich K.H., 1998. UV/VIS-Spektroskopie für Anwender

[11] Nelson, David, Cox, Michael, 2001. Lehninger Biochemie. Springer

[12] Gausman H.W. and Allen W.A., 1973. Optical Parameters of Leaves of 30 Plant Species. Plant. Physiol. (1973) 52, 57-62

[13] Ustin S.L., Jacquemoud S., Govaerts Y.: Simulation of photon transport in a three-dimensional leaf: implications for photosynthesis. Plant, Cell and Environment (2001) 24, 1095-1103

[14] Woolley Joseph T.: Reflectance and Transmittance of Light by Leaves. Plant Physiol. (1971) 47, 656-662

Zusammenfassung

Ziel dieser Arbeit war die Aufnahme reflexionsspektroskopischer Messungen von Fliederblättern. Diese wurden kurz vor den Messungen von einer sonnenbeschienenen, lebenden Pflanze entnommen und mit kollimiertem Licht verschiedener Wellenlängenbereiche von unterschiedlichen Einstrahlwinkeln aus bestrahlt. Berechungen von Streu- und Absorptionskoeffizienten erfolgten mit Gleichungen aus der Kubelka-Munk-Theorie. Die Ergebnisse zeigen erwartungsgemäß eine höhere Reflexion bzw. höhere Streukoeffizienten für den Grünbereich als für blaue oder rote Lichtanteile. Wegen der Verwendung von kollimiertem anstatt diffusem Licht, welches von der Kubelka-Munk-Theorie eigentlich verlangt wird, weichen die Absorptionskoeffizienten von zu erwartenden Werten ab.

Abstract

The aim of this work was to make spectroscopic measurements of the reflection of syringa leaves. The leaves have been put from a living plant shortly before the beginning of the measurements and irradiated with collimated light of different wavelengths under changing angles of irradiation. The scattering and absorption coefficients have been calculated with formulae of the Kubelka-Munk-theory. Results show as expected higher reflection and scattering coefficients for green than blue or red light. Due to the use of collimated instead of diffuse light, which would be requested for the application of the Kubelka-Munk-theory, the absorption coefficients differ from expected values.

Curriculum Vitae

Nikolaus Koch

19. Mai 1978	geboren in Wien

Schulbildung

1984 – 1988	Volksschule in Wien Leopoldstadt, Obere Augartenstrasse
1988 – 1996	Gymnasium in Wien Alsergrund, Wasagasse
1996	Reifeprüfung

Universitäre Laufbahn

Oktober 1996	Beginn des Diplom-Physikstudiums
Februar 2003	1.Diplomprüfung
Okt. 2005 – Feb. 2006	Tutorium auf der Fakultät für Physik
März 2006 – Juli 2006	Tutorium auf der Fakultät für Physik
Okt. 2006 – Feb.2007	Tutorium auf der Fakultät für Physik
März 2007 – Juli 2007	Tutorium auf der Fakultät für Physik
Okt. 2008 – Feb. 2009	Tutorium auf der Fakultät für Physik