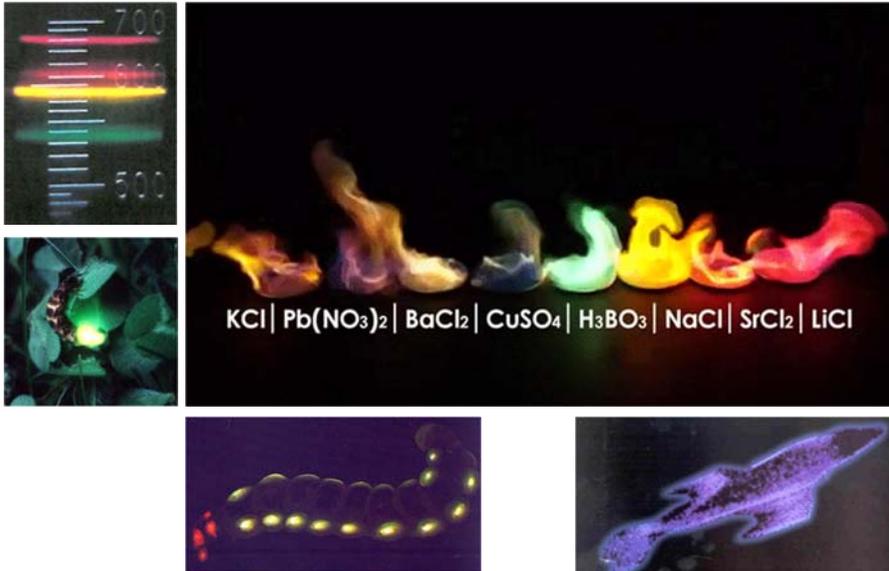


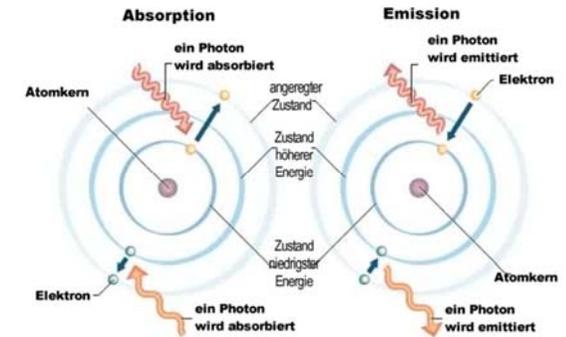
# Lumineszenz



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



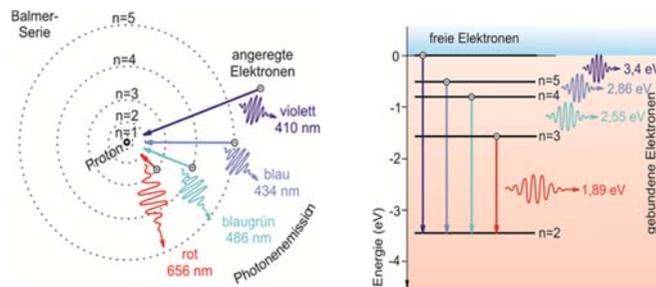
ohne Anregung ist der Grundzustand am meisten bevölkert  
 „angeregter Zustand“: alle Zustände höherer Energie  
 durch Aufnahme eines entsprechenden Energiequantens kann das Elektron in den angeregten Zustand gelangen

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

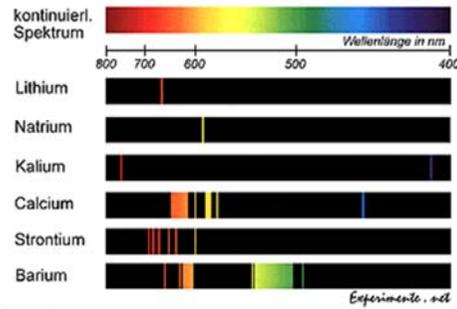


4

# Thermolumineszenz, Flammenfärbung

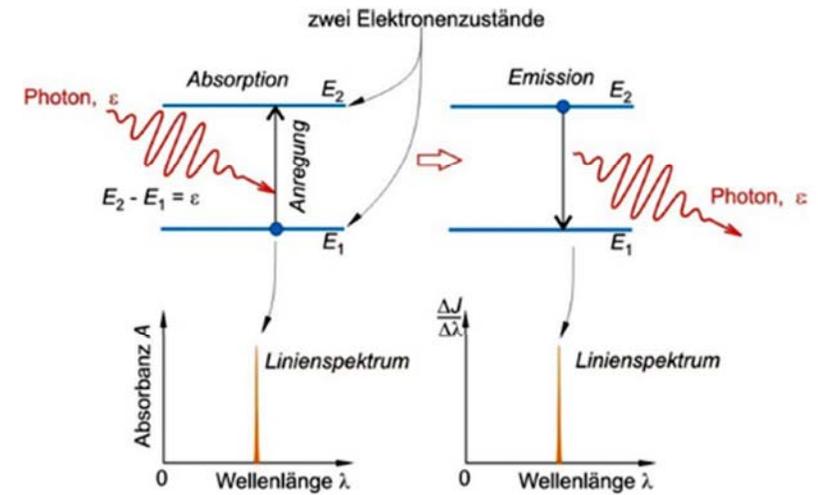
Energieumwandlung kommt durch Valenzelektronen zustande, die durch die Wärmeenergie in einen angeregten Zustand gehoben werden und unter der Abgabe von Licht wieder zurückfallen.

## Linienspektren der Alkali- und Erdalkalimetalle



S. Praktikum

# Photolumineszenz

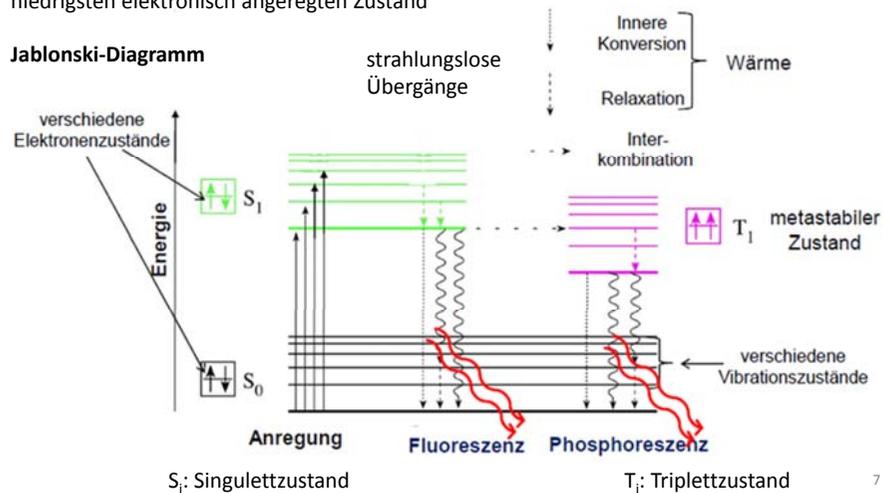


# Photolumineszenz von Molekülen

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

**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

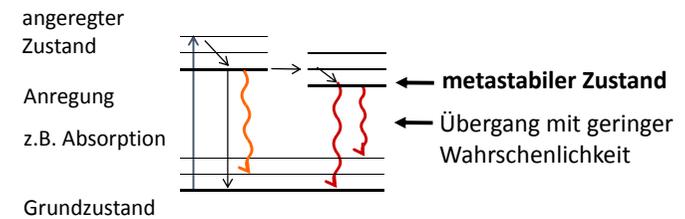
## Jablonski-Diagramm



S<sub>i</sub>: Singulettzustand

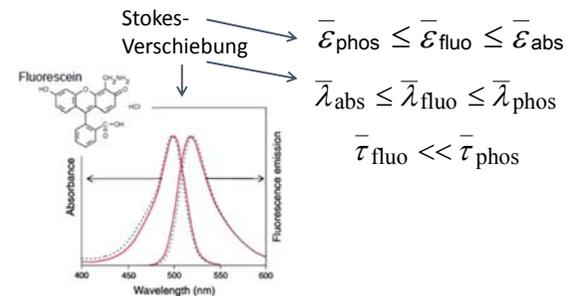
T<sub>i</sub>: Triplettzustand

# Photolumineszenz: Fluoreszenz und Phosphoreszenz



**Fluoreszenz Phosphoreszenz**

z. B. Tryptophan:



$$\bar{\epsilon}_{\text{phos}} \leq \bar{\epsilon}_{\text{fluo}} \leq \bar{\epsilon}_{\text{abs}}$$

$$\bar{\lambda}_{\text{abs}} \leq \bar{\lambda}_{\text{fluo}} \leq \bar{\lambda}_{\text{phos}}$$

$$\bar{\tau}_{\text{fluo}} \ll \bar{\tau}_{\text{phos}}$$

$$\bar{\lambda}_{\text{fluo}} = 340 \text{ nm}$$

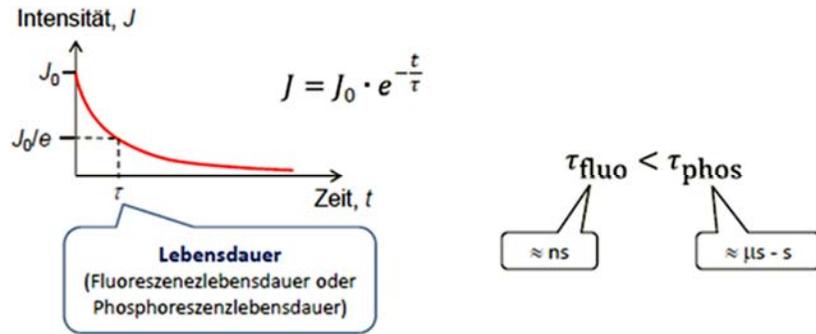
$$\bar{\lambda}_{\text{phos}} = 440 \text{ nm}$$

$$\tau_{\text{fluo}} = 0,1 - 5 \text{ ns}$$

$$\tau_{\text{phos}} = 0,001 - 5 \text{ s}$$

## Eigenschaften des Lichtes

exponentielles Abklingen in der Zeit nach einer kurzzeitigen impulsförmigen Anregung



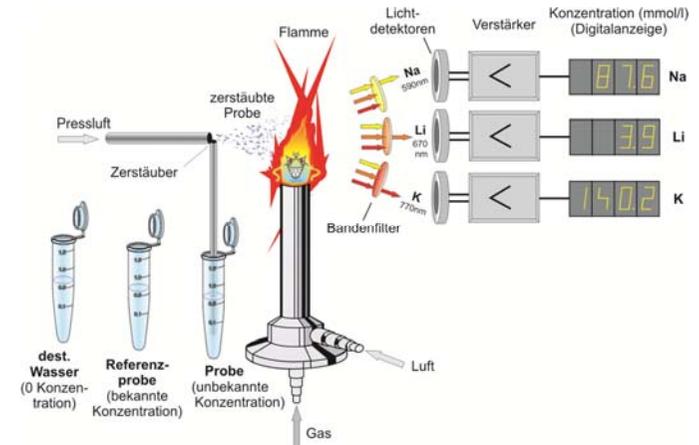
**Quantenausbeute:** das Verhältnis zwischen der Anzahl der emittierten Photonen und der Anzahl der absorbierten Photonen

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

9

## Anwendungen

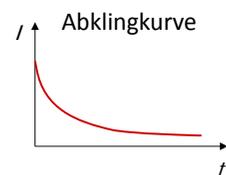
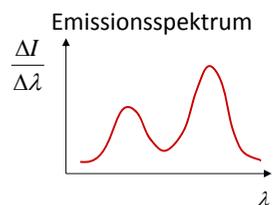
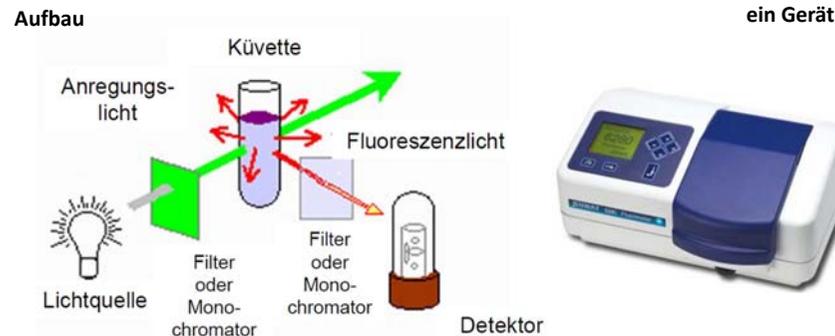
### Labordiagnostik



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

10

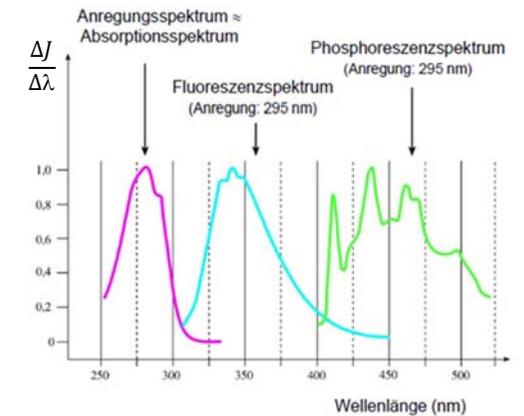
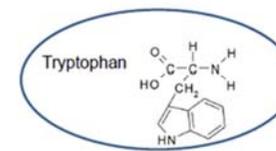
## Fluorimeter



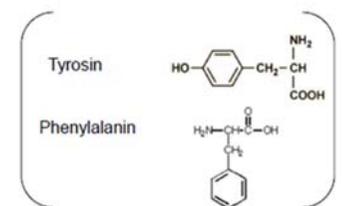
11

## Fluoreszenzspektroskopie

z.B. Proteinforschung

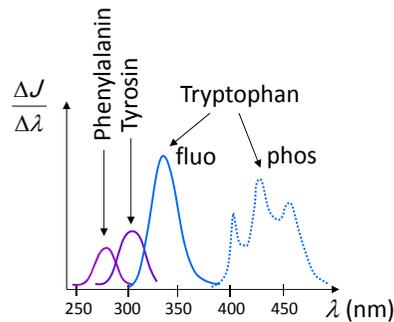


Die Eigenschaften des Lumineszenzlichtes (Intensität, spektrale Verteilung, Stokes-Verschiebung, Lebensdauer, ...) sind sehr empfindlich gegen der Umgebung, Molekülkonformation, Änderungen in diesen, ...

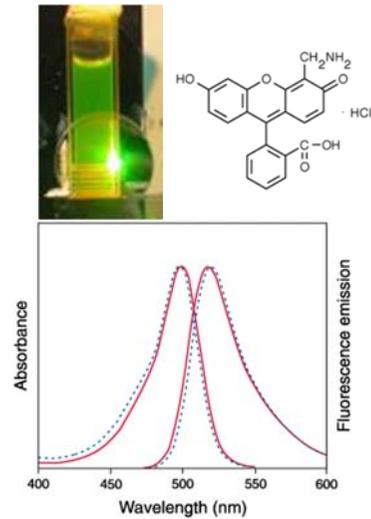


12

Beispiele:



Fluorescein

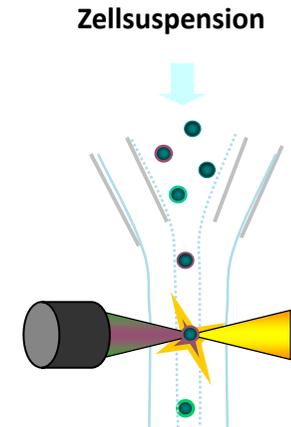


13

## 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

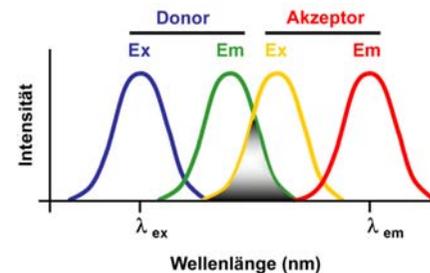


$$\text{Effizienz} = \frac{1}{1 + \left(\frac{R}{R_0}\right)^6}$$

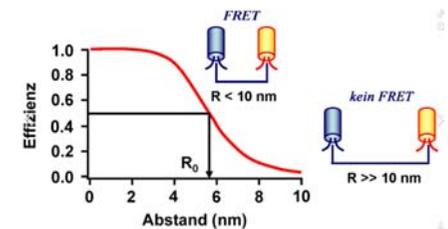
$R_0$  (Förster-Radius) entspricht dem Abstand zwischen beiden Farbstoffen, bei dem die Energieübertragung zu 50 % erfolgt (für jedes Fluorophorpaar anders)

## Voraussetzungen für FRET

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



**Abstand < 10 nm**

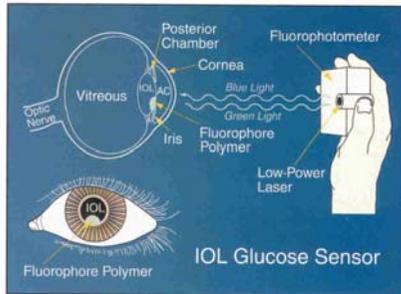


**Orientierung**

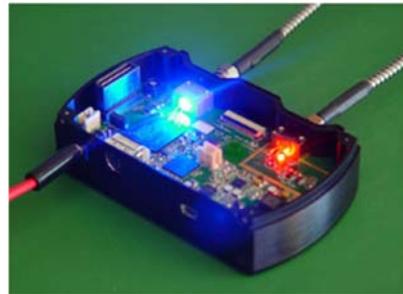
D- und A-Farbstoff sollten möglichst parallele elektronische Schwingungsebenen haben

# Biosensoren

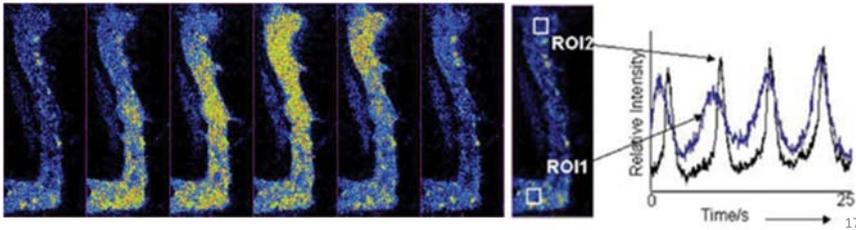
Glukosesensor



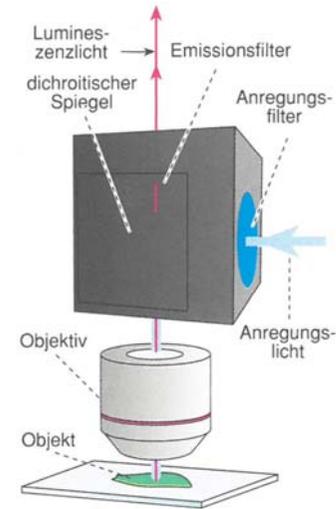
Sauerstoffsensor



Calciumsensor, Calciumwelle



# Lumineszenz-Mikroskopie, Fluoreszenzmikroskopie



- UV/VIS Lampe
- Quartzoptik
- Präparat:
  - nativ
  - gefärbt

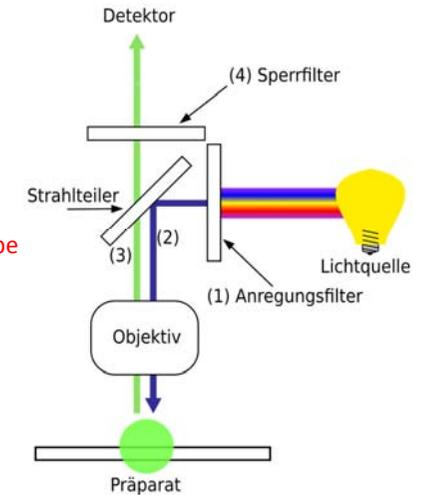
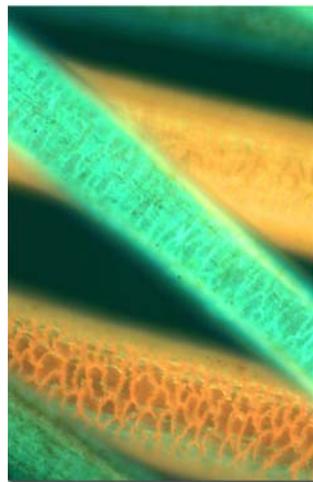


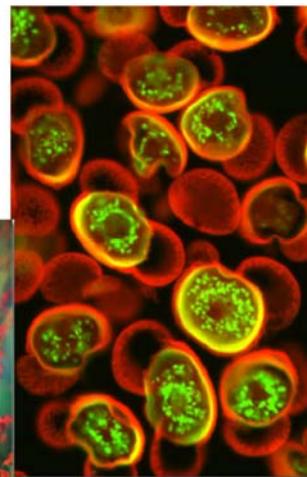
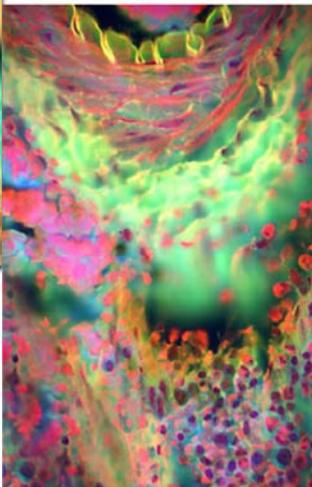
Abb. VI.13. Epifluoreszenz-Anordnung (Biophysik Lehrbuch)

Schema eines Epifluoreszenzmikroskops (Wikipedia)



Bauchhaar des japanischen Ponys

Knochengewebe



Pollen der Kiefer

# Lampen

Natriumlampe 590 nm



Blaulichttherapie von Neugeborengelbsucht 430-490 nm



Leuchtröhren

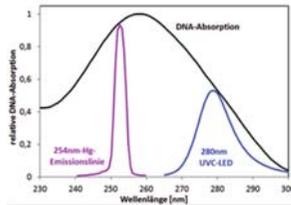
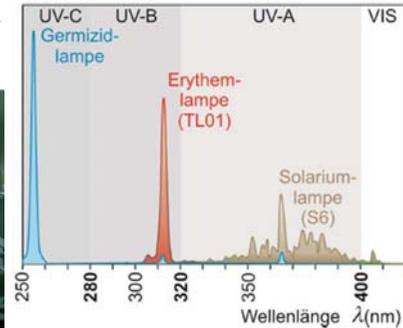




# Quecksilberdampf Lampen

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

Germizidlampe

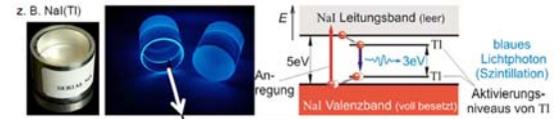
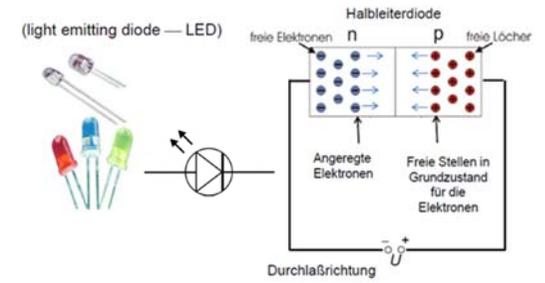


s. Absorptionsspektrum von DNA  $\Rightarrow$  Bakterizidwirkung (Entkeimung in OP-Räumen)

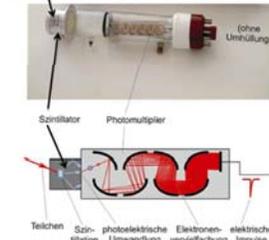


Quartzlampe, Solariumlampe

# Leuchtdioden

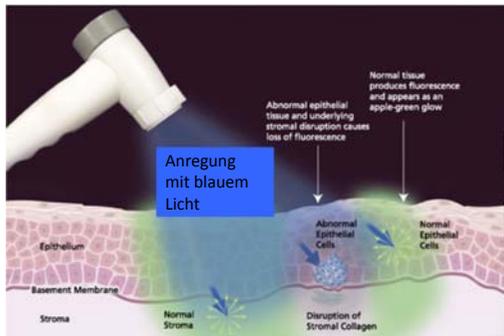


# Strahlungsdetektoren

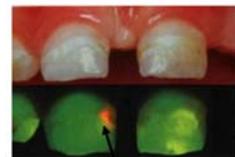


(s. noch Thermolumineszenzdosimeter)

# Zahnheilkunde



Oberfläche der Milchzähne im nativen Zustand und nach Fluoreszenzfärbung



aktive Karies

unterschiedliche Fluoreszenzeigenschaften von gesunden und malignen Geweben



Zahnoberfläche im nativen Zustand und nach Fluoreszenzfärbung

sondierbare Karies

# 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, Quecksilberdampf Lampen, Leuchtdioden, (LASER)
  - Strahlungsdetektoren
  - Zahnheilkunde