

Über die Verschiebung zwischen α -Phosphoreszenz- und Fluoreszenz-Spektrum des Fluoresceins in Borsäure

Von J. GRZYWACZ und R. POHOSKI

Physikalisches Institut der Pädagogischen Hochschule, Gdańsk, Polen *
(Z. Naturforsch. 19 a, 440—444 [1964]; eingegangen am 8. November 1963)

The phosphorescence and "pure" fluorescence spectra of fluorescein in boric acid have been investigated in their dependence on the dye concentration. These investigations have been carried out for the concentration range between $5 \cdot 10^{-6}$ g/g and 10^{-3} g/g at two different temperatures $t = 22^\circ\text{C}$ and $t = -90^\circ\text{C}$.

It has been ascertained that the position of the phosphorescence and fluorescence maximum depends on the dye concentration. It has been ascertained too, that the maxima of α -phosphorescence spectra in regard to those of fluorescence spectra are shifted in the direction of longer wave lengths.

Es wurde schon früher berichtet¹, daß für Fluorescein in Borsäure das Maximum der α -Phosphoreszenz nicht mit dem Maximum der Fluoreszenz zusammenfällt, sondern in Richtung längerer Wellen verschoben ist.

In den letzten Jahren wurden Untersuchungen für Fluorescein in Borsäure von mehreren Forschern durchgeführt, wie z. B. von BACZYŃSKI und CZAJKOWSKI², MOKEEWA und SWESCHNIKOW³ und von ARISTOW und SWESCHNIKOW^{4, 5}.

Aus den Abbildungen der Arbeit von MOKEEWA und SWESCHNIKOW sind Verschiebungen zwischen den Gesamtemissionsspektren und α -Phosphoreszenzspektren zu ersehen, obwohl im Inhalt des Textes diese Tatsache nicht erwähnt wird. Ein ähnlicher Effekt befindet sich in der Arbeit von ARISTOW und SWESCHNIKOW, in der das α -Phosphoreszenzmaximum gegenüber dem Gesamtemissionsmaximum verschoben ist. Obwohl in diesem Falle die Verschiebung zurückgeführt wird auf die Tatsache, daß die Emissionsspektren bei zwei verschiedenen Temperaturen gemessen wurden, (das Fluoreszenzspektrum bei Zimmertemperatur und das Gesamtemissionsspektrum bei $t = -100^\circ\text{C}$) kann nicht behauptet werden, daß eine Verschiebung bei derselben Temperatur nicht auftritt. Außerdem wurden in den beiden Arbeiten nur die Verschiebungen zwischen Gesamtemissions-

spektren und Phosphoreszenzspektren gemessen und nicht zwischen „reinen“ Fluoreszenz- und Phosphoreszenzspektren, was für dieses Problem von wesentlicher Bedeutung ist.

Der Zweck der vorliegenden Arbeit war die Untersuchung des Einflusses der Farbstoffkonzentration auf die Verschiebung des α -Phosphoreszenzmaximums gegenüber dem Fluoreszenzmaximum. Zu diesem Zwecke wurden die Absorptions-, Fluoreszenz- und Phosphoreszenzspektren bei zwei verschiedenen Temperaturen (Zimmertemperatur und $t = -90^\circ\text{C}$) gemessen.

1. Beschreibung der Versuche

Die Absorptionsspektren wurden mit Hilfe eines Zeiss-Spektrophotometers gemessen. Zur Messung der Phoreszenzspektren wurde die in Abb. 1 dargestellte Anordnung verwendet. Diese Anordnung besteht aus einem zweischiebigen Phosphoroskop (D), einem Zeiss-Spiegelmonochromator (M), einem Photosekundärelektronenvervielfacher RCA 5819 (L), einem Gleichstromverstärker (V) und einem Galvanometer (G). Als Lichtquelle diente die Quecksilberdampf Lampe vom Typ HQE-40 gespeist mit Gleichstrom. Die Spektren der „reinen“ Fluoreszenz (d. h. die Fluoreszenzemission ohne α -Phosphoreszenz) wurde mit Hilfe der früher beschriebenen Methode gemessen¹. In letzterem Falle wurde die Quarzlampe mit Wechselstrom gespeist.

* Anschrift: Wyższa Szkoła Pedagogiczna, Katedra Fizyki, Gdańsk, ul. Sobieskiego 18.

¹ R. POHOSKI, Bull. Acad. Polon. Sci., Ser. Sci. Math. Astron. Phys. **10**, 505 [1962].

² A. BACZYŃSKI u. M. CZAJKOWSKI, Bull. Acad. Polon. Sci., Ser. Sci. Math. Astron. Phys. **8**, 651 [1960].

³ G. A. MOKEEWA u. B. SWESCHNIKOW, Opt. i Spektroskopiya **9**, 601 [1960].

⁴ A. W. ARISTOW u. B. SWESCHNIKOW, Opt. i Spektroskopiya **13**, 222 [1960].

⁵ Die Untersuchungen von Fluorescein in Borsäure haben schon früher G. N. LEWIS, D. LIPKIN u. T. T. MAGEL (J. Amer. Chem. Soc. **63**, 3005 [1941]) durchgeführt.



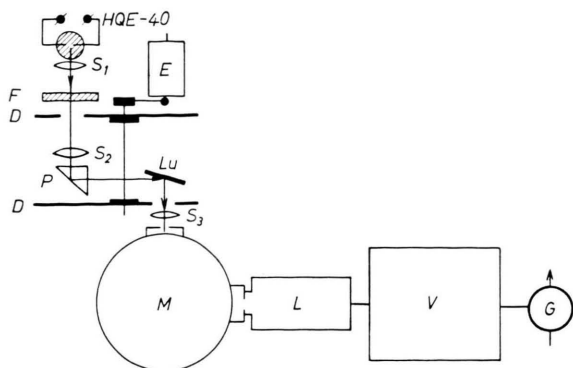


Abb. 1. Anordnung zur Messung von Emissionsspektren. HQE-40 Quecksilberdampfampe; F Filter; S_1, S_2, S_3 Linsen; E Elektromotor; P Prisma; D Scheiben des Phosphoroscops; M Zeiss-Spiegelmonochromator; L Lichtvervielfacher; V Verstärker; G Galvanometer; Lu Luminophor.

Die Intensität des Erregungslichtes verändert sich dabei nach der Gleichung

$$I_E = I_E^0 (1 + m \cos \omega t), \quad (1)$$

wobei I_E^0 und I_E die maximale und momentane Intensität, m die Modulationstiefe und ω die Kreisfrequenz des Erregungslichtes ist.

Die Intensität des Lumineszenzlichtes ist dann moduliert nach der Gleichung

$$I_{Lu} = I_{Lu}^0 [1 + M \cos(\omega t + \varphi)], \quad (2)$$

wo I_{Lu}^0 und I_{Lu} die maximale und momentane Intensität und M die Modulationstiefe des Lumineszenzlichtes ist, wobei

$$M = \frac{m}{\sqrt{1 + (\omega \tau)^2}} \quad (3)$$

gilt. τ bedeutet die mittlere Abklingdauer der Lumineszenzmoleküle, und es gilt $\tan \varphi = \omega \tau$.

Da zwischen der mittleren Fluoreszenz- und der mittleren Phosphoreszenzabklingdauer ein großer Unterschied besteht ($\tau_{Fl} \cong 10^{-8}$ sec und $\tau_{Ph} \cong 1$ sec), so folgt bei $\omega \cong 10^3$ sec $^{-1}$ aus (3):

$$M_{Fl} = \frac{m}{\sqrt{1 + \omega^2 \tau_{Fl}^2}} \cong m; \quad M_{Ph} = \frac{m}{\sqrt{1 + \omega^2 \tau_{Ph}^2}} \cong 0. \quad (4)$$

Setzen wir in (2) den Ausdruck (4), so erhalten wir

$$I_{Fl} = I_{Fl}^0 [1 + m \cos(\omega t + \varphi)]; \quad I_{Ph} = \text{const}, \quad (5)$$

wo I_{Fl} , I_{Fl}^0 , I_{Ph} — entsprechende Intensitäten des Fluoreszenz- und Phosphoreszenzlichtes sind. Wenn wir in der Anordnung aus der Abb. 1 den Gleichstromverstärker durch einen Resonanzverstärker, und das Galvanometer durch ein Röhrenvoltmeter ersetzen, so wird gemäß Gl. (5) nur der Photostrom des modulierten Fluoreszenzlichtes registriert.

Infolge der Reabsorption wurde der kurzwellige Teil des Emissionsspektrums verzerrt. Um ein unverzerrtes Emissionsspektrum zu erhalten, wurde die von JABLOŃSKI⁶ eingeführte Korrektur angewandt.

Die wirkliche Intensität kann man aus der folgenden Gleichung berechnen²

$$I = I_b \left(1 + \frac{\mu \cos \alpha}{\mu' \cos \beta} \right) \left[1 - \exp \left\{ -d \left(\frac{\mu'}{\cos \alpha} + \frac{\mu}{\cos \beta} \right) \right\} \right]^{-1}, \quad (6)$$

wo I und I_b die korrigierte und beobachtete Intensität des Emissionslichtes, μ und μ' die Absorptionskoeffizienten des emittierten und des anregenden Lichtes, α den Brechungswinkel des einfallenden Strahlenbündels, β den Brechungswinkel des austretenden Strahlenbündels, und d die Dicke des untersuchten Luminophors bedeuten.

Die festen Organophosphore wurden folgendermaßen hergestellt: In einem Ofen wurde bei der Temperatur 200 °C die wasserhaltige Borsäure ($B_2O_3 \cdot n H_2O$) mit der alkoholischen Farbstofflösung geschmolzen. Nach einigen Stunden war der Alkohol verdampft und nur der Farbstoff blieb in der Borsäure zurück. Die Luminophore von einer Dicke von ca. 0,2 mm wurden durch ein Filter mit der Wellenlänge 436 m μ erregt. Die Untersuchungen wurden in dem Bereich der Farbstoffkonzentration von $5 \cdot 10^{-6}$ bis 10^{-3} g/g durchgeführt.

2. Versuchsergebnisse

Die Versuchsergebnisse sind in den Abb. 2–4 zusammengestellt. Die Abb. 2 zeigt die Absorptionsspektren, welche bei zwei verschiedenen Konzentrationen ($c_I = 5 \cdot 10^{-6}$ g/g und $c_{II} = 10^{-4}$ g/g) erhalten wurden. Aus der Abb. 2 ist zu ersehen, daß die Absorptionskurven gleich sind. Auf der Abb. 3 und 4 sind die Emissionsspektren der Phosphoreszenz und der „reinen“ Fluoreszenz bei der Zimmertemperatur für die Konzentrationen $c_1 = 10^{-5}$ g/g und $c_2 = 10^{-3}$ g/g dargestellt. Die Fluoreszenzspektren der Abb. 3 und 4 besitzen nur ein Maximum, welches eine von der Farbstoffkonzentration abhängige Lage hat. Aus diesen Abbildungen ist zu ersehen, daß mit wachsender Farbstoffkonzentration die Lage des Maximums in Richtung längerer Wellen verschoben ist. Die Phosphoreszenzspektren aus der Abb. 3 und 4 zeigen zwei Maxima, von welchen das eine — kurzwellige — zur α -Bande und das zweite — langwellige — zur β -Bande gehört. Bedeutungsvoll ist

⁶ A. JABLOŃSKI, C. R. Seans Soc. Pol. Phys. 7 [1926].

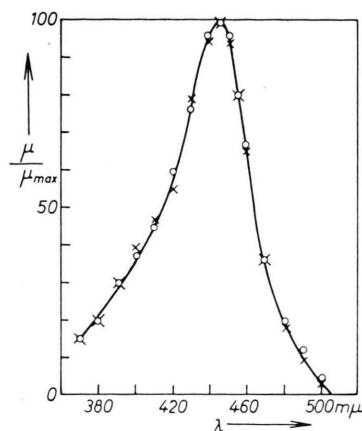


Abb. 2. Absorptionsspektren des Fluoresceins in Borsäure von verschiedenen Farbstoffkonzentrationen:
 $\times c_I = 5 \cdot 10^{-6}$ g/g; $\circ c_{II} = 10^{-4}$ g/g.

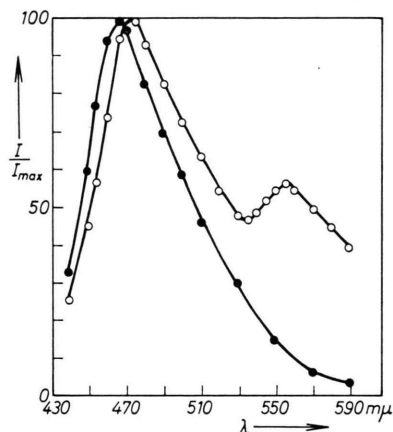


Abb. 3. Emissionsspektren von Fluorescein bei der Konzentration $c = 10^{-5}$ g/g. \circ Phosphoreszenzspektrum; \bullet Fluoreszenzspektrum. Die Kurven wurden bei Zimmertemperatur erhalten.

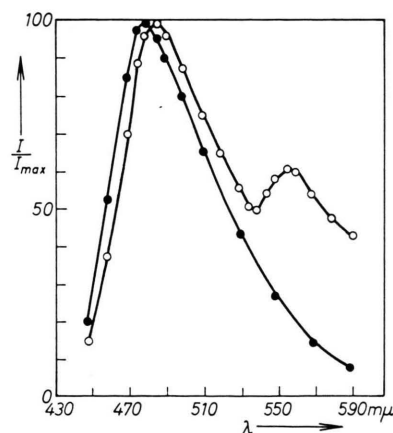


Abb. 4. Emissionsspektren von Fluorescein bei der Konzentration $c = 10^{-3}$ g/g. \circ Phosphoreszenzspektrum; \bullet Fluoreszenzspektrum. Die Kurven wurden bei Zimmertemperatur gemessen.

die Tatsache, daß die Maxima der α -Phosphoreszenzintensität gegen die Maxima der Fluoreszenzintensität nach längeren Wellen um 60 bis 80 Å verschoben sind. Es scheint jedoch, daß diese Verschiebungen von der Farbstoffkonzentration unabhängig sind. Die Maxima der Fluoreszenzintensität und der α -Phosphoreszenzintensität liegen für die Konzentration $c_1 = 10^{-5}$ g/g bei den Wellenlängen 466 und 474 mμ, für die Konzentration $c_2 = 10^{-3}$ g/g bei 479 und 486 mμ. Die Lage des β -Phosphoreszenzmaximums hängt nur sehr gering von der Farbstoffkonzentration ab, und die entsprechenden Maxima für die Farbstoffkonzentration c_1 und c_2 liegen bei den Wellenlängen 555 und 557 mμ. Da von der Farbstoffkonzentration die Lage der Fluoreszenzmaxima beträchtlich, dagegen die Lage der β -Phosphoreszenzmaxima nur sehr wenig abhängt, ist offensichtlich, daß bei zunehmender Konzentration die in Wellenlängen ausgedrückte „Distanz“ zwischen den Fluoreszenz- und Phosphoreszenzmaxima sich verringert. Da die Lage des β -Phosphoreszenzmaximums infolge Überlappung im Bereich zweier Phosphoreszenzbanden (der α - und der β -Bande) sich ändern könnte, wurde die α -Bande durch Herabsetzung der Temperatur ausgeschaltet. Die bei der Temperatur $t = -90^\circ\text{C}$ (bei dieser Temperatur treten keine α -Banden auf) aufgenommenen Emissionsspektren zeigt die Abb. 5. Aus dieser Abb. ist deutlich zu ersehen, daß beim gleichen Konzentrationsunterschied die Verschiebung der Fluoreszenzmaxima gegeneinander größer ist als die der β -Phosphoreszenzmaxima. Diese Verschiebungen betragen 140 Å bzw. 40 Å.

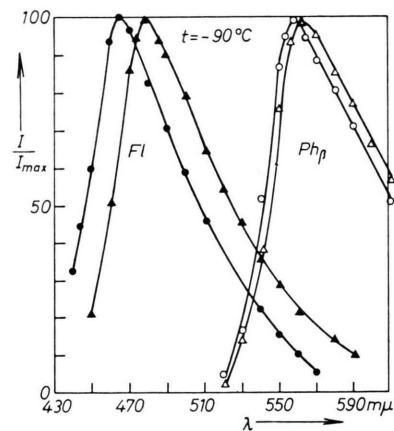


Abb. 5. Emissionskurven von Fluorescein in verschiedenen Konzentrationen bei der Temperatur $t = -90^\circ\text{C}$. \bullet , \circ $c_1 = 10^{-5}$ g/g, \blacktriangle , \triangle $c_2 = 10^{-3}$ g/g. Fl Fluoreszenzkurven; Ph_β Phosphoreszenzkurven (β -Band).

3. Diskussion der Versuchsergebnisse

In sauren Medien, wie der Borsäure, überwiegt eine Form des Fluoresceins, und zwar das Kation. Das wird bestätigt durch das Vorhandensein nur eines Maximums im Absorptions- und Emissionsspektrum der Fluoreszenz. Daher kann hier die von der Farbstoffkonzentration abhängige Verschiebung der Fluoreszenzmaxima nicht wie in unseren früheren Arbeiten ^{7, 8} durch eine Verschiebung des Gleichgewichts zwischen den einzelnen fluoreszierenden Formen erklärt werden, weil die anderen Fluoresceinformen hier keine Rolle spielen.

Andere, für die Konzentrationsverschiebung der Spektren in Frage kommende Ursachen können die folgenden sein:

1. Die Wanderung der Anregungsenergie zwischen den lumineszierenden Molekülen sowie die hieraus folgende unaktive Energiezerstreuung und die sich hieraus ergebende Temperaturerhöhung in den lokalen Lumineszenzzentren.

2. Die Bildung von Lumineszenzzentrengruppen bei zunehmender Konzentration verbunden mit einer Änderung der Wechselwirkung zwischen den Lumineszenzmolekülen innerhalb der Gruppen, als auch zwischen den Zentren und deren Umgebung. Die verschiedenen Zentrengruppen geben ein für sich charakteristisches Spektrum.

Es ist anzunehmen, daß der Konzentrationsverschiebung mehrere gleichzeitig wirkende Ursachen zugrunde liegen. Eine einzelne Ursache könnte eine so große Verschiebung (ca. 120 Å) nicht hervorrufen.

Zu beachten ist die Tatsache, daß die Konzentrationsverschiebung der α -Phosphoreszenz identisch ist mit der der Fluoreszenz, während die β -Bande sich nur unmerklich verschiebt (Abb. 5). Wenn wir die Energiedifferenz ΔE_{FM} zwischen dem Fluoreszenzmaximum und der β -Bande errechnen, und diese als Energiedifferenz zwischen dem Anregungszustand F und dem metastabilen Zustand M (was nur annähernd der Fall ist, da die Intensitätsmaxima den

Übergängen $0 \rightarrow 0$ nicht entsprechen) auffassen, zeigt sich, daß der Wert ΔE_{FM} von der Farbstoffkonzentration abhängig ist. Unsere Ergebnisse und Berechnungen der Werte für ΔE_{FM} aus anderen Arbeiten sind in Abb. 6 zusammengestellt. Die Werte für ΔE_{FM} aus der Arbeit von BACZYŃSKI und CZAJKOWSKI ² sind so berechnet, daß für die Lage der β -Phosphoreszenzmaxima die Werte unserer Arbeit entnommen wurden ⁹. Aus Abb. 6 ist deutlich zu sehen, daß ΔE_{FM} nicht konstant ist, sondern mit ab-

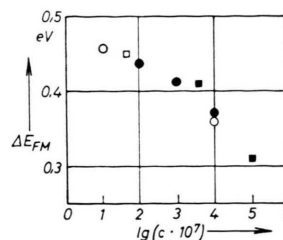


Abb. 6. Die Energiedifferenz ΔE_{FM} in Abhängigkeit von der Farbstoffkonzentration. Auf der Ordinate ist die Energiedifferenz in eV und auf der Abszisse der Logarithmus der Farbstoffkonzentration aufgetragen. ● Werte aus unserer Arbeit; ○ nach BACZYŃSKI und CZAJKOWSKI; ■ nach MOKEEWA und SWESCHNIKOW; □ nach ARISTOW und SWESCHNIKOW. (Nach LEWIS, LIPKIN u. MAGEL ⁵ beträgt der Wert für ΔE_{FM} 0,4 eV, jedoch ist die Farbstoffkonzentration unbestimmt.)

nehmender Konzentration wächst. In Anlehnung an das Metallmodell errechnete JABLOŃSKI ¹⁰ ΔE_{FM} für Fluorescein zu 0,6 eV. Somit wäre die Abhängigkeit der Wachstumstendenz des ΔE_{FM} mit dieser Schätzung in Einklang.

Für die Erklärung der Verschiebung der α -Phosphoreszenzmaxima gegenüber den Fluoreszenzmaxima lassen sich mehrere Möglichkeiten angeben:

1. Das Vorhandensein von zwei metastabilen Niveaus M für das Fluoresceinmolekül. Diese Möglichkeit ist schon früher von PILIPOWITCH und SWESCHNIKOW ¹¹ angegeben worden. Die Ergebnisse der Arbeit von FRACKOWIAK und WALERYŚ ¹² widersprechen jedoch dieser Vorstellung. Daher steht die Deutung dieser Erscheinung noch nicht fest ^{12a}.

⁷ J. GRZYWACZ, Bull. Acad. Polon. Sci., Ser. Sci. Math. Astron. Phys. **11**, 347 [1963].

⁸ J. GRZYWACZ u. R. POHOSKI, Bull. Acad. Polon. Sci., Ser. Sci. Math. Astron. Phys. **11**, 576 [1963].

⁹ A. BACZYŃSKI u. M. CZAJKOWSKI haben nur die Gesamtemissionsspektren gemessen.

¹⁰ A. JABLOŃSKI, Bull. Acad. Polon. Sci., Ser. Sci. Math. Astron. Phys. **6**, 589 [1958].

¹¹ W. A. PILIPOWITCH u. B. SWESCHNIKOW, Opt. i Spektroskopiya **5**, 290 [1958].

¹² M. FRACKOWIAK u. H. WALERYŚ, Acta Phys. Polon. **19**, 199 [1960].

^{12a} FRACKOWIAK und WALERYŚ haben ihre Untersuchungen an Trypaflavin in Gelatine, für die das Bestehen zweier metastabiler Zustände M am wahrscheinlichsten war, durchgeführt. Die Infragestellung des Bestehens zweier metastabiler Zustände im Trypaflavin müßte sich jedoch auch auf Fluorescein beziehen.

2. Die Energiewanderung vom metastabilen Zustand M des angeregten Moleküls zum Zustand M eines anderen Moleküls¹³. In diesem Falle müßte der Unterschied in den Verschiebungen beider Maxima von der Farbstoffkonzentration abhängig sein. Dieses könnte jedoch mit einer größeren Genauigkeit als $\pm 20 \text{ \AA}$ nicht festgestellt werden.

3. Folgende Hypothese dürfte der Wahrheit am nächsten kommen: BAUER und BACZYŃSKI¹⁴ haben festgestellt, daß die Relativausbeute $\eta_{\text{Ph}}/\eta_{\text{F}}$ der Phosphoreszenz zur Fluoreszenz für Fluorescein in Borsäure von der Wellenlänge der anregenden Strahlung abhängig ist. Aus dieser Abhängigkeit könnte angenommen werden, daß die Übergänge vom angeregten Zustand F zum metastabilen Zustand M (in JABLOŃSKIS Niveau-Schema) am wahrscheinlichsten von hohen Schwingungstermen aus erfolgen. Es ist wenig wahrscheinlich, daß das von M nach F zurückkehrende Elektron wieder einen hohen Schwingungsterm von F erreicht. Deshalb haben die Phosphoreszenzübergänge $F \rightarrow N$ (N – Grundzustand in JABLOŃSKIS Niveau-Schema) eine andere Verteilung (aus niedrigeren Schwingungszuständen F) als die Übergänge $F \rightarrow N$ für Fluoreszenz, und deshalb wird

das α -Phosphoreszenzmaximum gegen die längeren Wellen verschoben. Sollte die Annahme richtig sein, müßten die Verschiebungen der Maxima von der anregenden Wellenlänge abhängig sein. Untersuchungen in dieser Richtung sind in Vorbereitung.

4. Zusammenfassung

Als wesentliches Ergebnis vorliegender Arbeit wurde festgestellt, daß

1. das Fluoreszenz- und Phosphoreszenzspektrum sich mit wachsender Farbstoffkonzentration in Richtung längerer Wellen verschiebt,
2. der Wert der Energiedifferenz ΔE_{FM} zwischen dem angeregten Zustand F und dem metastabilen Zustand M, berechnet aus der Lage der Maxima von Fluoreszenz- und β -Phosphoreszenzintensität, von der Farbstoffkonzentration abhängig ist,
3. eine Verschiebung zwischen Fluoreszenz- und α -Phosphoreszenzmaximum existiert, die anscheinend unabhängig von der Farbstoffkonzentration ist. Mögliche Deutungen dieser Beobachtungen wurden diskutiert.

¹³ Auf solche Möglichkeit haben schon R. BAUER, A. BACZYŃSKI u. M. CZAJKOWSKI hingewiesen: Bull. Acad. Polon. Sci., Ser. Sci. Math. Astron. Phys. **6**, 653 [1958].

¹⁴ R. BAUER u. A. BACZYŃSKI, Bull. Acad. Polon. Sci., Ser. Sci. Math. Astron. Phys. **6**, 113 [1958].