

# Fluoreszenz

## Grundlagen

### Aktivierung

Bei der Bestrahlung eines Atoms oder Moleküls werden abhängig von der Wellenlänge der Strahlung verschiedene Effekte erzeugt.

$\lambda$	3	3	30	3	0.03	300	3	3
	km	m	cm	mm	mm	nm	nm	pm

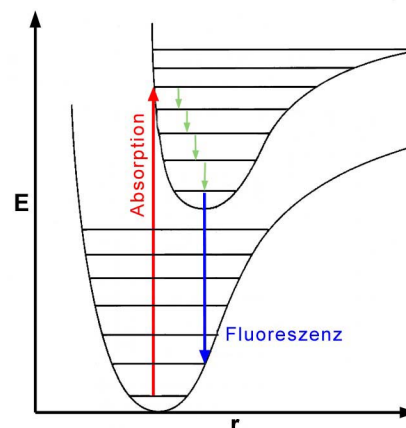
lg $\nu$ in Hz	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
	Radiowellen				Mikrowellen		Fern-IR	Nah-IR	UV-VIS	Vak-UV	Röntgen- und Gammastrahlen					
	Kernspin-Übergänge				Elektronen-spin-übergänge		Rotationen, Schwingungen		Elektronen-übergänge		Photoelektronen					

Wie im obenstehenden Schema gezeigt, finden bei Bestrahlung mit Licht der Wellenlänge von etwa 200 bis 700 nm Elektronenübergänge statt. Es kommt zur **Lichtabsorption**, die mit einem Übergang des Moleküls in einen elektronisch angeregten Zustand unter Änderung der Elektronenkonfiguration einhergeht. Gleichzeitig finden Schwingungsanregungen statt, da die Schwingungsniveaus dichter liegen als die Niveaus für die elektronische Anregung und außerdem Rotationsanregungen, die noch tiefer als die Schwingungsübergänge liegen.

$$E_A(\text{Rotation}) < E_A(\text{Schwingung}) < E_A(\text{Elektronenübergang})$$

Geht man vom Grundzustand (Singulettzustand  $S_0$ ,  $\uparrow\downarrow$ ) des Moleküls aus, so kann die Absorption von Strahlung Elektronen von einem besetzten Orbital in ein energetisch höher liegendes unbesetztes Orbital überführen. Die Spinorientierung wird normalerweise beibehalten, weshalb nach der Anregung wiederum ein Singulettzustand ( $S_1$ ,  $S_2$ , ...) vorliegt.

Die Anregung erfolgt unter Beachtung des **Franck-Condon-Prinzips**. Dieses besagt, dass der elektronische Übergang so schnell erfolgt, dass die schweren Kerne ihre gegenseitige Lage nicht verändern können und der Übergang im Diagramm vertikal erfolgt. Das Molekül kann sich also nach der Absorption in verschiedenen Schwingungsniveaus des elektronisch angeregten Zustandes befinden. Übergänge von  $S_0$  in einen Triplettzustand ( $T_1$ ,  $T_2$ , ...,  $\uparrow\uparrow$ ) unter Spinumkehr sind verboten und finden daher nur sehr selten statt. Übergänge von  $T_1$  zu höheren Triplettzuständen sind erlaubt.



## Desaktivierung

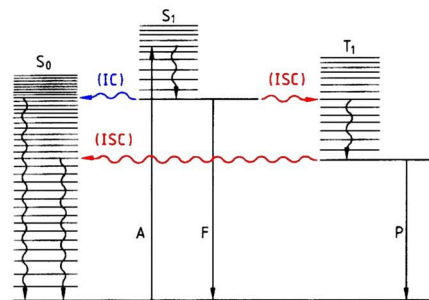
Die Desaktivierung eines elektronisch angeregten Moleküls kann auf vielfältige Weise erfolgen. Das angeregte Molekül kann an einer chemischen Reaktion teilnehmen und so seine Energie abgeben (photochemische Reaktion). Ferner gibt es mehrere physikalische Desaktivierungsmöglichkeiten, mit und ohne Emission von Strahlung.

### Strahlungslose Desaktivierung

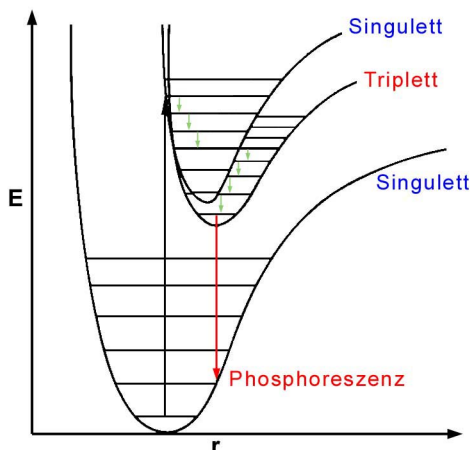
Da keine messbare Strahlung emittiert wird, sind diese Prozesse nur schwer direkt zu verfolgen. Sie sind jedoch indirekt an schlechten Quantenausbeuten nach der Anregung erkennbar.

Zu den strahlungslosen Prozessen zählt die innere Konversion (**internal conversion, IC**), die unter *Spinerhaltung* abläuft, also z. B.  $S_1 \rightarrow S_0$  oder  $T_2 \rightarrow T_1$ . Der Übergang erfolgt isoenergetisch und dauert etwa  $10^{-12}$  s. Dazu gehören

- Die **Schwingungsrelaxation** von einem höheren Schwingungsniveau in den Schwingungsgrundzustand eines angeregten Zustandes. Dies kann z.B. durch Zusammenstöße mit anderen Molekülen erfolgen.
- Der Übergang von einem Schwingungsniveau eines höher angeregten elektronischen Zustandes zu einem entarteten Schwingungsniveau des nächst niederen elektronischen Zustandes gleicher Multiplizität.
- Die Schwingungsrelaxation des  $S_0$ -Zustandes zu seinem Schwingungsgrundzustand.

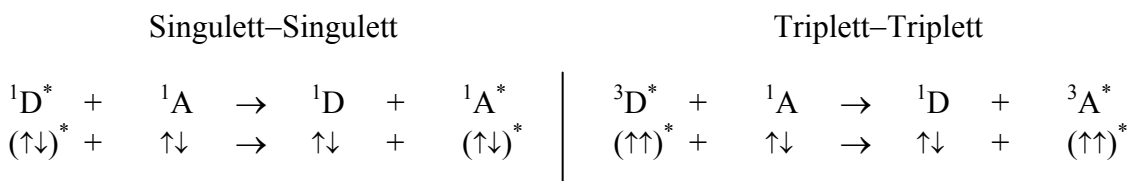


Der zweite strahlungslose Prozess ist der Systemübergang (**intersystem crossing, ISC**). Er erfolgt ebenfalls isoenergetisch und stellt einen Übergang von einem Schwingungsniveau eines höher angeregten elektronischen Zustandes zu einem entarteten Schwingungsniveau des nächst niederen elektronischen Zustandes unterschiedlicher Multiplizität dar (z. B.  $S_1 \rightarrow T_1$ ), wobei *Spinumkehr* stattfindet. Die Dauer für einen ISC beträgt analog zum IC etwa  $10^{-12}$  s.

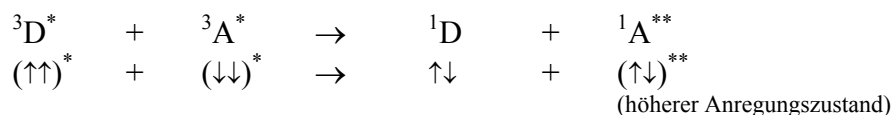


Die Voraussetzung, dass überhaupt Übergänge zwischen verschiedenen Zuständen auftreten können, ist das Vorhandensein von Schnittpunkten zwischen deren Potenzialkurven oder eine große Überlappung der isoenergetischen Schwingungswellenfunktionen. Das nebenstehende Bild zeigt einen ISC von einem Singulett-Niveau zu einem entarteten Triplett-Niveau und anschließender Phosphoreszenz in ein Niveau des  $S_0$ -Grundzustandes.

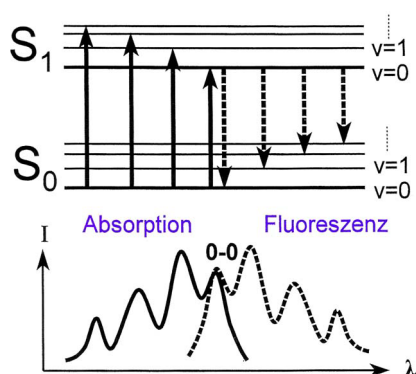
Als **Quenching** bezeichnet man eine intermolekulare strahlungslose Desaktivierung (auch „Löschung“), wobei es zur Singulett-Singulett- und Triplett-Triplett-Energieübertragung bei Stößen mit anderen Molekülen (Quencher) kommt.



Bei der **Triplett-Annihilierung** befinden sich sowohl das Molekül, als auch der Quencher zunächst im  $T_1$ -Zustand, nach dem Stoß ist das Molekül im  $S_0$ -Zustand und der Quencher im  $S_2$ -Zustand.



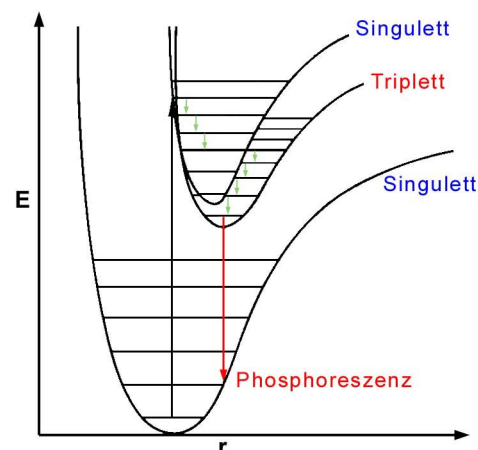
### Desaktivierung unter Emission



Wellenlängen verschoben (Stokes-Shift).

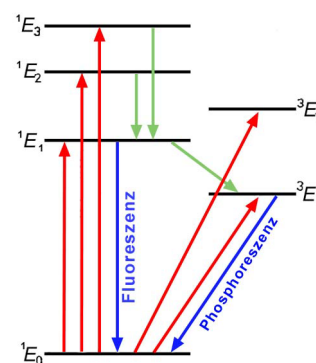
Zur Desaktivierung unter Emission von Strahlung stehen ebenfalls zwei verschiedene Wege zur Verfügung. Bei der **Fluoreszenz** erfolgt ein Übergang vom Schwingungsgrundzustand des niedrigsten elektronisch angeregten Singulettzustandes zu einem Schwingungsniveau des elektronischen Grundzustandes (**Kasha-Regel**). Durch die oben erwähnte Schwingungsrelaxation ist die Fluoreszenz gegenüber der Absorption zu größeren

**Phosphoreszenz** bezeichnet den Übergang vom Schwingungsgrundzustand des ersten angeregten Triplettzustands in den Grundzustand  $S_0$ . Übergänge mit Spinumkehr sind eigentlich quantenmechanisch verboten. Dennoch beobachtet man einen Übergang mit geringer Intensität, da durch Spin-Bahn-Kopplung das Übergangsverbot teilweise aufgehoben wird.



Die Absorption und die verschiedenen physikalischen Desaktivierungsmöglichkeiten werden sehr übersichtlich in einem **Jablonski-Diagramm** dargestellt.

Die roten Pfeile symbolisieren darin einen Absorptionsvorgang, die grünen strahlungslose Übergänge.



### Zeittabelle

Art des Vorgangs	Dauer
Absorption	$10^{-15} - 10^{-16} \text{ s}$
Fluoreszenz	$10^{-6} - 10^{-9} \text{ s}$
Phosphoreszenz	$10^{-2} - 10^{-4} \text{ s}$
Internal Conversion	$10^{-12} \text{ s}$
Intersystem Crossing	$10^{-4} - 10^{-12}$
Schwingungsrelaxation	$> 10^{-12} \text{ s}$

Sämtliche Desaktivierungsmöglichkeiten konkurrieren miteinander. Daher ist der Vergleich ihrer Geschwindigkeiten interessant. Da Schwingungsrelaxationen auf einer Zeitskala von  $10^{-9}$  bis  $10^{-12} \text{ s}$  ablaufen, dürfte Fluoreszenz mit einer Lebensdauer von ca.  $10^{-8} \text{ s}$  kaum oder gar nicht stattfinden. Bei vielen Molekülen ist IC von  $S_1$  nach  $S_0$  allerdings stark gehemmt, weshalb hier Fluoreszenz oder Phosphoreszenz erfolgen können.

### Der Zusammenhang zwischen pK- und pK\*-Werten (Förster-Zyklus)

Das undissoziierte Molekül ROH und das Anion  $\text{RO}^-$  weisen im allgemeinen Fall unterschiedliche Anregungsenergien  $E$  und  $E'$  auf. Aus thermodynamischen Gründen besteht ein wichtiges Verhältnis zwischen den Differenzen  $\text{pK} - \text{pK}^*$  und  $E - E'$ , mit dem man die  $\text{pK}^*$ -Werte bestimmen kann.

Aus der allgemeinen Beziehung

$$\text{pK} = -\log K = \ln \frac{K}{\ln 10} \quad K : \text{Gleichgewichtskonstante}$$

und der Formel für die freie Standardreaktionsenthalpie  $\Delta G^0$

$$\Delta G^0 = -RT \cdot \ln K \quad \Delta G^0 : \text{freie Standardreaktionsenthalpie}$$

ergibt sich durch Differenzbildung:

$$\text{pK} - \text{pK}^* = \frac{\Delta G^0 - \Delta G^{0*}}{RT \cdot \ln 10}$$

Die freie Standardreaktionsenthalpie ist experimentell jedoch nur schwer bestimmbar, daher muss die Messung auf eine andere Weise erfolgen. Da die Reaktion unter konstantem Druck durchgeführt wird und das Volumen der Probe während des Reaktionsverlaufs annähernd konstant bleibt, kann  $\Delta_R G^0$  durch die Freie Energie  $\Delta F^0$  ersetzt werden, welche spektroskopisch gemessen werden kann.

Die Freie Energie  $\Delta F^0$  ist definiert nach:

$$\Delta F^0 = \Delta U^0 - T \cdot \Delta S^0$$

F: Freie Energie

U: Innere Energie

S: Entropie

Der Förster-Zyklus ist ein Kreisprozess, der sich die Tatsache zunutze macht, dass die Änderung der Inneren Energie U als Anregungsenergie E spektroskopisch messbar ist.

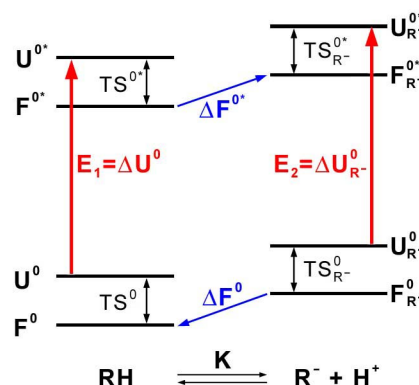
Im nebenstehenden Diagramm werden Energiebeziehungen deutlich. Es werden die Anregungsenergien für die undissoziierte Form  $\Delta E(RH)$  und die dissoziierte Form  $\Delta E(R^-)$  gemessen. Damit ist die Änderung der Inneren Energie  $\Delta U^0$  bekannt.

Es kann angenommen werden, dass die Änderung der Entropie  $TS^0$  sowohl im Grund- als auch im angeregten Zustand gleich sind.

Die Änderung der freien Energie berechnet sich daher nach:

$$\Delta F^{0*} = F_{R^-}^{0*} - F^{0*}$$

$$\Delta F^0 = F_{R^-}^0 - F^0$$



Die Anregungsenergien berechnen sich analog durch:

$$E_1 = U^{0*} - U^0$$

$$E_2 = U_{R^-}^{0*} - U_{R^-}^0$$

Da es sich um einen Kreisprozess handelt, muss die Addition der Einzelschritte Null ergeben. Die Gleichung des Prozesses lautet (im Uhrzeigersinn):

$$E_1 - TS^{0*} + \Delta F^{0*} + TS_{R^-}^{0*} - E_2 - TS_{R^-}^0 - \Delta F^0 + TS^0 = 0$$

$$E_2 - E_1 = -TS^{0*} + \Delta F^{0*} + TS_{R^-}^{0*} - TS_{R^-}^0 - \Delta F^0 + TS^0$$

$$E_2 - E_1 = \Delta F^{0*} - \Delta F^0 + T(S_{R^-}^{0*} - S^{0*}) - T(S_{R^-}^0 + S^0)$$

$$E_2 - E_1 = \Delta F^{0*} - \Delta F^0 + T\Delta S^{0*} - T\Delta S^0$$

Da die Entropieänderung  $\Delta S$  wie bereits erwähnt als konstant angenommen werden kann, also  $\Delta S^0 = \Delta S^{0*}$  gilt, vereinfacht sich die Gleichung zu

$$E_2 - E_1 = \Delta E = \Delta F^{0*} - \Delta F^0$$

Für die Frequenz gilt:

$$\Delta E = h \cdot \nu$$

Aus der Beziehung

$$pK - pK^* = \frac{\Delta G^0 - \Delta G^{0*}}{RT \cdot \ln 10} \quad \Rightarrow \quad pK - pK^* = \frac{\Delta E}{RT \cdot \ln 10}$$

folgt nun durch Auflösen nach  $pK^*$ :

$$pK^* = pK - \frac{\Delta E}{RT \cdot \ln 10}$$

## **Durchführung**

Zur Ermittlung des  $pK^*$ -Wertes von 2-Naphthol wurden von verdünnten Lösungen mit verschiedenen pH-Werten jeweils ein Absorptions- und ein Fluoreszenzspektrum aufgenommen.

Es wurde zunächst eine  $5 \cdot 10^{-3}$  molare Stammlösung von 2-Naphthol in 0.1 molare Natronlauge hergestellt. Dazu wurden 36.0 mg 2-Naphthol in 50 ml NaOH gelöst.

Von dieser Stammlösung wurden jeweils 0.2 ml

- |                             |           |                       |
|-----------------------------|-----------|-----------------------|
| a) mit 0.1 n HCl            | auf pH 1  | (undissoziierte Form) |
| b) mit 0.1 n NaOH           | auf pH 13 | (dissoziierte Form)   |
| c) mit 0.1 n Phosphatpuffer | auf pH 8  | (beide Formen)        |

auf 10 ml und damit eine  $10^{-4}$  molare Lösung verdünnt.

Von diesen drei Lösungen wurde jeweils ein Absorptionsspektrum im Bereich von 380 bis 310 nm aufgenommen. Das entsprechende Lösungsmittel (HCl, NaOH oder der Puffer) diene als Referenz.

Durch Einstrahlen in das Absorptionsmaximum der Lösungen wurde schließlich ein Fluoreszenzspektrum aufgenommen.

Sicherheit

## Natronlauge

## NaOH

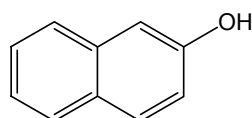
- R 35** Verursacht schwere Verätzungen
- S 26** Bei Berührung mit den Augen sofort gründlich mit Wasser abspülen und den Arzt konsultieren
- S 37/39** Bei der Arbeit geeignete Schutzhandschuhe und Schutzbrille/Gesichtsschutz tragen
- S 45** Bei Unfall oder Unwohlsein sofort Arzt hinzuziehen (wenn möglich dieses Etikett vorzeigen)
- C** Ätzend

## Salzsäure

## HCl

- R 34** Verursacht Verätzungen
- R 37** Reizt die Atmungsorgane
- S 26** Bei Berührung mit den Augen sofort gründlich mit Wasser abspülen und den Arzt konsultieren
- S 36/37/39** Bei der Arbeit geeignete Schutzkleidung, Schutzhandschuhe und Schutzbrille/Gesichtsschutz tragen
- S 45** Bei Unfall oder Unwohlsein sofort Arzt hinzuziehen (wenn möglich dieses Etikett vorzeigen)
- C** Ätzend

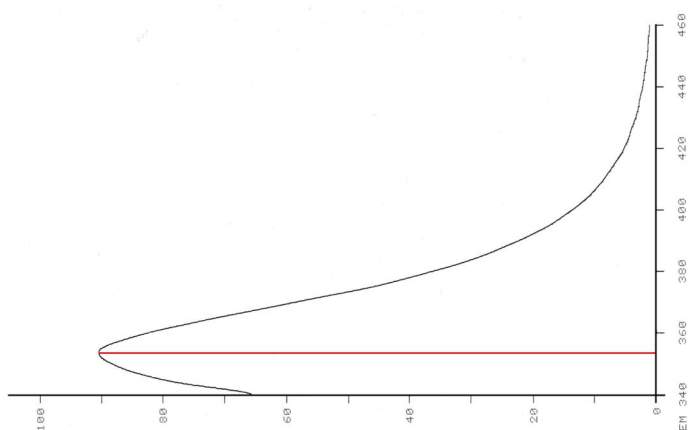
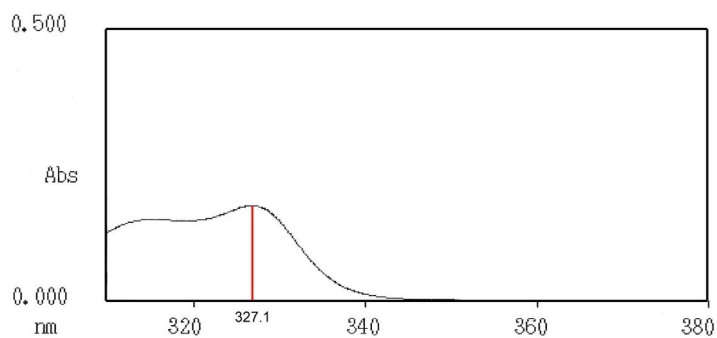
## 2-Naphthol

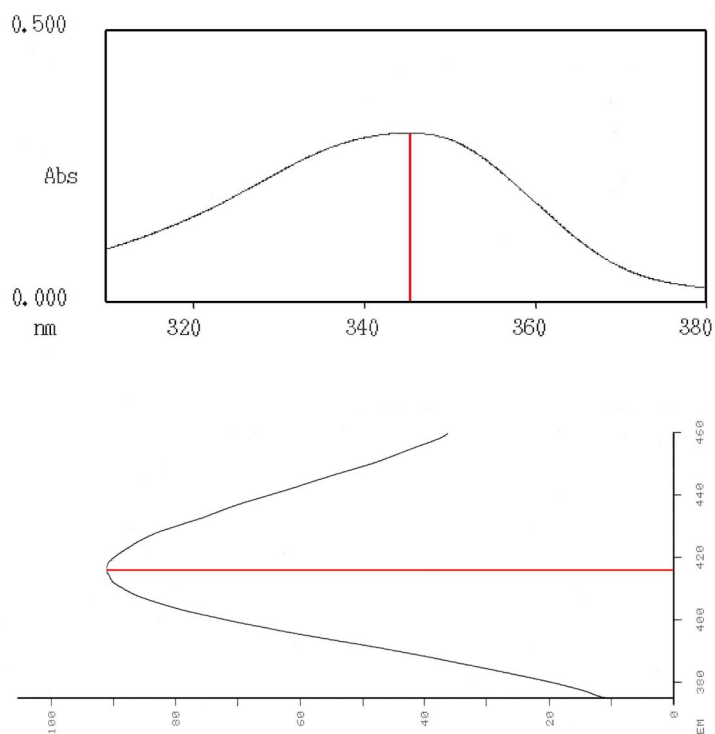
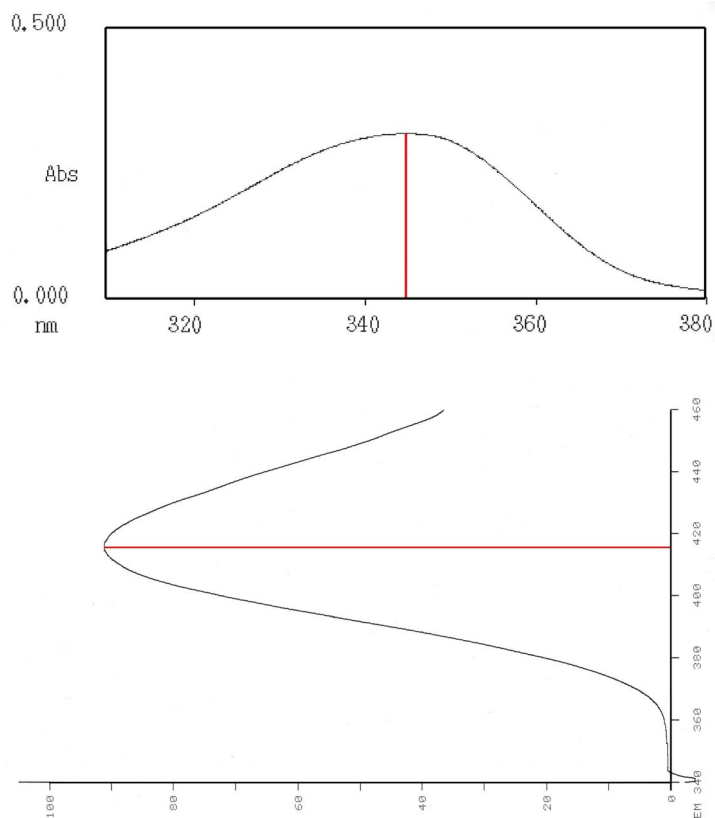
C<sub>10</sub>H<sub>8</sub>O

- R 20/22** Gesundheitsschädlich beim Einatmen und Verschlucken
- R 50** Sehr giftig für Wasserorganismen
- S 24/25** Berührung mit den Augen und der Haut vermeiden
- S 61** Freisetzung in die Umwelt vermeiden. Besondere Anweisungen einholen/Sicherheitsdatenblatt zu Rate ziehen
- Xn** Gesundheitsschädlich / Mindergiftig
- N** Umweltgefährlich

**Messergebnisse**

	Maximum in nm	HCl pH 1	NaOH pH 13	Phosphatpuffer pH 8	
Absorption	$\lambda_{\max}$	327.1	345.9	345.0	
Fluoreszenz	$\lambda_{\max}$	357.0	414.0	357.0	419.0

**Absorptions- und Emissionsspektrum bei pH 1**

**Absorptions- und Emissionsspektrum bei pH 13****Absorptions- und Emissionsspektrum bei pH 8**

**Auswertung**

Ziel des Versuches ist es, den  $pK^*$ -Wert mit Hilfe des Förster-Zyklus zu bestimmen. Dafür wurden für die dissoziierte und die undissoziierte Form die Frequenz des 0-0-Überganges und Anregungsenergie ermittelt.

Für den 0-0-Übergang gilt: 
$$\nu_{0-0} = \frac{1}{2} (\nu_{\text{abs}}^{\text{max}} + \nu_{\text{fluo}}^{\text{max}})$$

Für die Anregungsenergie gilt: 
$$\Delta E = h \cdot \nu \cdot N_A$$

Die Multiplikation mit der Avogadrokonstanten ist nötig, da thermodynamische Größen standardmäßig auf 1 Mol normiert sind.

**Undissoziierte Form**

$$\nu_{0-0} = \frac{1}{2} (\nu_{\text{abs}}^{\text{max}} + \nu_{\text{fluo}}^{\text{max}}) = \frac{1}{2} \left( \frac{c}{\lambda_{\text{abs}}^{\text{max}}} + \frac{c}{\lambda_{\text{fluo}}^{\text{max}}} \right) = \frac{1}{2} \left( \frac{c}{327.1 \text{ nm}} + \frac{c}{357.0 \text{ nm}} \right) = 8.78135 \cdot 10^{14} \text{ Hz}$$

$$\Delta E_{\text{HA}} = h \cdot \nu_{0-0} \cdot N_A = h \cdot 8.78135 \cdot 10^{14} \text{ Hz} \cdot N_A = 5.81859 \cdot 10^{-19} \text{ J} \cdot N_A = 350.4036 \frac{\text{kJ}}{\text{mol}}$$

**Dissoziierte Form**

$$\nu_{0-0} = \frac{1}{2} (\nu_{\text{abs}}^{\text{max}} + \nu_{\text{fluo}}^{\text{max}}) = \frac{1}{2} \left( \frac{c}{\lambda_{\text{abs}}^{\text{max}}} + \frac{c}{\lambda_{\text{fluo}}^{\text{max}}} \right) = \frac{1}{2} \left( \frac{c}{345.9 \text{ nm}} + \frac{c}{414.0 \text{ nm}} \right) = 7.95420 \cdot 10^{14} \text{ Hz}$$

$$\Delta E_{\text{A}^-} = h \cdot \nu_{0-0} \cdot N_A = h \cdot 7.95420 \cdot 10^{14} \text{ Hz} \cdot N_A = 5.27051 \cdot 10^{-19} \text{ J} \cdot N_A = 317.3973 \frac{\text{kJ}}{\text{mol}}$$

**Der Förster-Zyklus**

Durch Einsetzen der errechneten Werte für die Anregungsenergien in den Förster-Zyklus wird der  $pK^*$ -Wert von 2-Naphthol berechnet.

$$pK^* = pK + \frac{\Delta E}{R \cdot T \cdot \ln 10} = pK + \frac{\Delta E_{\text{A}^-} - \Delta E_{\text{HA}}}{R \cdot T \cdot \ln 10} = 9.51 + \frac{350403.6 \frac{\text{J}}{\text{mol}} - 317397.3 \frac{\text{J}}{\text{mol}}}{8.314 \frac{\text{J}}{\text{mol} \cdot \text{K}} \cdot 296 \text{ K} \cdot \ln 10} = 3.69$$

**Wertetabelle**

		Undissoziierte Form pH 1 in HCl		Dissoziierte Form pH 13 in NaOH	
		Absorption	Fluoreszenz	Absorption	Fluoreszenz
$\lambda_{\text{max}}$	nm	327.1	357.0	345.9	414.0
$\nu$	Hz	$9.1651 \cdot 10^{14}$	$8.3976 \cdot 10^{14}$	$8.6670 \cdot 10^{14}$	$7.2414 \cdot 10^{14}$
$\nu_{0-0}$	Hz	$8.7814 \cdot 10^{14}$		$7.9542 \cdot 10^{14}$	
$\Delta E$	$\frac{\text{kJ}}{\text{mol}}$	350.4036		317.3973	
$\Delta \Delta E$	$\frac{\text{kJ}}{\text{mol}}$	33.0063			

**Fehlerbetrachtung**

Literaturwert:  $\text{pK}^* = 3.0 - 3.3$

$$\overline{\text{pK}^*} = \frac{3.3 - 3.0}{2} + 3.0 = 3.15$$

$$\text{Abweichung} = \frac{3.69 - 3.15}{3.15} = 17\%$$

Die Abweichung ist auf Ungenauigkeiten der Messgeräte sowohl bei der Erstellung der Lösungen als auch bei der Messung der Absorptions- und Fluoreszenzwerte zurückzuführen.

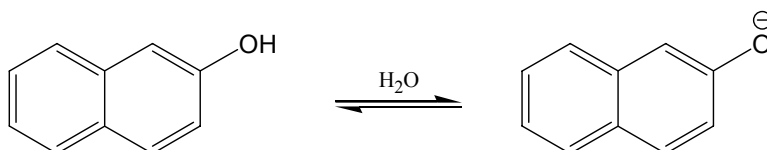
Hinzu kommen systematische Fehler bei der Bestimmung der Maxima, die manuell abgelesen werden mussten.

Gesamtdiskussion

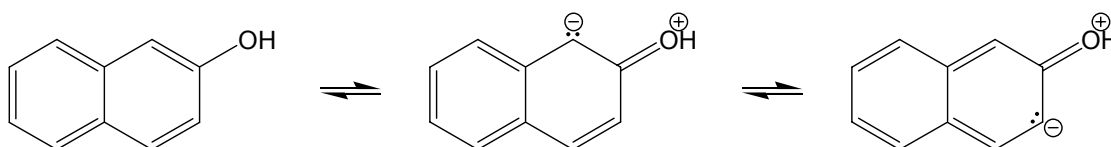
$$pK = 9.51 > pK^* = 3.69$$

Der ermittelte  $pK^*$ -Wert für den angeregten Zustand ist kleiner als für den elektronischen Grundzustand. Dies ist auf das Vorhandensein von mehreren mesomeren Grenzformeln der undissoziierten Form im angeregten Zustand zurückzuführen.

Im Grundzustand wird im alkalischen Milieu die unpolare Form des Naphthols deprotoniert:



Im angeregten Zustand existieren jedoch noch einige zusätzliche mesomere Grenzformeln, die eine Deptronierung mehr begünstigen, als die unpolare Spezies des Moleküls.



---

Dieses Protokoll wurde selbstständig erstellt.