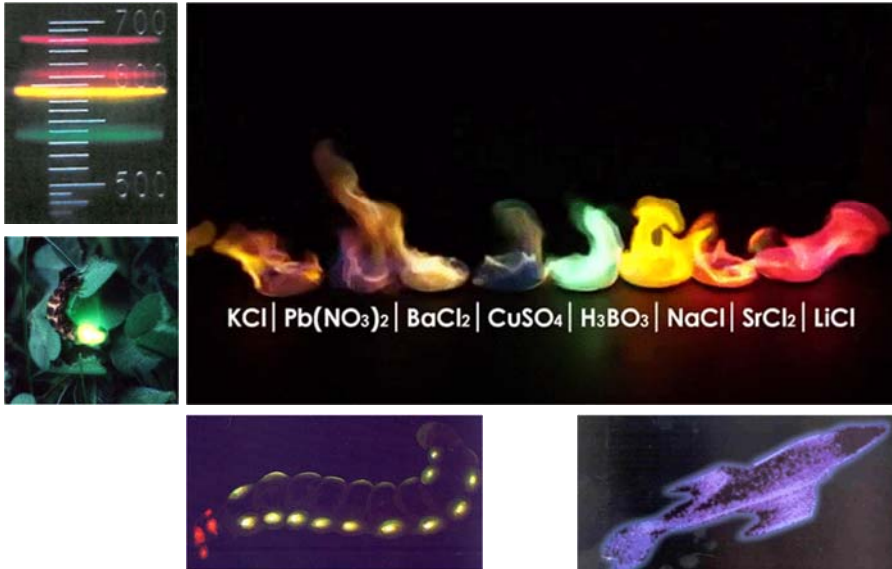


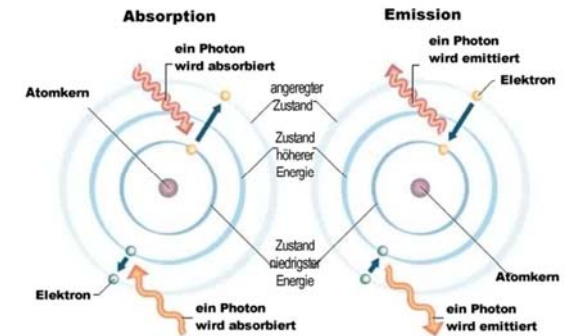
## Lumineszenz



KAD 2023.10.10

**Lumineszenz:** Lichtemissionsüberschuss eines Körpers im Vergleich zu seiner Temperaturstrahlung. Angeregte Elektronen kehren zum Grundzustand zurück und emittieren Photonen.

### Atomare Grundlagen der Absorption und Emission



ohne Anregung ist der Grundzustand am meisten bevölkert

„angeregter Zustand“: alle Zustände höherer Energie

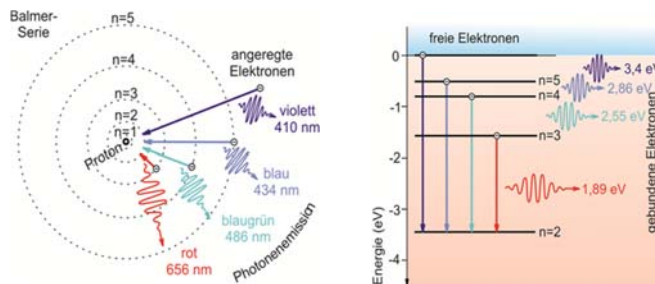
durch Aufnahme eines entsprechenden Energiequantums kann das Elektron in den angeregten Zustand gelangen

2

### Energieniveaus der Elektronen

- die innere Energie eines Elektrons: bestimmt die benötigte Energie um frei zu werden
- die Elektronen sind nur auf bestimmten Energieniveaus (elektronische Zustände) vorhanden,
- die durch die Quantenzahlen eindeutig definiert sind
- ohne Anregung sind die niedrigsten Energieniveaus am meisten bevölkert

### Wasserstoffatom



Die Atome des Niederdruck-Wasserstoffgases bewegen sich unabhängig voneinander

### Klassifizierung der Lumineszenz nach der Anregungsart

Art der Anregung	Name (-lumineszenz)	Beispiel
Licht	Photo-	Chinin-sulphat, Phosphor, ...
Wärme	Thermo-	CaSO <sub>4</sub> (Dy)
Röntgenstrahlung	Röntgen-	NaI (Tl)
radioaktive Strahlung	Radio-	NaI (Tl)
elektrisches Feld	Elektro-	Quecksilberdampflampen, Leuchtdioden
Beschuss mit Elektronen	Kathodo-	Leuchtschicht einer Kathodenstrahlröhre
mechanische Wirkung	Tribo-	bei Zuckerkristallen
chemische Reaktion	Chemi-	Luminol zum Nachweis von Blut
chemische Reaktion in lebenden Organismen	Bio-	Glühwürmchen, Oxidation von Luciferin im Leuchtkäfer

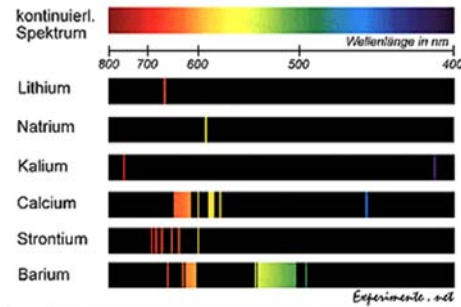


4

## Thermolumineszenz, Flammenfärbung

Energieumwandlung kommt durch Valenzelektronen zustande, die durch die Wärmeenergie in einen angeregten Zustand gehoben werden und unter der Abgabe von Licht wieder zurückfallen.

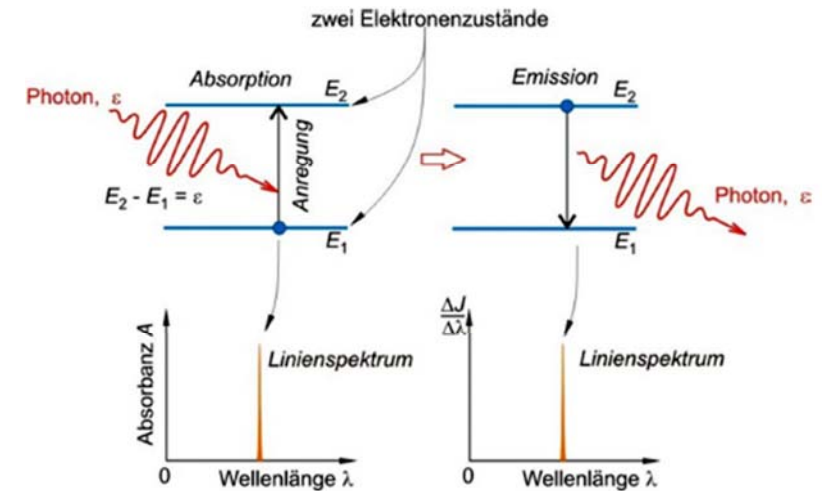
### Linienpektren der Alkali- und Erdalkalimetalle



S. Praktikum

5

## Photolumineszenz



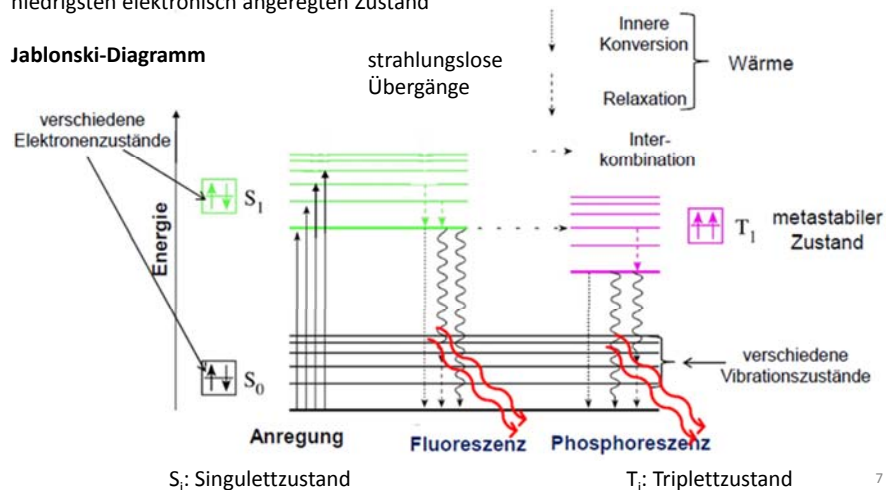
6

## Photolumineszenz von Molekülen

$$\text{Energie: } E_{\text{Molekül}} = E_{\text{Elektron}} + E_{\text{Vibration}} (+ E_{\text{Rotation}})$$

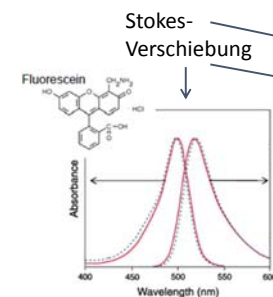
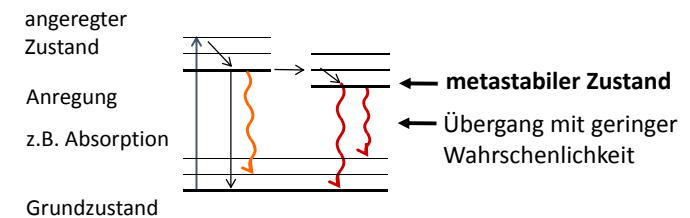
**Kasha-Regel:** das Elektron gelangt immer auf das niedrigste Vibrationsniveau des ersten angeregten Zustands und die Emission eines Photons stammt aus diesem niedrigsten elektronisch angeregten Zustand

### Jablonski-Diagramm



7

## Photolumineszenz: Fluoreszenz und Phosphoreszenz



**Fluoreszenz** **Phosphoreszenz**

$$\begin{aligned} \bar{\epsilon}_{\text{phos}} &\leq \bar{\epsilon}_{\text{fluo}} \leq \bar{\epsilon}_{\text{abs}} \\ \bar{\lambda}_{\text{abs}} &\leq \bar{\lambda}_{\text{fluo}} \leq \bar{\lambda}_{\text{phos}} \\ \tau_{\text{fluo}} &\ll \tau_{\text{phos}} \end{aligned}$$

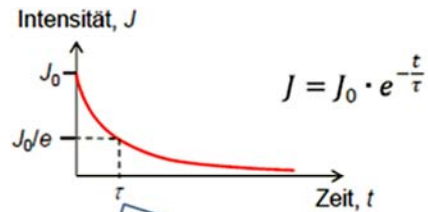
z. B. Tryptophan:

$$\begin{aligned} \bar{\lambda}_{\text{fluo}} &= 340 \text{ nm} \\ \bar{\lambda}_{\text{phos}} &= 440 \text{ nm} \\ \tau_{\text{fluo}} &= 0,1 - 5 \text{ ns} \\ \tau_{\text{phos}} &= 0,001 - 5 \text{ s} \end{aligned}$$

8

## Eigenschaften des Lichtes

exponentielles Abklingen in der Zeit nach einer kurzzeitigen impulsförmigen Anregung



**Lebensdauer**  
(Fluoreszenzlebensdauer oder Phosphoreszenzlebensdauer)

$$\tau_{\text{fluo}} < \tau_{\text{phos}}$$

$\approx \text{ns}$        $\approx \mu\text{s} - \text{s}$

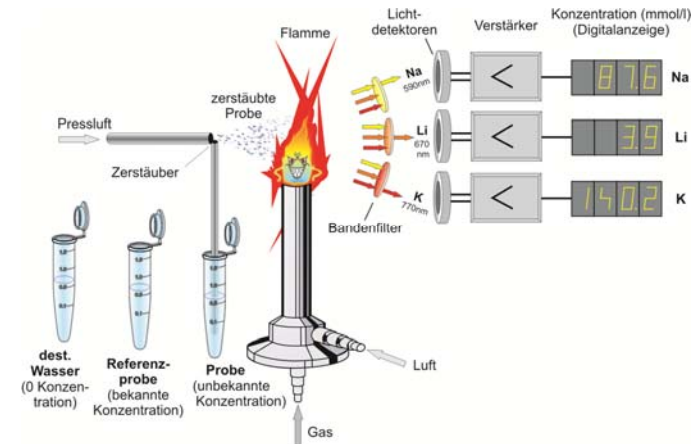
**Quantenausbeute:** das Verhältnis zwischen der Anzahl der emittierten Photonen und der Anzahl der absorbierten Photonen

$$Q_{\text{Fluoreszenz}} = \frac{n_{\text{Photonen,emittiert}}}{n_{\text{Photonen,absorbiert}}} \leq 1$$

9

## Anwendungen

### Labordiagnostik

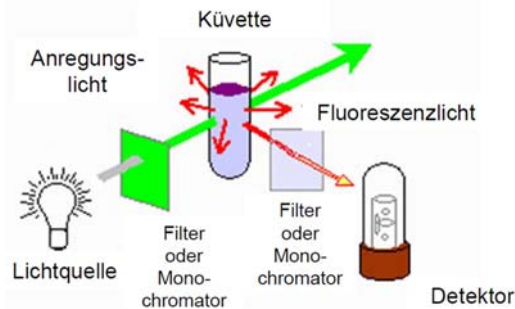


Konzentrationsbestimmung von Na, K, Li, ... mit Hilfe des Flammenphotometers

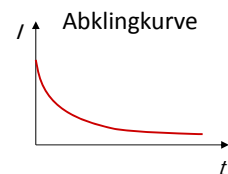
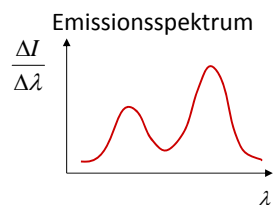
10

## Fluorimeter

Aufbau



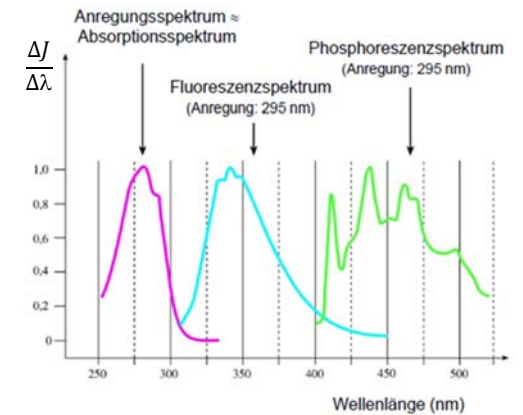
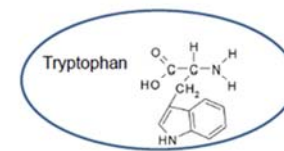
ein Gerät



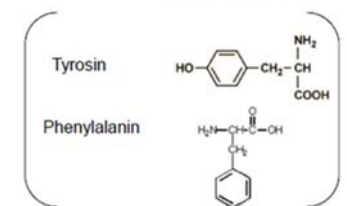
11

## Fluoreszenzspektroskopie

z.B. Proteinforschung

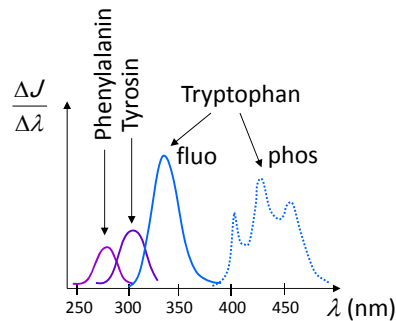


Die Eigenschaften des Lumineszenzlichtes (Intensität, spektrale Verteilung, Stokes-Verschiebung, Lebensdauer, ...) sind sehr empfindlich gegen der Umgebung, Molekülkonformation, Änderungen in diesen, ...

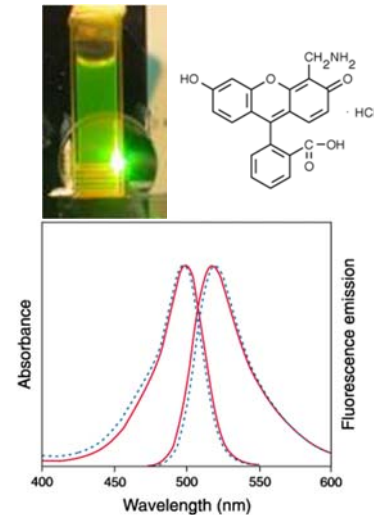


12

Beispiele:



Fluorescein

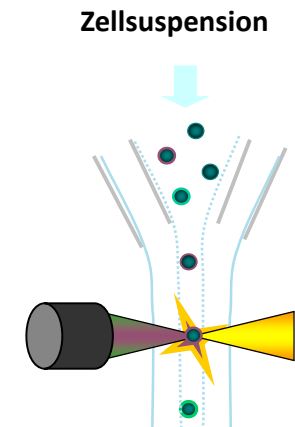


13

## FACS: Fluorescence Activated Cell Sorting

eine Art der **Durchflusszytometrie (Flow Cytometry)**

- (meistens) Blutzellen werden fluoreszierend gemacht, und die Fluoreszenz von jeder einzelnen Zelle gemessen
- sehr genaue Bestimmung des Blutbildes, der Weissblutzellenzusammensetzung und des Zustandes des Immunsystems



## FRET: Förster/Fluoreszenz-Resonanzenergietransfer

die Energie eines angeregten Farbstoffs (D) wird auf einen zweiten Farbstoff (A) übertragen

die Energie wird dabei strahlungsfrei ausgetauscht

Nachweis der Proximität zwei Moleküle

„molekulares Messband“:

Distanzbestimmung in molekularen Größen möglich

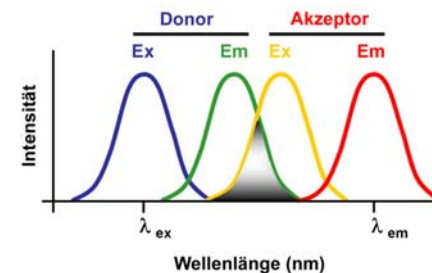


$$\text{Effizienz} = \frac{1}{1 + \left(\frac{R}{R_0}\right)^6}$$

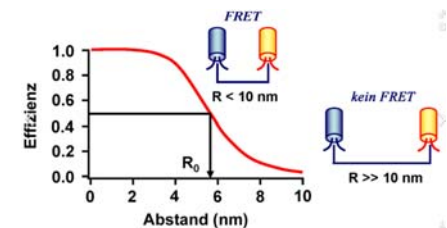
$R_0$  (Förster-Radius) entspricht dem Abstand zwischen beiden Farbstoffen, bei dem die Energieübertragung zu 50 % erfolgt (für jedes Fluorophorpaar anders)

## Voraussetzungen für FRET

**Spektrum.** Überlappung der Spektren von Donoremission und Akzeptorabsorption



**Abstand** < 10 nm



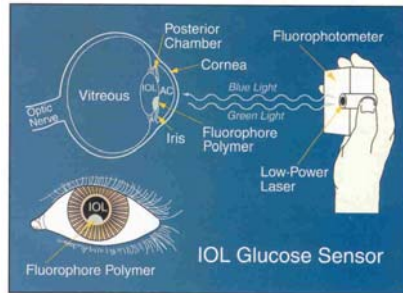
**Orientierung**

D- und A-Farbstoff sollten möglichst parallele elektronische Schwingungsebenen haben

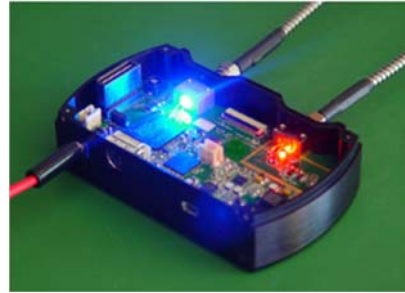


## Biosensoren

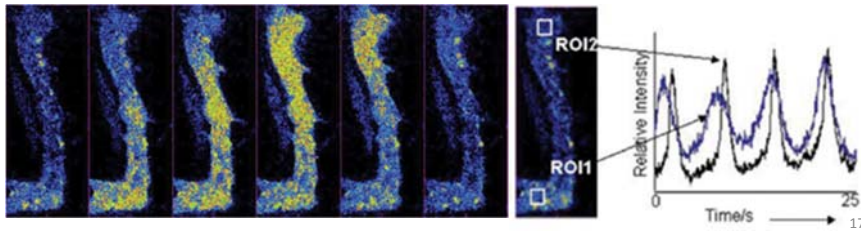
Glukosesensor



Sauerstoffsensor



Calciumsensor, Calciumwelle



## Lumineszenz-Mikroskopie, Fluoreszenzmikroskopie

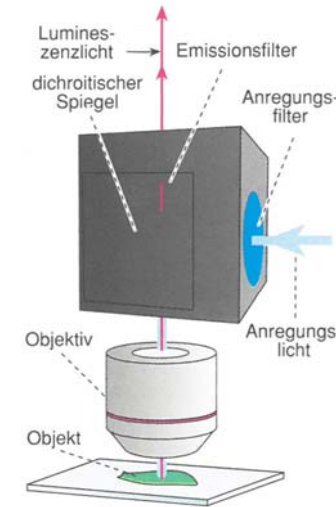


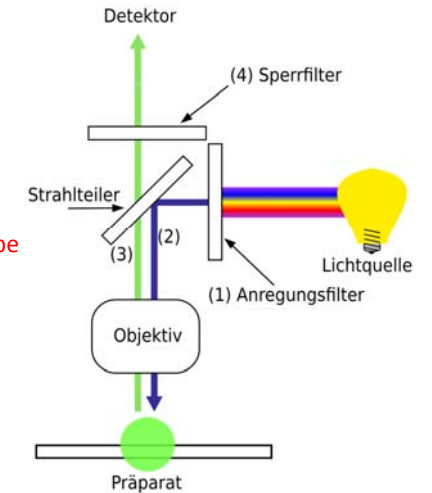
Abb. VI.13. Epifluoreszenz-Anordnung  
(Biophysik Lehrbuch)

UV/VIS Lampe

Quartzoptik

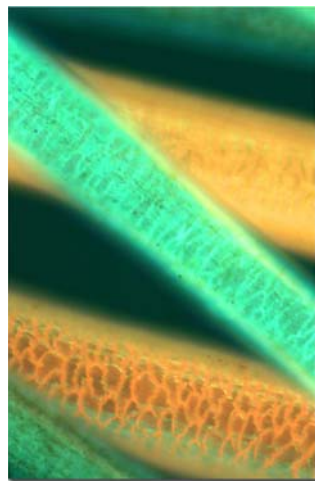
Präparat:

- nativ
- gefärbt

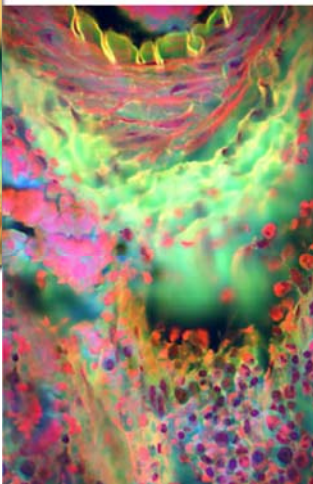


Schema eines Epifluoreszenzmikroskops  
(Wikipedia)

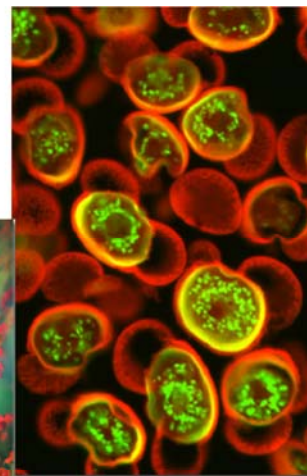
18



Bauchhaar des  
japanischen Ponys



Knochengewebe

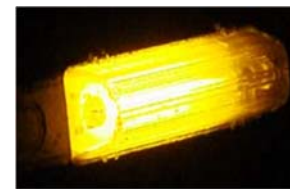


Pollen der  
Kiefer

19

## Lampen

Natriumlampe 590 nm



Blaulichttherapie von  
Neugeborengelbsucht  
430-490 nm



Leuchtröhren



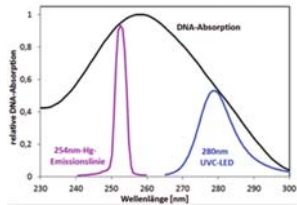
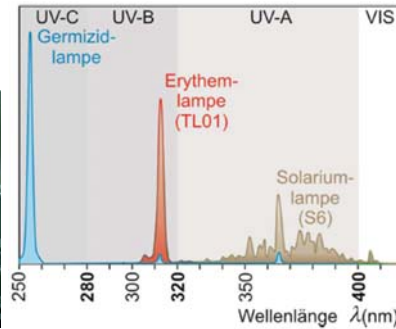
20



## Quecksilberdampflampen

$$\frac{\Delta J}{\Delta \lambda}$$

Germizidlampe



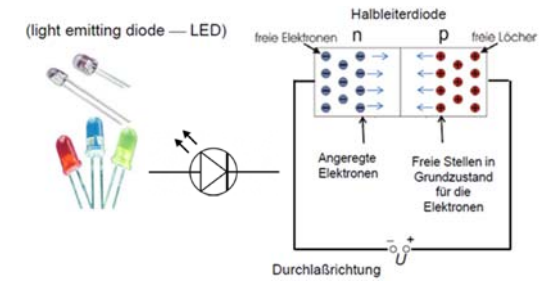
s. Absorptionsspektrum von DNA  $\Rightarrow$  Bakterizidwirkung (Entkeimung in OP-Räumen)



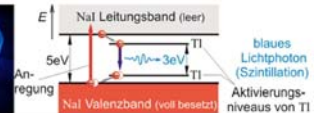
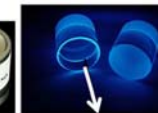
Quartzlampe, Solariumlampe

21

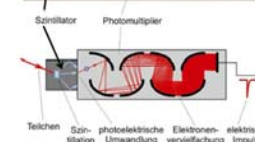
## Leuchtdioden



z. B. NaI(Tl)



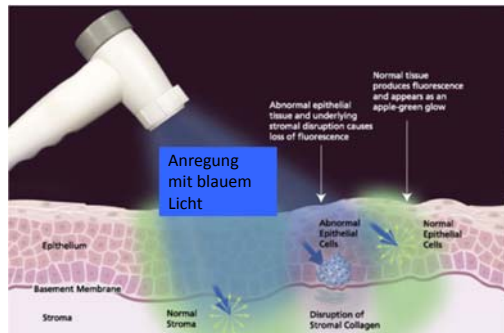
## Strahlungsdetektoren



(s. noch Thermolumineszenzdosimeter)

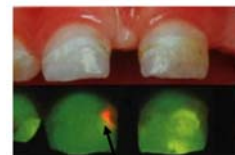
22

## Zahnheilkunde



unterschiedliche Fluoreszenzeigenschaften von gesunden und malignen Geweben

Oberfläche der Milchzähne im nativen Zustand und nach Fluoreszenzfärbung



aktive Karies



Zahnoberfläche im nativen Zustand und nach Fluoreszenzfärbung

sondierbare Karies

23

## Lichtquellen

Klassifizierung der Lumineszenz nach der Anregungsart

Thermolumineszenz, Flammenfärbung

Photolumineszenz, ~ von Molekülen, Fluoreszenz und Phosphoreszenz

Kasha-Regel, Jablonski-Diagramm, Lebensdauer, Quantenausbeute

Eigenschaften des Lichtes

Anwendungen

Labordiagnostik

Fluorimeter, Fluoreszenzspektroskopie

Untersuchung von biol. Makromolekülen

FACS

FRET

Biosensoren

Lumineszenz-Mikroskopie, Fluoreszenzmikroskopie

Lampen, Quecksilberdampflampen, Leuchtdioden, (LASER)

Strahlungsdetektoren

Zahnheilkunde

24