

Fluoreszenzspektroskopie

Lumineszenzen

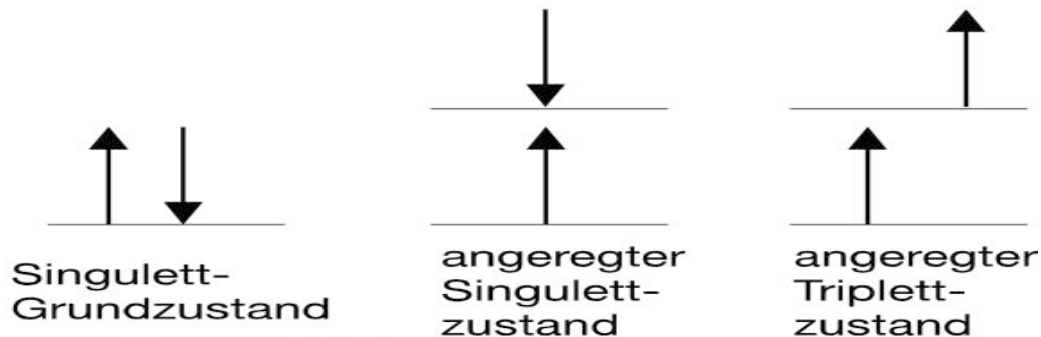
- Lumineszenzen sind Lichtemissionen aus angeregten Molekülen
- Chemolumineszenz
- Photolumineszenz
 - Fluoreszenz
 - Phosphoreszenz

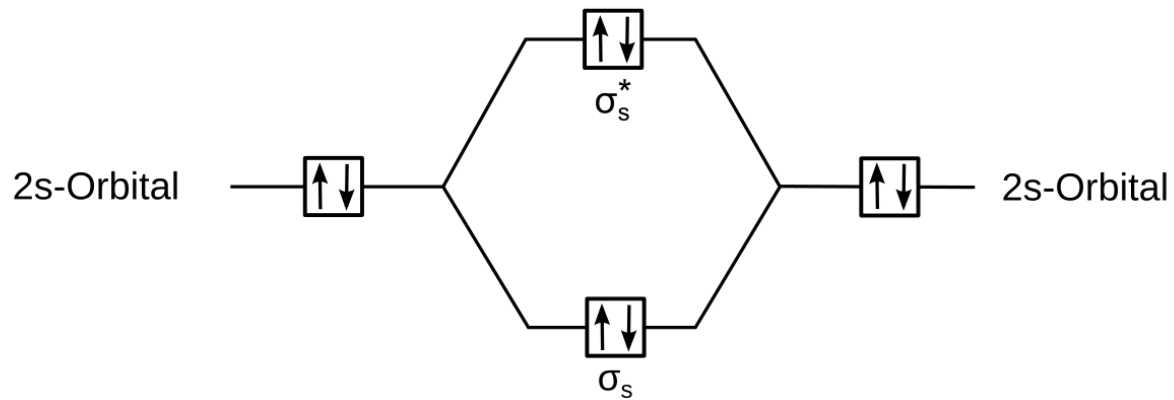
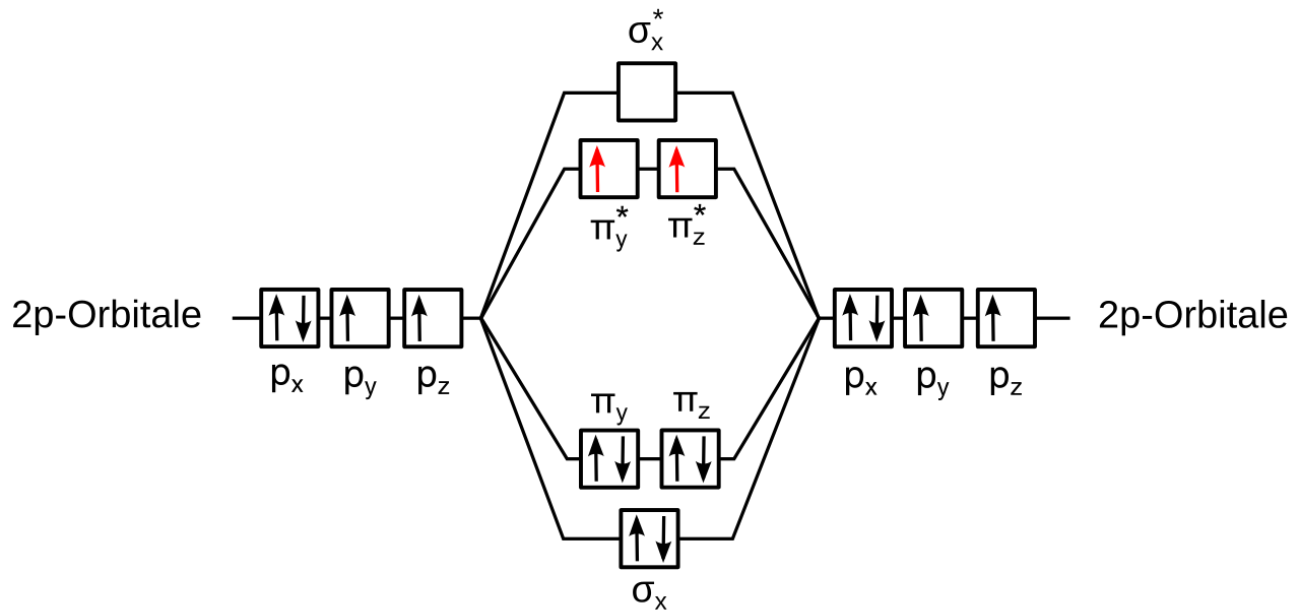
Photolumineszenz

- Ein geeignetes Molekül wird durch Absorption von Licht (meist UV Strahlung) in einen angeregten Zustand gebracht.
- Eine Art der Desaktivierung sind die Photolumineszenzen

Molekülzustände

- Elektronische Zustände werden je nach Spin-Multiplizität mit **Singulett**, **Dublett** oder **Triplett** bezeichnet. Die Anregungshöhe mit 0, 1, 2 usw.

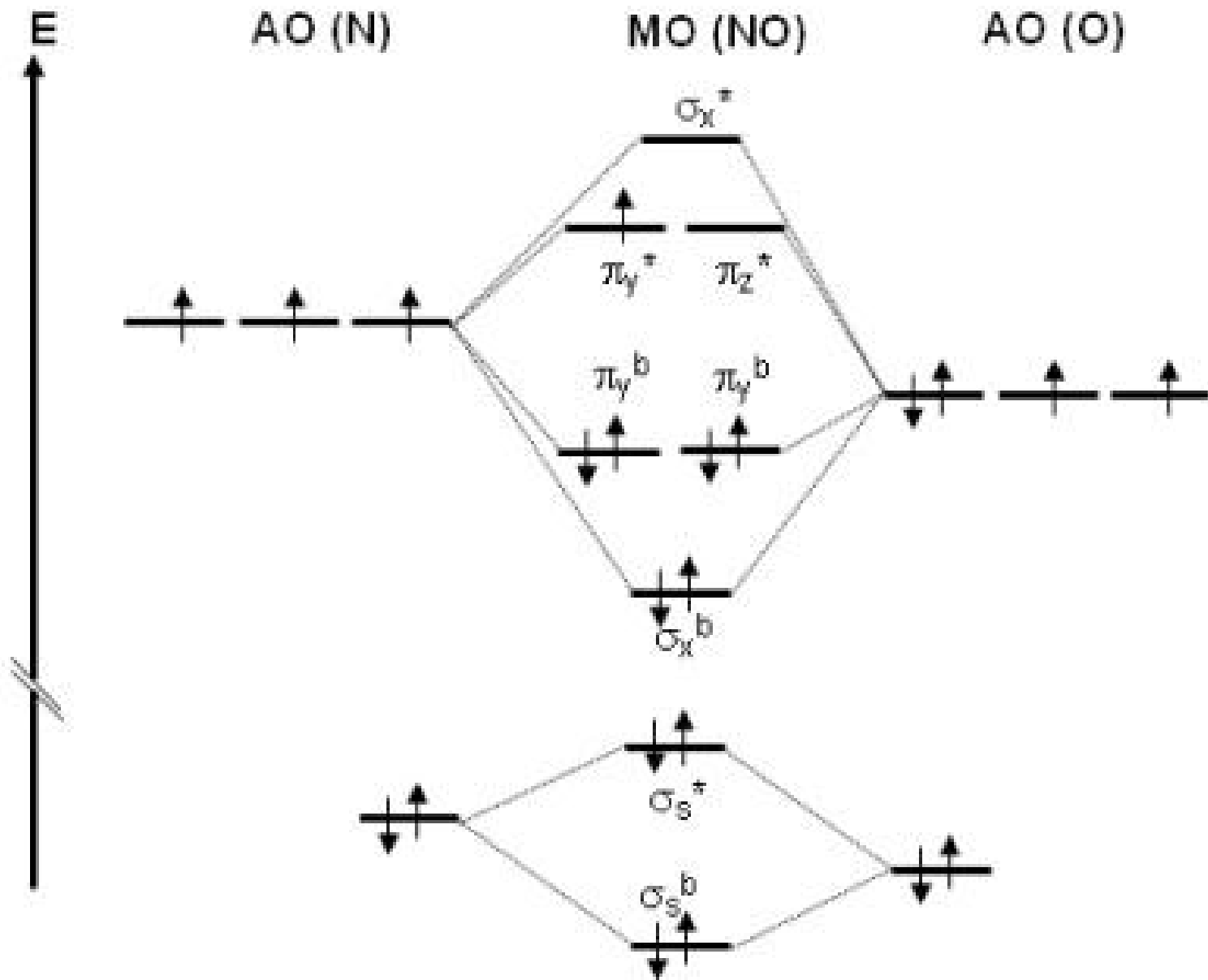


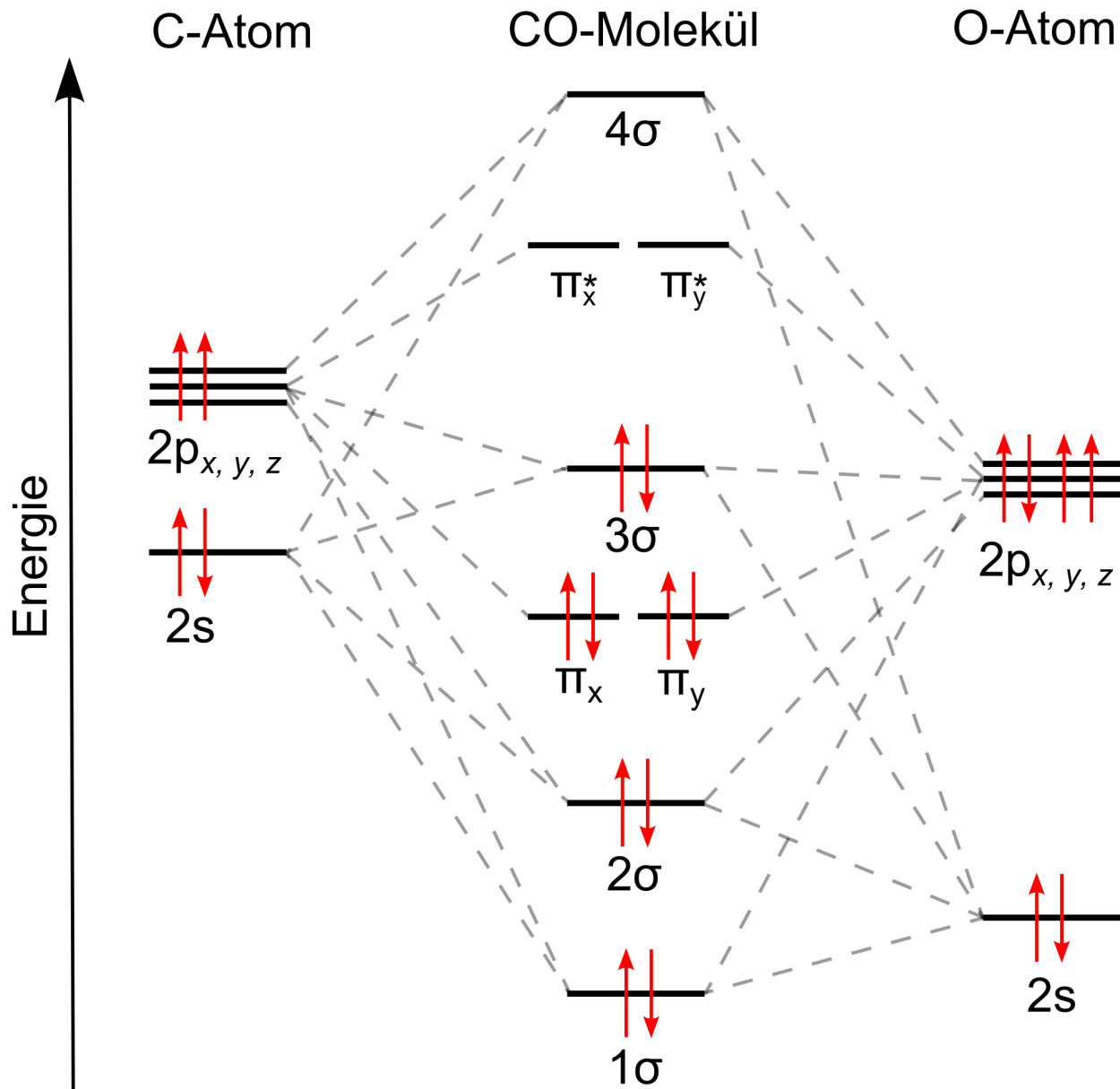


Atomorbital eines
O-Atoms

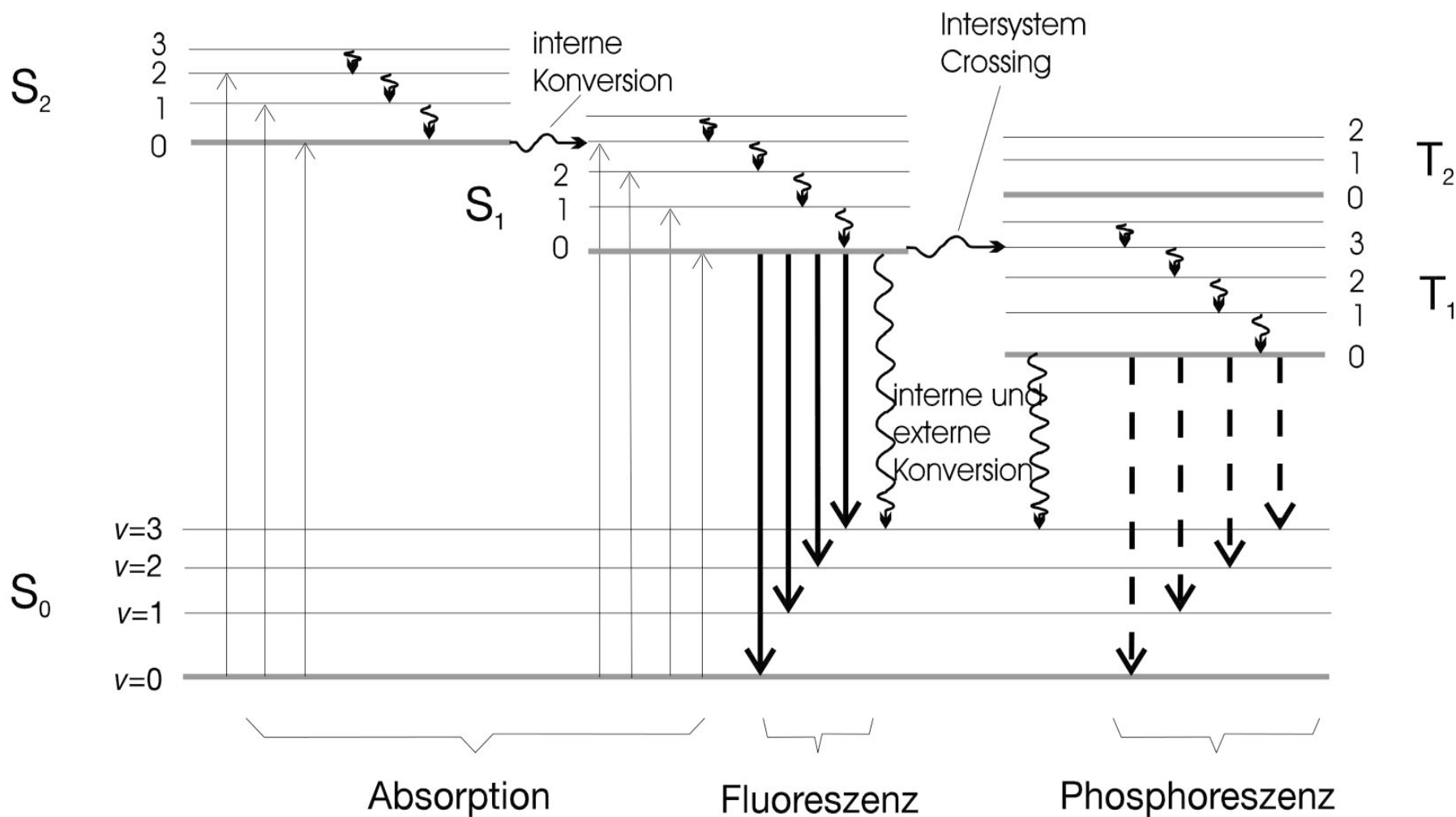
Molekülorbitale
des ${}^3\text{O}_2$ -Moleküls

Atomorbital eines
O-Atoms





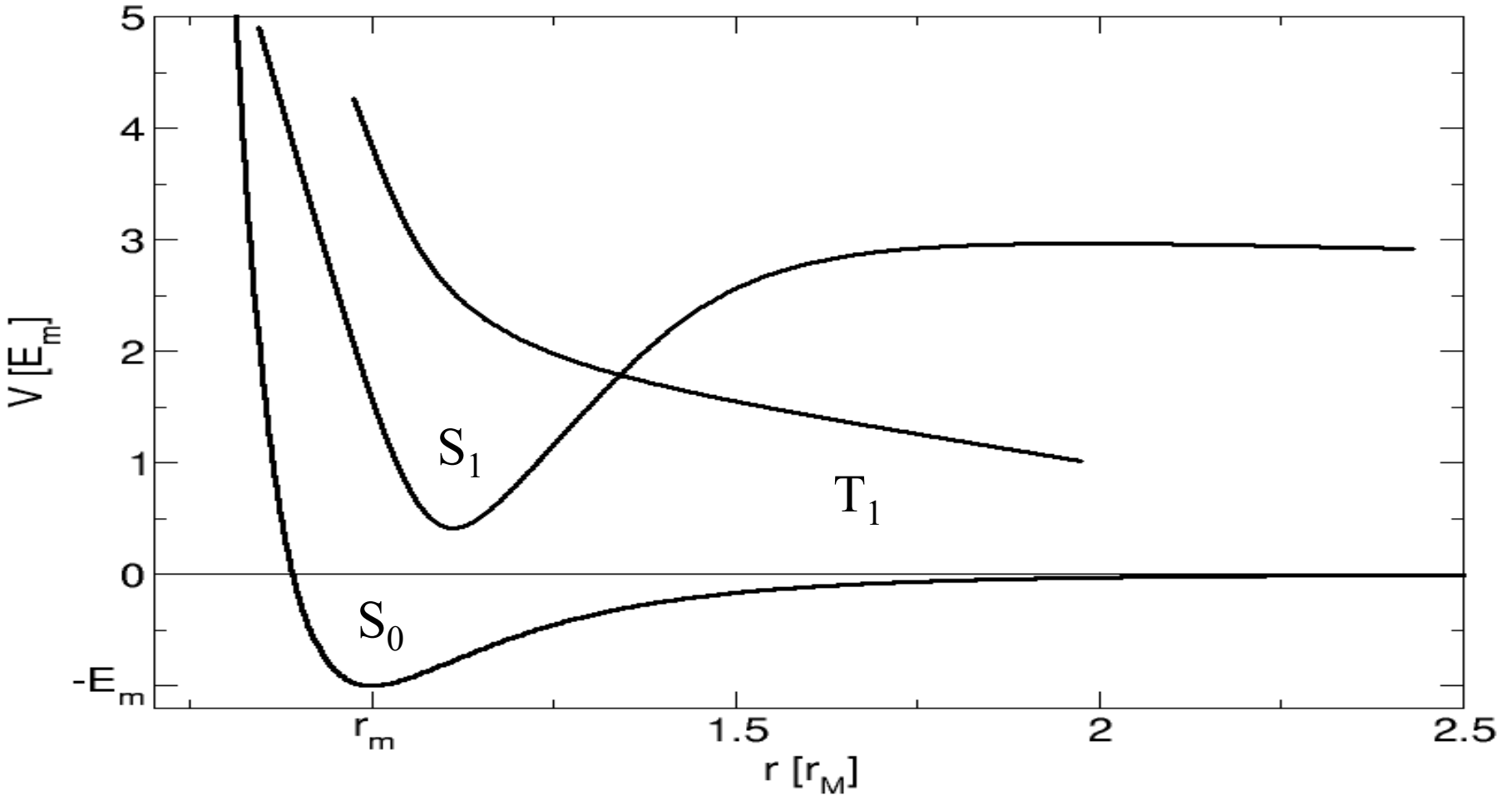
Jablonski-Termschema



Absorption

- Die Absorption erfolgt i.d.R. aus dem Schwingungsgrundzustand des elektronischen Grundzustands in einen angeregten Schwingungszustand eines angeregten elektronischen Zustands.

Die Zeit für den Übergang $S_0 \rightarrow S_x$ beträgt 10^{-15} s; $S_0 \rightarrow T$ Übergänge sind verboten = extrem unwahrscheinlich



Strahlungslose Desaktivierung

- Schwingungsrelaxation
 - Schwingungsenergie wird an das Solvens abgegeben
 - Relaxation innerhalb 10^{-12} s!
 - Jede weitere Umwandlung geschieht aus dem Schwingungsgrundzustand des S_x

Strahlungslose Desaktivierung

- Internal Conversion
 - Überlagerung von Schwingungszuständen unterschiedlicher elektronisch angeregter **Zustände gleicher Multiplizität.**
 - Strahlungsloser Übergang z.B. von S_2v_0 auf S_1v_3

Strahlungslose Desaktivierung

- External conversion = Strahlungslose Desaktivierung durch Wechselwirkung mit Solvensmolekülen
 - Ausgeprägte Effekte je nach Natur des Solvens
 - Temperatureffekt
 - Viskosität

Strahlungslose Desaktivierung

- Intersystem Crossing
 - Überlagerung von Schwingungszuständen unterschiedlicher elektronisch angeregter **Zustände unterschiedlicher Multiplizität**
 - Strahlungsloser Übergang z.B. von S_1v_0 auf T_1v_3

Strahlungslose Desaktivierung

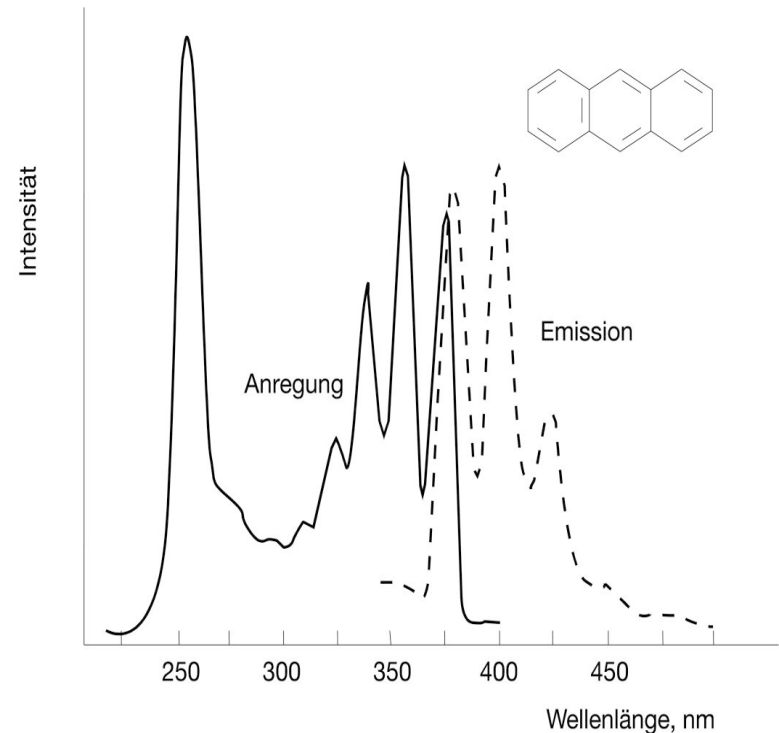
- Intersystem Crossing ist ein verbotener = sehr unwahrscheinlicher Übergang
- Er findet häufiger statt, wenn schwere Atome (Iod, Brom) im Molekül vorhanden sind
 - Spin/Orbital Kopplung

Desaktivierung durch Strahlung

- Fluoreszenz
 - Übergang S_2v_0 auf S_0v_x oder S_1v_0 auf S_0v_x
 - Lebensdauer dieser angeregten Zustände 10^{-9} bis 10^{-5} s
- Phosphoreszenz
 - Übergang T_1v_0 auf S_0v_x
 - Lebensdauer dieser angeregten Zustände 10^{-4} bis 10 s

Stokes shift

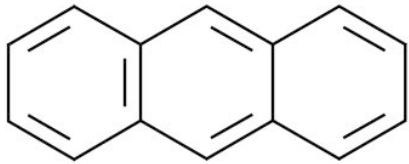
- Da S_0v_0 nach S_xv_x immer energiereicher als S_xv_0 nach S_0v_x ist Fluoreszenzlicht immer langwelliger als das Anregungslicht (Excitation)



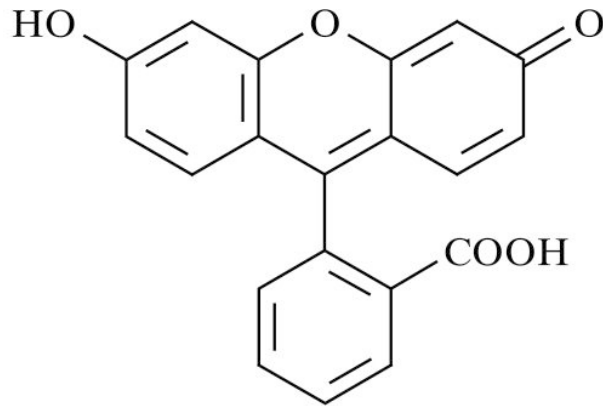
Strukturen

- Meist Aromaten, aber keine einfachen Heterozyklen
- Starre Gerüste
- Substituenten abhängig
 - Keine Fluoreszenz bei Carbonyl/Carboxyl substituierten Aromaten
 - pH abhängig bei basischen Substituenten
 - Abnahme der Resonanzstrukturen bei Anilin

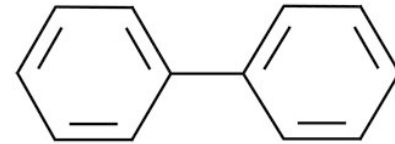
Strukturen



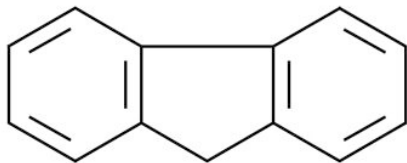
Anthracen



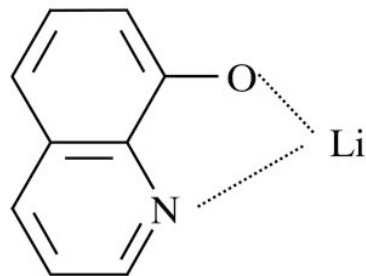
Fluorescein



Biphenyl



Fluoren



8-Hydroxychinolin-Li(I)-Komplex

Anwendungen

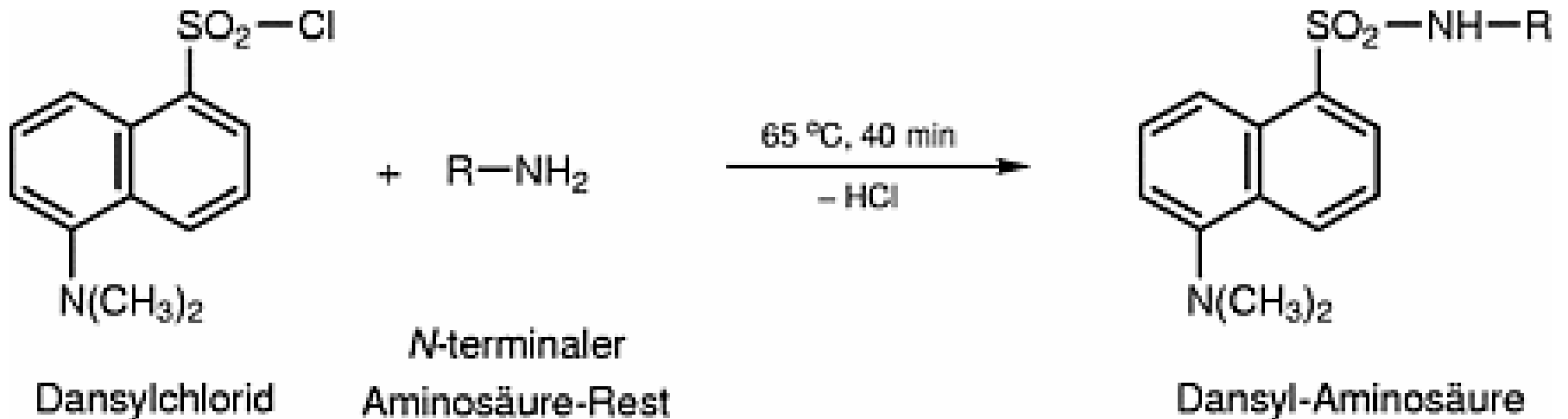
- Nachweis fluoreszierende Verbindungen:
 - PAH in der Ökotoxikologie
- Nachweis bestimmter Verbindungen, die fluoreszierende Strukturen enthalten:
 - Peptide mit Tryptophan, Phenylalanin

Anwendungen

- Fluoreszenz wird oft phänomenologisch angewendet (Einfluss auf die gegebene Fluoreszenz eines Fluorophors) :
 - Nachweis von Verbindungen oder Ionen durch Fluoreszenz-Quenchen oder Verstärken
 - Bestimmung Li^+ durch 8-Hydroxychinolin Li Komplex
 - Frequenzverschiebung durch Eximer-Auflösung (s.u.) bei Strukturänderungen

Anwendungen

- Oder zum Markieren bestimmter Moleküle:
- Dansylchlorid:



Quantifizierung

- Für quantitative Anwendung gilt bei **hoher** Verdünnung:

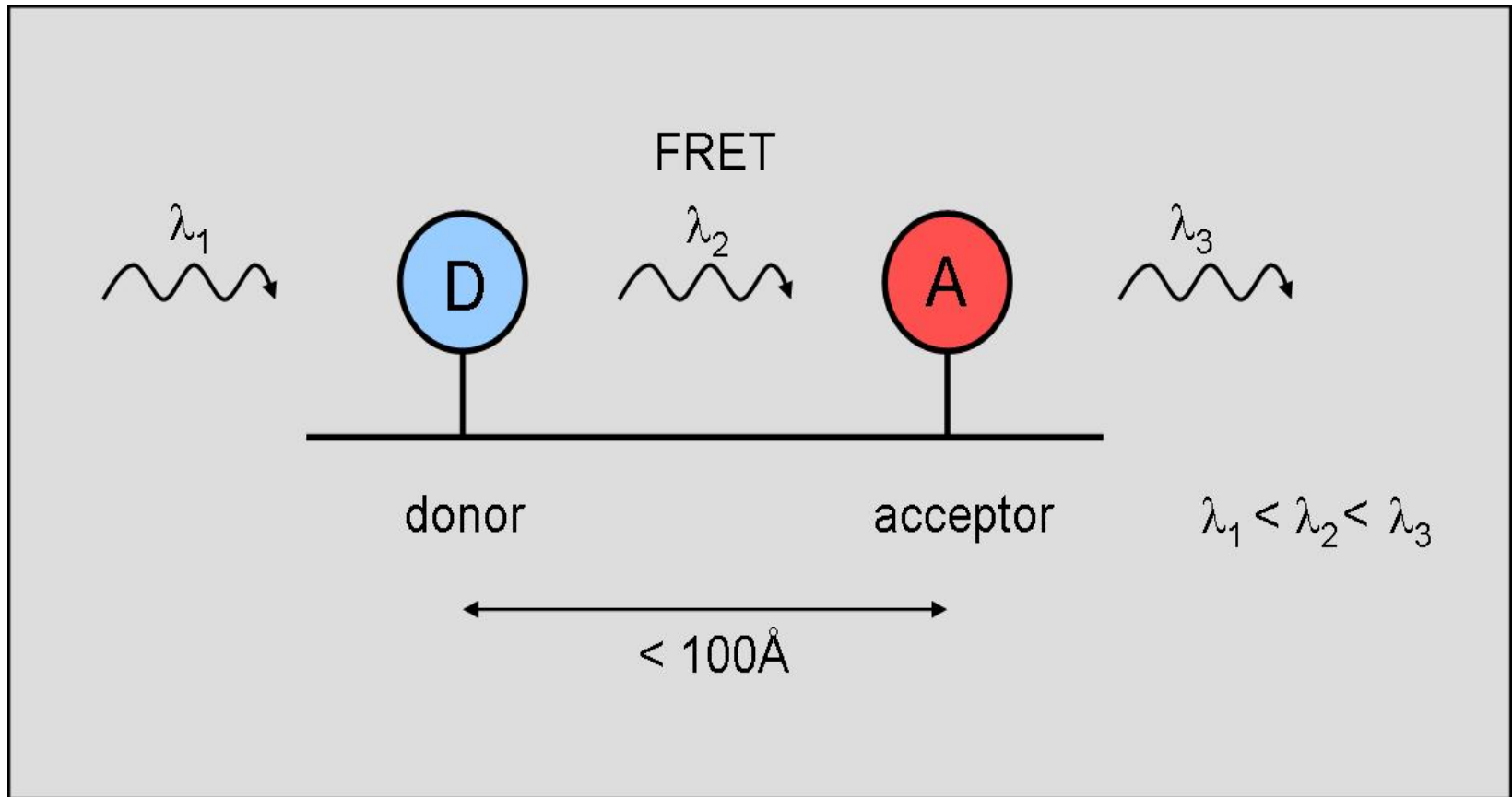
$$I/I_0 = Q \varepsilon d c$$

- Q ist die Quantenausbeute, der Quotient aus emittierten und absorbierten Photonen
- Man merke: die Beziehung zwischen I und c ist linear!

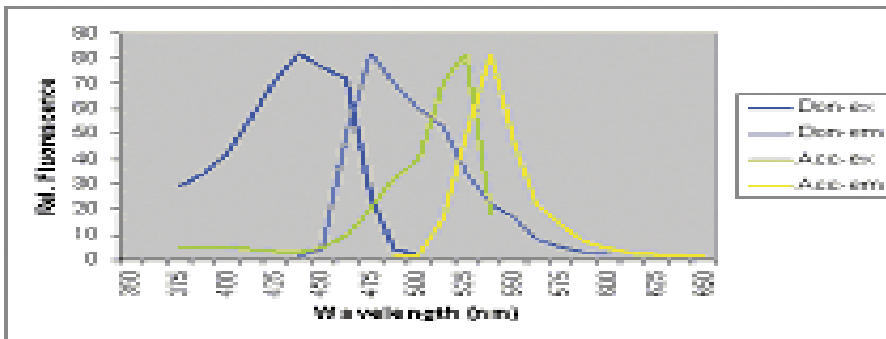
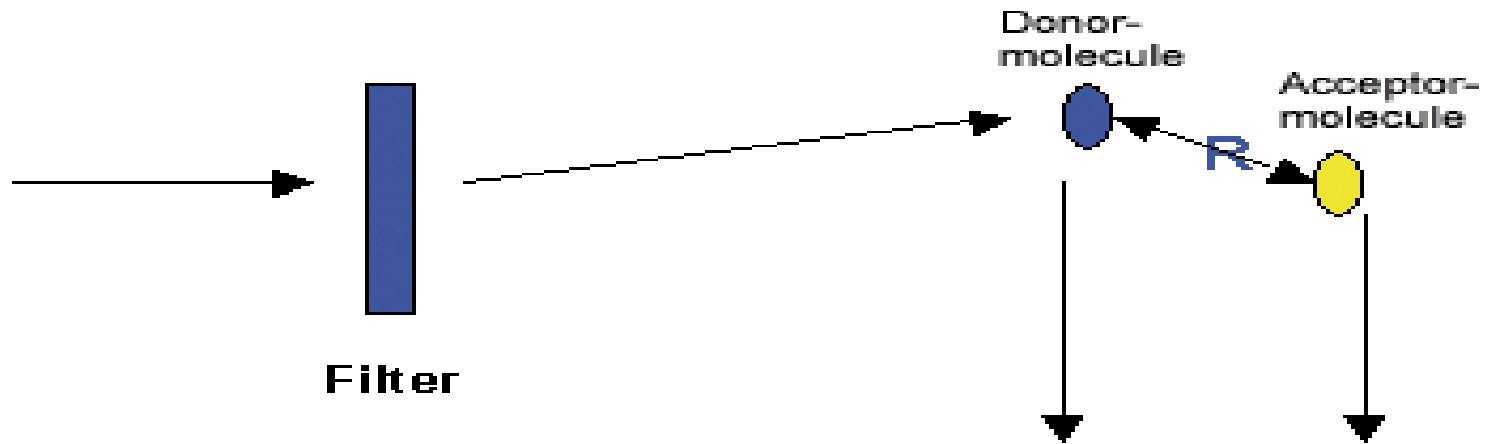
Quantifizierung

- Abweichung von der Linearität:
 - Eigenabsorption
 - wenn Excitations- und Fluoreszenzspektren stark überlappen
 - Excimerbildung
 - Rotverschiebung durch Bildung eines „excited dimer“
 - Selbstlöschung
 - Zusammenstöße bei hoher Konzentration

Fluorescence Resonance Energy Transfer

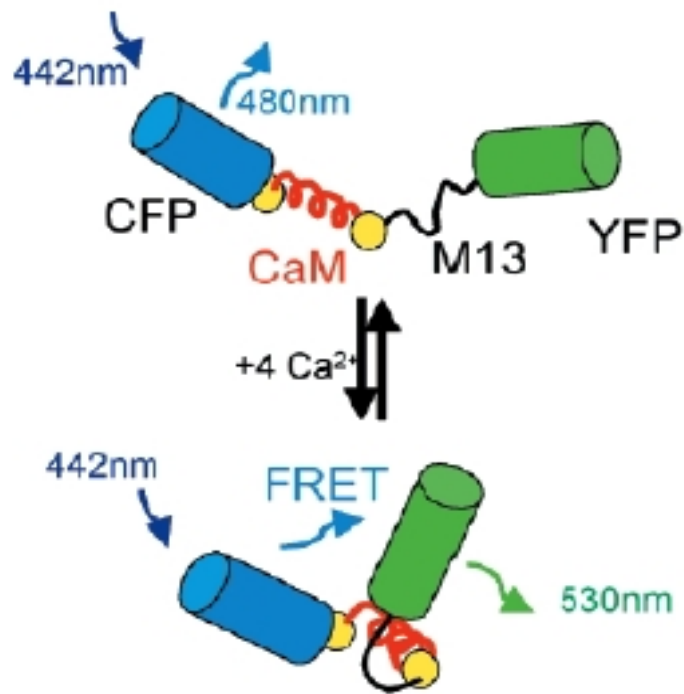


FRET

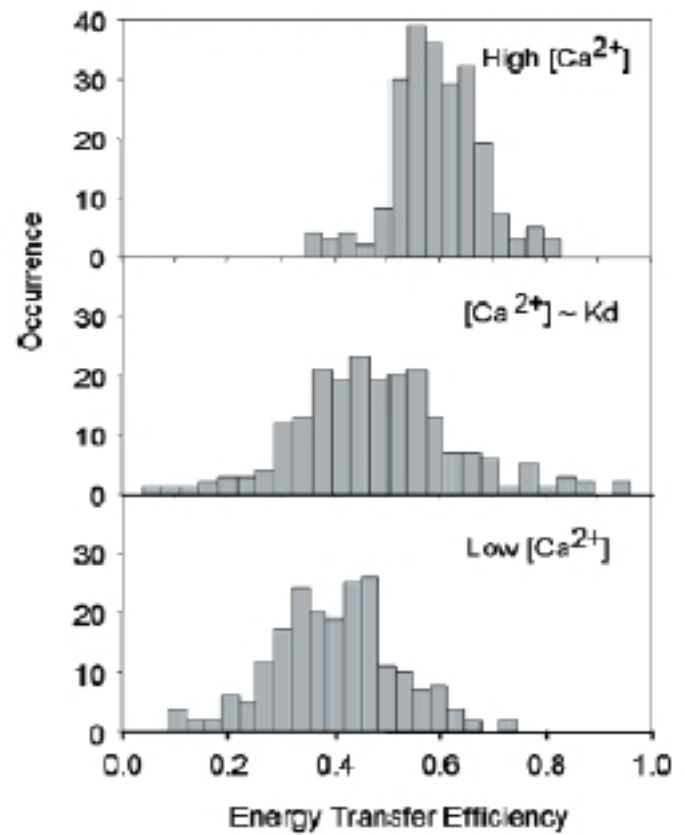


Energy Transfer
 $\sim 1 / R^6$

FRET



(a)



(b)

Apparatives

- Fluoreszenz-
messungen werden im
rechten Winkel zum
Anregungslicht
vorgenommen

