

A 60 Fluoreszenzspektroskopie

Aufgabe:

Bestimmen Sie das Absorptions- und Fluoreszenzspektrum des Farbstoffs Rhodamin 6G in ethanolischer Lösung. Bestimmen Sie in beiden Spektren jeweils die Wellenlänge mit maximaler Absorbanz bzw. Emission, die entsprechende maximale Energie sowie den energetischen Unterschied der Absorptions- und Fluoreszenzspektren.

Hinweise zur Gefährdungsbeurteilung:

Verwendete Chemikalien: Rhodamin 6G, Ethanol

Verwendete Geräte: Spektrometer, Lichtwellenleiter, Leuchtdioden, UV-Lichtquelle (Deuteriumlampe), Computer

Grundlagen:

Absorption:

Nach Absorption von Photonen im sichtbaren und ultravioletten Spektralbereich kann es zur Anregung in den elektronisch angeregten Zustand kommen. Die Intensität für diesen Übergang kann man quantenmechanisch als Überlappung der Schwingungswellenfunktionen des elektronischen Grund- und angeregten Zustands verstehen. Die Absorption ist umso effizienter, je größer der Wert des Überlappungsintegrals (Franck-Condon-Faktor) ist. Eine quantitative Beschreibung zwischen einfallender Lichtintensität und Extinktionskoeffizient kann durch das Lambert-Beer'sche Gesetz beschrieben werden. Eine Herleitung des Lambert-Beer'schen Gesetzes befindet sich in der Versuchsvorschrift von Versuch A34. Demnach kann die Absorbanz A (nicht zu verwechseln mit der Absorption $= 1 - T$ (Transmission $T = I/I_0$)) wie folgt formuliert werden:

$$A = \log(I_0/I) = \epsilon c d$$

d : Länge der durchstrahlten Schicht (optische Weglänge)

ϵ : molarer dekadischer Extinktionskoeffizient

Die Absorbanz wird oft als optische Dichte (OD) bezeichnet. Auch Absorbanz und Extinktion sind nicht identisch. Bei der Extinktion wird die Gesamlichtschwächung, die durch Absorption, Streuung und Reflexion verursacht wird, berücksichtigt. Bei der Absorbanz hingegen ist nur die durch Absorption bedingte Lichtschwächung gemeint.

Fluoreszenz:

Durch Absorption optischer Strahlung wird ein Teil der Moleküle in den elektronisch angeregten Zustand überführt. Von dort kann es nach Schwingungsrelaxation zu einem strahlenden Übergang zwischen elektronisch angeregtem und elektronischem Grundzustand kommen. Gemäß Kashas Regel^[5] erfolgt die Fluoreszenz vom Schwingungsgrundzustand des niedrigsten elektronisch angeregten Zustands. Aufgrund der Tatsache, dass viele Moleküle im angeregten Zustand etwas größere Bindungsabstände besitzen als im Grundzustand, sind die entsprechenden Potentialflächen in der Regel zu längeren Werten verschoben, woraus sich auch die oft beobachtete Spiegelbildsymmetrie zwischen Absorptions- und Fluoreszenzspektren ergibt. Wichtige Konkurrenzprozesse zur Fluoreszenz sind die innere Konversion sowie die Interkombination („intersystem crossing“ – ISC – als Übergang z. B. unter Spinumkehr von einem Singulett- in einen Triplettzustand), welche beide strahlungslos ablaufen. Ein Maß für die Effizienz der Fluoreszenz ist die Quantenausbeute.

Durchführung:

Die Messungen werden mit einem modular aufgebauten Fluoreszenzspektrometer durchgeführt, mit dem nach kurzem Umbau auch Absorptionsmessungen durchgeführt werden können. Zur Absorptionsanregung stehen eine Wolfram-Halogen- und eine Deuteriumlampe zur Verfügung. Die Fluoreszenzanregungen erfolgen mittels verschiedener Leuchtdioden. Die Küvette mit der zu untersuchenden Lösung (Rhodamin 6G in Ethanol) steht bereits zur Verfügung und braucht nicht hergestellt zu werden. Führen Sie nun die Messungen für die Absorptions- und Fluoreszenzmessungen durch und werten Sie die Daten gemäß den folgenden Aufgaben aus.

Die Spektren werden mit der Software *SpectraWiz* aufgenommen. Die Daten aus dem Programm können auf einem USB-Stick gespeichert und zur Analyse in Datenverarbeitungsprogramme (z.B. Origin) eingelesen werden.

Bevor Sie mit den Messungen beginnen, erstellen Sie im Verzeichnis ► **Fluoreszenzspektroskopie** ► **A60** einen neuen Ordner mit aktuellem Datum und ihrer Gruppennummer. Sie können während des Experiments ihre Daten in diesem Ordner ablegen.

Öffnen Sie das Programm *SpectraWiz* und bauen Sie die Apparatur so um, dass ein Absorptionsspektrum aufgenommen werden kann.

Absorptionsspektren aufnehmen

Bevor Sie das Absorptionsspektrum aufnehmen können, müssen Sie eine Dunkelmessung und eine Referenzmessung durchführen. Stellen Sie dazu im Verzeichnis ► **View** das Programm auf ► **Scope** und wählen Sie dann unter ► **Setup** ► **Detector integration time** (Abbildung 1) eine Belichtungsdauer des Sensors aus (Werte um 70).

Für die weiteren Messungen darf der Wert der Belichtungsdauer nicht mehr verändert werden, da ansonsten alle Schritte wiederholt werden müssen!

Führen Sie nun einen **Dark Scan** durch, d.h. ohne Probe und ohne Licht (Abbildung 2).

Bringen Sie nun die Küvette mit dem Lösungsmittel in die Halterung ein und nehmen Sie einen **Reference Scan** auf (Abbildung 3).

Wechseln Sie unter ► **View** ► **Absorbance** die Ansicht, um das Absorptionsspektrum der Probe aufzunehmen.

Sie können die Daten unter ► **File** ► **Save** ► **Sample** in ihrem zuvor angelegten Ordner abspeichern.

Fluoreszenzspektrum aufnehmen

Bauen Sie die Apparatur so um, dass Sie ein Fluoreszenzspektrum aufnehmen können.

Wie schon bei der Absorptionsmessung müssen zuvor ein Dunkel- und ein Referenzspektrum aufgenommen werden.

Jedoch sollte vor dem Aufnehmen der Referenzmessungen und des Fluoreszenzspektrums eine neue ► **Detector integration time** eingestellt werden (Werte um 500).

Lassen Sie zum Messen des Fluoreszenzspektrums den ► **Scope-Mode** die ganze Zeit eingestellt.

Speichern Sie das Spektrum in ihrem angelegten Ordner und übertragen Sie die Dateien nach dem Experiment auf ihren mitgebrachten USB-Stick.

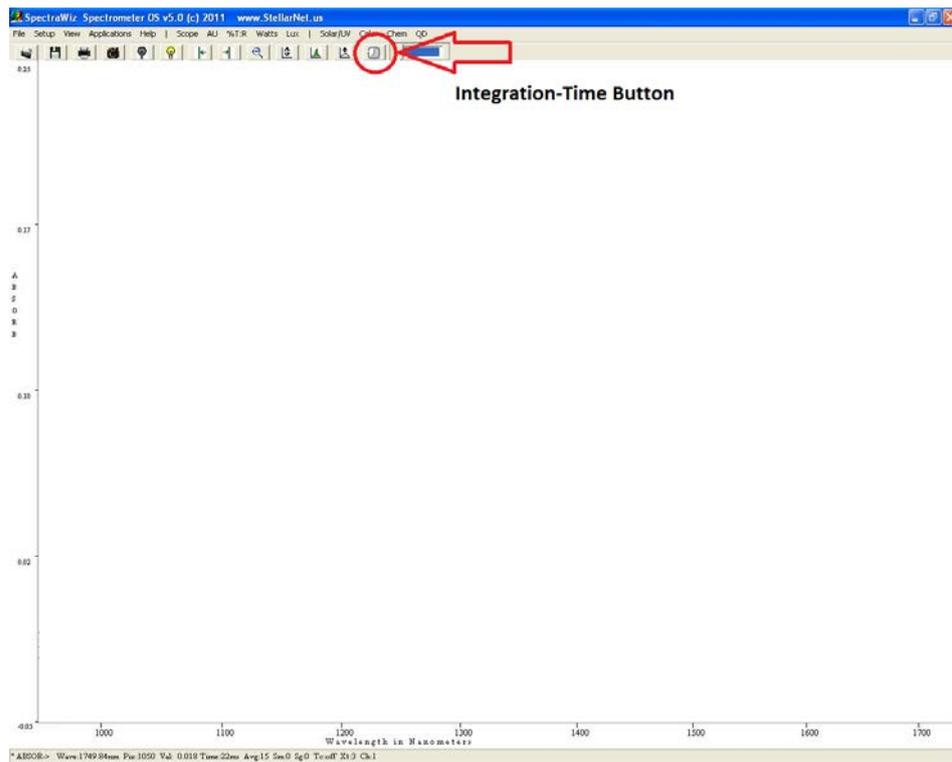


Abbildung 1: Integration Time ändern

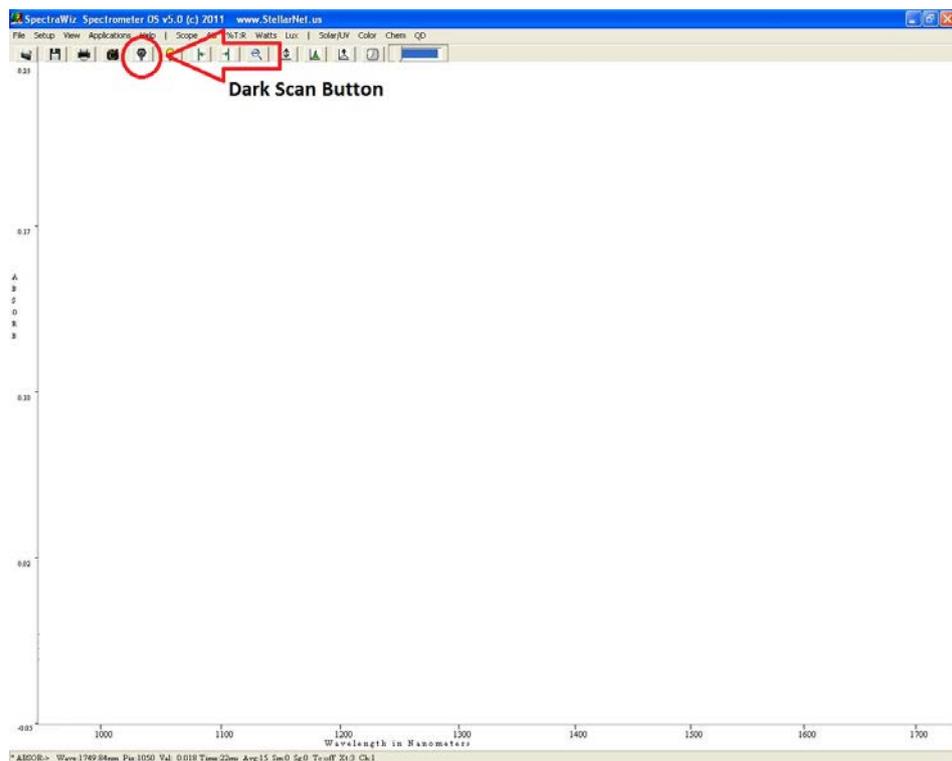


Abbildung 2: Dark-Scan aufnehmen

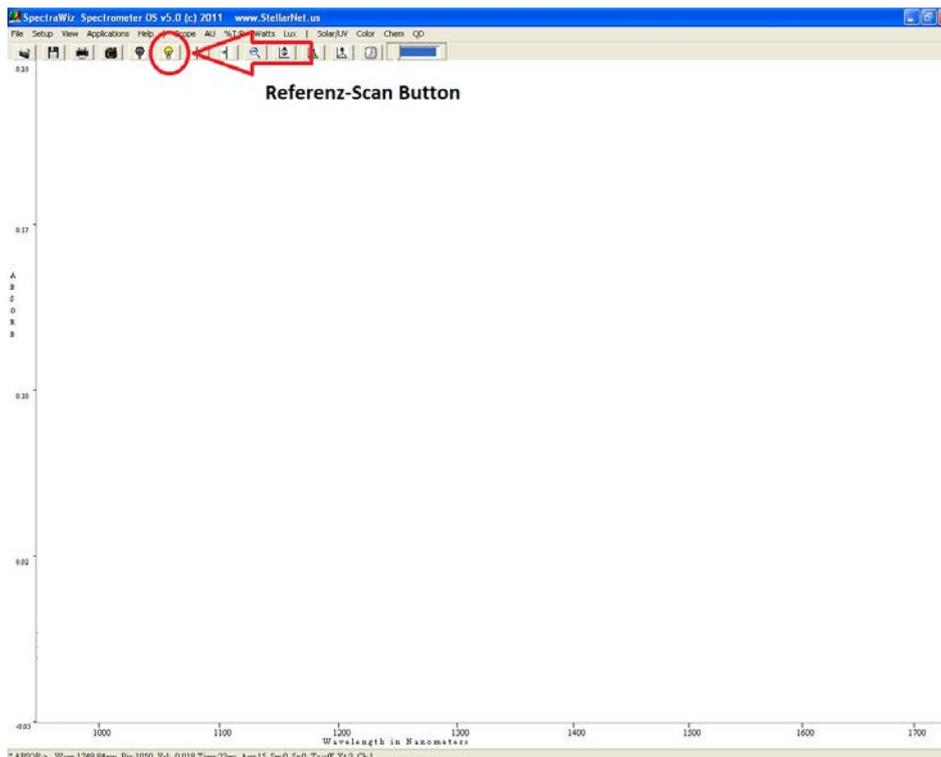


Abbildung 3: Referenz-Scan aufnehmen

Auswertung und Diskussion:

Skizzieren einen Aufbau zur Aufnahme eines Absorptions- sowie eines Fluoreszenzspektrums.

1. Tragen Sie in einem Diagramm die optische Dichte (OD) gegen die Wellenlänge (in nm) aus der Absorptionsmessung auf und bestimmen Sie die Konzentration der verwendeten Lösung. Die optische Weglänge der Küvette beträgt 1 cm, für den Extinktionskoeffizienten verwenden Sie bitte einen Wert nach Literaturstudium.
2. Tragen Sie das Absorptionsspektrum in Abhängigkeit der Energie (in eV) auf und bestimmen Sie daraus das Absorptionsmaximum.
3. Tragen Sie das Fluoreszenzspektrum sowohl in Abhängigkeit der Wellenlänge als auch der Energie als Abszisse auf und bestimmen Sie die entsprechenden Maxima.
4. Bestimmen Sie den Unterschied (in nm und cm^{-1}) der Maxima des Absorptions- und des Fluoreszenzspektrums (Stokes'sche Verschiebung).
5. Führen Sie eine qualitative Fehlerdiskussion durch.

6. Diskutieren Sie Ihre Ergebnisse, auch unter Einbeziehung von Literaturdaten. Erklären Sie anhand eines Energieniveauschemas, wie man die Spiegelbildsymmetrie zwischen Absorptions- und Fluoreszenzspektrum erklären kann.

Vergessen Sie nicht die für diesen Versuch verwendete Literatur zu zitieren. (keine Zitate aus Internetquellen; bitte geben Sie immer die Fachzeitschrift oder das Buch an, in welchem der Artikel veröffentlicht wurde).

Zusatzaufgabe:

Skizzieren Sie in einem Jabłoński-Diagramm fundamentale Prozesse nach Lichtabsorption und beschreiben Sie kurz die einzelnen Prozesse Absorption, Schwingungsrelaxation in elektronischen Grund- und angeregten Zuständen, innere Konversion (internal conversion, IC), Fluoreszenz, Interkombination (intersystem crossing, ISC) sowie Phosphoreszenz.

Was man wissen sollte:

Absorption, Franck-Condon-Übergänge und -Faktoren, Zusammenhang zwischen Überlappungsintegral und Extinktionskoeffizienten, Lambert-Beer'sches Gesetz, Fluoreszenz, Kashas Regel, optische Strahlung, strahlende und strahlungslose Prozesse, Quantenausbeute, Stokes'sche Verschiebung, Boltzmann-Verteilung, Zusammenhang zwischen Energie, Wellenzahl und Wellenlänge, Funktionsweise von Lichtwellenleitern.

Dieser Versuch wurde u. a. mit Hilfe des Preisgeldes aus dem KIT-Fakultätslehrpreis 2014, mit welchem die Dozenten des Physikalisch-Chemischen Anfängerpraktikums ausgezeichnet wurden, finanziert.

Empfohlene Literatur

- [1] ATKINS, DE PAULA; Physikalische Chemie, 5. Auflage, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2013
- [2] WEDLER; Lehrbuch der physikalischen Chemie, 6. Auflage, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2012
- [3] SCHMIDT; Optische Spektroskopie: Eine Einführung, 2. Auflage, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2000

- [4] U. Brackmann, *Lambdachrome® Laser Dyes*, 2nd Edition, Lambda Physik GmbH, Göttingen, 1994
- [5] M. Kasha, Characterization of electronic transitions in complex molecules, *Discuss. Faraday Soc.*, 1950, 9, 14-19
- [6] M. Kasha, Collisional Perturbation of Spin-Orbital Coupling and the Mechanism of Fluorescence Quenching. A Visual Demonstration of the Perturbation, *J. Chem. Phys.*, 20, 71, 1952