

# Fluoreszenz-Versuch

## Hinweise zur Durchführung und Auswertung

Betreuender Assistent: Dr. Till Biskup

Februar 2014

Alle folgenden Angaben beziehen sich auf den Fluoreszenz-Versuch im Grundpraktikum Physikalische Chemie der Albert-Ludwigs-Universität Freiburg ab dem Sommersemester 2014. Soweit nicht explizit etwas anderes angegeben ist, gelten die Ihnen bekannten allgemeinen Regeln für das Praktikum.

Die hier zusammengestellten Hinweise sind als Hilfestellung gedacht, erheben aber explizit *keinerlei Anspruch auf Richtigkeit oder Vollständigkeit*.

### 1 Allgemeine Hinweise zum Versuch

- **Sauberes Arbeiten**

Pipettenspitzen immer nur beim Aufziehen in die Lösung tauchen, *nie* beim Herauspipettieren. Sollten Sie auch nur den Verdacht haben, mit einer Pipettenspitze in die falsche Lösung gekommen zu sein, Spitze *sofort tauschen*, um Kontaminationen der anderen Lösungen zu vermeiden.

- **Sparsamer Umgang mit den Pipettenspitzen**

Insbesondere für die große Pipette kann man mit einer Spitze den ganzen Versuch bestreiten. Das erfordert allerdings sauberes Arbeiten (siehe oben).

- **Pipetten niemals hinlegen**

Die Pipetten werden (ggf. mit Spitze) immer in den Pipettenständer gehängt.

- **Dateinamen nicht länger als 8 Zeichen**

Die Spektrometersoftware limitiert die Länge von Dateinamen. Sie finden in Tab. 1 einen Vorschlag zur Benennung der Dateien der einzelnen Spektren.

- **Daten werden direkt als ASCII-Textdateien gespeichert**

Die Spektrometersoftware wird Ihnen so eingestellt, dass die Daten direkt als ASCII-Textdateien abgespeichert werden (die Endung „.sp“ ist irreführend).

- **Dateien nach Beendigung des Versuches nicht löschen**

Sie werden bei Bedarf vom Assistenten zur Überprüfung der Auswertung benötigt.

**Tabelle 1: Vorschlag für eine Benennung der Dateien der aufgenommenen Spektren der einzelnen Versuchsteile.**  $\lambda_A$  steht für die Anregungs-,  $\lambda_E$  für die Emissionswellenlänge. Diese Werte werden entsprechend in der Spektrometersoftware eingestellt. Beachten Sie, dass Sie den 10-ppm-Chininstandard lediglich in Versuchsteil 2 für drei Ansätze benötigen.

Name	Inhalt	$\lambda_A$ / nm	$\lambda_E$ / nm
1A-01	3210 $\mu\text{L}$ $\text{H}_2\text{SO}_4$ , 290 $\mu\text{L}$ 0,1-ppm-Standard	270–400	500
1E-01	s.o.	$\lambda_{A\text{max}}$	380–580
1E-02	s.o.	$\lambda_{A\text{max}} + 10$	380–580
1E-03	s.o.	$\lambda_{A\text{max}} - 10$	380–580
1E-04	s.o.	$\lambda_{A\text{max}} - 20$	380–580
1E-05	s.o.	$\lambda_{A\text{max}} - 30$	380–580
2E-01	3210 $\mu\text{L}$ $\text{H}_2\text{SO}_4$	320	380–580
2E-02	3210 $\mu\text{L}$ $\text{H}_2\text{SO}_4$ , 290 $\mu\text{L}$ 0,1-ppm-Standard	320	380–580
2E-03	2900 $\mu\text{L}$ $\text{H}_2\text{SO}_4$ , 600 $\mu\text{L}$ 0,1-ppm-Standard	320	380–580
2E-04	2600 $\mu\text{L}$ $\text{H}_2\text{SO}_4$ , 900 $\mu\text{L}$ 0,1-ppm-Standard	320	380–580
2E-05	2300 $\mu\text{L}$ $\text{H}_2\text{SO}_4$ , 1200 $\mu\text{L}$ 0,1-ppm-Standard	320	380–580
2E-06	2000 $\mu\text{L}$ $\text{H}_2\text{SO}_4$ , 1500 $\mu\text{L}$ 0,1-ppm-Standard	320	380–580
2E-07	1500 $\mu\text{L}$ $\text{H}_2\text{SO}_4$ , 2000 $\mu\text{L}$ 0,1-ppm-Standard	320	380–580
2E-08	500 $\mu\text{L}$ $\text{H}_2\text{SO}_4$ , 3000 $\mu\text{L}$ 0,1-ppm-Standard	320	380–580
2E-09	3000 $\mu\text{L}$ $\text{H}_2\text{SO}_4$ , 40 $\mu\text{L}$ <b>10-ppm-Standard</b>	320	380–580
2E-10	3000 $\mu\text{L}$ $\text{H}_2\text{SO}_4$ , 50 $\mu\text{L}$ <b>10-ppm-Standard</b>	320	380–580
2E-11	3000 $\mu\text{L}$ $\text{H}_2\text{SO}_4$ , 60 $\mu\text{L}$ <b>10-ppm-Standard</b>	320	380–580
3E-01	3360 $\mu\text{L}$ $\text{H}_2\text{SO}_4$	320	380–580
3E-02	3360 $\mu\text{L}$ $\text{H}_2\text{SO}_4$ , 140 $\mu\text{L}$ <b>Tonic</b>	320	380–580
3E-03	3110 $\mu\text{L}$ $\text{H}_2\text{SO}_4$ , 140 $\mu\text{L}$ Tonic, 250 $\mu\text{L}$ 0,1-ppm-Std	320	380–580
3E-04	2860 $\mu\text{L}$ $\text{H}_2\text{SO}_4$ , 140 $\mu\text{L}$ Tonic, 500 $\mu\text{L}$ 0,1-ppm-Std	320	380–580
3E-05	2610 $\mu\text{L}$ $\text{H}_2\text{SO}_4$ , 140 $\mu\text{L}$ Tonic, 750 $\mu\text{L}$ 0,1-ppm-Std	320	380–580
3E-06	2360 $\mu\text{L}$ $\text{H}_2\text{SO}_4$ , 140 $\mu\text{L}$ Tonic, 1000 $\mu\text{L}$ 0,1-ppm-Std	320	380–580
4E-01	2200 $\mu\text{L}$ $\text{H}_2\text{SO}_4$	320	380–580
4E-02	2200 $\mu\text{L}$ $\text{H}_2\text{SO}_4$ , 800 $\mu\text{L}$ 0,1-ppm-Std	320	380–580
4E-03	2100 $\mu\text{L}$ $\text{H}_2\text{SO}_4$ , 800 $\mu\text{L}$ 0,1-ppm-Std, 100 $\mu\text{L}$ <b>NaCl</b>	320	380–580
4E-04	2000 $\mu\text{L}$ $\text{H}_2\text{SO}_4$ , 800 $\mu\text{L}$ 0,1-ppm-Std, 200 $\mu\text{L}$ NaCl	320	380–580
4E-05	1900 $\mu\text{L}$ $\text{H}_2\text{SO}_4$ , 800 $\mu\text{L}$ 0,1-ppm-Std, 300 $\mu\text{L}$ NaCl	320	380–580
4E-06	1800 $\mu\text{L}$ $\text{H}_2\text{SO}_4$ , 800 $\mu\text{L}$ 0,1-ppm-Std, 400 $\mu\text{L}$ NaCl	320	380–580
4E-07	1700 $\mu\text{L}$ $\text{H}_2\text{SO}_4$ , 800 $\mu\text{L}$ 0,1-ppm-Std, 500 $\mu\text{L}$ NaCl	320	380–580
4E-13	2100 $\mu\text{L}$ $\text{H}_2\text{SO}_4$ , 800 $\mu\text{L}$ 0,1-ppm-Std, 100 $\mu\text{L}$ <b>NaBr</b>	320	380–580
4E-14	2000 $\mu\text{L}$ $\text{H}_2\text{SO}_4$ , 800 $\mu\text{L}$ 0,1-ppm-Std, 200 $\mu\text{L}$ NaBr	320	380–580
4E-15	1900 $\mu\text{L}$ $\text{H}_2\text{SO}_4$ , 800 $\mu\text{L}$ 0,1-ppm-Std, 300 $\mu\text{L}$ NaBr	320	380–580
4E-16	1800 $\mu\text{L}$ $\text{H}_2\text{SO}_4$ , 800 $\mu\text{L}$ 0,1-ppm-Std, 400 $\mu\text{L}$ NaBr	320	380–580
4E-17	1700 $\mu\text{L}$ $\text{H}_2\text{SO}_4$ , 800 $\mu\text{L}$ 0,1-ppm-Std, 500 $\mu\text{L}$ NaBr	320	380–580
5E-01	3000 $\mu\text{L}$ $\text{H}_2\text{SO}_4$	320	380–580
...	...	...	...
5E-10	s.o.	320	380–580

## 2 Praktische Hinweise zur Versuchsdurchführung

- **Arbeitsteilung**

Tipp: Teilen Sie sich die Arbeit sinnvoll auf. Einer achtet auf die Einstellungen am Gerät (Dateinamen, Anregungs- und Emissionswellenlänge) und spült die Küvetten, der andere pipettiert die Lösungen.

- **Auswertungen**

Alle Auswertungen werden außerhalb der Versuchszeit nach den eigentlichen Messungen durchgeführt, um die Durchführung der Experimente zu beschleunigen.

## 3 Protokoll

Ein paar Hinweise zu Protokollen im Allgemeinen und zum Protokoll zum Fluoreszenz-Versuch im Speziellen. *Nichtbeachtung führt zu Punktabzug in der Bewertung.*

### 3.1 Allgemeine Hinweise

#### 3.1.1 Äußere Form

- Protokolle, die nicht im Hefter abgegeben werden oder lose Blätter enthalten, werden nicht angenommen (und entsprechend mit der Note „5,0“ bewertet).
- Beginnen Sie Ihr Protokoll mit einem Deckblatt mit folgenden Informationen: Versuchstitel, Gruppennummer, Studiengang, Semester (SS/WS xxxx), Ihre Namen.

#### 3.1.2 Theorieteil

- Fassen Sie sich kurz.
- Nennen und erklären Sie kurz die wichtigsten Begriffe.
- Zeichnen Sie das Jabłoński-Diagramm und den Versuchsaufbau von Hand ab und schneiden Sie nicht die betreffenden Abbildungen aus dem Skript aus.

#### 3.1.3 Abbildungen

- Achten Sie auf korrekte Achsenbeschriftungen
  - immer Größe und Einheit
  - keine Einheiten in eckigen Klammern, sondern „Größe / Einheit“
  - im Textsatz: Größen kursiv, Einheiten aufrecht
- keine Excel-Graphen (!)
- Punkte nicht verbinden
- Verweis auf die durchnummerierten Abbildungen (und Tabellen) im Text

## 3.2 Protokoll zum Fluoreszenz-Versuch

### 3.2.1 Allgemeine Hinweise

- Formulieren sie zu jedem Versuchsteil in eigenen Worten eine kurze Zielstellung.
- Heben Sie die Endergebnisse von Rechnungen (z.B. durch Unterstreichen) hervor.
- Beantworten Sie die im Skript zum Versuch gestellten Fragen.
- Bis auf Versuchsteil 1 sollen Sie die aufgenommenen Spektren *nicht* darstellen.
- Nutzen Sie *bei diesem Versuch* für alle Abbildungen in der Auswertung entsprechende geeignete Computerprogramme (Origin, Gnuplot, Matlab, ..., jedoch *nicht* Excel).
- Erstellen Sie Wertetabellen für alle Auftragungen (inkl. originaler Messwerte).

### 3.2.2 Versuchsteil 1: Emissions- und Anregungsspektren von Chinin

- Stellen Sie in einem Diagramm das aufgenommene Anregungsspektrum dar und heben Sie das Absorptionsmaximum hervor.
- Stellen Sie in einem zweiten Diagramm die bei unterschiedlichen Anregungswellenlängen aufgenommenen Emissionsspektren dar.

### 3.2.3 Versuchsteil 2: Fluoreszenzintensität und Konzentration

- Stellen Sie die Messdaten, die nichtlineare Kurvenanpassung und die lineare Regression gemeinsam in einem Diagramm dar.

### 3.2.4 Versuchsteil 3: Chiningehalt von Tonic Water

- Achten Sie darauf, die Regressionsgerade über den Schnittpunkt mit der  $y$ -Achse hinaus bis zum Schnittpunkt mit der  $x$ -Achse zu verlängern.

### 3.2.5 Versuchsteil 4: Dynamische Fluoreszenzlöschung

- Erstellen Sie für beide Fluoreszenzlöcher getrennte Diagramme und tragen Sie hier jeweils die Messdaten gemeinsam mit der linearen Regression auf.

### 3.2.6 Versuchsteil 5: Instrumentelle Nachweisgrenze

- Tragen Sie die genannten Messwerte aus Versuchsteil 2 gemeinsam mit der linearen Regression auf. Heben Sie in dieser Darstellung die Analytkonzentrationen, die der Nachweis- und der Bestimmungsgrenze entsprechen, auf der  $x$ -Achse hervor.

## 4 Kolloquium

Ziel des Kolloquiums (wie des ganzen Versuches) ist es, Ihnen zu einem tieferen Verständnis der im Versuch behandelten Inhalte zu verhelfen.

### 4.1 Termin und Ort

- Termine: 8–10 Uhr und ab 17 Uhr (Ausnahmen nur im Notfall).
- Das Kolloquium findet in der Regel im Büro des Assistenten statt.
- Seien Sie pünktlich. Bei Verspätungen ab 10 min. gilt das Kolloquium als nicht bestanden (Note „5,0“) und muss zu einem anderen Termin nachgeholt werden.

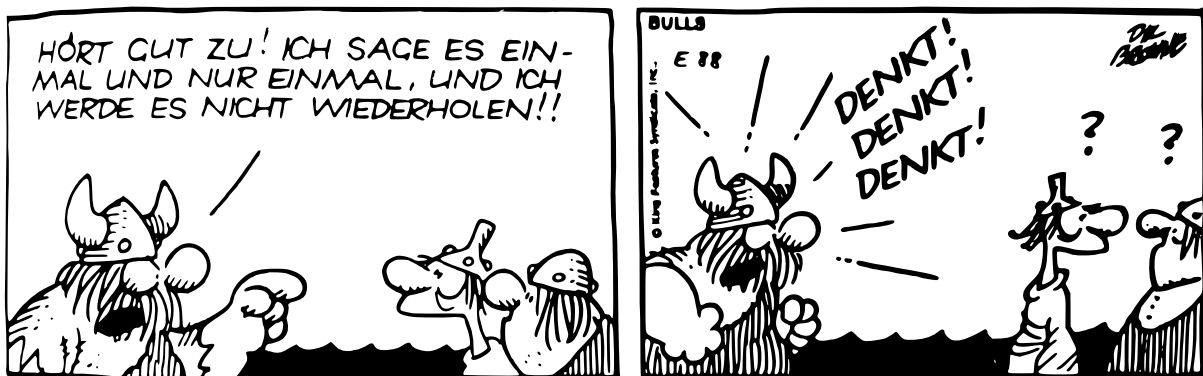
### 4.2 Voraussetzung

- Sie geben Ihr Protokoll zum Kolloquium ab und haben sich entsprechend mit dem Versuch auseinandergesetzt.
- Sie haben das Skript zum Versuch gelesen und verstanden.

### 4.3 Inhalte

- Eine Übersicht über mögliche Themen des Kolloquiums gibt das Skript zum Versuch.
- Grundlage für das Kolloquium ist das Skript zum Versuch (in neuer Form).
- Ein Blick in das erste Kapitel des Buches von Lakowicz (über den Online-Katalog der Universitätsbibliothek auch in elektronischer Form verfügbar) ist sehr zu empfehlen.
- Warum wird die Fluoreszenz häufig im  $90^\circ$ -Winkel zur Anregung detektiert?
- Suchen Sie sich ein Beispiel für die Anwendung der Fluoreszenzspektroskopie in der aktuellen Forschung heraus, das Sie kurz beschreiben können. Erklären Sie, welche Prinzipien der Fluoreszenz hierfür wichtig sind und was wie gemessen wird.

Zum Abschluss noch ein gut gemeinter Ratschlag von Hägar, dem Schrecklichen:



© Dik/Chris Browne