

EXPERIMENTELLE PRÜFUNG DES WAWIOWSCHEN GESETZES IM FALLE FLUORESZIERENDER LÖSUNGEN

Von I. KETSKEMÉTY, J. DOMBI, J. HEVESI, R. HORVAI und L. KÓZMA

Institut für Experimentalphysik der Universität Szeged

(Eingegangen am 15. September 1961)

Nach Resultaten von Messungen an Fluoreszein und Trypaflavin sind merkliche Abweichungen vom WAWIOWSCHEN Gesetz nachweisbar. Der Verlauf der experimentell erhaltenen Ausbeutekurven wird an die neueren, STEPANOWSCHEN Überlegungen anschließend diskutiert.

§ 1. S. I. WAWILOW fand im Jahre 1927 mittels einer visuellen Methode [1], daß die Quantenausbeute von nur einen fluoreszierenden Stoff enthaltenden Lösungen als Funktion $\eta(\lambda)$ der Erregungswellenlänge λ von der kürzeren Wellenlängen ausgehend nach den längeren Wellen in einem breiten Wellenlängengebiet konstant ist und dann — etwa von der Maximumstelle des Emissionsspektrums an — steil abfällt. TUMERMANS spätere photographische spektrophotometrische Untersuchungen [2] bestätigten die Richtigkeit dieses „WAWIOWSCHEN Gesetzes“. Gleichzeitig fand er, daß der Abfall der Ausbeutefunktion $\eta(\lambda)$ im langwelligen Gebiet bei Erhöhung der Temperatur weniger ausgeprägt wird. Auch andere Autoren [3] führten mit verschiedenen Versuchsmethoden Untersuchungen in dieser Richtung aus, deren Ergebnisse das WAWIOWSCHE Gesetz ebenfalls zu bestätigen schienen.

Da jedoch einerseits die Genauigkeit der bisherigen Versuche zur Prüfung des WAWIOWSCHEN Gesetzes erheblich unter der gegenwärtig erreichbaren Genauigkeit bleibt, und andererseits — wie auch B. I. STEPANOW unlängst darauf hinwies [4] — die derzeit verfügbaren Versuchsdaten im Wellenlängengebiet des abfallenden Abschnittes der Funktion $\eta(\lambda)$ (infolge der geringen Zahl der Meßpunkte) keinen genügenden Grund zur theoretischen Erklärung des Verlaufes von $\eta(\lambda)$ bieten, erscheint die experimentelle Bestimmung von $\eta(\lambda)$ im Falle verschiedener Lösungen um so mehr angezeigt und zweckmäßig, als die störende Wirkung der Sekundärfluoreszenz bei der Bestimmung von $\eta(\lambda)$ in den bisherigen Messungen nicht berücksichtigt wurde.

§ 2. Zur Bestimmung von $\eta(\lambda)$ wurde die in Fig. 1 gezeigte Versuchsanordnung benützt. Das Licht der Lichtquelle Q (durch eine Akkumulatorenbatterie gespeiste Xenonlampe XBO 501) gelangte durch die Linse L_1 , vom Metallspiegel S_1 reflektiert, in den Doppelsonochromator M ; das aus dem Monochromator austretende Licht — durch die Linse L_2 zentriert — fiel teilweise durch die Glasplatte P auf

die Küvette *K*; teilweise wurde es von *P* reflektiert und beleuchtet durch die Mattscheibe *G* den Photoelektronenvervielfacher *Ph*₁. *L*₁ bildete den Bogen der Lampe *Q* mit dreifacher Vergrößerung auf den Eintrittspalt von *M* ab, während der etwa 2 mm lange Austrittspalt von *M* durch die achromatische Linse *L*₂ mit etwa vierfacher Vergrößerung auf die Mitte der Vorderplatte der kreiszylindrischen Küvette *K* abgebildet wurde. Das in *K* erregte und durch den durchsichtigen Zylindermantel austretende Fluoreszenzlicht beleuchtete durch den Filter *F* die ganze Photokathode von *Ph*₂. Sowohl *Ph*₁ als *Ph*₂ waren Photoelektronenvervielfacher des Typs RCA 1P21. Der Durchmesser des Grundkreises der Küvette *K* von der Schichtdicke $l = 1,000$ cm betrug etwa 2 cm, die Entfernung zwischen *K* und *Ph*₂ war etwa 10 cm. *K* war in einem mit Wasser gefüllten parallelepipedförmigen Behälter *H*₁ gestellt. Von den optisch polierten Glaswänden des Gefäßes *H*₁ wurden zwei (in der Fig. 1 fett ausgezogen) zur Vermeidung störender Reflexionen von außen mit Tusche bedeckt und *H*₁ wurde in einem doppelwandigen, durch einen Ultrathermostat temperierten, mit entsprechenden Fenstern versehenen Blechkasten *H*₂ untergebracht. Zur Messung des Photostromes gebrauchten wir die Kompensations-Röhrenmeßeinrichtung eines Spektrophotometers Optica Milano CF4 mit regulierbarer Empfindlichkeit, und zwar so, daß der Photostrom von *Ph*₁ und *Ph*₂ abwechselnd gemessen werden konnte. Die Proportionalität zwischen den Photoströmen und den auf die Photovervielfacher fallenden Lichtintensitäten wurde durch besondere Messungen kontrolliert, im Falle von *Ph*₂ erstreckte sich diese Prüfung auf eine Veränderung der Lichtintensität über drei Größenordnungen.

Die spektrale Bandbreite des aus dem Monochromator austretenden Erregungslichtes war 8—12 mμ. Der spektrale Verlauf der Empfindlichkeit des aus *G* und *Ph*₁ bestehenden Systems wurde durch Messungen mittels eines Thermoelements bestimmt. Die Absorptions- und Emissionsspektren der untersuchten Lösungen wurden mit Hilfe des erwähnten Spektrophotometers aufgenommen; zur Aufnahme der Fluoreszenzspektren benützten wir unsere in [5] beschriebene Methode und zur Ausmessung der Absorptionsspektren benützten wir eine Zusatzeinrichtung, welche die Steigerung der Schichtdicke bis auf 25 cm sowie die Temperierung der Küvetten ermöglichte.

Bei unseren Versuchen wurde der Filter *F* so gewählt, daß die Reabsorption in der Küvette bezüglich des durchgelassenen Fluoreszenzlichtes zu vernachlässigen war. So konnte — die Unabhängigkeit der Gestalt des Fluoreszenzspektrums von der Erregungswellenlänge λ vorausgesetzt — die Ausbeute $\eta(\lambda)$ aus den Photoströmen $I_1(\lambda)$ bzw. $I_2(\lambda)$ der Photovervielfacher *Ph*₁ bzw. *Ph*₂ mittels der Formel

$$\eta(\lambda) = d \frac{I_2(\lambda)}{I_1(\lambda)Q(\lambda)(1 - e^{-k(\lambda)l})(1 + z)} \quad (1)$$

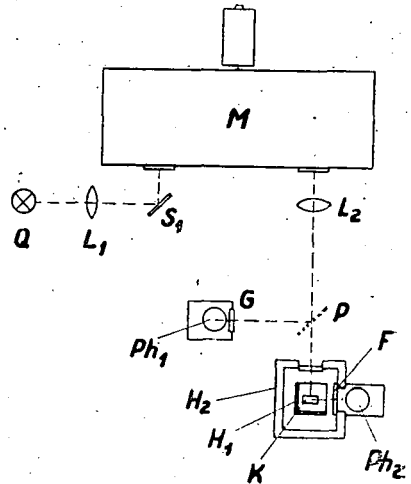


Fig. 1.

berechnet werden. Hierin bezeichnet $Q(\lambda)$ den der Einheit des Photostromes von Ph_1 entsprechenden Erregungsquantenstrom, $k(\lambda)$ den Absorptionskoeffizienten der Lösung, α den nach [6] berechenbaren, von λ abhängigen Quotienten der Anzahl der in der Zeiteinheit in der Lösung entstehenden sekundären und primären Fluoreszenzquanten, und d einen von λ unabhängigen Faktor.

§ 3. Es wurde die Ausbeutefunktion $\eta(\lambda)$ der Lösung von Fluoreszein in Wasser und der Lösung von Trypaflavin in Äthylalkohol bei 25° und 50° C bestimmt. Die Konzentration betrug bei Fluoreszein 10^{-3} Mol/l, bei Trypaflavin 10^{-4} Mol/l. Die Fluoreszeinlösung enthielt 3 Gew. % NaOH, die Trypaflavinlösung $2 \cdot 10^{-3}$ Mol/l HCl. Die Farbstoffe wurden durch geeignete chemische Verfahren gereinigt. Bei den Ausbeutemessungen war der gekreuzte Filter im Falle des Fluoreszeins ein Schott-Glas RG1 und bei Trypaflavin ein Interferenzfilter SIF 500. Die im Nenner

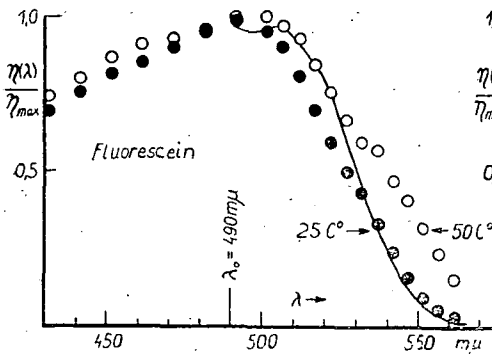


Fig. 2.

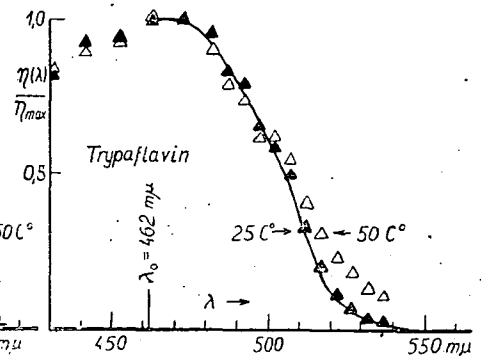


Fig. 3.

der Formel (1) auftretende Größe $(1 - e^{-Ik(\lambda)})$ wurde auf zwei verschiedene Weisen bestimmt. Im langwelligen Teile des Absorptionsspektrums, wo $k(\lambda)$ sehr kleine Werte hat, wurde $k(\lambda)$ mit Benützung langer Küvetten mittels des Spektrophotometers ausgemessen und $(1 - e^{-Ik(\lambda)})$ aus den so erhaltenen Werten berechnet. Im steilen Abschnitt des Absorptionsspektrums, in der Nähe des reinen Elektronenüberganges, war es dagegen zweckmäßiger, die Größe $(1 - e^{-Ik(\lambda)})$ bzw. deren auf den Erregungsband bezogenen Mittelwert mit Benützung der obenerwähnten 1 cm-Küvette — mittels Durchleuchtung durch das aus M austretende monochromatische Bündel — unmittelbar zu messen. α wurde auf die in [6] beschriebene Weise berechnet, wobei der Maximalwert der absoluten Quantenausbeute aus unseren in [5] mitgeteilten Ergebnissen übernommen wurde.

Die für Fluoreszein und Trypaflavin enthaltenen Ausbeutefunktionen sind in Fig. 2 und 3 dargestellt. Von den Abbildungen läßt sich folgendes ablesen.

a) Die Funktionen $\eta(\lambda)$ wachsen von den kürzeren nach den längeren Wellen bis zur auf der Abszissenachse markierten Maximumstelle λ_0 des Absorptionsspektrums langsam an, dann fallen sie steil ab.

b) Dieser Abfall ist — in Übereinstimmung mit TUMERMANS Ergebnissen — bei Lösungen höherer Temperatur weniger steil, als bei niedrigeren Temperaturen.

Nach den unter a) Gesagten ist WAWIŁOWS auf seine an Fluoreszein und Äsculin durchgeführten Messungen gegründetes Ausbeutegesetz von 1927 zwar gültig, jedoch nur als annähernd genau zu betrachten.

§ 4. Der in Fig. 2 und 3 gezeigte Verlauf der Funktionen $\eta(\lambda)$ ist auf Grund von STEPANOWS Auffassung qualitative gut zu erklären [4]. Danach ist nämlich der Absorptionskoeffizient $k(\lambda)$ der Lösung in die Summe von zwei Koeffizienten, $k(\lambda) = k_{akt}(\lambda) + k_{inakt}(\lambda)$ zu zerlegen, wo k_{akt} bzw. k_{inakt} die den mit der Erregung der gelösten Molekeln verbundenen bzw. nicht verbundenen (sog. aktiven bzw. inaktiven) elementaren Absorptionsakten zugeordneten Absorptionskoeffizienten bedeuten. Nach den Ausführungen von [4] ist k_{inakt} von der Wellenlänge λ im allgemeinen in sehr geringem Maße abhängig und bei der Maximumstelle des Absorptionsspektrums $k_{akt} \gg k_{inakt}$; s. Fig. 4. Deshalb hat nach der Arbeit [4] von STEPANOW die nach der Gleichung

$$\eta(\lambda) = \text{const.} \frac{k_{akt}(\lambda)}{k(\lambda)} \quad (2)$$

berechenbare Funktion $\eta(\lambda)$, wie zu erwarten, die in Fig. 4 gezeigte Form, und unsere experimentell bestimmten Funktionen zeigen tatsächlich einen solchen Verlauf. Es ist aber zu bemerken, daß die von STEPANOW angenommene Konstanz von $k_{inakt}(\lambda)$ im Antistokes-Gebiet bei den von uns untersuchten beiden Stoffen auch nur annähernd nicht bestehen kann; die experimentell aufgenommenen Funktionen $k(\lambda)$ fallen nämlich im langwelligeren Gebiet gegen das Maximum von $k(\lambda)$ um 3—4 Größenordnungen.

Die experimentell erhaltenen Ausbeutekurven wollen wir auch mit der in [7] von uns modifizierten STEPANOWSchen Beziehung, d. h. mit den sich aus der Gleichung

$$\eta(\lambda) = \text{const.} \frac{f_q(\lambda)}{k(\lambda)\lambda^{-4}e^{-hc/kT\lambda}} \quad (3)$$

ergebenden (in Fig. 2 und 3 ausgezogenen) Kurven vergleichen. Der Verlauf der berechneten Kurve $\eta(\lambda)$ stimmt im Falle des Fluoreszeins annähernd bei Trypaflavin dagegen sehr gut mit dem experimentell erhaltenen überein. Die Ursache des in der Nähe der Frequenz des reinen Elektronenüberganges (Spiegelfrequenz) auftretenden, nicht vernachlässigbaren Formunterschiedes konnte bisher nicht geklärt werden. Doch scheint — obwohl der Fehler der experimentell aufgenommenen Kurve $\eta(\lambda)$ im obenerwähnten Gebiet schon infolge der etwa 10 m μ betragenden Bandbreite des Erregungslichtes nicht kleiner als 10% angenommen werden kann — der langwellige Abfall der Ausbeute auch im Falle des Fluoreszeins bei der Maximumstelle des Absorptions- und nicht des Emissionsspektrums zu beginnen. Andererseits ist die Formabweichung zwischen den berechneten und gemessenen Funktionen $\eta(\lambda)$ auch beim Fluoreszein nicht so beträchtlich, daß die praktische Anwendbarkeit der Formel (3) (z. B. zur Berechnung der für die Sekundärfluoreszenz charakteristischen Größe x) zu bezweifeln wäre.

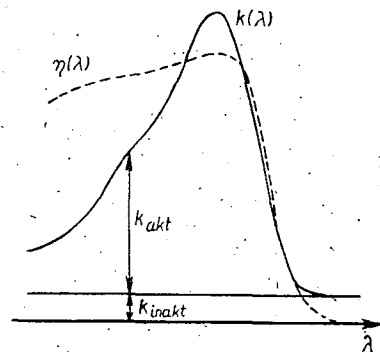


Fig. 4.

Auf die Temperaturabhängigkeit der Funktionen $\eta(\lambda)$ soll in einer anderen Arbeit eingegangen werden.

Zusammenfassend kann — ohne statt des WAWILOWschen Gesetzes ein modifiziertes und allgemeine Gültigkeit beanspruchendes Gesetz auszusprechen — festgestellt werden, daß obwohl in den von uns untersuchten Fällen die Wellenlängenabhängigkeit der Ausbeutefunktionen im Großen und Ganzen dem WAWILOWschen Gesetz gehorcht, diese Wellenlängenabhängigkeit durch an die Formeln (2) bzw. (3) anschließende Überlegungen genauer als durch das WAWILOWsche Gesetz zu erklären ist.

* * *

Auch an dieser Stelle möchten die Verfasser Herrn Prof. Dr. A. BUDÓ, dem Direktor des Instituts für seine wertvollen Ratschläge und sein beständiges Interesse ihren besten Dank aussprechen.

Literatur

- [1] *Wawilow, S. I.*: Z. Physik **42**, 314 (1927).
- [2] *Tumerman, L. A.*: Trudi Phys. Inst. AN UdSSR **1**, 77 (1938).
- [3] Vgl. z. B. *Solomin, S. S.*: C. R. Acad. Sci. UdSSR **31**, 742 (1941).
- [4] *Stepanow, B. I.*: Izv. Akad. Nauk UdSSR, Ser. Phys. **20**, 493 (1956).
- [5] *Ketskemény, I., J. Dombi, R. Horvai, J. Hevesi, L. Kozma*: Acta Phys. et Chem. Szeged **7**, 17 (1961).
- [6] *Budó, A., I. Ketskemény*: J. Chem. Phys. **25**, 955 (1956); Acta Phys. Hung. **7**, 207 (1957); *Budó, A., J. Dombi, L. Szöllösy*: Acta Phys. et Chem. Szeged **2**, 18 (1956).
- [7] *Ketskemény, I., J. Dombi, R. Horvai*: Ann. Physik (im Erscheinen).

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЙ КОНТРОЛЬ ЗАКОНА ВАВИЛОВА ПРИ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ РАСТВОРОВ

И. Кечкемети, И. Домби, И. Хевеши, Р. Хорваи, Л. Козма

Согласно результатам измерений растворов флуоресценна и триафлавина наблюдаются заметные отклонения от так называемого закона Вавилова. Ход экспериментальных функций выхода дискутируются в связи рассуждений Степанова.