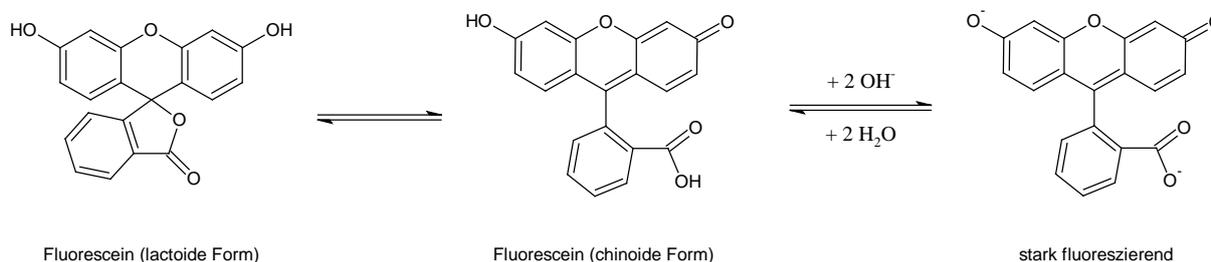


Gruppe 12 – eigener Versuch

Herstellung und Fluoreszenz von Fluorescein

Reaktion/ Strukturformeln:



Zeitbedarf:

Vorbereitung:	10 min
Versuchsdurchführung:	35 min
Nachbereitung	15 min

Chemikalien:

Chemikalien	Summen- formel	Menge	R-Sätze	S-Sätze	Gefahren- symbole	Schuleinsatz (HessGiss)
Phthalsäure- anhydrid	$C_8H_4O_3$	1 g	22-37/38- 41-42/43	23-24/25- 26-37/39- 46	Xn	S 1
Resorcin	$C_6H_4(OH)_2$	2 g	22-36/38- 50	26-61	Xn, N	S 1
Zinkdichlorid (wasserfrei)	$ZnCl_2$	4 g	22-34- 50/53	26- 36/37/39- 45-60-61	C, N	S 1
Natrium- hydroxid- Lösung (w = 10 %)	$NaOH \cdot aq$	3 mL	35	26-37/39- 45	C	S 1

Geräte und Materialien:

- Großes, schmelzfestes Reagenzglas
- Reagenzglas (normal)
- Becherglas (1 L)
- Gasbrenner
- Glastrichter
- Faltenfilter
- Becherglas (250 mL)
- Uhrglas
- UV-Lampe
- Tropfpipette mit Pipettenhütchen

Versuchsaufbau:



Abb. 1: Dickwandiges Reagenzglas mit dem Reaktionsgemisch und dem Gasbrenner.

Versuchsdurchführung:

In ein großes Reagenzglas werden 1 g Phthalsäureanhydrid, 2 g Resorcin und 4 g wasserfreies Zinkdichlorid gegeben und das Gemenge über kleiner Gasflamme erhitzt. Nach der Bildung einer Schmelze wird diese noch 5 weitere Minuten erhitzt. Sobald die Schmelze erstarrt ist wird das Reagenzglas mit 20 mL entionisiertem Wasser versetzt. Nach kräftigem Umschütteln wird die Lösung filtriert. Das Filterpapier mit dem Filtrerrückstand wird nun zum Trocknen auf ein Uhrglas gegeben.

In ein Reagenzglas mit 5 mL entionisiertem Wasser wird nun eine Spatelspitze des getrockneten Filtrerrückstandes gegeben. Anschließend wird die Lösung mit einer 10 %-igen Natriumhydroxid-Lösung versetzt. Dieses Gemisch wird kräftig geschüttelt und in einem abgedunkelten Raum mit einer UV-Lampe bestrahlt. Zuletzt wird ebenfalls unter UV-Bestrahlung ein mit Wasser gefülltes 1 L Becherglas tropfenweise mit der Lösung aus dem Reagenzglas versetzt.

Beobachtungen:

Das pulverförmige Reaktionsgemisch schmolz rasch über der Brennerflamme. Es bildete sich eine Schmelze, die sich schnell schwarz färbte. Zudem schäumte das Reaktionsgemisch unter Bildung eines weißen Rauches auf. Nach dem Erkalten der Schmelze und der Zugabe des Wassers ging ein Teil der Schmelze in Lösung. Die Lösung färbte sich dunkelgrün und fluoreszierte schwach. Nach dem Filtrieren dieses Gemisches lag ein schwarzer Filterkuchen vor. Das Filtrat war gelb gefärbt und fluoreszierte.

Nachdem eine Spatelspitze des Filtrerrückstandes in 5 mL Wasser gelöst wurde lag eine grünliche leicht fluoreszierende Lösung vor. Als diese Lösung mit der Natronlauge versetzt wurde begann sie stärker zu fluoreszieren. Hielt man die Lösung gegen das Sonnenlicht, so war eine klare, dunkelgrüne Flüssigkeit zu beobachten. Wurde dieselbe Lösung mit dem Lichteinfall betrachtet, so war die Lösung undurchsichtig und fluoreszierte stark. Unter der UV-Lampe war der Fluoreszenzeffekt noch stärker wahrnehmbar.

Das reine Wasser, in einem 1 L Becherglas, zeigte keine fluoreszierenden Eigenschaften. Wurde es mit einem Tropfen der Lösung aus dem Reagenzglas versetzt, so konnte beobachtet werden, wie sich ein heller fluoreszierender Tropfen unter der Bildung eines Ringes immer weiter im Wasser ausbreitete. Es genügten wenige Tropfen um das gesamte Wasser einzufärben und der Lösung fluoreszierende Eigenschaften zu verleihen.



Abb. 2: Reaktionsgemisch nach dem Erhitzen bis zur Schmelze.



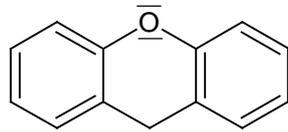
Abb. 3: Reaktionsprodukt nach Zugabe der Natriumhydroxid-Lösung.

Entsorgung:

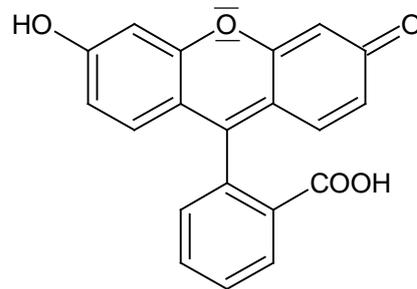
Die anhaftenden Reste des Reaktionsproduktes im dickwandigen Reagenzglas wurden unter Erhitzen mit Wasser gelöst und in einem Becherglas gesammelt. Im Anschluss wurden alle weiteren Lösungen dazugegeben. Das Gemisch wurde neutralisiert und in den Sammelbehälter für organische Lösungen gegeben. Das trockene Filterpapier wurde mit dem Filterkuchen in der Feststofftonne entsorgt.

Fachliche Analyse:

Fluorescein ist ein organischer Farbstoff und weist als Grundgerüst das Xanthen auf. Damit zählt es zur Gruppe der Xanthenfarbstoffe. Weitere Beispiele für diese Farbstoffklasse sind Eosin, Bengalrosa, Erythrosin und die Rhodamine.



Xanthen



Fluorescein (chinoide Form)

All diese Farbstoffe haben die gemeinsame Eigenschaft, dass sie bei Bestrahlung von UV-Licht fluoreszieren. Von Fluoreszenz wird gesprochen, wenn ein Stoff die Eigenschaft besitzt, unsichtbares UV-Licht zu absorbieren und anschließend als sichtbares Licht wieder zu emittieren. Bei Betrachtung der Struktur von Fluorescein fällt auf, dass das Molekül über ein ausgedehntes π -Elektronensystem verfügt. Auf diesem Elektronensystem können sich die delokalisierten π -Elektronen frei bewegen. Dabei stehen die π -Elektronen in ständiger Wechselwirkung mit eintreffenden Photonen. Haben die Photonen eine bestimmte Wellenlänge, so werden sie von dem Molekül absorbiert. Der dadurch aufgenommene Energiebetrag entspricht exakt der benötigten Energiemenge um ein π -Elektron auf ein höheres Energieniveau zu heben. Dieser Angeregte Zustand des Moleküls ist jedoch nicht stabil, so dass das Elektron nach kurzer Zeit wieder relaxiert, also auf ein niedrigeres Energieniveau zurückfällt. Wurde ein Photon aus dem UV-Bereich des Wellenspektrums absorbiert, so wird nun ein weniger energiereiches Photon, das dem sichtbaren Wellenlängenbereich des Spektrums entspricht emittiert. Die bleibende Energiedifferenz wird entweder in Form eines weiteren, weniger energiereichen Photons oder in Form von Valenzschwingungen abgegeben, bis das π -Elektron wieder auf seinem ursprünglichen Energieniveau angekommen ist. Das so emittierte Licht wird als Fluoreszenz wahrgenommen.

Wird dagegen ein Photon aus dem sichtbaren Wellenlängenbereich absorbiert, so wird die aufgenommene Energie beim Relaxieren des Elektrons ausschließlich in Valenzschwingungen umgewandelt. Durch diesen Effekt werden alle Photonen absorbiert, die ein Elektron anregen können. Die übrigen Photonen treten nicht in Wechselwirkung mit dem Farbstoff und können diesen ungehindert passieren. Der Farbstoff erscheint in der Farbe, in deren Wellenlängenbereich keine Photonen absorbiert werden, der Komplementärfarbe.

Wird eine Probe einer wässrigen Fluorescein-Lösung gegen das Sonnenlicht gehalten, so entsteht der Farbeindruck Grün. Das heißt alle Photonen des sichtbaren Wellenlängenbereiches, die nicht der Farbe Grün entsprechen wurden vom Farbstoff absorbiert. Aus diesem Blickwinkel wird der Fluoreszenz-Effekt durch das grüne Licht überdeckt. Wird dieselbe Probe dagegen mit dem einfallenden Licht betrachtet, so erscheint diese in einem hellen, leuchtenden Gelb-grün. Aus diesem Blickwinkel ist der Anteil an emittierten Photonen, die auf Fluoreszenz basieren, größer. Am größten ist jedoch der Anteil an emittierten, fluoreszenzbasierten Photonen bei Bestrahlung der Probe mit einer UV-Lampe in einer Dunkelkammer. Unter diesen Bedingungen erscheint die Lösung in einem giftigen, hellen Grünton. Das nun sichtbare Licht resultiert fast ausschließlich aus Fluoreszenz.

Aufgrund seiner fluoreszierenden Eigenschaft und der damit verbundenen Signalwirkung des Farbstoffes findet das Fluorescein Anwendung bei der Bergung von Schiffbrüchigen und notgewässerten Piloten. Der Farbstoff ist auch bei einer Wasserverdünnung von $1:10^6$ noch gut wahrnehmbar. Eine 500 g Tablette Fluorescein ist in der Lage eine Meeresoberfläche von 4000 m^2 zu markieren. Damit wird die Bergung auf dem offenen Meer entschieden erleichtert.

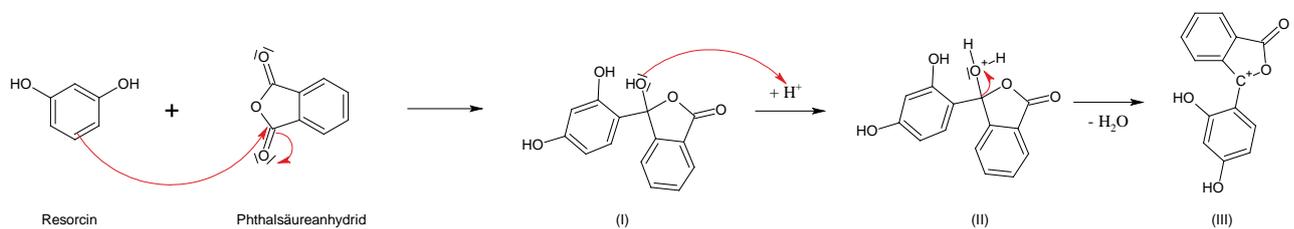
Schon 1877 wurde der Farbstoff verwendet um die Donauversickerung im Juragebiet zu erforschen und eine unterirdische Bachverbindungen zu Aach nachzuweisen. Dazu wurden 10 L einer konzentrierten Fluorescein-Lösung in den Oberlauf der Donau gegeben. Nach etwa 60 Stunden war der fluoreszierende Farbstoff in dem kleinen Bach nachweisbar.

Eine weitere Interessante Anwendung findet der Farbstoff als Comers-Reagenz. Ein Teil Fluorescein wird hierbei mit einem Teil Natriumcarbonat und acht Teilen Wasser gemischt. Dieses Reagenz wurde früher Menschen injiziert, bei denen der Verdacht auf einen Scheintod bestand. Handelte es sich tatsächlich um eine scheinotote Person, so wurde der Farbstoff rasch über den Blutkreislauf in das Augenintegument transportiert, so dass der weiße Bereich des Augapfels in einem hellen Gelb-Grün fluoreszierte. War die Person dagegen wirklich verstorben, so breitete sich der Farbstoff nicht über den Blutkreislauf aus und konnte auch nicht im Auge des Verstorbenen nachgewiesen werden. Auch heute noch werden Fluorescein-Lösungen zur Diagnose von Durchblutungsstörungen und Hornhautschäden im Auge angewendet. In Kosmetikprodukten findet sich der Farbstoff in Seifen, Badesalzen und Schaumbädern.

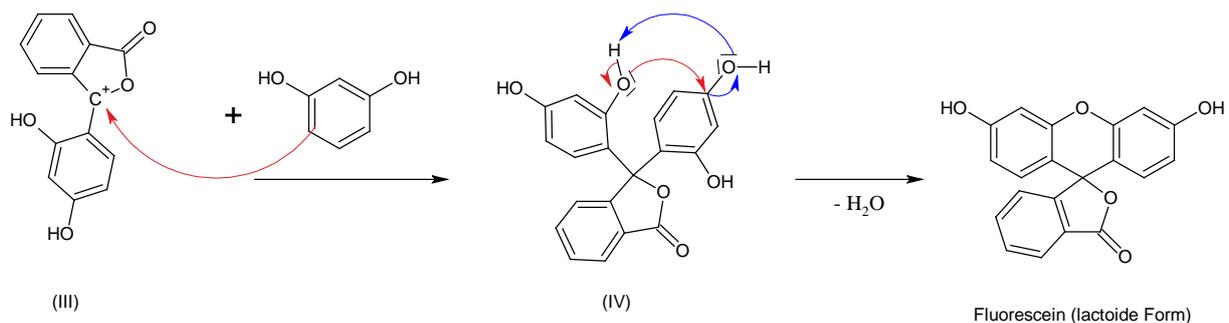
Beim Fluorescein handelt es sich um den ältesten verwendeten Fluoreszenzfarbstoff. Im Jahre 1871 gelang A. von Beyer erstmalig die Synthese durch das Erhitzen von

Phthalsäureanhydrid mit Resorcin. Später wurde zu dieser Mischung, aufgrund der stark hygroskopischen Wirkung, Zinkdichlorid als Zusatz beigelegt.

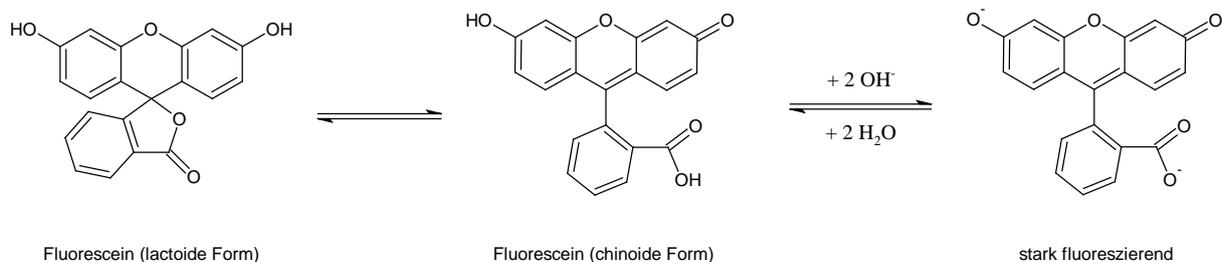
Wird das Reaktionsgemisch bis zur Schmelze erhitzt, so greift ein Elektronenpaar der delokalisierten π -Elektronen des Resorcins an einem Carbonyl-Kohlenstoff-Atom des Phthalsäureanhydrids nach dem Mechanismus einer nucleophilen aromatischen Substitution an. Das dabei freigesetzte Proton wird sofort vom Carbonyl-Sauerstoff-Atom abgefangen. Aufgrund des +M-Effektes der OH-Gruppen des Resorcins wird die Substitution ortho- und para-dirigiert. Die für beide OH-Gruppen para-ständige Position ist aus sterischen Gründen gehemmt (I). Durch eine weitere Protonierung dieses O-Atoms wird ein Wassermolekül vorgebildet, welches schließlich als Abgangsgruppe austritt. Dabei kommt es zur Bildung eines Kations (III), das als Nucleophil fungiert.



In einer weiteren Nucleophilen Substitution wird analog zu oben beschriebenen Vorgang ein weiteres Resorcin-Molekül addiert. Es kommt zur Bildung des Zwischenproduktes (IV). Durch Kondensation (blaue Pfeile) und Ringschluss (rote Pfeile) wird über ein verbrückendes Sauerstoffatom schließlich das Xanthengerüst aufgebaut. Nun liegt die lactoide Form des Fluoresceins vor.



Die lactoide Form steht dabei über eine Tautomerie im Gleichgewicht zur chinoiden Form des Farbstoffs. Wird das chinoide Fluorescein mit einer Base wie z. B. Natronlauge versetzt, so werden die Carbonsäure und die Alkoholgruppe deprotoniert. Die entstehende Spezies ist aufgrund der negativen Ladungen polar und damit gut in Wasser löslich. Auf diese Weise entsteht ein sehr elektronenreiches π -Elektronen-System, das den Fluoreszierenden Effekt des Farbstoffes ermöglicht.



Um die Produktausbeute der Fluoresceindarstellung zu erhöhen, wird dem Reaktionsgemisch das stark hygroskopische Zinkdichlorid beigegeben. Durch die Bildung von kristallinem Zinkhydrat wird das bei den Kondensationen gebildete Wasser sofort gebunden und dem System entzogen. Damit kann verhindert werden, dass eine Rückreaktion erfolgt. Die Ausbeute des gewünschten Produktes erhöht sich.

Methodisch-didaktische Analyse:

1. Einordnung

Der Versuch kann wie folgt in die Themengebiete des hessischen Lehrplans (G8) eingebettet werden.

Jahrgangsstufe u. Unterrichtseinheit	Themengebiet
11G.2	<i>Fakultativ:</i> <u>Farbstoffe:</u> Natürliche und synthetische Farbstoffe; Struktur und Lichtabsorption; Mesomerie-Modell; Textilfärbung; Färbverfahren.
12G.2	<u>Farbstoffe:</u> Licht und Farbe; Theorien der Farbigekeit; Einteilung der Farbstoffe nach Farbstoffklassen; Synthese von Farbstoffen; Färbetechniken; anorganische Farbmittel; pH-Indikatoren; Lebensmittel-farbstoffe; Farbfotografie; natürliche Farbstoffe und Pigmente.

2. Aufwand

Mit Ausnahme einer UV-Lampe werden für den Versuch keine besonderen Geräte oder Materialien benötigt. Alle weiteren Geräte zählen zu Grundausrüstung einer Chemie-Sammlung. Zwar ist die Verwendung einer UV-Lampe nicht zwingend für die Durchführung des Versuchs erforderlich, dennoch kann damit der Effekt der Fluoreszenz besser verdeutlicht werden. Sollte eine UV-Lampe zur Verfügung stehen, so muss für den effizienten Einsatz der Lampe eine ausreichende Verdunklung des Raumes gewährleistet werden. Alternativ kann auf einen abdunkelbaren Raum ausgewichen werden.

Die verwendeten Chemikalien werden nur in geringen Mengen im Reagenzglasmaßstab benötigt, so dass der Versuch keine hohen Kosten verursacht. Das Experiment kann prinzipiell

innerhalb einer Schulstunde durchgeführt werden, besser ist jedoch die Durchführung innerhalb einer Doppelstunde. Da der Versuch schöne Effekte zu bieten hat, sollte ausreichend Zeit für genaue Beobachtungen vorhanden sein.

Insgesamt ist der Versuch gut für den Einsatz im Unterricht geeignet.

3. Durchführung

Der Versuch funktioniert sehr zuverlässig. Alle Effekte sind auch aus größerer Entfernung gut zu sehen. Besonders der Effekt des Fluoreszierens wird in diesem Versuch auf eindrucksvolle Weise deutlich. Um den Unterschied zwischen Lichtabsorption und Fluoreszenz deutlich zu machen, kann das Reagenzglas mit dem Fluorescein als Demonstrationsobjekt durch die Klasse gereicht werden. Die Schüler können die Probe dann abwechselnd gegen das Licht oder mit dem Licht betrachten.

Nach HessGiss sind alle Chemikalien für Schülerexperiment ab der Sekundarstufe I freigegeben. Der Versuch eignet sich sehr gut für die Durchführung als Schülerexperiment.

Literatur:

- Versuchsvorschrift aus: Praxis der Naturwissenschaften, 3/51, S. 22, 2002.
- <http://www.chids.de/dachs/praktikumsprotokolle/PP0148Fluoresceindarstellung.pdf>; Zugriff: 28.07.09.
- A. F. Holleman, E. Wiberg, N. Wiberg, **Lehrbuch der Anorganischen Chemie, 102. Auflage**, Walter de Gruyter & Co., Berlin, 2007.
- **HessGiss-Datenbank**, V 11.0 – 2006/2007.
- www.dguv.de, **GESTIS-Stoffdatenbank**, 2009, Zugriff: 12.07.09.
- **Lehrplan Chemie, Gymnasialer Bildungsgang, Jahrgangsstufen 7G bis 12G**, Hessisches Kultusministerium 2008.