

Fluoreszenz und Excimerenbildung

Fragen und Stichworte zur Vorbereitung:

- Aufbau und Funktion eines Fluoreszenzspektrometers
- Spektrale und natürliche Bandbreite
- Signal-Rausch-Verhältnis
- Jablonski-Diagramm: Erklärung der Lage von Fluoreszenzbanden mittels eines Energieniveaudiagramms
- Erklärung der Höhe von Fluoreszenzbanden (Integrale Absorption, Übergangsdipol, Born-Oppenheimer-Näherung, Franck-Condon-Faktoren, Potentialkurven zweiatomiger Moleküle)
- Excimerenbildung

Grundlagen

Fluoreszenz

Die folgenden Ausführungen zu Elektronenspektren in Emission beschränken sich auf in einem Lösungsmittel gelöste Moleküle. Nach Anregung durch Absorption befindet sich ein Molekül in Schwingungsniveaus des ersten elektronisch angeregten (S_1) oder eines höheren Singulettzustands ($S_2, S_3\dots$) und kann durch verschiedene Prozesse wieder in seinen energetischen Grundzustand (niedrigstes Schwingungsniveau des elektronischen Zustands S_0) übergehen. Man unterscheidet dabei zwischen als Lumineszenz bezeichneten Vorgängen, die mit Emission von Strahlung verbunden sind (Fluoreszenz und Phosphoreszenz, in Abb. 1 als gerade Pfeile dargestellt), und Desaktivierung durch strahlungslose Prozesse (gewellte Pfeile in Abb. 1).

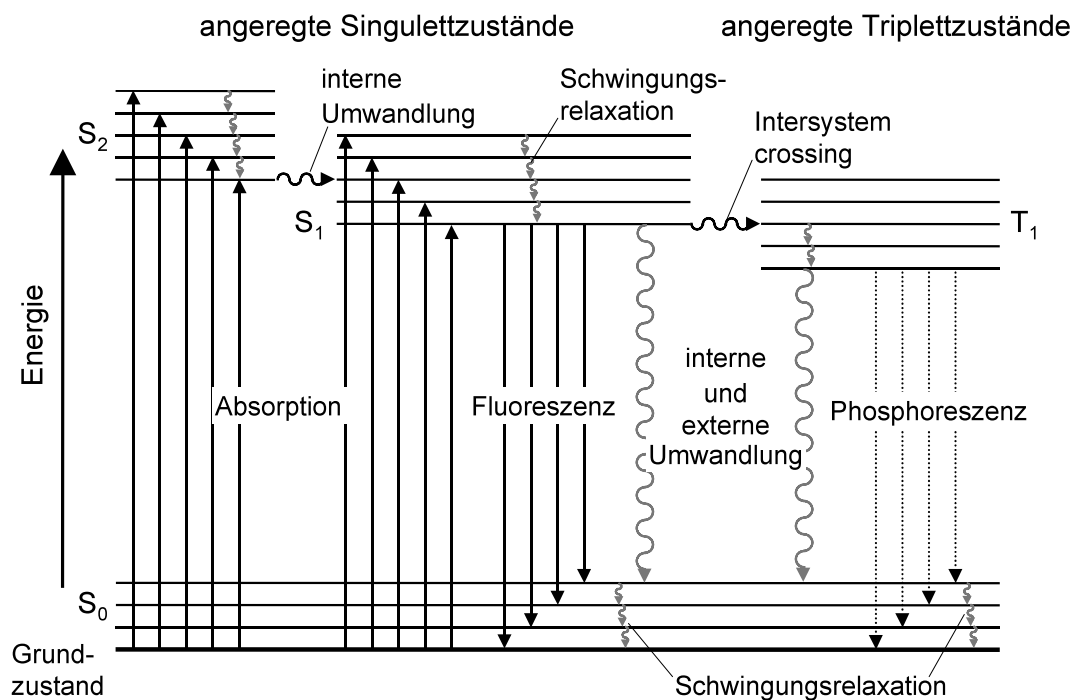


Abb. 1 Partielles Energieniveauschema („Jablonski-Diagramm“) eines lumineszierenden Systems

Zunächst erfolgt rasch ($t \approx 10^{-12}$ s) durch Zusammenstöße zwischen Molekülen in der Lösung Relaxation in den Schwingungsgrundzustand des jeweiligen angeregten elektronischen Niveaus (Schwingungsrelaxation, siehe Abb. 1). Als interne Umwandlung bezeichnet man Prozesse, durch die ein Molekül ohne Aussendung von Strahlung in einen weniger energiereichen Elektronenzustand übergeht. Dieser Mechanismus ist auch für den strahlungslosen Übergang aus S_2 - und S_3 -Zuständen in den S_1 -Zustand verantwortlich. Bei diesen Übergängen ist in der Regel keine Fluoreszenz zu beobachten (Ausnahme: Fluoreszenz von Azulen aus S_2). Auch an diese Schritte schließt sich wieder eine Relaxation in den energetisch niedrigsten Schwingungszustand an. Die Desaktivierung des Singulett-niveaus S_1 erfolgt jedoch nicht nur durch diesen strahlungslosen Prozess, da die Energiedifferenz zwischen S_1 und S_0 größer ist als die zwischen höheren benachbarten Singulett-niveaus. Die strahlungslose Umwandlung in das Singulett-niveau S_0 kann nur über die gleichzeitige Anregung einer Vielzahl von Schwingungen erfolgen. Der Prozess verläuft dadurch langsamer und ermöglicht ein effektives Konkurrieren der Fluoreszenz:

Fluoreszenz tritt beim Übergang vom niedrigsten Schwingungsniveau des angeregten Singulettzustands S_1 in ein Schwingungsniveau des Singulettgrundzustands S_0 auf. Die Übergangsrate k_f liegt im Bereich von 10^7 bis 10^8 s^{-1} .

Unter Interkombinationsübergängen (engl. *intersystem crossing*, ebenfalls strahlungslos) versteht man den quantenmechanisch verbotenen Spinaustauschprozess, durch den ein Singulettzustand in einen Triplettzustand (oder umgekehrt) überführt wird.

Phosphoreszenz erfolgt dagegen aus dem niedrigsten Schwingungsniveau des Triplettzustands T_1 in ein Schwingungsniveau des Singulettzustands S_0 . Die Übergangsrate reicht, da der Übergang paritätsverboten und somit viel unwahrscheinlicher ist, von 10^4 s^{-1} bis zu Werten > 1 s^{-1} . Bei der Fluoreszenzlöschung (externe Umwandlung, strahlungslos) wird die Anregungsenergie auf ein anderes Molekül (engl. *quencher*) übertragen.

Konzentrationsabhängigkeit der Fluoreszenz und Excimerenbildung

Bei höheren Konzentrationen an Fluorophoren tritt häufig im Vergleich zu verdünnteren Systemen eine Abnahme der Fluoreszenz auf. Diese ist meist mit einer spektralen Veränderung verbunden, Ursache hierfür sind verschiedene Prozesse:

Je höher die Konzentration an der fluoreszierenden Spezies ist, desto mehr steigt die Wahrscheinlichkeit, dass die emittierte Strahlung eines Moleküls von einem anderen Molekül reabsorbiert wird. Die Voraussetzung dafür ist, dass sich Emissions- und Absorptionsspektrum teilweise überlappen. Reabsorption erfolgt daher vor allem für den kurzwelligen Anteil der emittierten Strahlung, so dass bei hohen Konzentrationen schließlich der kurzwellige Teil des Emissionsspektrums verschwindet. Ein weiterer möglicher Prozess ist die Bildung von Dimeren im Grundzustand, wodurch die Konzentration an Monomeren und damit auch die Intensität der Monomeren-Fluoreszenz verringert wird. Die Form des Fluoreszenzspektrums bleibt dabei jedoch unverändert, da Grundzustands-Dimere nicht fluoreszieren. Das Absorptionsspektrum wird dagegen häufig zu längeren Wellenlängen verschoben.

Ein wichtiger, konzentrationsabhängiger Prozess ist die Bildung von als Excimeren (engl. *excited dimer*) bezeichneten angeregten Dimeren. Im Gegensatz zu den Grundzustands-Dimeren existieren Excimere nur im angeregten Zustand. Die Bildung eines Excimeren D erfolgt durch Wechselwirkung zwischen einem angeregten Monomeren M^* und einem Molekül im Grundzustand M.



Die Bildung eines Excimeren kann mit Hilfe des in Abb. 2 gezeigten Potentialkurvenverlaufs erläutert werden. Der Grundzustand eines Excimeren ist instabil, denn bei Abnahme des Molekülabstands nimmt die potentielle Energie stetig zu. Ist hingegen einer der beiden Reaktionspartner im elektronisch angeregten Zustand (A^*), so kommt es zur Bildung eines Potentialminimums, in dem das Excimer stabilisiert wird.

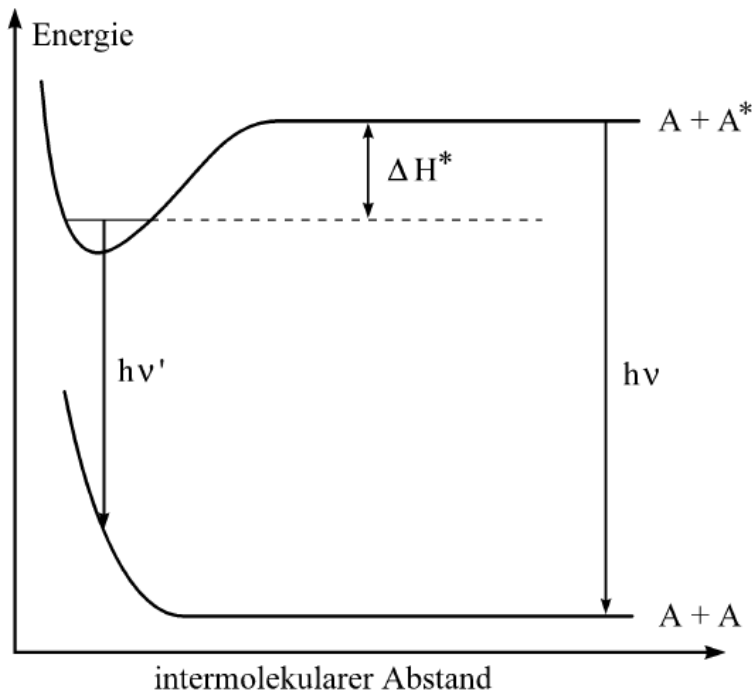


Abb. 2: Potentielle Energie als Funktion des intermolekularen Abstandes für den Grundzustand und den ersten angeregten Zustand (S_1) eines Excimeren (aus „Physikalisch-Chemisches Fortgeschrittenen-Praktikum, K. Müller, H. Dilger, Universität Stuttgart, 2008)

Während das Absorptionsspektrum des Fluorophors bei der Excimerenbildung unverändert bleibt, tritt im Fluoreszenzspektrum eine neue, längerwellige Bande auf. Da der Grundzustand der Excimeren instabil ist, ist diese Bande breit und unstrukturiert. Bei niedrigen Konzentrationen überwiegt die Fluoreszenz des Monomeren, bei höheren Konzentrationen nimmt die Wahrscheinlichkeit für eine Wechselwirkung entsprechend Gleichung 1 und somit die Excimerfluoreszenz zu.

In Gegenwart eines Löschermoleküls (z. B. Sauerstoff oder Molekül der gleichen Molekülsorte wie das angeregte Molekül bei der Excimerenbildung) treten folgende Prozesse bei der Desaktivierung eines angeregten Moleküls A^* miteinander in Konkurrenz:

Emission von Fluoreszenz mit der Ratenkonstant k_f



Innermolekulare strahlungslose Desaktivierung mit der Ratenkonstante k_n



Reaktion mit dem Löschermolekül mit der Ratenkonstante k_a



Bei der Excimerenbildung:



Während die Prozesse mit den Ratenkonstanten k_f und k_n monomolekulare Reaktionen sind, handelt es sich bei der Reaktion mit den Löschermolekülen um eine bimolekulare Reaktion. Insgesamt gilt für die Desaktivierung des angeregten Moleküls A^* hier formuliert für die Löschung durch ein Molekül der gleichen Molekülsorte):

$$-\frac{d[A^*]}{dt} = (k_f + k_n)A^* + k_a[A^*][A] = (k_f + k_n + k_a[A])A^* \quad (5)$$

Als Fluoreszenzquantenausbeute ϕ bezeichnet man den Bruchteil der angeregten Moleküle, der unter Emission eines Lichtquants (also Fluoreszenz) desaktiviert wird, entsprechend Gleichung (5) gilt:

$$\phi = \frac{k_f}{k_f + k_n + k_a[A]} \quad (6)$$

Beträgt die absorbierte Intensität I_a [Quanten/s], so ist die Fluoreszenzintensität $I = \phi \cdot I_a$

Die Fluoreszenzintensität nimmt für einen gegebenen Prozess ihren Maximalwert ($\phi = \phi_{\max}$) an, wenn keine Fluoreszenzlöschung mehr auftritt, also die Konzentration der Löschermoleküle (hier: $[A]$) gegen Null strebt.

$$\phi_{\max} = \frac{k_f}{k_f + k_n} \quad (7)$$

Es gilt die Gleichung von Stern und Vollmer:

$$\frac{\phi_{\max}}{\phi} = \frac{\frac{k_f}{k_f + k_n}}{\frac{k_f}{k_f + k_n + k_a[A]}} = 1 + \frac{[A]}{\frac{k_f + k_n}{k_a}} = 1 + \frac{[A]}{c_h} \quad (8)$$

$c_h = (k_f + k_n)/k_a$ bezeichnet man als Halbwertlöschkonstante, denn für $[A]=c_h$ ist die Fluoreszenzquantenausbeute durch Löschung auf die Hälfte des Maximalwerts reduziert.

Für die Quantenausbeute der Bildung des Pyrens gilt; da die Reaktionen (2) und (3) Konkurrenzreaktionen zur Bildung des Excimeren (4b) sind:

$$\phi_{BE} = \frac{k_a[A]}{k_f + k_n + k_a[A]} \quad (9)$$

Das Excimer kann durch Fluoreszenz (10) oder strahlungslos (11) mit den Ratenkonstanten k_f' bzw. k_n' desaktiviert werden, dabei zerfällt es in die nicht-angeregten Monomere A, Dimere im Grundzustand existieren nicht:



Die Wahrscheinlichkeit, dass ein bereits gebildetes Excimer fluoresziert ist entsprechend:

$$\phi_{E'} = \frac{k_f'}{k_f' + k_n'} \quad (12)$$

Die Quantenausbeute der Excimerfluoreszenz ϕ' ist das Produkt der Gleichungen (9) und (12):

$$\phi' = \phi_{BE} \cdot \phi_{E'} = \frac{k_a[A]}{k_f + k_n + k_a[A]} \cdot \frac{k_f'}{k_f' + k_n'} \quad (13)$$

ϕ' erreicht seinen Maximalwert, wenn $[A]$ gegen unendlich geht:

$$\phi_{\max}' = \frac{k_f'}{k_f' + k_n'} \quad (14)$$

Für das Verhältnis von ϕ_{\max}' zu ϕ' gilt:

$$\frac{\phi_{\max}'}{\phi'} = \frac{\frac{k_f'}{k_f' + k_n'}}{\frac{k_a[A]}{k_f + k_n + k_a[A]} \cdot \frac{k_f'}{k_f' + k_n'}} = \frac{k_f + k_n + k_a[A]}{k_a[A]} = 1 + \frac{c_h}{[A]} \quad (15)$$

Messung von Fluoreszenzspektren

Die Messung von Fluoreszenzspektren erfolgt mit Fluoreszenzspektrometern. Die Fluoreszenz-Intensität wird in Abhängigkeit von der Emissionswellenlänge bei gegebener, fester Anregungswellenlänge aufgezeichnet (Emissionsspektrum). Verändert man dagegen die Wellenlänge der anregenden Strahlung und misst man die jeweils zugehörige Fluoreszenz-Intensität der Proben bei einer konstanten Emissionswellenlänge, so erhält man ein Fluoreszenz-Anregungsspektrum, dass bei konstanter Anregungsenergie dem Absorptionsspektrum der jeweiligen Substanz entspricht.

Versuchsdurchführung:

1. Aufgabe:

Stellen Sie Lösungen vom Pyren (molare Masse: 202.3 g/mol) mit folgenden Konzentrationen her: 10 mmol/l, 4 mmol/l, 2 mmol/l, 1 mmol/l, 0.4 mmol/l, 0.2 mmol/l, 0.04 mmol/l. Stellen Sie die Lösung mit der größten Konzentration durch Einwiegen von Substanz und Lösungsmittel in einem 100 ml Messkolben her. Die weiteren Konzentrationen erhalten Sie durch Verdünnen, nutzen Sie dazu die 10 ml Messkolben. Spülen Sie alle Kolben mindestens 5 Minuten mit Schutzgas vor und leiten Sie durch jede Lösung mindestens 5 Minuten Schutzgas hindurch. Auch die Küvette sollten Sie jeweils vor den einzelnen Messungen mit Schutzgas spülen. Warum ist es wichtig, dass die Lösungen möglichst frei von Sauerstoff sind?

2. Aufgabe:

Messen Sie ein Absorptionsspektrum der verdünntesten Lösung, bestimmen Sie die Absorptionsmaximum und überlegen Sie, bei welcher Anregungswellenlänge Sie die intensivste Emission erwarten.

3. Aufgabe:

Messen Sie zunächst das Fluoreszenzemissionsspektrum der verdünntesten Lösung, bei der in der letzten Aufgabe bestimmten Anregungswellenlänge. Wählen Sie einen sinnvollen Wellenlängenbereich für die Emission und messen Sie Spektren bei den folgenden Spaltbreiten für die Emission: 1.5nm, 2.5 nm, 5 nm und 10 nm. Den Emissionswellenlängenbereich können Sie nach der ersten Messung sinnvoll verkleinern. Welche Spaltbreite ist optimal? Begründen Sie Ihre Antwort. Überprüfen Sie anhand einer geeigneten Bande im Emissionsspektrum, ob die Faustregel

$$\Delta\lambda_{sp} \leq \frac{1}{10} \Delta\lambda_{nat}$$

mit

$\Delta\lambda_{sp}$: spektrale Bandbreite des Monochromators

$\Delta\lambda_{nat}$: natürliche Linienbreite der Bande im Emissionsspektrum

für die verwendeten spektralen Bandbreiten erfüllt ist.

Stellen Sie das Absorptionsspektrum und das Emissionsspektrum unter optimierten Bedingungen in einer gemeinsamen graphischen Darstellung dar.

4. Aufgabe:

Messen Sie die Fluoreszenzemissionsspektren aller anderen Lösungen bei den in der letzten Aufgabe ermittelten Bedingungen.

5. Aufgabe:

Messen Sie zwei Fluoreszenzanregungsspektren der 2 mmol Lösung von Pyren in Cyclohexan bei Emissionswellenlängen von 470 nm und 380 nm. Stellen Sie die beiden Anregungsspektren in einer gemeinsamen graphischen Darstellung dar. Was folgt aus diesem

Vergleich? Mit welcher anderen spektroskopischen Messungen kann man die gleiche Information erhalten.

6. Aufgabe:

Bestimmen Sie zunächst die Halbwertlöschkonstante c_h durch Auftragung der relativen Fluoreszenzintensitäten des Monomeren und des Excimeren als Funktion der Konzentration des Pyrens (siehe Abb. 2 in Ref. (1))

Unter photostationären Bedingungen besteht zwischen dem Quotienten der Fluoreszenzintensität des Monomeren $I(A^*)$ und des Excimeren $I((AA)^*)$ und der Konzentration des Pyrens ein linearer Zusammenhang. Tragen Sie $I((AA)^*)/I(A^*)$ gegen die Pyrenkonzentration auf und bestimmen Sie die Steigung der Geraden. Welche physikalischen Größen können Sie aus der Geradengleichung bestimmen, wenn Sie zuvor die Halbwertlöschkonstante c_h bestimmt haben?

Eine Einweisung in die Bedienung des UV-VIS- und Fluoreszenzspektrometers erhalten Sie am Versuchstag.

Bitte beachten Sie, dass der Versuch nicht in den normalen Räumen des physikalisch-chemischen Praktikums, sondern im NatLab (Raum U312) im Anorganik-Gebäude im 3. Stock stattfindet.

Literatur

(1) Förster, Th. (1969), Angew. Chem. 81, 364

Anhang:

Sicherheitsdatenblatt von Pyren

Sicherheitsdatenblatt von Cyclohexan