SMKS-Ü12 WS2025/26 Lena-Marie Aßmann Gr. 3

12.1) Wofür wird die Stern-Volmer-Analyse verwendet? Wodurch erreicht die Stern-Volmer-Analyse die Vergleichbarkeit der erhaltenen Ergebnisse?

- quantitative Beschreibung Fluoreszenzlöschung & Bestimmung Löschkonstanten
- Vgl. über Normierung auf ungelöschte Intensität/Lebensdauer

12.2) Erläutern Sie die photochemischen Prozesse Singulett-Singulett-Annihilation und Triplett-Triplett-Annihilation.

- S-S: 2 angeregte S-Zustände wechselwirken; einer höher angeregt, anderer relaxiert in Grundzust.
- T-T: 2 T bilden höheres S o. T, mit verzögerter Fluoreszenz

12.3) Geben Sie Beispiele für Energiertransferprozesse in Natur und Technik!

Natur: Photosynthese
Technik: OLEDs

12.4) Wie kann man Energietransferprozesse spektroskopisch nachweisen?

- Abnahme Donorfluoreszenz bei Zunahme Akzeptoremission
- Verkürzung Donor Lebensdauer in zeitaufgelöster Messung

12.5) Was versteht man unter FRET?

Förster-Resonanz-Energietransfer: strahlungsloser Dipol-Dipol-E-Transfer zw. Donor & Akzeptor
↳ spektraler Überlapp & geeignete Orientierung Übergangsdipole

12.6) Welche Abstandsabhängigkeit hat FRET?

- Transferwahrsch. $\sim \frac{1}{R^6}$ → nur im nm-Bereich effektiv

12.7) Warum taucht in der FRET-Formel das normierte Fluoreszenzspektrum aber nicht das normierte Absorptionsspektrum auf?

- Donoremission bestimmt verfügbare E-Dichte für Transfer
- Absorption über Extinktionskoeff. bereits in Überlappintegral

12.8) Was beschreibt der Förster-Radius? Wie errechnet er sich?

- Abstand R_0, bei dem Transferwahrsch. = 50%

↳ spektraler Überlapp, Quantenausbeute Donor, Brechungsindex & Orientierungsfaktor Dipole

Aufgabe 49: Stern-Volmer Löschung (I)

a) Leiten Sie das Zeitgesetz für einen Zerfall erster Ordnung ab.

$$\frac{dN}{dt} = -k N(t) \rightarrow \frac{dN}{N} = -k dt \rightarrow \int_{N_0}^{N(t)} \frac{dN}{N} = -k \int_0^t dt \rightarrow \ln\left(\frac{N(t)}{N_0}\right) = -kt \rightarrow N(t) = N_0 e^{-kt}$$

↳ analog: $I(t) = I_0 e^{-\frac{t}{\tau}}$; $\tau = \frac{1}{k}$

b) Sauerstoff kann durch Stoßlöschung die Fluoreszenzlebensdauer von Fluorophoren in Lösung herabsetzen. Die Löschkonstante ist dabei etwa $1 \cdot 10^{10}\ M^{-1}s^{-1}$. Die Gleichgewichts-konzentration von O_2 in Wasser ist ca. 1,3 mM bei einem O_2-Partialdruck von 10^5 Pa. Wie groß ist der Fehler bei der Lebensdauerbestimmung eines Fluorophors ($\tau_0 \approx 4$ ns), wenn die Messung mit an Luft gesättigter Lösung durchgeführt und die Löschung vernachlässigt wird?

$k_q = 1 \cdot 10^{10} \frac{1}{M \cdot s}$ $[O_2] = 1{,}3\ mM = 1{,}3 \cdot 10^{-3}\ M$ $\tau_0 \approx 4\ ns = 4 \cdot 10^{-9}\ s$

$k_q[O_2] = 1 \cdot 10^{10} \frac{1}{M \cdot s} \cdot 1{,}3 \cdot 10^{-3}\ M = 1{,}3 \cdot 10^{7}\ s^{-1}$

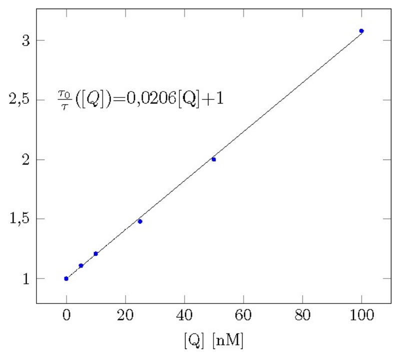
$k_0 = \frac{1}{\tau_0} = \frac{1}{4 \cdot 10^{-9} s} = 2{,}5 \cdot 10^{8}\ s^{-1}$

$\tau = \frac{1}{k_0 + k_q[O_2]} = \frac{1}{2{,}5 \cdot 10^8 s^{-1} + 1{,}3 \cdot 10^7 s^{-1}} \approx 3{,}8\ ns$ ⇒ $\Delta\tau \approx 0{,}2\ ns$ → $\frac{\Delta\tau}{\tau_0} \approx 5\%$

Aufgabe 50: Stern-Volmer Löschung (II)

Es wird ein Experiment zur Fluoreszenzlöschung durchgeführt an einem System, in dem ausschließlich dynamische Löschung vorliegt. In diesem Fall genügt die Messung der Fluoreszenzlebensdauer zur Analyse der Löschkinetik.

a) Bestimmen Sie die dynamische Stern-Volmer Konstante sowie die bimolekulare Löschkonstante aus den gemessenen Fluoreszenzlebensdauern τ in Abhängigkeit der Löscherkonzentration [Q]:



[Q] / mM	0	5	10	25	50	100
τ / ns	4,0	3,6	3,3	2,7	2,0	1,3

$\frac{\tau_0}{\tau} = 1 + K_{SV}[Q]$ $K_{SV} = k_q \tau_0$ $\tau_0 = 4\ ns$

[Q] m[M]	0	5	10	25	50	100
$\frac{\tau_0}{\tau}$	1,0	1,11	1,21	1,48	2,0	3,08

$K_{SV} = 0{,}0206\ mM^{-1}$

$k_q \tau_0 = K_{SV} \rightarrow k_q = \frac{K_{SV}}{\tau_0} = \frac{0{,}0208\ mM^{-1}}{4 ns} = \frac{0{,}0208 \cdot 10^{-3}\ M^{-1}}{4 \cdot 10^{-9}\ s} = 5200\ s^{-1} M^{-1}$

b) Berechnen Sie unter Benutzung der Schmoluchowski-Gleichung und der Stokes-Einstein-Gleichung die diffusionskontrollierte bimolekularen Geschwindigkeitskonstante k_q^{diff}. Das dazu benötigte Radienverhältnis von Farbstoff- und Löschmolekül ist a = 2, die Viskosität des Lösungsmittels bei 20°C ist: $\eta = 1.0016 \cdot 10^{-3}$ Pa · s..

$D = \frac{k_B T}{6\pi\eta r}$ $\quad a = \frac{r_Q}{r_F} = 2 \quad D_{rel} = D_F + D_Q = D_F\left(1+\frac{1}{a}\right) = 1{,}5\, D_F$

$k_q^{diff} = 4\pi N_A R D_{rel} \qquad R = r_F + r_Q = 3 r_F$

$k_q^{diff} = 4\pi N_A (3 r_F)(1{,}5 D_F) = 18\pi N_A r_F D_F = \cancel{18}^{3}\cancel{\pi} N_A \cancel{r_F} \frac{k_B T}{\cancel{6\pi}\eta \cancel{r_F}} = \frac{3 N_A k_B T}{\eta} = \frac{3 \cdot 6{,}022 \cdot 10^{23}\,\mathrm{mol}^{-1} \cdot 1{,}38 \cdot 10^{-23}\,\frac{kg\,m^2}{\cancel{s^2}\,\cancel{K}} \cdot 293\,\cancel{K}}{1{,}0016 \cdot 10^{-3}\,\frac{kg\cdot s}{m\cdot \cancel{s^2}}} = 7{,}3 \cdot 10^{6}\,\frac{m^3}{mol\cdot s} = 7{,}3 \cdot 10^{9}\,M^{-1}s^{-1}$

Aufgabe 51: FRET-Effizienz

Der Förster-Radius R_0 eines speziellen Donor-Akzeptor-Paars („Dansyl", „ODR") beträgt 43 Å. Mit diesem Paar werde der Abstand zwischen zwei markierten Gruppen in einem Protein untersucht. In dem Experiment liege die FRET-Effizienz E_{FRET} bei 0,2. Wie groß ist der Abstand R ($E_{FRET} = (1+(R/R_0)^6)^{-1}$)? Der Förster-Radius steht im Zusammenhang mit der Energie-Transferrate. Welche anschauliche Bedeutung hat er?

$E = \frac{R_0^6}{R_0^6 + R_{DA}^6} \rightarrow R_{DA} = \sqrt[6]{\frac{R_0^6}{E} - R_0^6} = \sqrt[6]{\frac{(43\,Å)^6}{0{,}2} - (43\,Å)^6} = 54{,}2\,Å$

$\hookrightarrow E = 0{,}5: \quad R_0 = R_{DA}$

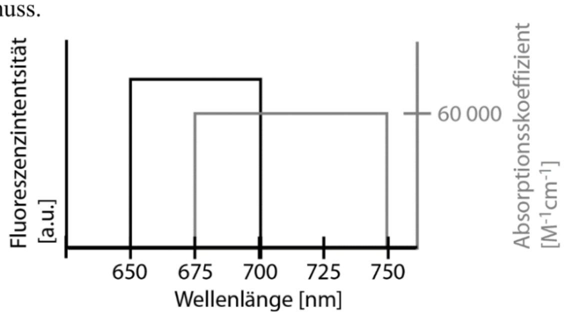
Aufgabe 52: Förster-Radius

Der Förster-Radius R_0 soll mit der Formel

$$R_0 = \left[\frac{9(\ln 10)}{128\pi^5 \cdot N_A} \cdot \frac{J \cdot \kappa^2 \cdot \Phi_{FD(0)}}{n^4}\right]^{\frac{1}{6}} \quad R_0[\mathrm{cm}];\ J[\mathrm{mol^{-1}cm^6}]$$

mit $$J = \int_0^\infty f_D(\lambda)\varepsilon_A(\lambda)\lambda^4 d\lambda \qquad \lambda\ [\mathrm{nm}],\ J\ [\mathrm{M^{-1}\ cm^{-1} nm^4}]$$

berechnet werden. Der Term κ^2 betrage 2/3, die Fluoreszenzquantenausbeute $\Phi_{FD(0)}$ liege bei 0,2 und der Brechungsindex n bei 1,333. Das Fluoreszenzspektrum $f_D(\lambda)$ des Donors und das Absorptionsspektrum ε_A (λ) des Akzeptors können Sie dem Diagramm entnehmen. Beide Spektren werden zur Vereinfachung der Berechnung sehr grob kastenförmig genähert. Beachten Sie, dass für die Berechnung das Integral über das Fluoreszenzspektrum gleich eins sein muss.



$J = \int_0^\infty f_D(\lambda)\varepsilon_A(\lambda)\lambda^4 d\lambda$

$J = \int_{675}^{700} \frac{1}{50\,nm} 6000 \frac{L}{mol\cdot cm} \lambda^4 d\lambda = \frac{1}{50\,nm} 6000 \frac{L}{mol\cdot cm} \int_{675}^{700} d^4 d\lambda = 1200 \frac{L}{mol\cdot cm\cdot nm}\left(\frac{(700\,nm)^5}{5} - \frac{(675\,nm)^5}{5}\right) = 6{,}7 \cdot 10^{15} \frac{L\cdot nm^4}{mol\cdot cm} = 6{,}7 \cdot 10^{-10} \frac{cm^6}{mol}$

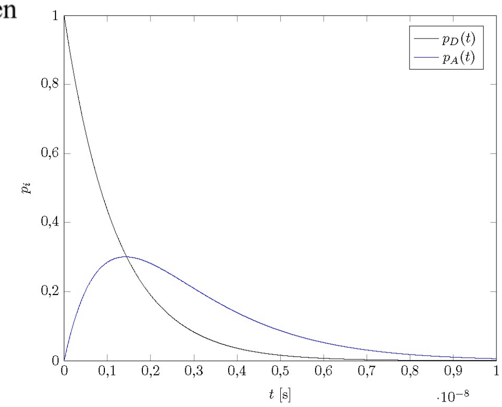
$R_0 = \sqrt[6]{\frac{9 \ln 10}{128\pi^5 N_A} \frac{6{,}7\cdot 10^{-10} \cdot \frac{2}{3} \cdot 0{,}2}{1{,}333^4}} = 54\,Å$

Aufgabe 53: Kinetik des Energietransfers

Wir betrachten das FRET-Paar Fluorescein/Rhodamin B in Wasser. Die Fluoreszenzlebensdauer $1/k_D$ des Donors Fluorescein ohne Akzeptor beträgt 4 ns, die des Akzeptors Rhodamin B (ohne Donor) liegt bei $1/k_A$=1,68 ns. Für einen bestimmten Abstand von Donor und Akzeptor liege die FRET-Effizienz bei 0,7. Erstellen Sie basierend auf diesen Daten ein Diagramm mit den zeitlichen Verläufen der Besetzungen der beiden angeregten Zustände.

Hinweis: Die Besetzung des angeregten Akzeptors gehorcht folgender Gleichung:

$$p_A(t) = \frac{k_{FRET}}{k_A - k_D - k_{FRET}}\left(e^{-(k_D+k_{FRET})t} - e^{-k_A t}\right)$$



$\tau_D = 4\,ns \qquad \tau_A = 1{,}68\,ns \qquad E = 0{,}7$

$E = \frac{k_f}{k_f + k_D} \Rightarrow k_D = k_f(E^{-1} - 1) \rightarrow k_f = \frac{\frac{1}{\tau_D}}{\frac{1}{E} - 1} = \frac{\frac{1}{4\,ns}}{\frac{1}{0{,}7} - 1} = 5{,}8 \cdot 10^8\,s^{-1}$

$p_a(t) = \frac{5{,}8\cdot 10^8 s^{-1}}{6{,}0\cdot 10^8 s^{-1} - 2{,}5\cdot 10^8 s^{-1} - 5{,}8\cdot 10^8 s^{-1}} \left(e^{-(2{,}5\cdot 10^8 s^{-1} + 5{,}8\cdot 10^8 s^{-1})t} - e^{-(6{,}0\cdot 10^8 s^{-1})t}\right)$

$p_D(t) = e^{-(2{,}5\cdot 10^8 s^{-1} + 5{,}8\cdot 10^8 s^{-1})t}$