

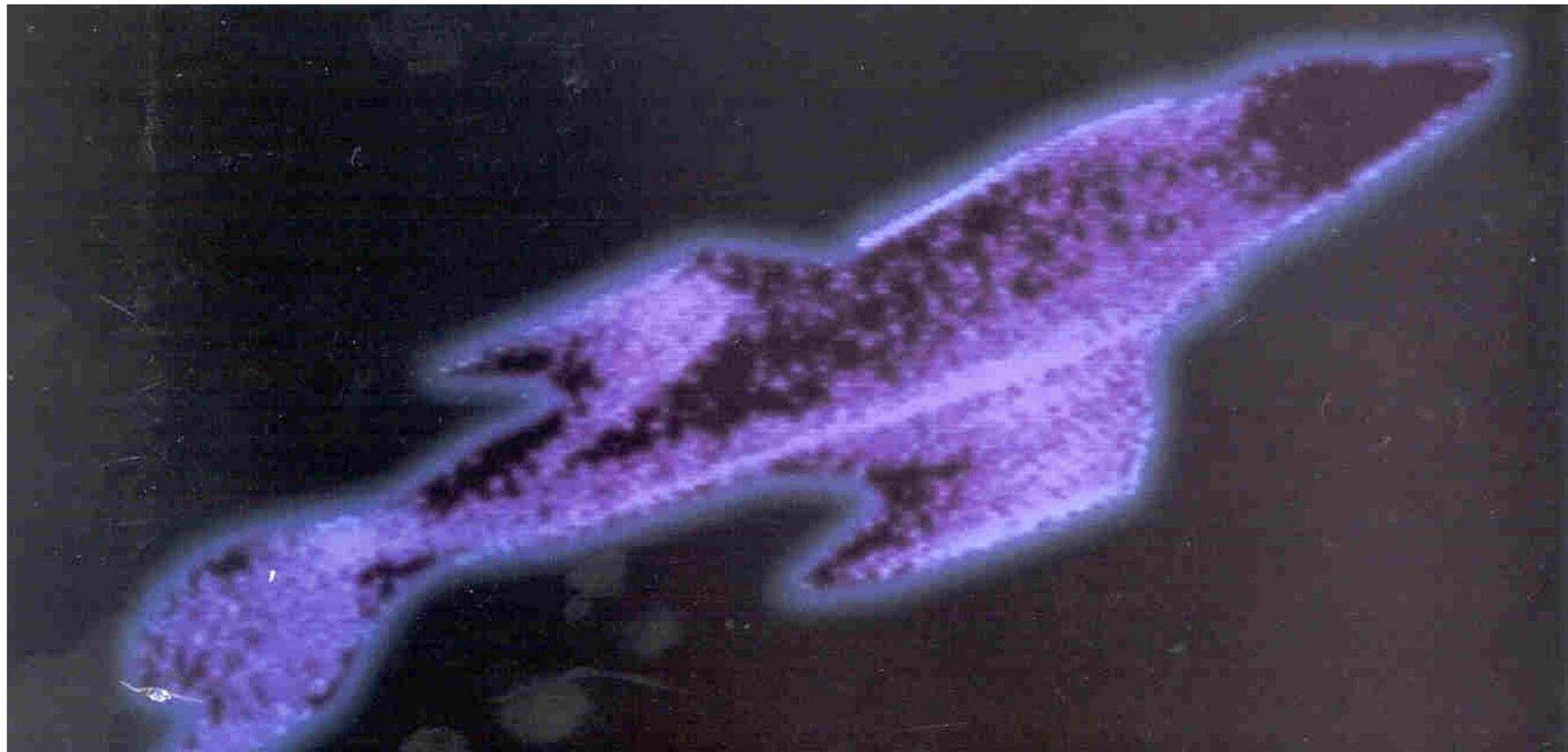
# Biophysik für Pharmazeuten I.

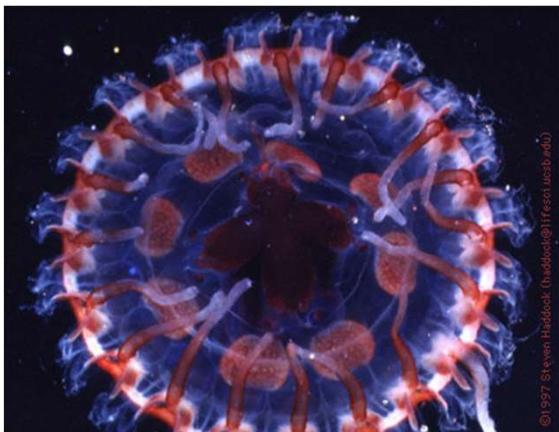
2023/24 I.  
Vorlesung 7

Lumineszenz



# Lumineszenz





- **Entstehung der Lumineszenz**
- **Eigenschaften**
- **Fluoreszenz und Phosphoreszenz**
- **Messung**
- **Anwendungen**
  - Labordiagnostik
  - Untersuchung von biol. Makromolekülen
  - Biosensoren
  - Lumineszenzmikroskopie
  - Lampen
  - Strahlungsdetektoren
  - Durchflusszytometrie
- **Biolumineszenz**

# Entstehung des Lumineszenzlichtes

**Lumineszenz:** Lichtemissionsüberschuss eines Körpers im Vergleich zu seiner Temperaturstrahlung.

Lumineszenz hat einen schwachen  
Zusammenhang mit der  
Temperatur des Körpers



*„kaltes Licht“*

Linien- o. Bandenspektrum  
im UV/VIS Bereich

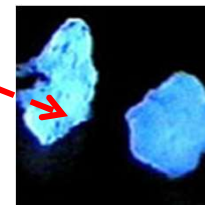
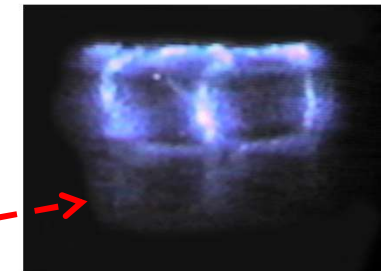
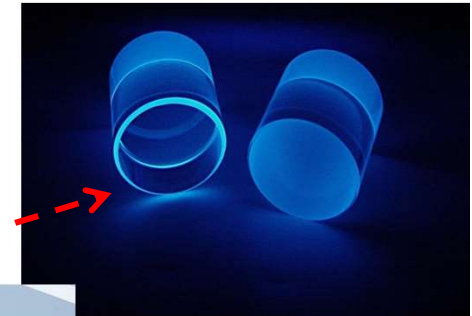


Elektronenanregungen

# Klassifizierung der Lumineszenz nach der Anregungsart

## Fluoreszenz&Phosphoreszenz

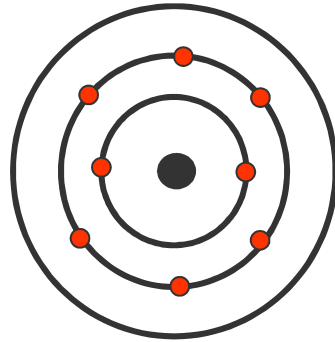
<i>Art der Anregung</i>	<i>Name</i>	<i>Beispiel</i>
Licht	Photolumin.	Chinin-sulphat, Phosphor, ...
Röntgenstr.	Röntgenolumin.	NaI (Tl)
radioaktive Str.	Radiolumin.	NaI (Tl)
elektrisches Feld	Elektrolumin.	Quecksilberlampen
mechanische Wirkung	Tribolumin.	Würfelsucker
chemische Reaktion	Chemolumin. (Biolumin.)	Glühwürmchen
Wärme	Thermolumin.	CaSO <sub>4</sub> (Dy)



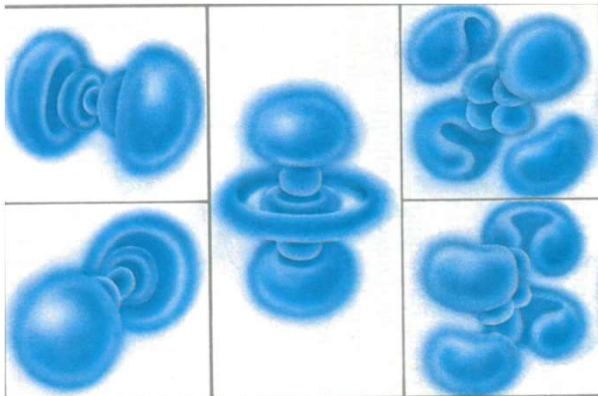


# Aufbau des Atoms

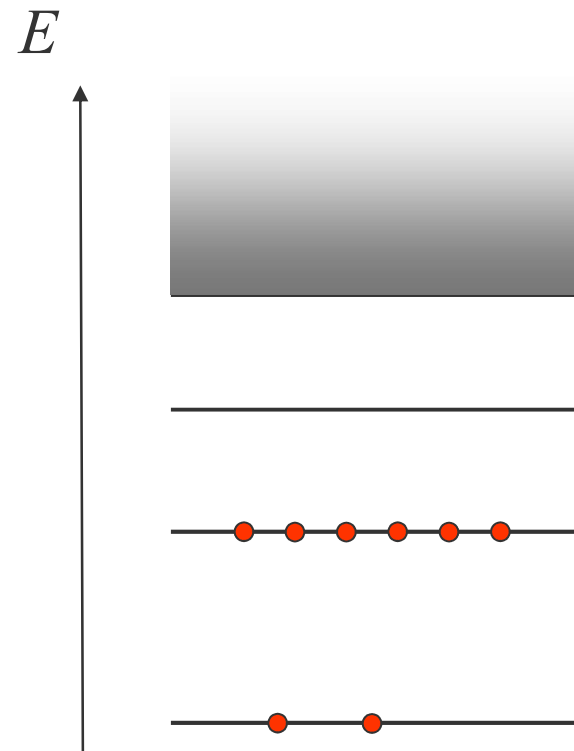
## Bohrsches Atommodell



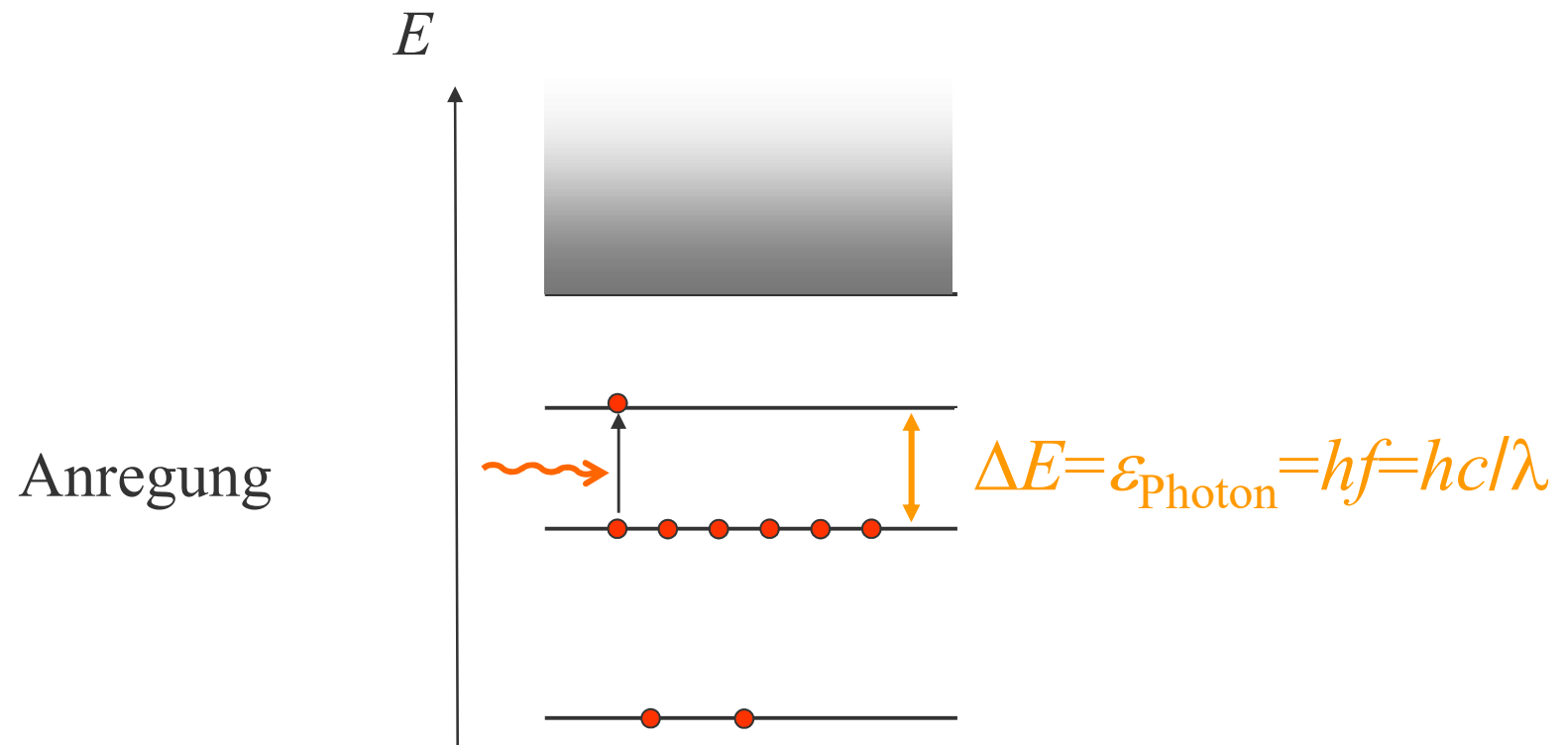
## Quantenmechanische Beschreibung des Atoms



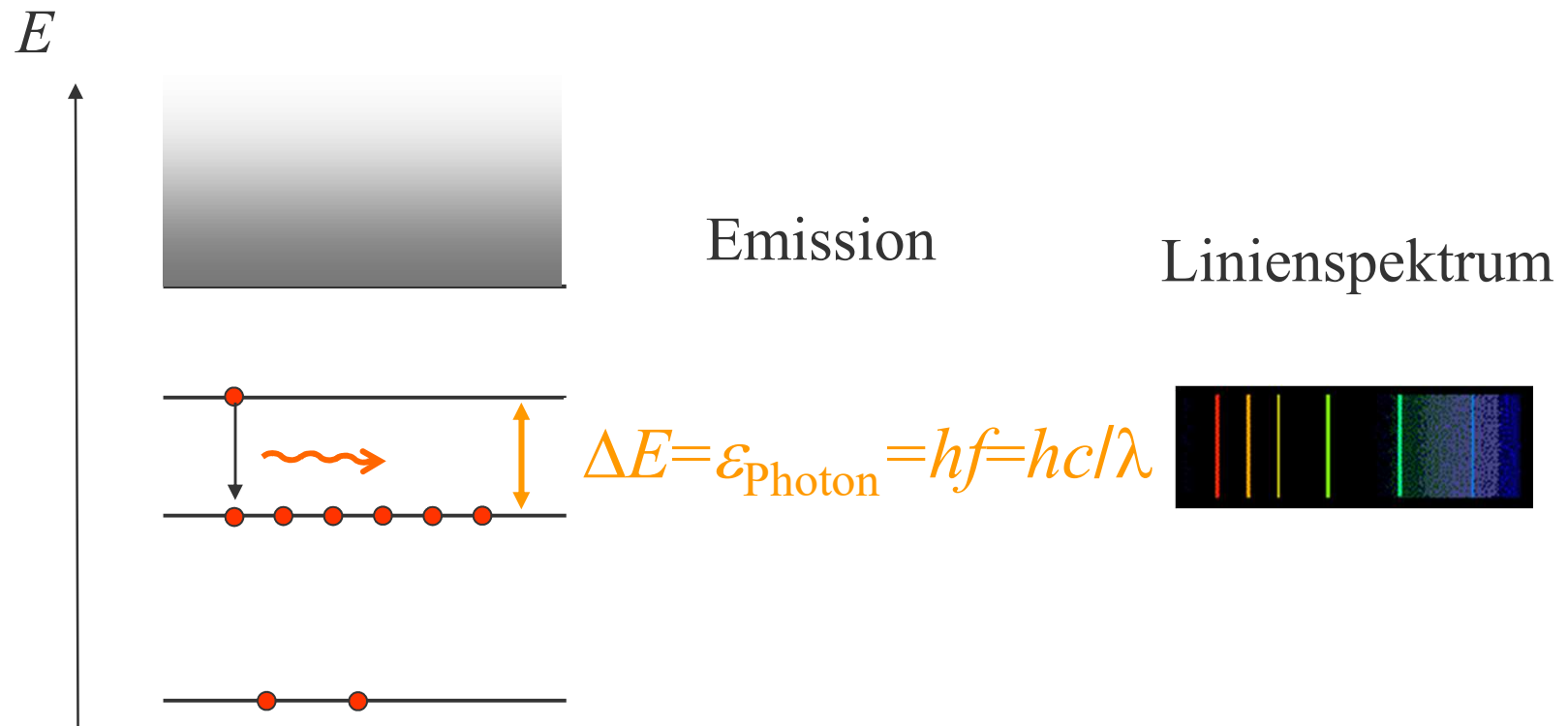
## Energieniveaus



# Elektronenübergänge



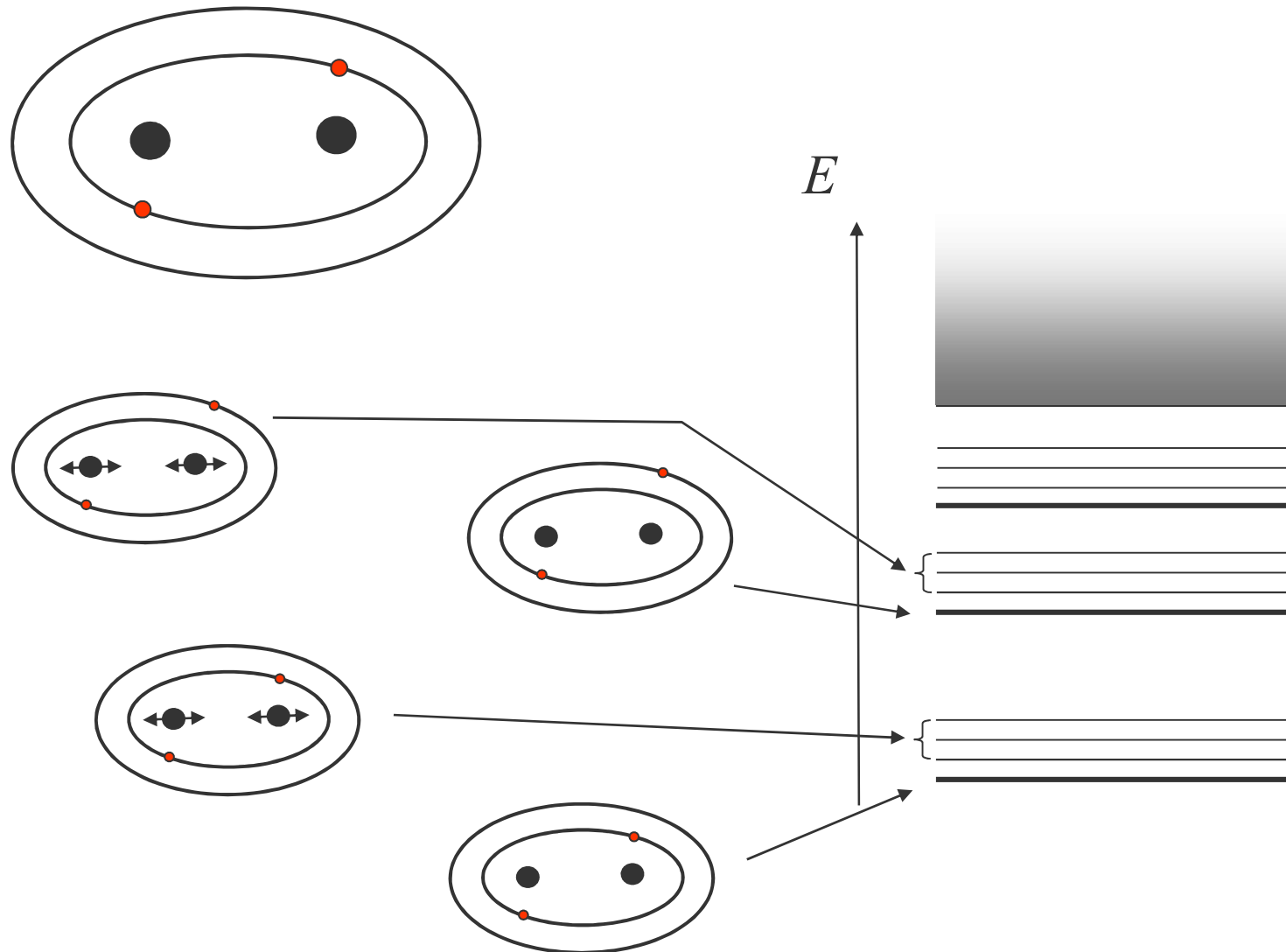
# Elektronenübergänge



Siehe Praktikum!

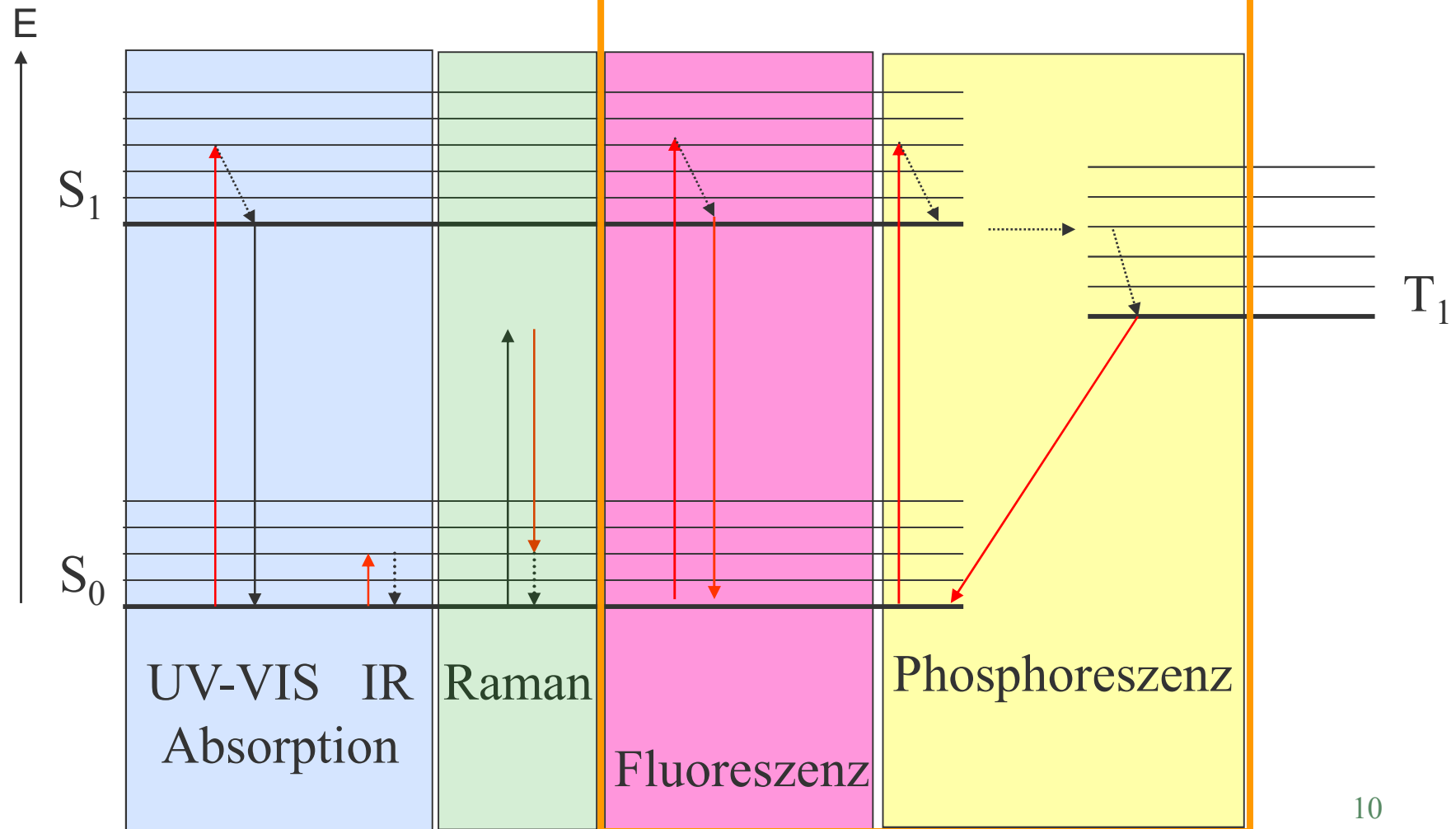


# Energiezustände der Moleküle

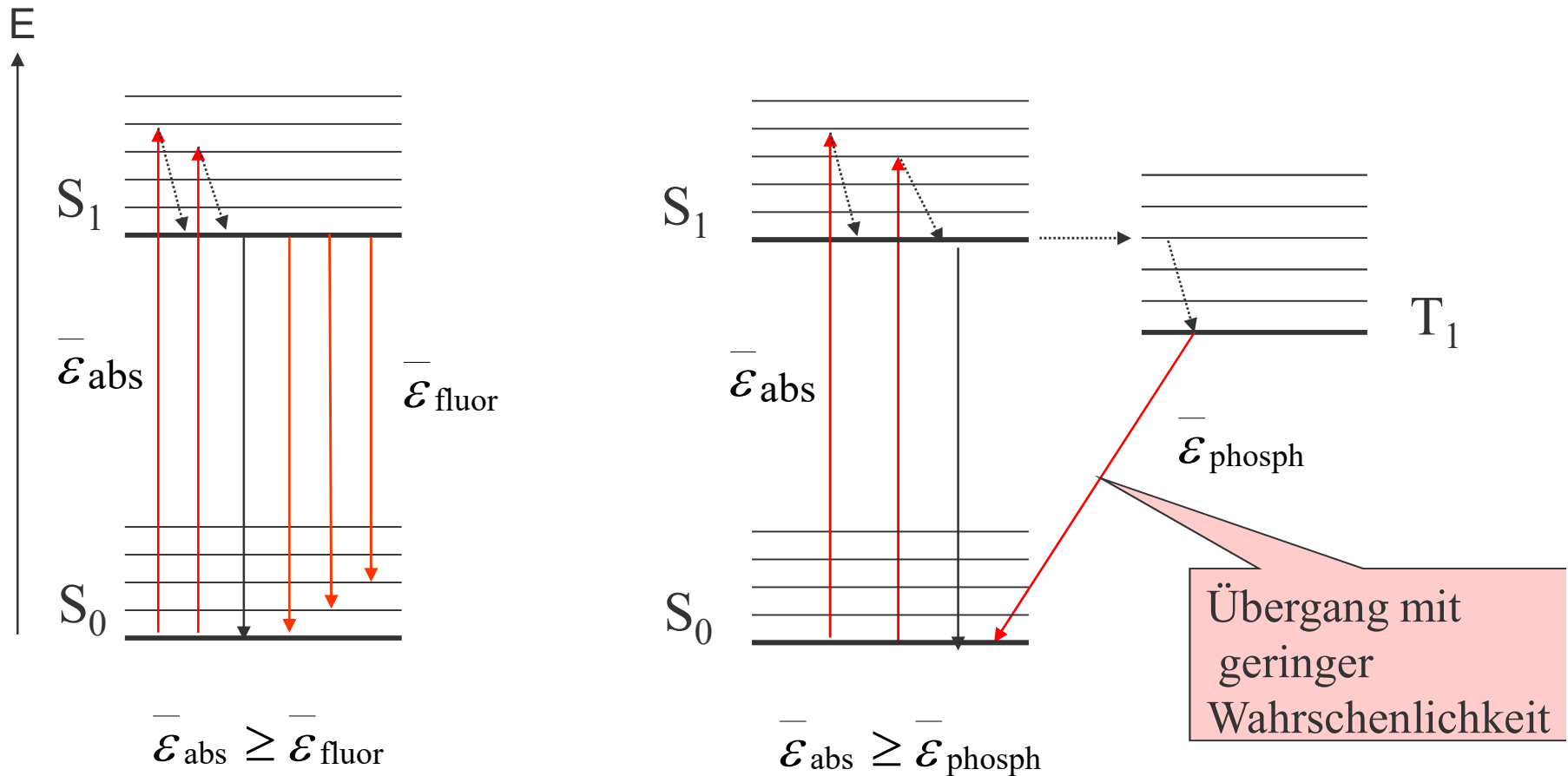


# Jablonski Diagramm

Mögliche Übergänge



# Fluoreszenz und Phosphoreszenz



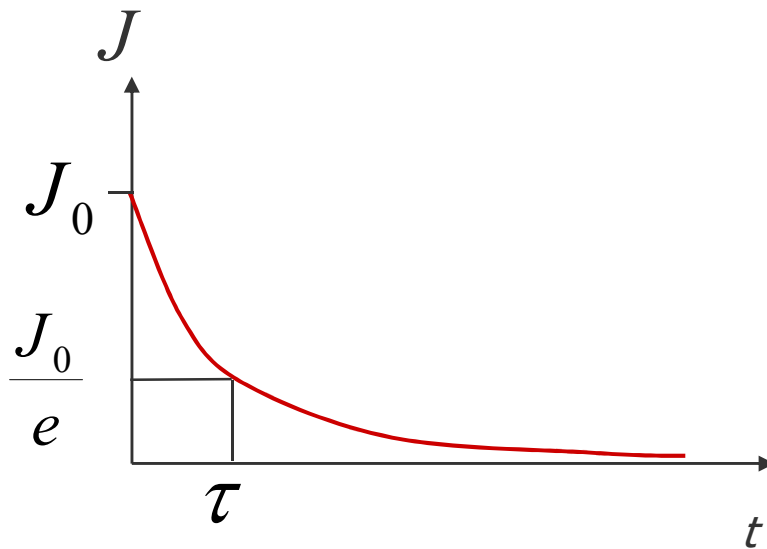
$$\bar{\mathcal{E}}_{\text{abs}} \geq \bar{\mathcal{E}}_{\text{fluor}} \geq \bar{\mathcal{E}}_{\text{phos}}$$

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

↓ strahlungsloser Übergang  
 ↓ Übergang mit Lichtemission

# Abkling der Intensität des Lumineszenzlichtes nach einem impulsförmigen Anregung

- Anregung mit einem Lichtblitz
- exponentieller Abkling der Intensität ( $J$ ) nach der Anregung



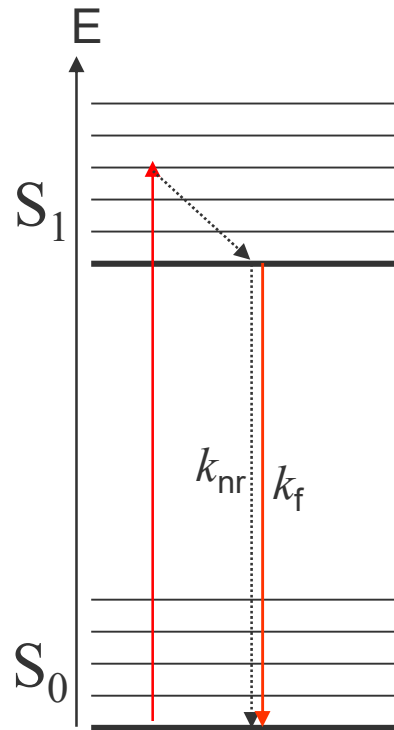
$$J = J_0 \cdot e^{-\frac{t}{\tau}}$$

$\tau$ : Lumineszenz-Lebensdauer

$\tau$  ist umgekehrt proportional mit der Übergangswahrscheinlichkeit:  $\tau_{\text{fluor}} \ll \tau_{\text{phos}}$

# Quantenausbeute

- Anzahl der emittierten Photonen/Anzahl der absorbierten Photonen



$$Q_f = \frac{k_f}{k_f + k_{nr}}$$

$k_f$  Wahrscheinlichkeit des Fluoreszenzüberganges (mit Lichtemission)

$k_{nr}$  Wahrscheinlichkeit des Überganges ohne Lichtemission („nonradiative“)

Fluor. Farbstoffe:  $Q \approx 1$

# Messung der Lumineszenz

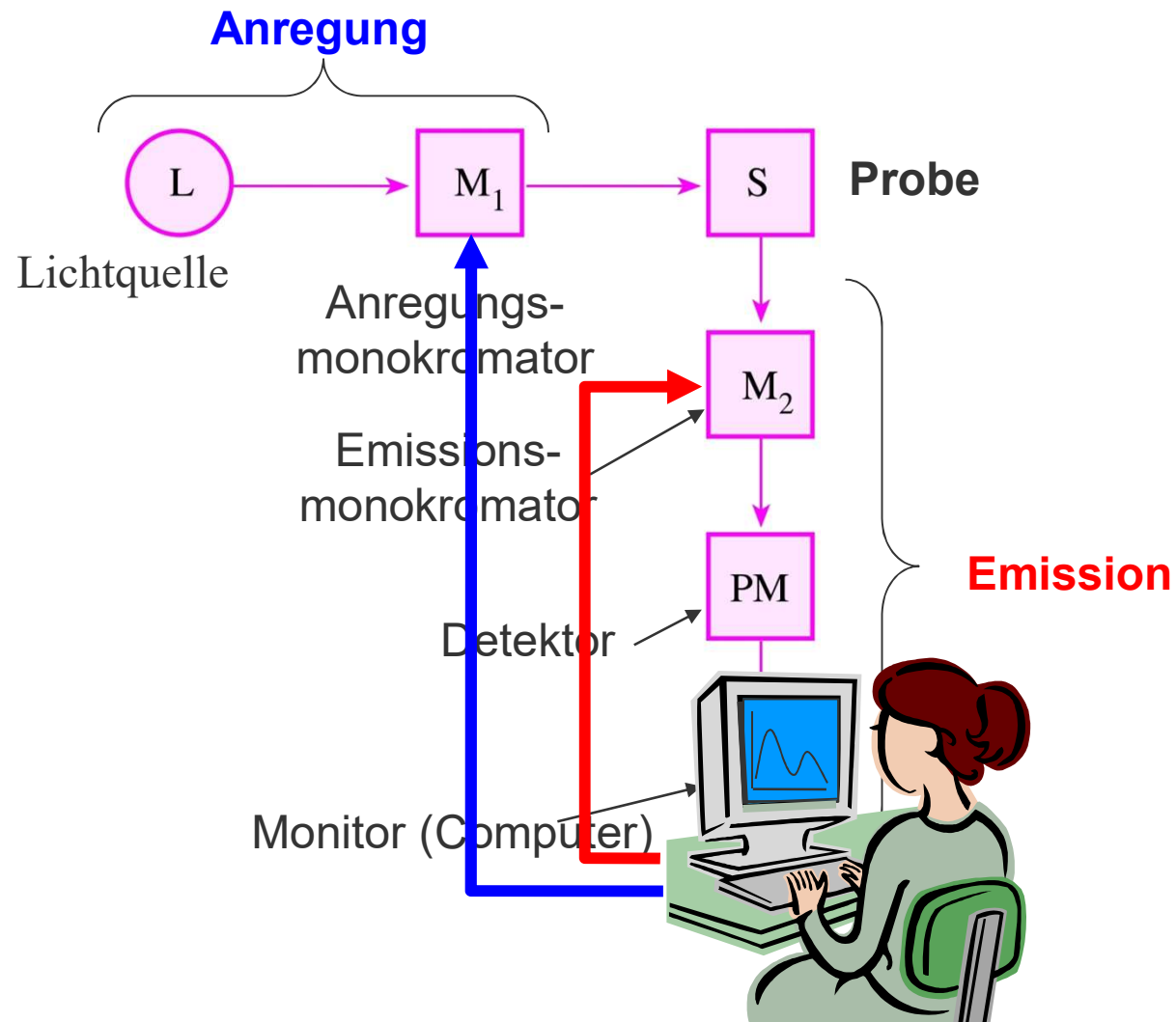
Messbare Größen:

- ☐ Wellenlänge(verteilung) des Anregungslichtes
- ☐ Wellenlänge(verteilung) des emittierten Lichtes (bei Fluoreszenz u. Phosphoreszenz)
- ☐ Die Intensität des emittierten Lichtes
- ☐ Zeitlicher Ablauf der emittierten Lichtintensität
- ☐ Polarisation des emittierten Lichtes



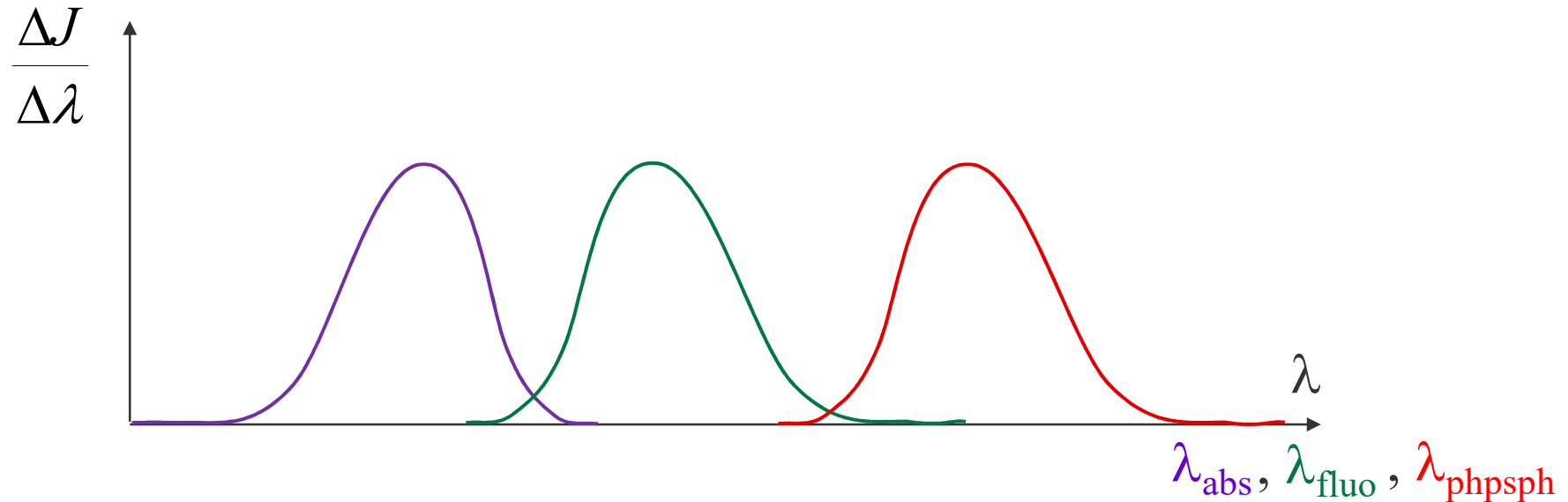
Information (Struktur, Umgebung,  
Bewegung, Menge...)

# Messung – Aufbau eines Luminometers





# Die Spektren



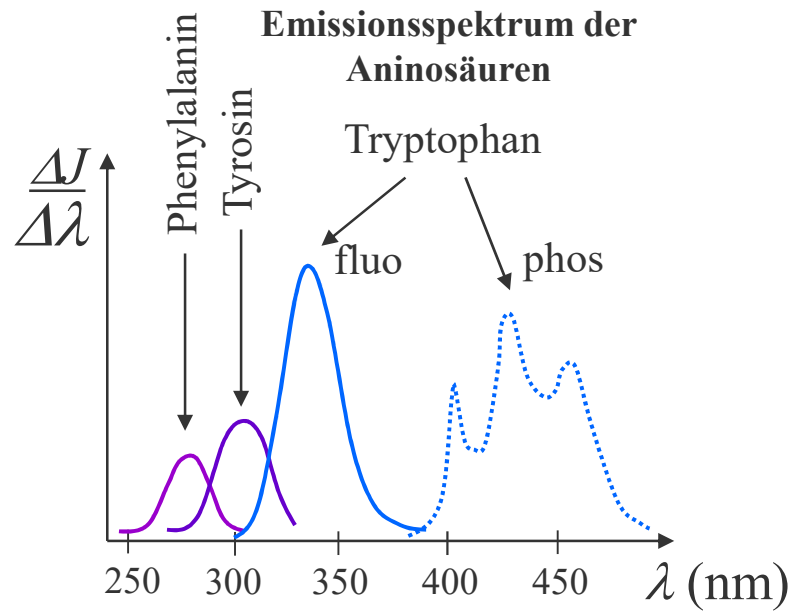
- ☐ Emissionsspektrum

- ☐ Fluoreszenzspektrum  $\lambda_{\text{fluo}}$

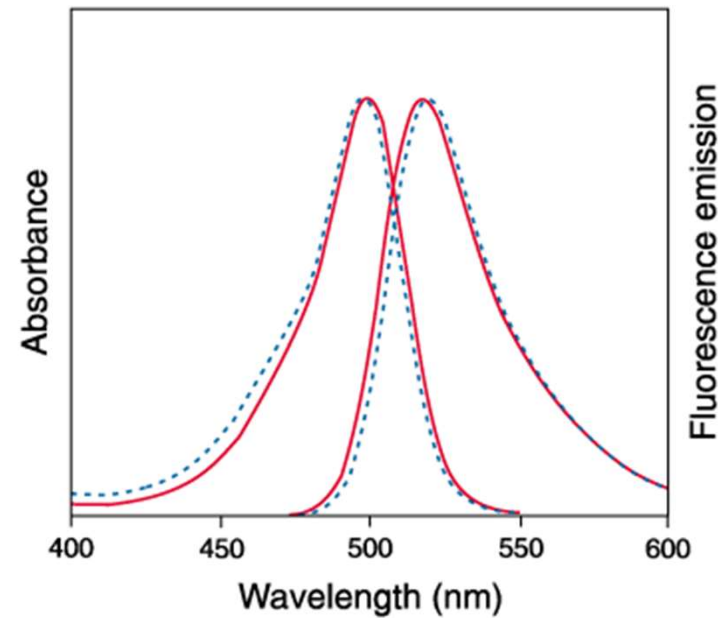
- ☐ Phosphoreszenzspektrum  $\lambda_{\text{phosph}}$

- ☐ Anregungsspektrum  $\lambda_{\text{abs}}$

# Beispiele



## Fluorescein



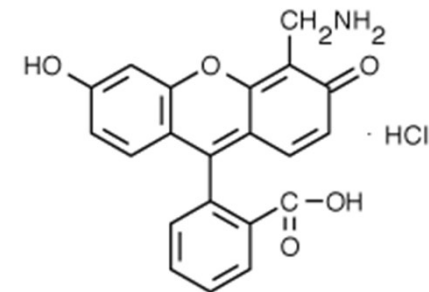
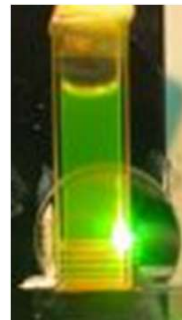
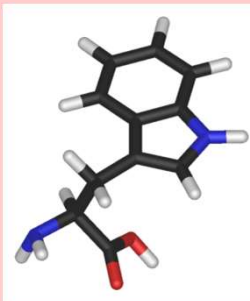
z. B. Tryptophan:

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

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

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

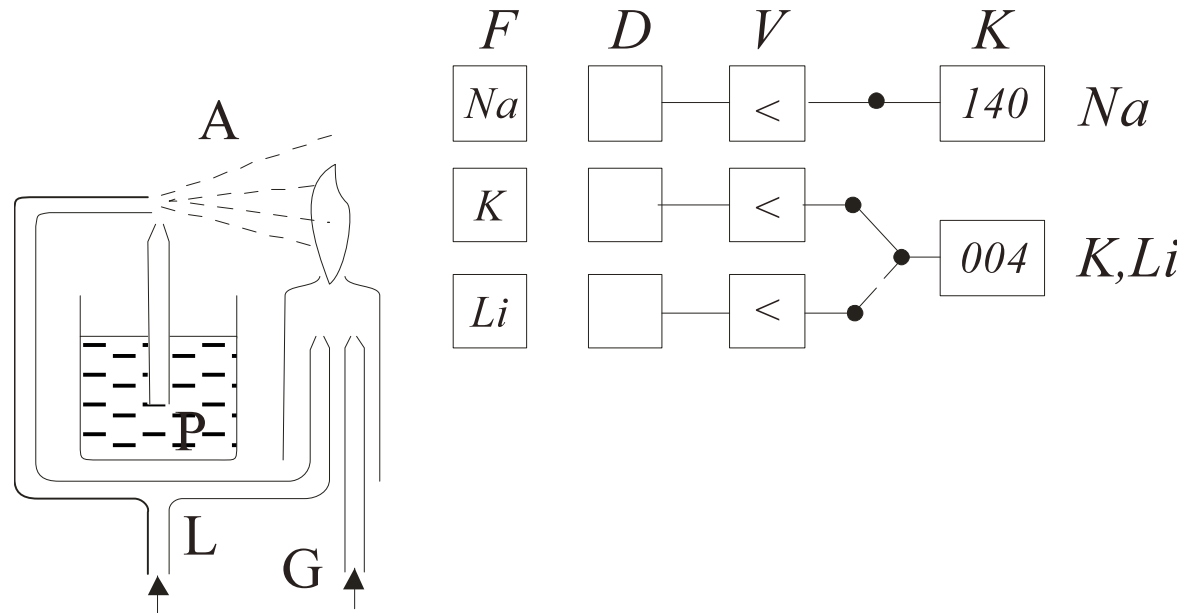
$$\tau_{\text{phos}} = 0,001 - 5 \text{ s}$$

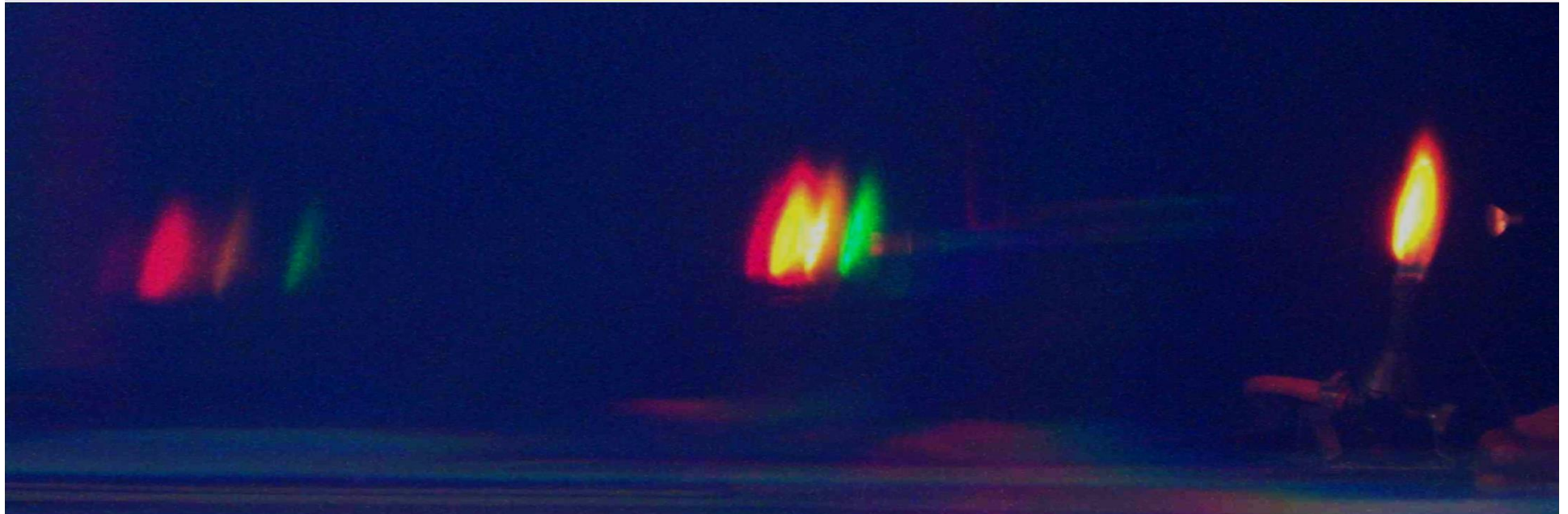


# Anwendungen

## 1. Labordiagnostik

z. B. Konzentrationsbestimmung von Na, K, ... mit Hilfe des  
Flammenphotometers

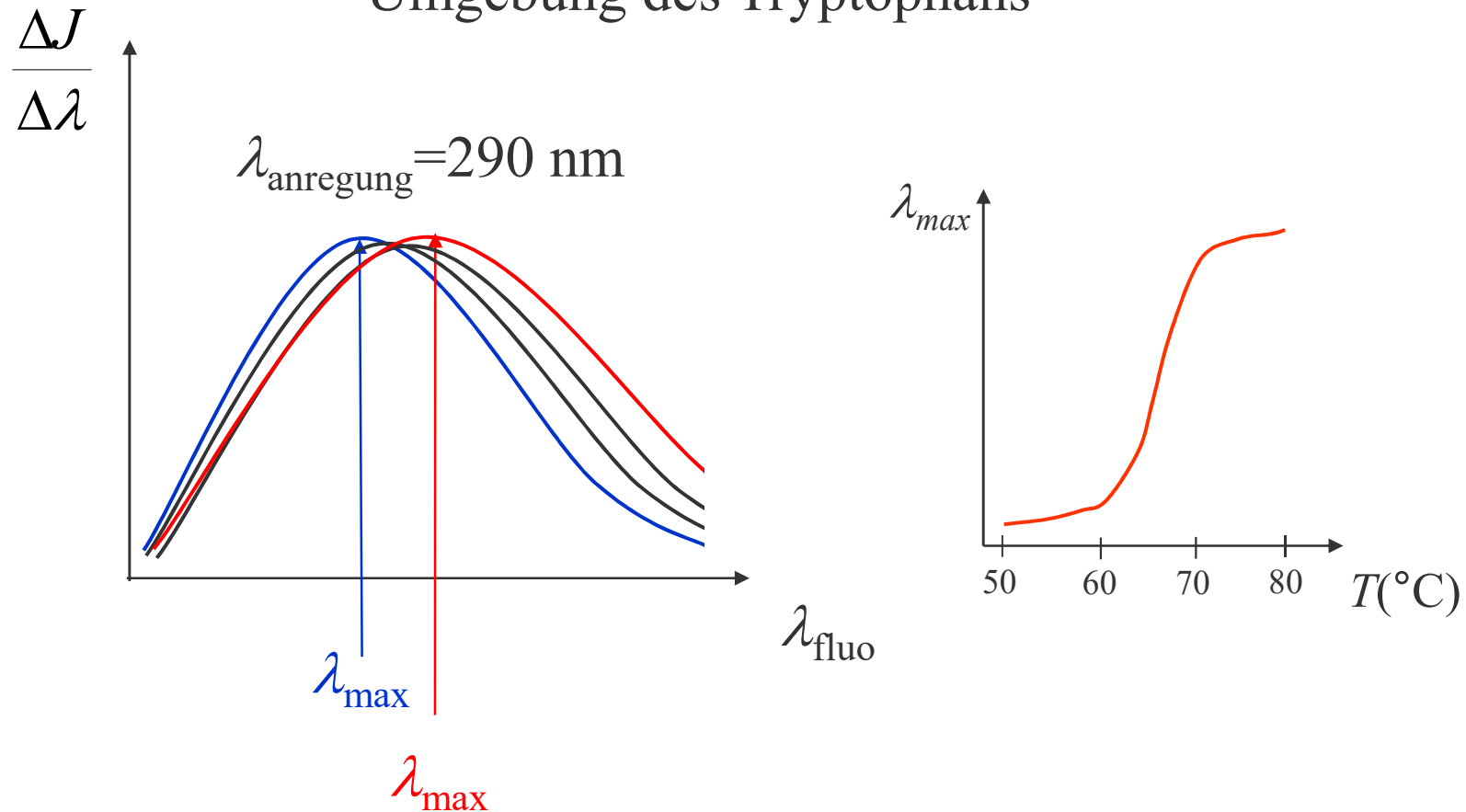




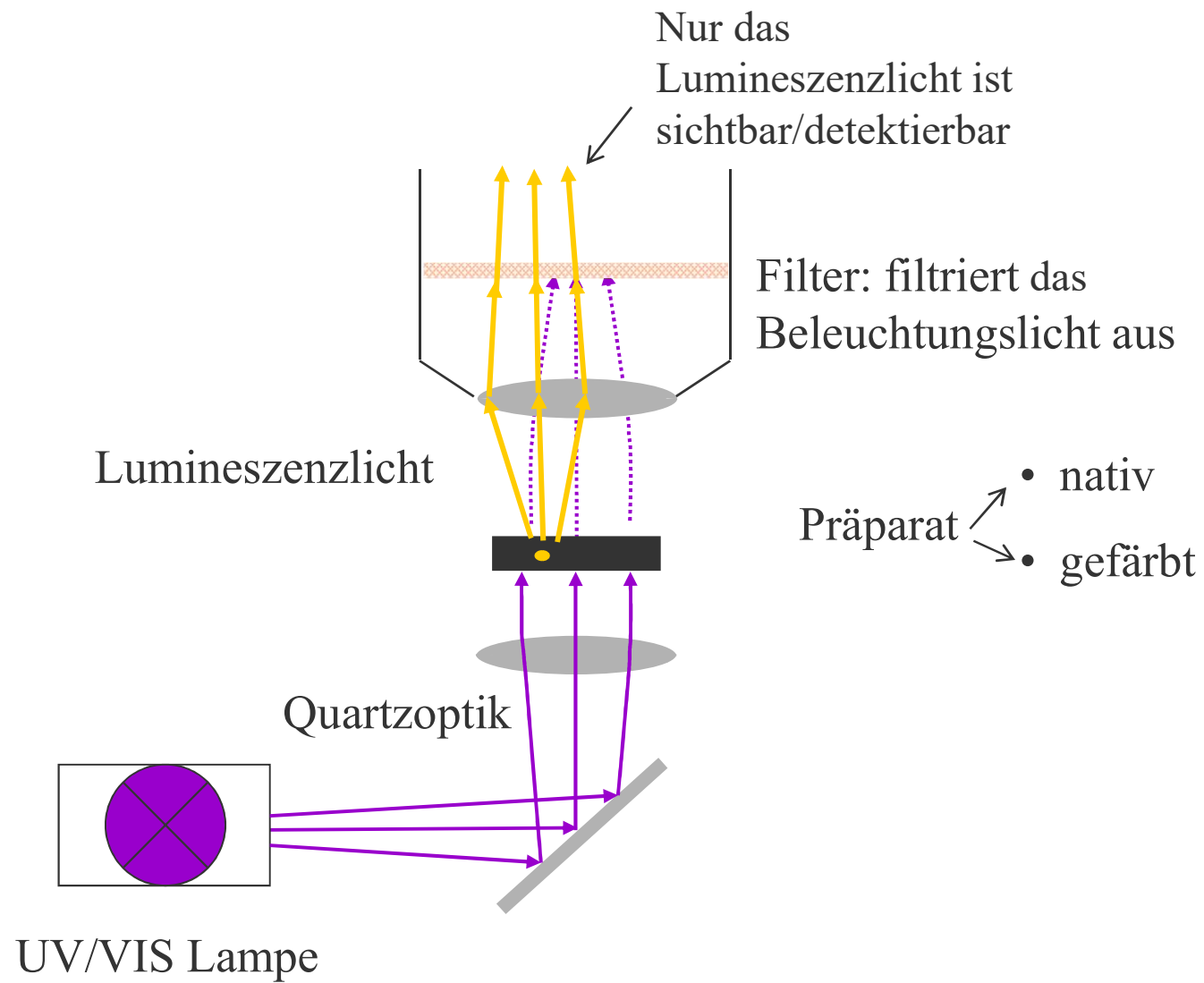
## 2. Untersuchung von biol. Makromolekülen (z. B. Proteine)

Denaturation eines Eiweißes mit Hilfe der  
Fluoreszenz des Tryptophans

$\lambda_{\max}$  ist empfindlich für die Polarität der  
Umgebung des Tryptophans



### 3. Lumineszenzmikroskopie



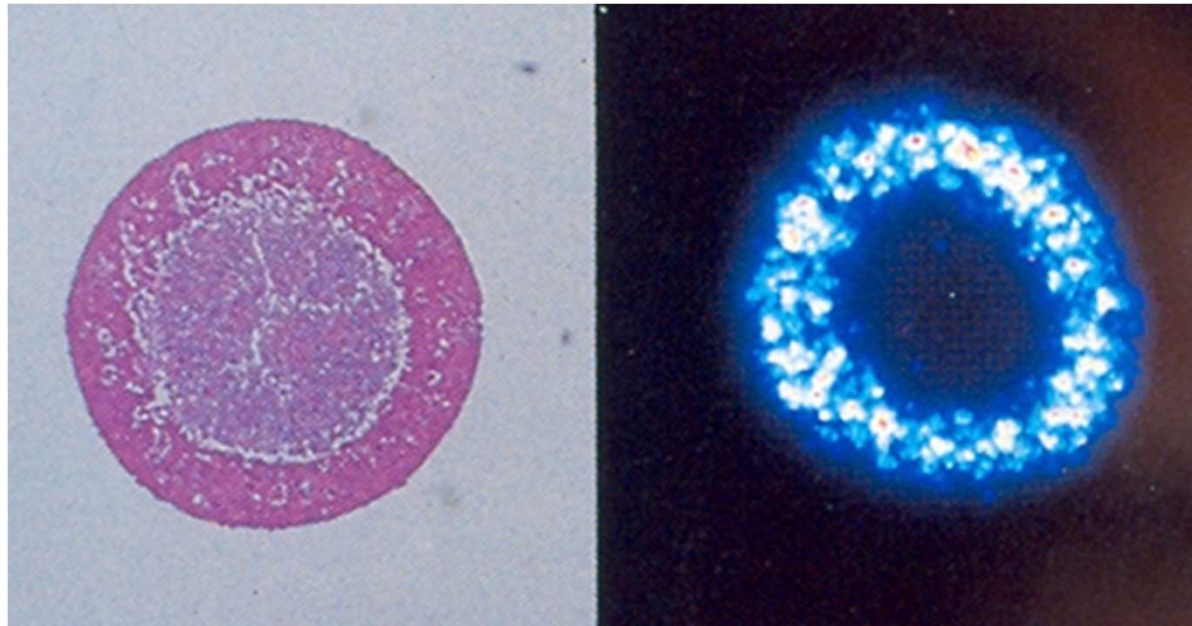


## Beispiel:

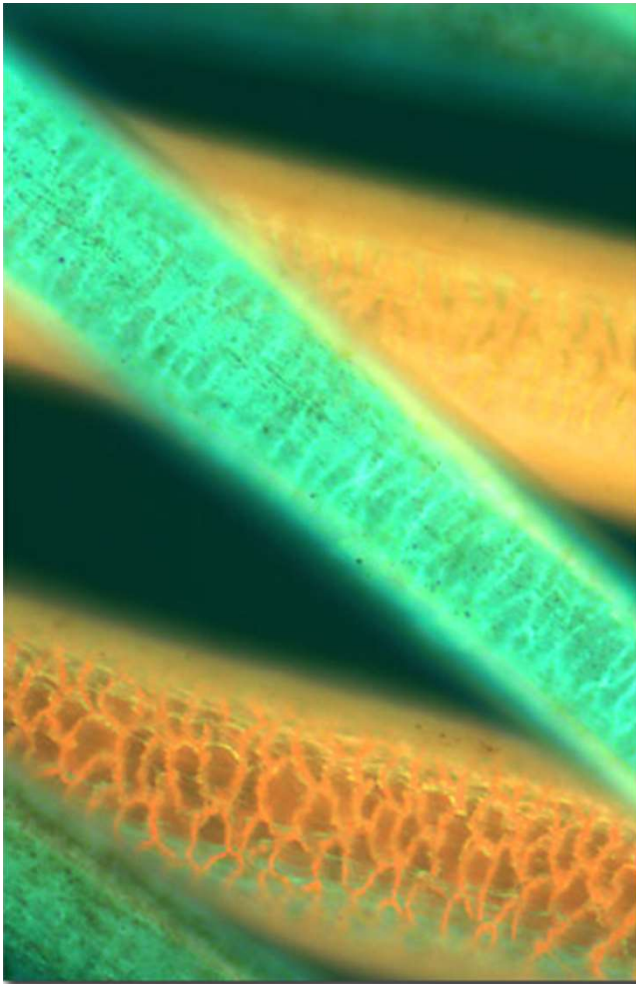
ATP – Verteilung detektiert durch Fluoreszenz von Luciferine

Transmissionsbild

Fluoreszenzbild

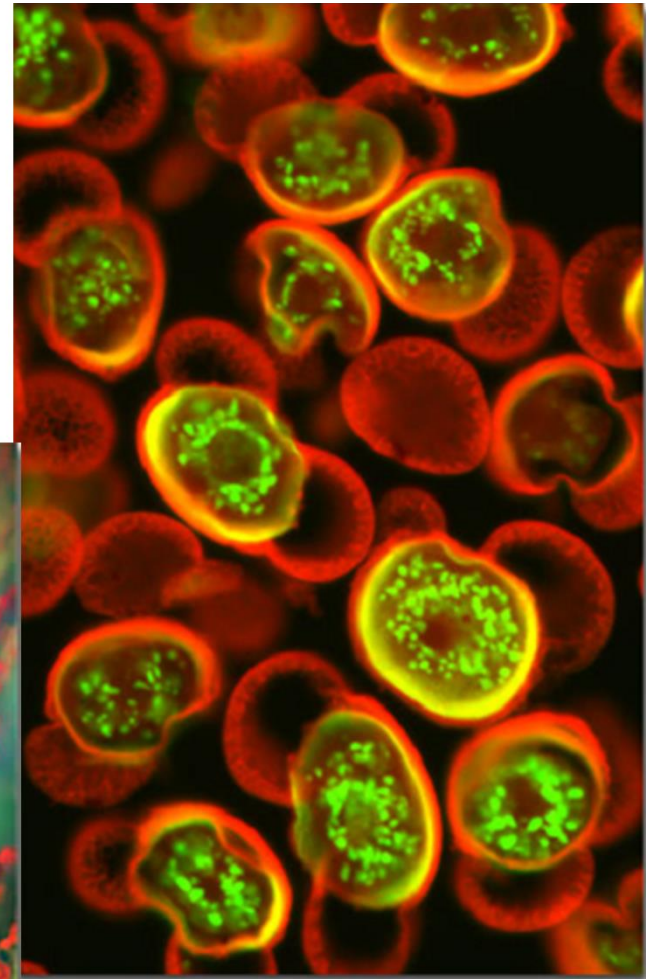
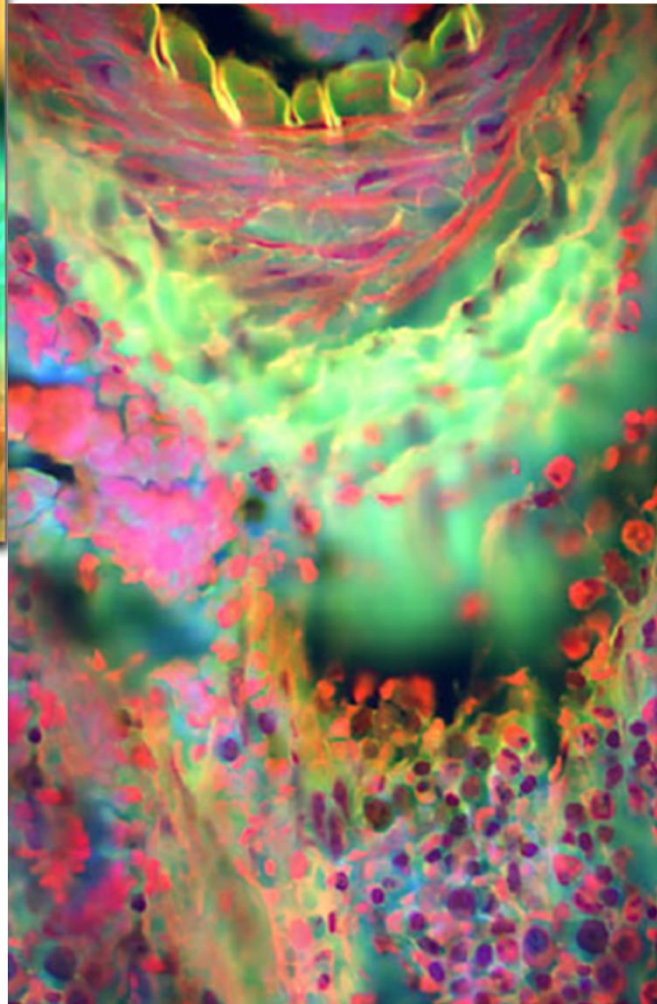






Bauchhaar des  
japanischen Ponys

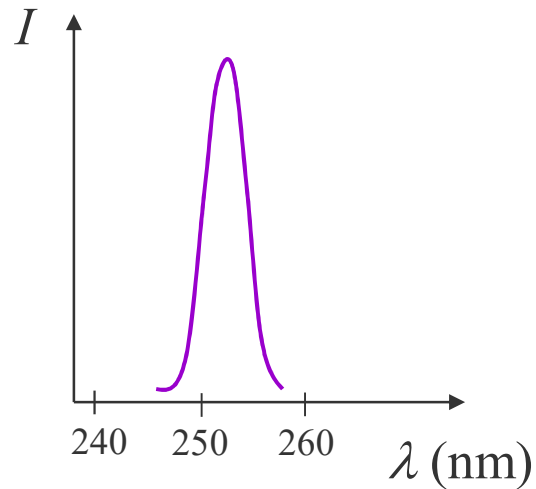
Knochengewebe



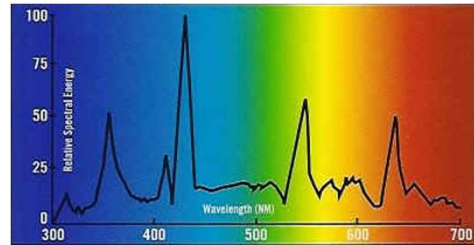
Pollen der Kiefer

## 4. Lumineszenzlampen

- Natriumlampen →
- Quecksilberlampen:
- Germizidlampe



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



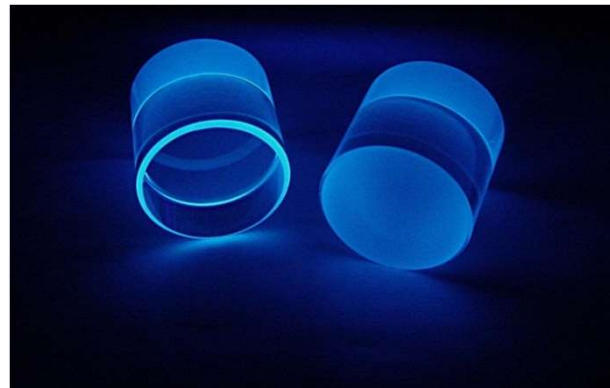
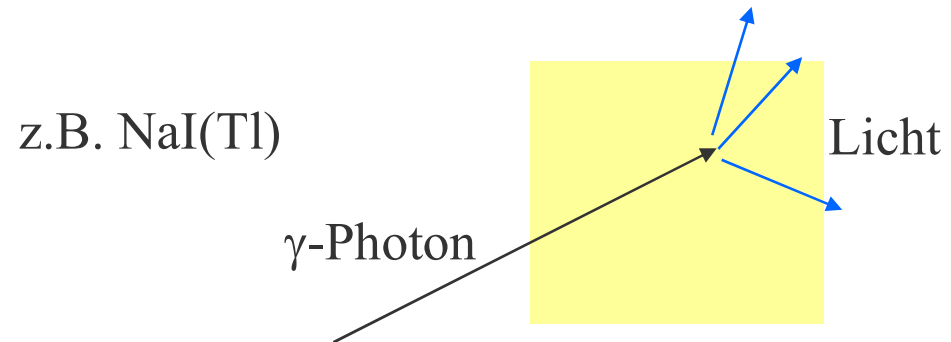
• Quartzlampe, Solariuml.

← • Leuchtröhren

z.B.  
photodynamische  
Therapie

## 5. Strahlungsdetektoren

(Röntgenstrahlung, radioaktive Strahlungen, ...)

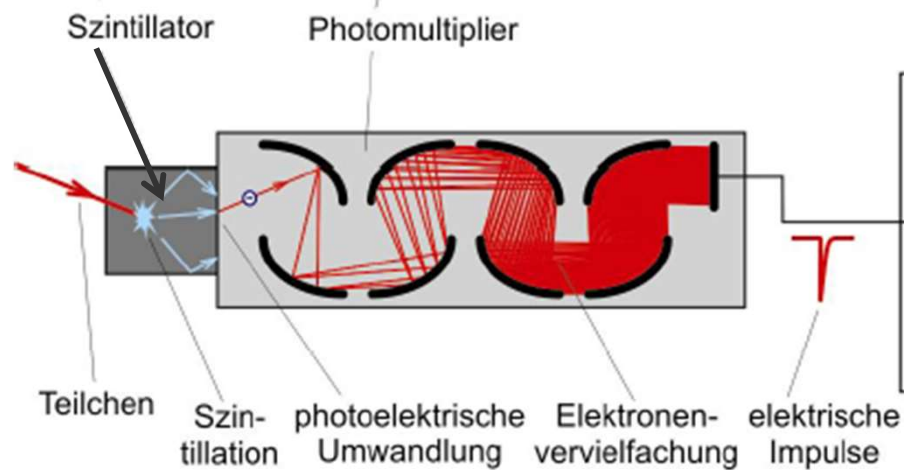
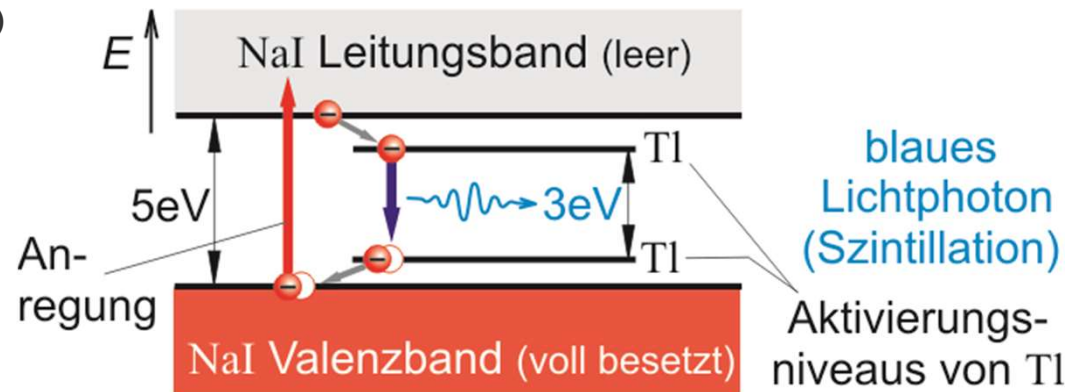




# 5. Strahlungsdetektoren

(Röntgenstrahlung, radioaktive Strahlungen, ...)

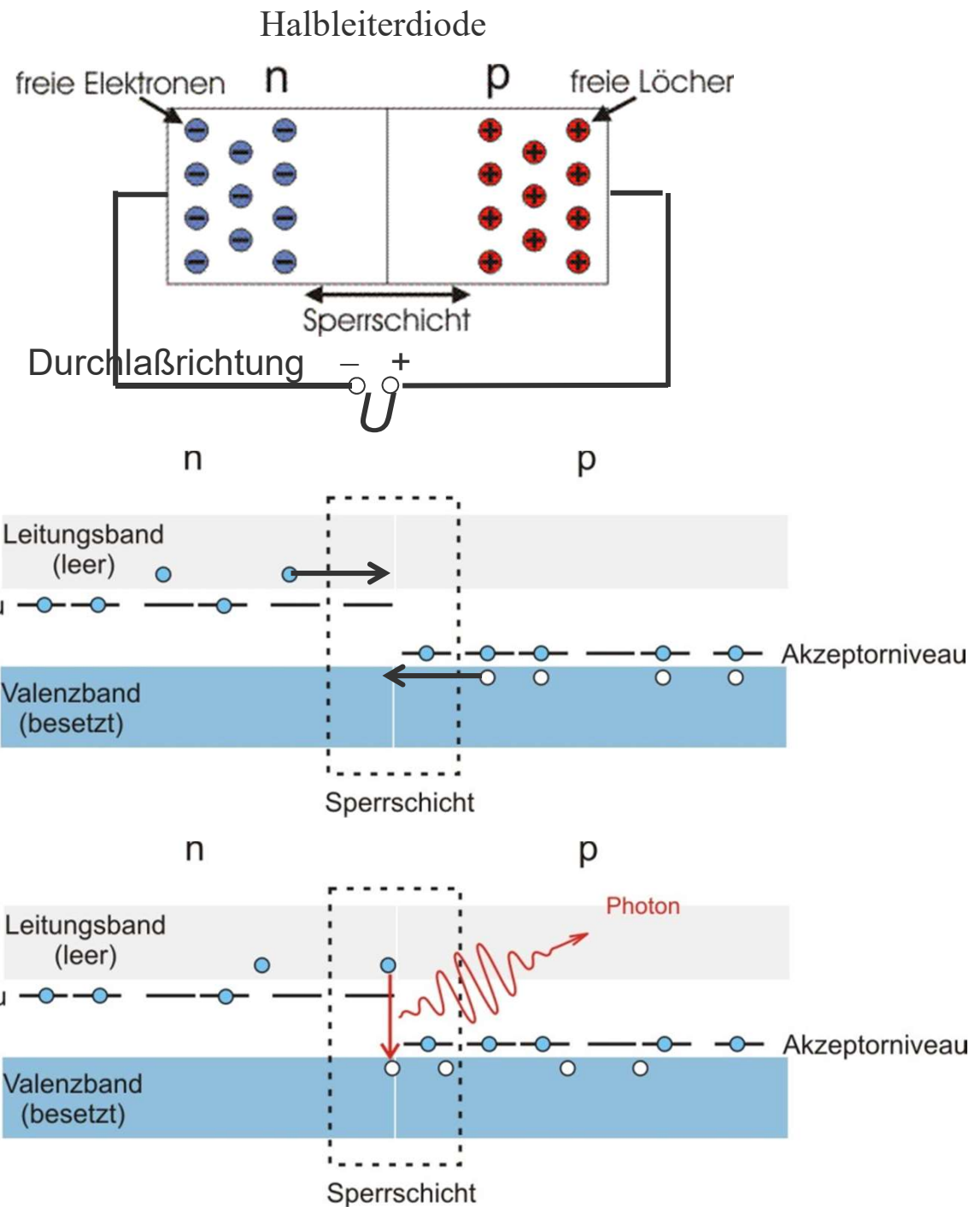
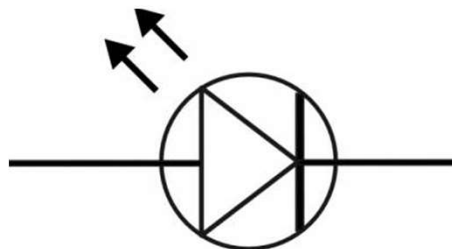
z. B. NaI(Tl)



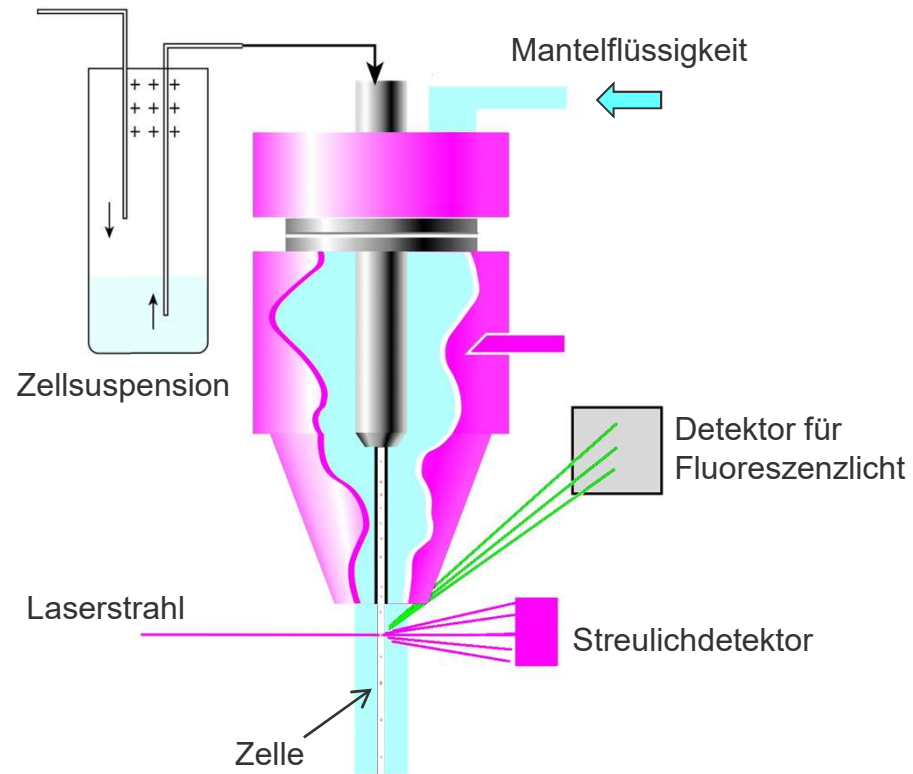
(s. noch Thermolumineszenzdosimeter)

# 6. Leuchtdiode

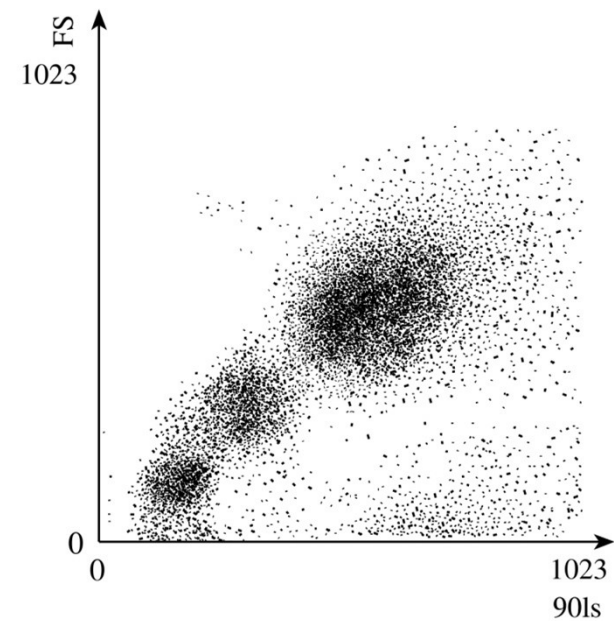
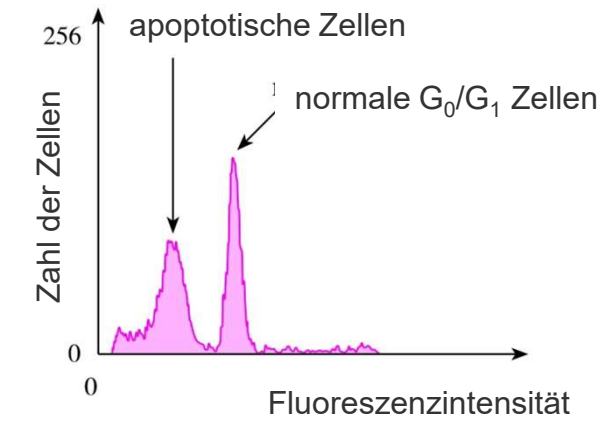
(light emitting diode —



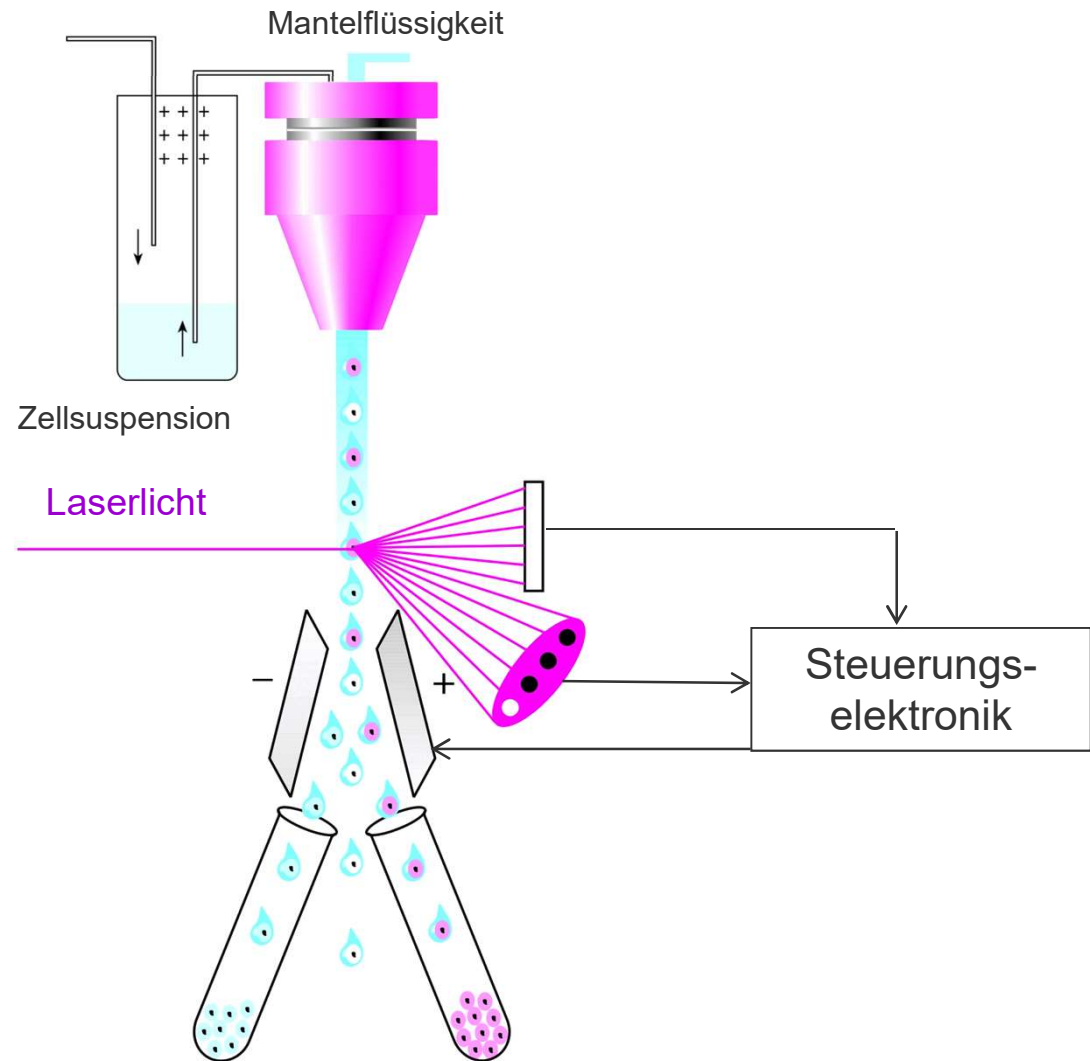
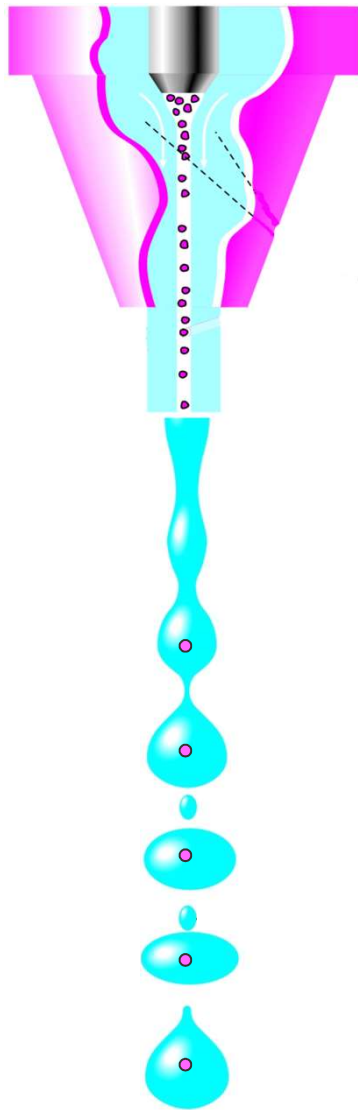
# Durchflusszytometrie



Zweidimensionale analyse  
mit Hilfe zwei Parameter



# Zelleseparation





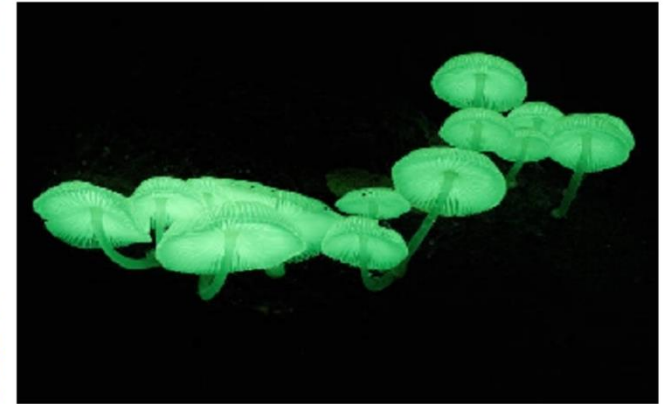
# Beispiele für Biolumineszenz



Medusen



Schwebeflora

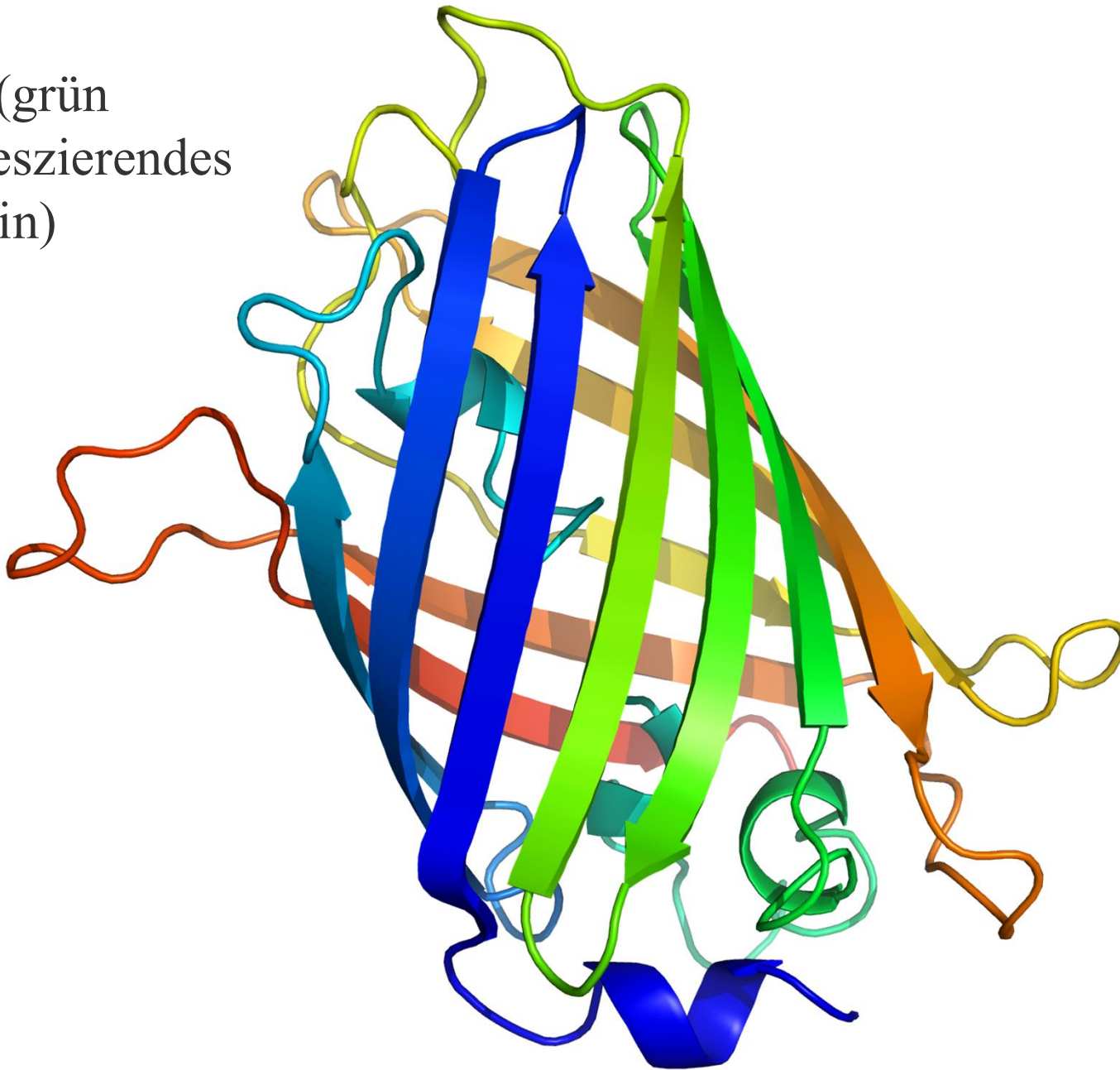


Pilz

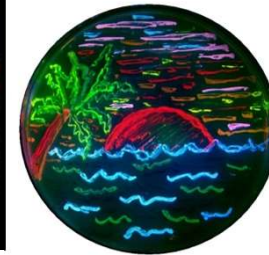
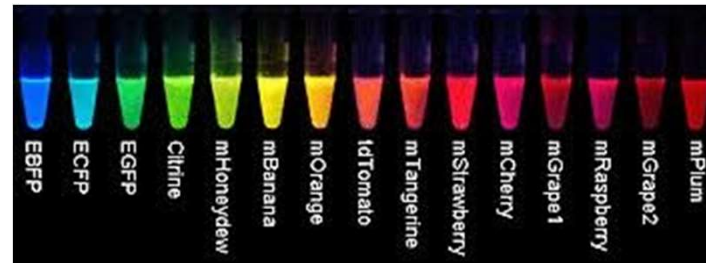
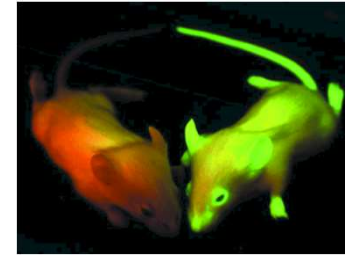
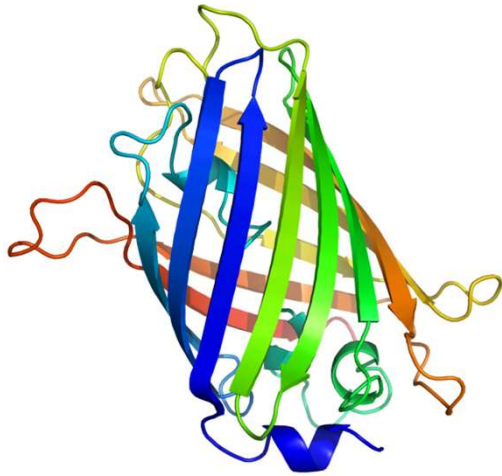


Leuchtkäfer (Glühwürmchen) leuchten mit Hilfe der Luciferin-Luciferase Reaktion

GFP (grün  
fluoreszierendes  
Protein)



## GFP



## Fusionsprotein

