

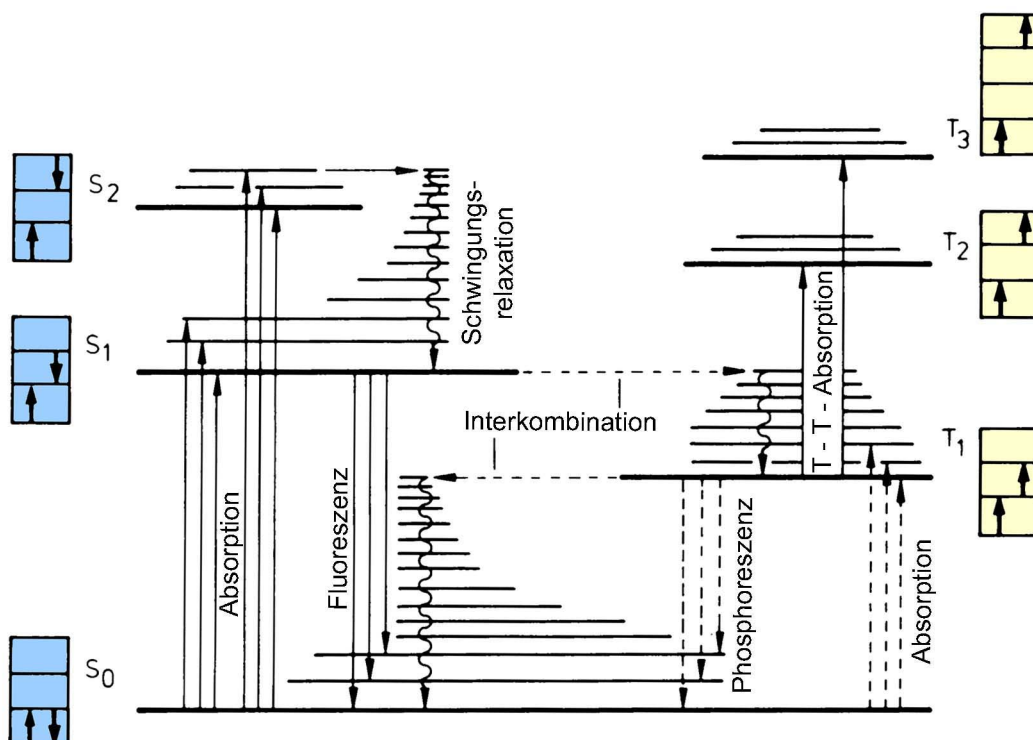
Kinetik der Fluoreszenzlöschung nach Stern-Volmer

Grundlagen

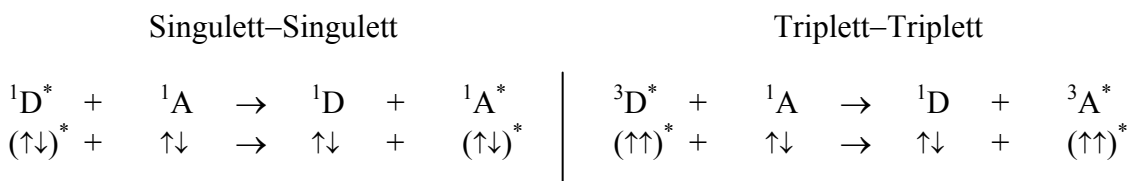
Bei der Bestrahlung eines Moleküls mit Licht geeigneter Wellenlänge kommt es zur Lichtabsorption, die mit einem Übergang des Moleküls in einen elektronisch angeregten Zustand unter Änderung der Elektronenkonfiguration einhergeht. Die Desaktivierung eines elektronisch angeregten Moleküls kann auf vielfältige Weise erfolgen. Das angeregte Molekül kann an einer chemischen Reaktion teilnehmen und so seine Energie abgeben (photochemischen Reaktion). Ferner gibt es mehrere physikalische Desaktivierungsmöglichkeiten, mit und ohne Emission von Strahlung. Dazu zählen:

- Fluoreszenz: strahlender Übergang vom elektronisch ersten angeregten Zustand S_1 in den Grundzustand S_0
- Phosphoreszenz: strahlender Übergang vom elektronisch angeregten Triplett-Zustand T_1 in den Grundzustand S_0 unter Spinumkehr
- Schwingungsrelaxation: strahlungsloser Übergang von einem höheren Schwingungsniveau in den Schwingungsgrundzustand
- Internal Conversion: strahlungsloser isoenergetischer Übergang zwischen verschiedenen elektronischen Zuständen gleicher Spinmultiplizität
- Intersystem Crossing: strahlungsloser isoenergetischer Übergang zwischen verschiedenen elektronischen Zuständen ungleicher Spinmultiplizität
- Quenching: Löschung der Fluoreszenz durch Stöße mit anderen Molekülen (sog. Quenchern), abhängig von Druck oder Konzentration der Quencher.

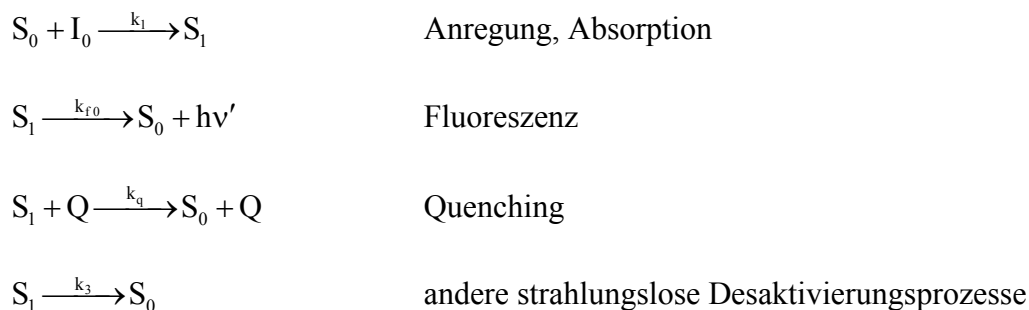
Sämtliche Vorgänge werden im Jablonski-Termschema anschaulich dargestellt:



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.



In einer Lösung, die mit einem Lichtstrahl konstanter Intensität durchstrahlt wird und deren optische Dichte so gering ist, dass die Absorptionsrate über das ganze Volumen konstant ist, finden die folgenden Reaktionen statt:



Für die zeitliche Änderung des angeregten Zustands S_1 kann man damit folgendes Geschwindigkeitsgesetz aufstellen:

$$\frac{dS_1}{dt} = I_a - S_1(k_{f0} + k_q Q + k_3) \quad \text{mit } I_a = I_0 \cdot S_0 \cdot k_1 = \text{gesamte absorbierte Intensität,}$$

$$k_{f0} + k_q Q + k_3 = k_f = \text{Fluoreszenzabklingrate}$$

Für den stationären Zustand (steady state, ss) gilt:

$$\frac{dS_1}{dt} = 0 \Rightarrow [S_1]_{ss} = \frac{I_a}{k_{f0} + k_q Q + k_3}$$

Die Zahl der Moleküle, die pro Zeiteinheit fluoreszieren, erhält man durch Multiplikation mit k_f :

$$k_{f0} [S_1]_{ss} = \frac{k_{f0} I_a}{k_{f0} + k_q Q + k_3}$$

Die Fluoreszenzausbeute Φ_f wird als Verhältnis der Anzahl der fluoreszierenden Moleküle zur Anzahl der absorbierten Photonen definiert:

$$\Phi_f = \frac{k_{f0} [S_1]_{ss}}{I_a}$$

$$\Phi_f = \frac{k_{f0}}{I_a} \cdot \frac{I_a}{k_{f0} + k_q Q + k_3}$$

$$\Phi_f = \frac{k_{f0}}{k_{f0} + k_q Q + k_3}$$

Für die Fluoreszenzausbeute ohne Quencher ($Q = 0$) gilt:

$$\Phi_f^o = \frac{k_{f0}}{k_{f0} + k_3}$$

Daraus folgt für das Verhältnis $\frac{\Phi_f^o}{\Phi_f}$:

$$\frac{\Phi_f^o}{\Phi_f} = \frac{k_{f0} + k_q Q + k_3}{k_{f0}} \cdot \frac{k_{f0}}{k_{f0} + k_3}$$

$$\frac{\Phi_f^o}{\Phi_f} = 1 + \frac{k_q Q}{k_{f0} + k_3}$$

Mit Einführung der Löschkonstante K erhält man die Stern-Volmer-Gleichung:

$$\frac{\Phi_f^o}{\Phi_f} - 1 = \frac{k_q}{k_{f0} + k_3} Q = K \cdot Q$$

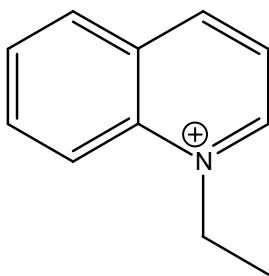
$$K = \frac{k_q}{k_{f0} + k_3} = k_q \cdot \tau_0$$

τ_0 : Fluoreszenzabklingzeit ohne Quencher

τ_0 ist die effektive Lebensdauer des angeregten Zustandes bei Abwesenheit eines Lösers. Allgemein ergibt sich die mittlere Lebensdauer eines Zustandes als reziproke Summe der Geschwindigkeitskonstanten aller Konkurrenzreaktionen über die dieser Zustand verlassen werden kann:

$$\frac{1}{k_f + k_d} = \tau_0$$

Trägt man $\frac{\Phi_f^o}{\Phi_f} - 1$ gegen Q auf erhält man eine Gerade aus deren Steigung man bei Kenntnis von τ_0 die Geschwindigkeitskonstante der Löschung k_q berechnen kann.

Durchführung

Es wurden Fluoreszenzspektren von 5 NEC-Lösungen (N-Ethyl-Chinolin) mit verschiedenen Konzentrationen an KCl als Löschesubstanz sowie ein Spektrum von reinem NEC aufgenommen.

Zunächst wurden 25 ml Stammlösung aus einer NEC-Lösung der Konzentration $1.5 \cdot 10^{-3} \frac{\text{mol}}{\text{l}}$ und 18.6 mg Kaliumchlorid angesetzt. Die KCl Konzentration betrug darin $0.01 \frac{\text{mol}}{\text{l}}$.

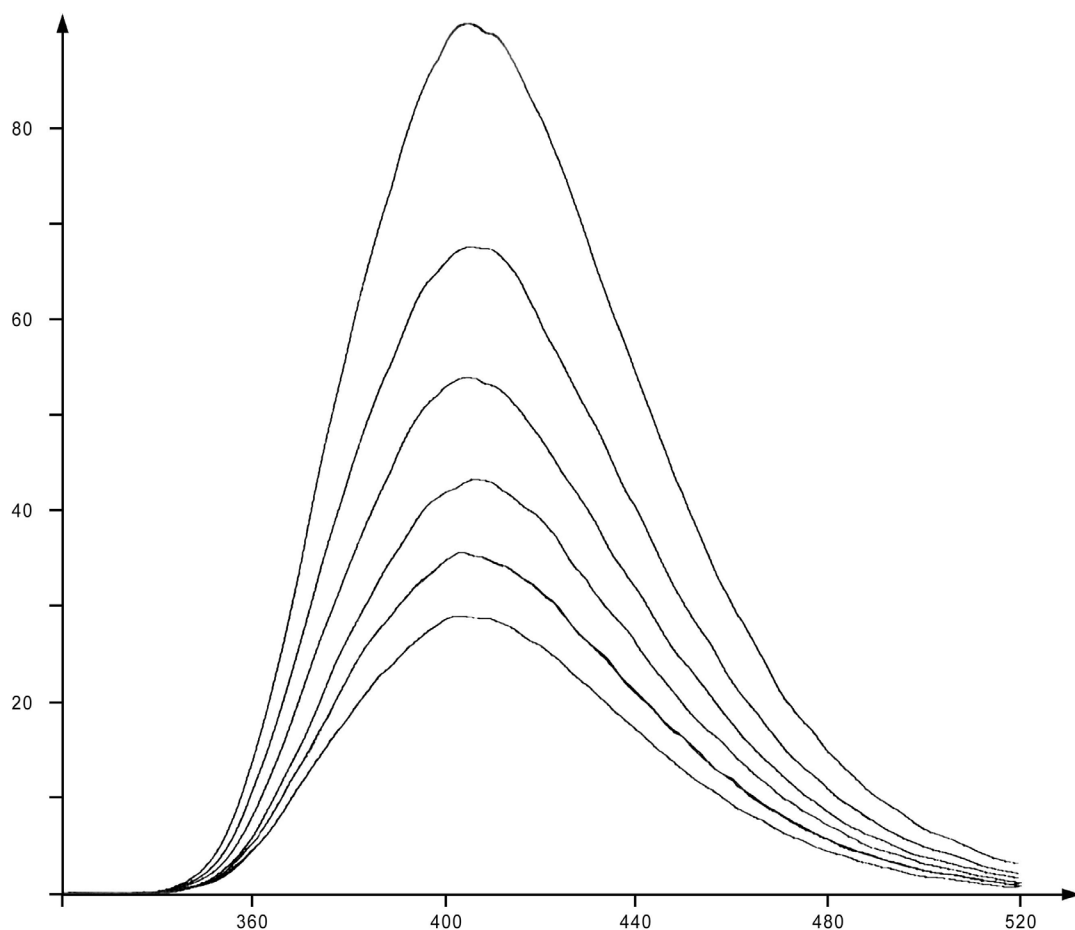
Ausgehend von dieser Lösung wurden 4 zusätzliche Verdünnungen hergestellt.

Der Beginn des ersten Spektrums wurde mit einem Bleistift markiert und die folgenden Spektren graphisch darüber gelegt.

Die Integrale der Kurven wurden durch Auswiegen der einzelnen Flächen bestimmt.

Messergebnisse

Lösung	NEC	KCl	Papiergewicht	$(\phi_f^0 / \phi_f) - 1$
	[mol/l]	[mol/l]	[g]	
1	$1.5 \cdot 10^{-5}$	0	1.3819	0.000
2	$1.5 \cdot 10^{-5}$	$1.5 \cdot 10^{-3}$	1.0320	0.339
3	$1.5 \cdot 10^{-5}$	$3.0 \cdot 10^{-3}$	0.8164	0.693
4	$1.5 \cdot 10^{-5}$	$5.0 \cdot 10^{-3}$	0.6555	1.108
5	$1.5 \cdot 10^{-5}$	$7.0 \cdot 10^{-3}$	0.5322	1.597
6	$1.5 \cdot 10^{-5}$	$1.0 \cdot 10^{-2}$	0.4408	2.135

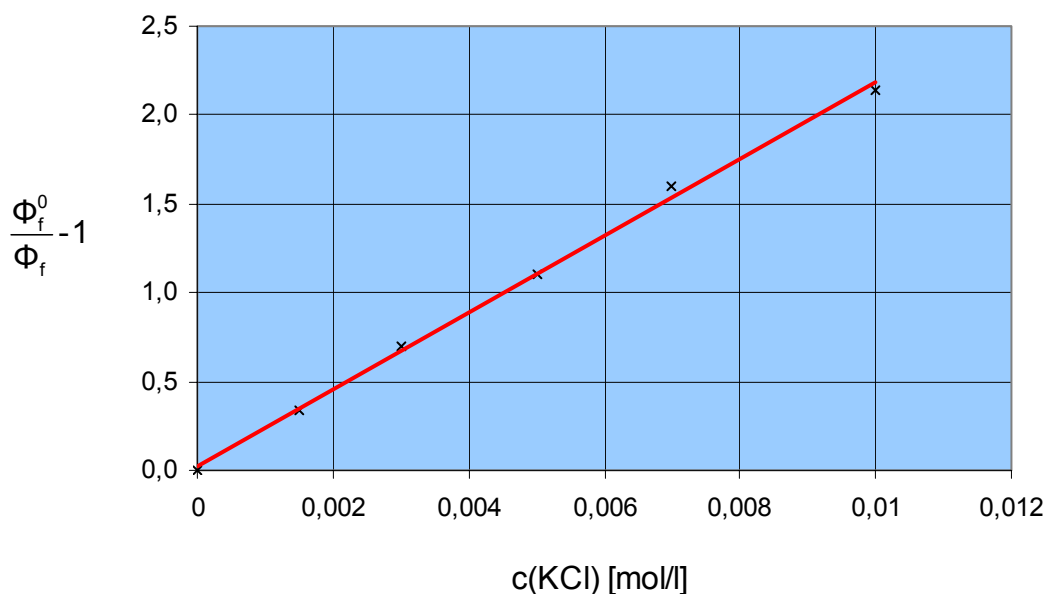


Auswertung

Da bei der Auswertung des Versuches die Ergebnisse unterschiedlicher Konzentrationen in Relation gesetzt werden, wird der Standard Φ_{QBS} nicht benötigt. Nach der Gleichung

$$\frac{\Phi_f^0}{\Phi_f} - 1 = K \cdot [Q]$$

wird die Konzentration des Quenchers gegen das reziproke Verhältnis der Fluoreszenzausbeuten $\frac{\Phi_f^0}{\Phi_f} - 1$ aufgetragen. Es ergibt sich ein linearer Anstieg.



$$y = 215.82 \cdot x + 0.0253$$

Die Steigung der Regressionsgeraden entspricht der Löscherkonstante K:

$$\frac{\Phi_f^0}{\Phi_f} - 1 = K \cdot [Q]$$

$$K = 215.82 \frac{1}{\text{mol}}$$

Es gilt der Zusammenhang $K = k_q \tau_0$. Daraus lässt sich nun die Geschwindigkeitskonstante k_q der Fluoreszenzlöschung berechnen

$$k_q = \frac{K}{\tau_0} = 7.194 \cdot 10^9 \frac{1}{\text{mol} \cdot \text{s}}$$

Fehlerbetrachtung

Folgende Fehlerquellen traten bei der Durchführung auf:

- Konzentrationsungenauigkeiten durch Messungenauigkeiten beim Einwiegen
- Konzentrationsungenauigkeiten bei der Verdünnung der Lösung
- Geringe Abweichungen der x-Werte durch nicht exaktes Zurückstellen auf die Null-Markierung beim Drucker
- Wägefehler beim Auswiegen der Kurvenflächen
- Ungenauigkeiten beim Ausschneiden der Kurvenflächen

Es ist schwierig, diese Fehler innerhalb einer Fehlerrechnung genau abzuschätzen.

Gesamtdiskussion

Anhand des Experiments wird die Linearität des Einflusses der Konzentration eines Quenchers auf die Fluoreszenzlöschung deutlich. Die Methode nach Stern-Volmer stellt somit eine gute Näherung für die Beschreibung der bei Fluoreszenzprozessen auftretenden Kinetik dar.

Dieses Protokoll wurde selbstständig erstellt.