

Fluoreszenz-Versuch

Hinweise zur Durchführung und Auswertung

Betreuender Assistent: Dr. Till Biskup

Oktober 2013

Alle folgenden Angaben beziehen sich auf den Fluoreszenz-Versuch im Grundpraktikum Physikalische Chemie der Albert-Ludwigs-Universität Freiburg ab dem Wintersemester 2013/14. 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. λ_A steht für die Anregungs-, λ_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	λ_A / nm	λ_E / nm
1A-01	3210 μL H_2SO_4 , 290 μL 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 μL H_2SO_4	320	380–580
2E-02	3210 μL H_2SO_4 , 290 μL 0,1-ppm-Standard	320	380–580
2E-03	2900 μL H_2SO_4 , 600 μL 0,1-ppm-Standard	320	380–580
2E-04	2600 μL H_2SO_4 , 900 μL 0,1-ppm-Standard	320	380–580
2E-05	2300 μL H_2SO_4 , 1200 μL 0,1-ppm-Standard	320	380–580
2E-06	2000 μL H_2SO_4 , 1500 μL 0,1-ppm-Standard	320	380–580
2E-07	1500 μL H_2SO_4 , 2000 μL 0,1-ppm-Standard	320	380–580
2E-08	500 μL H_2SO_4 , 3000 μL 0,1-ppm-Standard	320	380–580
2E-09	3000 μL H_2SO_4 , 35 μL 10-ppm-Standard	320	380–580
2E-10	3000 μL H_2SO_4 , 50 μL 10-ppm-Standard	320	380–580
2E-11	3000 μL H_2SO_4 , 60 μL 10-ppm-Standard	320	380–580
3E-01	3360 μL H_2SO_4	320	380–580
3E-02	3360 μL H_2SO_4 , 140 μL Tonic	320	380–580
3E-03	3110 μL H_2SO_4 , 140 μL Tonic, 250 μL 0,1-ppm-Std	320	380–580
3E-04	2860 μL H_2SO_4 , 140 μL Tonic, 500 μL 0,1-ppm-Std	320	380–580
3E-05	2610 μL H_2SO_4 , 140 μL Tonic, 750 μL 0,1-ppm-Std	320	380–580
3E-06	2360 μL H_2SO_4 , 140 μL Tonic, 1000 μL 0,1-ppm-Std	320	380–580
4E-01	2200 μL H_2SO_4	320	380–580
4E-02	2200 μL H_2SO_4 , 800 μL 0,1-ppm-Std	320	380–580
4E-03	2100 μL H_2SO_4 , 800 μL 0,1-ppm-Std, 100 μL NaCl	320	380–580
4E-04	2000 μL H_2SO_4 , 800 μL 0,1-ppm-Std, 200 μL NaCl	320	380–580
4E-05	1900 μL H_2SO_4 , 800 μL 0,1-ppm-Std, 300 μL NaCl	320	380–580
4E-06	1800 μL H_2SO_4 , 800 μL 0,1-ppm-Std, 400 μL NaCl	320	380–580
4E-07	1700 μL H_2SO_4 , 800 μL 0,1-ppm-Std, 500 μL NaCl	320	380–580
4E-13	2100 μL H_2SO_4 , 800 μL 0,1-ppm-Std, 100 μL NaBr	320	380–580
4E-14	2000 μL H_2SO_4 , 800 μL 0,1-ppm-Std, 200 μL NaBr	320	380–580
4E-15	1900 μL H_2SO_4 , 800 μL 0,1-ppm-Std, 300 μL NaBr	320	380–580
4E-16	1800 μL H_2SO_4 , 800 μL 0,1-ppm-Std, 400 μL NaBr	320	380–580
4E-17	1700 μL H_2SO_4 , 800 μL 0,1-ppm-Std, 500 μL NaBr	320	380–580
5E-01	3000 μL H_2SO_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.

3.1 Allgemeine Hinweise

3.1.1 Äußere Form

- Protokolle, die nicht im Hefter abgegeben werden oder lose Blätter enthalten, werden nicht angenommen.

3.1.2 Theorieteil

- Fassen Sie sich kurz.
- 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, sondern nur die jeweils im Skript beschriebenen Auftragungen durchführen (für weitere Details s.u.).
- Für alle Abbildungen in der Auswertung dürfen (und sollen) Sie *bei diesem Versuch* entsprechende geeignete Computerprogramme (Origin, Gnuplot, Matlab, ..., jedoch *nicht* Excel) verwenden.

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

4.1 Termin und Ort

- Bevorzugte Termine sind morgens zwischen 8 und 10 Uhr oder alternativ der spätere Nachmittag (ab 17 Uhr).
- Das Kolloquium findet in der Regel im Büro des Assistenten im Hochhaus Chemie statt.
- Seien Sie pünktlich. Bei Verspätungen ab 10 min. gilt das Kolloquium als nicht bestanden und muss zu einem anderen Termin nachgeholt werden.

4.2 Voraussetzung

- Sie bringen Ihr Protokoll in abgabefertiger Form zum Kolloquium mit, haben sich also entsprechend mit dem Versuch auseinandergesetzt.

4.3 Ziel

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

4.4 Inhalte

- Eine Übersicht über mögliche Themen des Kolloquiums finden Sie im Skript zum Versuch.
- Grundlage für das Kolloquium ist das Skript zum Versuch (in neuer Form).
- Ein Blick in das erste Kapitel des unter „Weiterführende Literatur“ im Skript angegebenen Buches von Lakowicz (über den Online-Katalog der Universitätsbibliothek auch in elektronischer Form verfügbar) ist sehr zu empfehlen.
- Überlegen Sie sich, warum die Detektion der Fluoreszenz im 90° -Winkel erfolgt.
- Suchen Sie sich ein modernes Anwendungsbeispiel für die Fluoreszenzspektroskopie heraus, das Sie kurz beschreiben können.