

A FÉNY KELTÉSE

FÉNYEMISSZIÓ, TERMIKUS SUGÁRZÁS, LUMINESZCENCIA

KELLERMAYER MIKLÓS

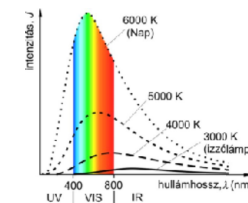
A FÉNYEMISSZIÓ EREDETE

Emisszió: "kibocsátás"

1. Termikus ("feketetest" v. hő-) sugárzás

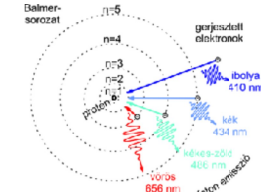
Mechanizmus: atomok, molekulák hőmozgása

Fényenergia
forrása:
rendszer
belső
energiaja

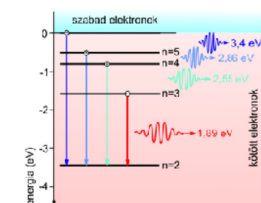


2. Lumineszcencia

Mechanizmus: gerjesztett állapot energiá kibocsátása

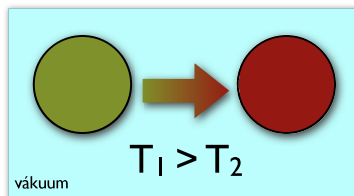


Fényenergia
forrása:
gerjesztett
állapot
energiaja

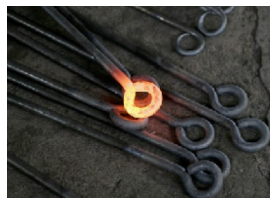


"Feketetest" (Termikus) sugárzás

A termikus sugárzás a fénykeltés egyik mechanizmusa



Hőcsere:
hőmérséklet
kiegyenlítődés



- Magas hőmérsékletű testek fényt bocsátanak ki (emittálnak).
- Minél magasabb a test hőmérséklete, annál rövidebb hullámhosszak jelennek meg az emissziós spektrumában.

A feketetest minden ráeső fényt elnyel

A tárgyak nemcsak sugároznak, hanem a sugárzást el is nyelik (abszorbeálnak)!

Kisugárzott felületi teljesítmény (M) és abszorpció tényező (α) aránya konstans (Kirchoff törvénye):



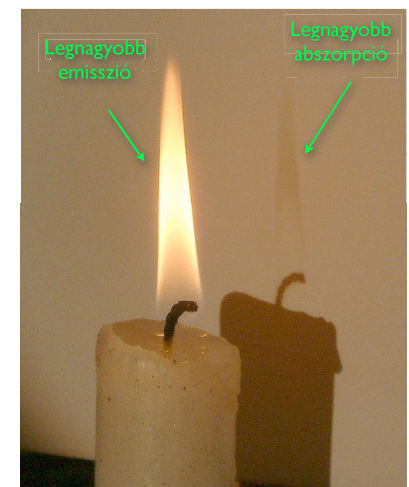
Gustav Robert Kirchhoff
(1824-1887)

$$\frac{M_{\lambda i}}{\alpha_{\lambda i}} = \frac{M_{\lambda j}}{\alpha_{\lambda j}}$$

Abszolút fekete testre (BB*):

$$\alpha_{\lambda BB} = 1 \quad ("BB" = "black body")$$

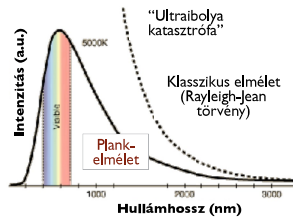
- Vagyis az abszolút fekete test minden reá eső sugárzást elnyel ("semmit" nem ver vissza).
- Az abszolút fekete testen ezért a hőmérsékletfüggő emisszió ("feketetest sugárzás") ideálisan vizsgálható.



... no de mi az a "fekete test"...

Feketetest sugárzás

Tulajdonságai és a levonható következtetések



Stefan-Boltzmann törvény:

$$M_{BB}(T) = \sigma T^4$$

M_{BB} = kisugárzott felületi teljesítmény, emissziós spektrum alatti terület.



Jozef Stefan
(1835-1893)



Ludwig Eduard Boltzmann
(1844-1906)

Wien-féle eltolódási törvény:

$$\lambda_{\max} T = \text{const}$$

Planck-féle sugárzási törvény:

$$E = hf$$

h = hatáskvantum, Planck-állandó (6.626×10^{-34} Js).

Értelme: az energia csomagokban (kvantumokban) nyelődik el és emittálódik



Wilhelm Wien
(1864-1928)



Max Karl Ernst Ludwig Planck
(1858-1947)

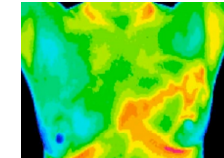
LUMINESZCENCIA

- Gerjesztett állapotból fényemisszióval járó relaxáció
- A hőmérsékleti sugárzáson felül kibocsátott sugárzás
- "Hideg fény"
- Fluoreszcencia és foszforeszcencia

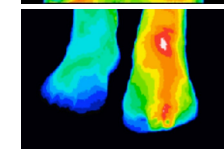
TERMÍKUS SUGÁRZÁS ALKALMAZÁSA

Thermográfia, infradiagnosztika

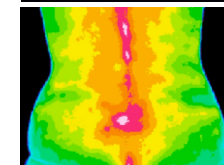
Nem abszorbeáló rétegeten "át lehet látni"



Emlőszűrés,
emlőcarcinoma



Gyulladás



Krónikus
musculoskeletális
stressz (fájdalom)

Reptéri termográfia

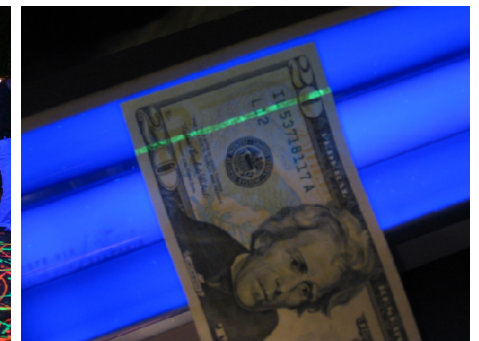


Lázás állapot, epidémia detektálása



LUMINESZCENCIA MINDENÜTT

Fotolumineszcencia



LUMINESZCENCIA MINDENÜTT

Radiolumineszcencia



Világító óralap

Kis energiaigényű, rendkívül hosszú ideig működő, kis fénykibocsátású fényforrások.

Biztonsági
jelzőfény



Aurora borealis
(sarki fény)



LUMINESZCENCIA MINDENÜTT

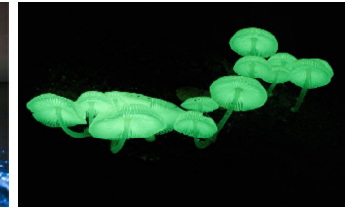
Biolumineszcencia



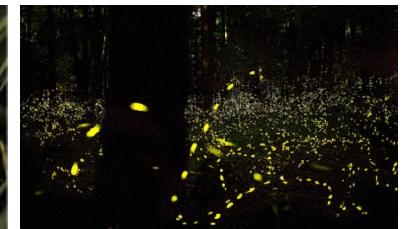
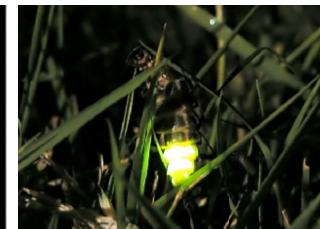
Medúzák



Phytoplankton



Gombák



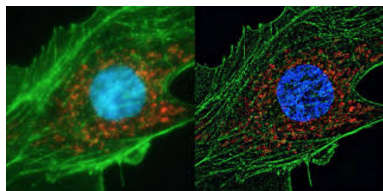
Szentjánosbogár (luciferin-luciferáz reakció)

LUMINESZCENCIA MINDENÜTT

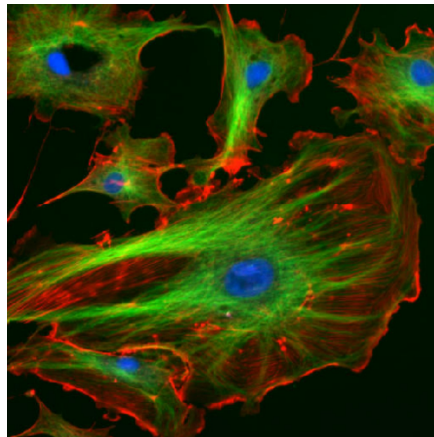
Fluoreszcencia alkalmazások



GFP-egér



Szuperrezolúciós mikroszkópia
(Nobel-díj 2014)

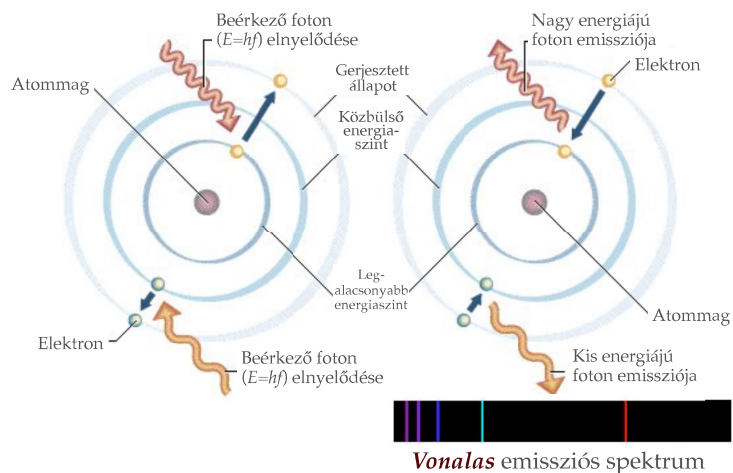


Epifluoreszcencia mikroszkópia
(citoszkeletális rendszer)

A LUMINESZCENCIA TÍPUSAI

Gerjesztés <i>módja</i> szerint	Lumineszcencia típusa
abszorpció	fotolumineszcencia
kémiai reakció	kemilumineszcencia, biolumineszcencia
termikusan aktivált ion-rekombináció	termolumineszcencia
töltés injekció	elektrolumineszcencia
nagyenergiájú radioaktív sugárzás	radiolumineszcencia
súrlódás	tribolumineszcencia
hanghullámok	szonolumineszcencia
Gerjesztett <i>állapot</i> szerint	Lumineszcencia típusa
első gerjesztett szingulett állapot	fluoreszcencia
legalsó (gerjesztet) triplett állapot	foszforeszcencia

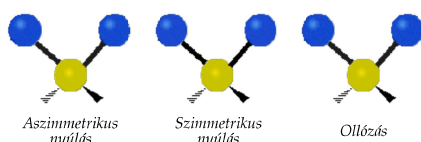
FÉNYEMISSZÓ GERJESZTETT ATOM ÁLTAL



EGY GERJESZTETT MOLEKULA EMISSZIÓJA BONYOLULTABB...

...MERT **ENERGIANÍVÓI** ÖSSZETETTEK.

Molekula: kovalens kötessel összekapcsolt atomok
Legegyszerűbb eset: kétatomos molekula (pl., hidrogénmolekula)



A molekulák **vibrációs** és **rotációs** mozgásokat végeznek:

Vibráció: kovalens kötés **mentén** történő periodikus mozgás
Rotáció: kovalens kötés **tengelye körüli** periodikus mozgás

Molekula energiája: Born-Oppenheimer - közelítés:

$$E_{total} = E_e + E_v + E_r$$

- Energia állapotok egymástól függetlenek (csatolás elhanyagolható).
- Állapotok energianívói kvantáltak.
- Átmenetek "energiacsomag" (kvantum) elnyelésével / kibocsátásával járnak.
- Energiaszintek közötti különbségek nagyságrendje különbözik:

Energiai skálázódása:

$$E_e \sim 100 \times > E_v \sim 100 \times > E_r$$

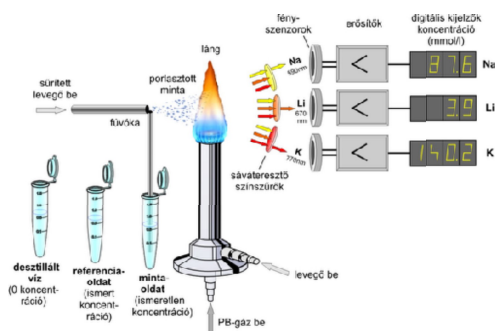
$$\sim 3 \times 10^{-19} \text{ J } (\sim 2 \text{ eV}) > \sim 3 \times 10^{-21} \text{ J} > \sim 3 \times 10^{-23} \text{ J}$$

("Ökölszabály": ultraibolya > látható > infravörös)

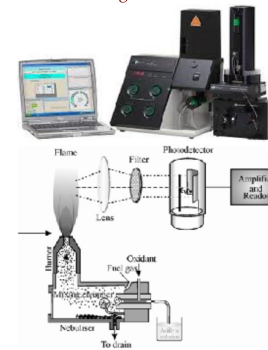
EMISSZIÓS SPEKTROSZKÓPIA ALKALMAZÁSA

Lángfotometria

Alkáli fémek kvalitatív és kvantitatív meghatározása



Klinikum: szérum ionok (Na⁺, K⁺) meghatározása



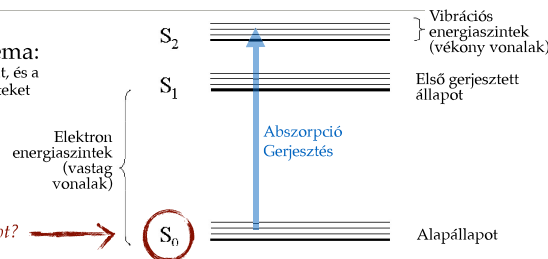
ENERGIA ÁLLAPOTOK ÁBRÁZOLÁSA



Alexander Jablonski
(1898-1980)

Jablonski-féle termséma: egy molekula elektronállapotait, és a közöttük végbemenő átmeneteket (nyilakkal) mutatja

Vajon mi ez az "S" (szingulett) állapot?



Spinállapotok - a Pauli-elv

Wolfgang Pauli
(1900-1958)



- Minden kvantumállapotot csak egyetlen elektron tölthet be.
- Egy atomon belül nem létezhet két olyan elektron, amelynek mind a négy kvantumszáma megegyezik.

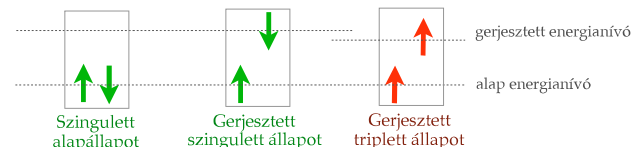


betöltött alhéj: spin párosítás (ellentétes spinű elektronok párosodnak)

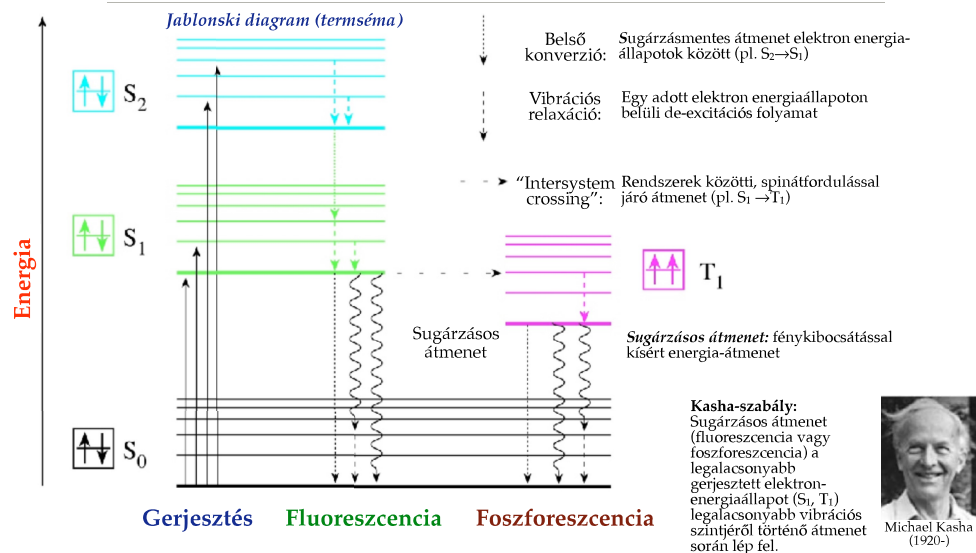
Szingulett és triplett állapotok: az eredő spinállapothoz rendelt mágneses momentum **orientációinak száma** (mágneses térben) = $2S+1 = 1$ (szingulett) vagy 3 (triplett). (S = eredő spin, pl. betöltött alhéj esetén $(+1/2)+(-1/2) = 0$)

S: szingulett állapot: ellentétes spinű párosított elektronok, eredő spin (S) = 0, **orientációk száma** = $(2S+1) = 1$.

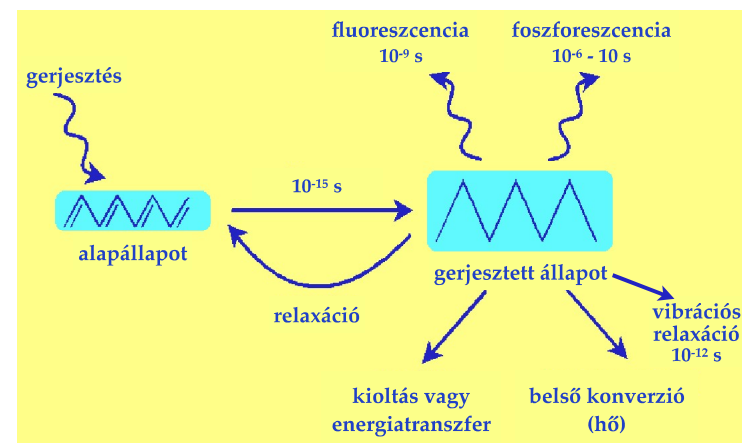
T: triplett állapot: a molekulában azonos spinállapotú elektronok vannak, eredő spin = 1 (pl. $(+1/2)+(+1/2) = 1$), **orientációk száma** = $(2S+1) = 3$.



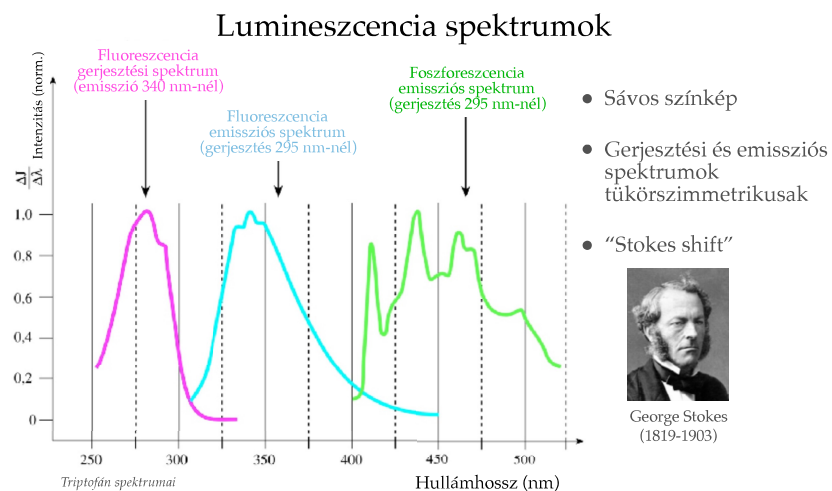
A LUMINESZCENCIA FOLYAMATAI



AZ ÁTMENETEK SEBESSÉGE (IDŐSKÁLÁJA)



A LUMINESZCENCIA TULAJDONSÁGAI I.



Fluoreszcens festékmolekulák: “fluorofórok”
Fluorofórok célzott bekötésével nem fluoreszkáló molekulák is vizsgálhatóvá válnak (“fluoreszcens jelölés”)

A LUMINESZCENCIA TULAJDONSÁGAI II.

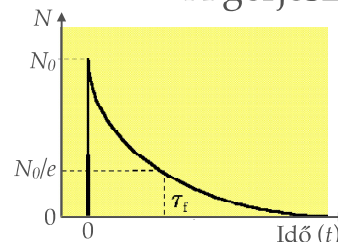
Kvantumhatásfok (Φ)

$$\Phi = \frac{\text{emittált fotonok száma}}{\text{abszorbeált fotonok száma}} \leq 1$$

$$\Phi = \frac{k_f}{k_f + k_{ic} + k_{isc} + k_Q}$$

k_{nr} = nem sugárzásos átmenetek sebességi állandói

A gerjesztett állapot élettartama (τ)



$$N = N_0 e^{-(k_f + k_{nr})t}$$

$$\tau = \frac{1}{k_f + k_{nr}}$$

N = gerjesztett állapotú molekulák száma
 t = idő

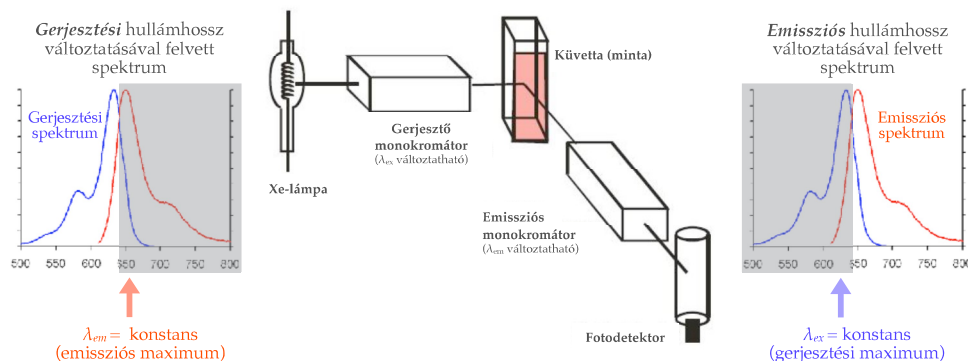
k_f = fluoreszcencia sebességi állandó

k_{nr} = nem-sugárzásos átmenetek sebességi állandója

τ = fluoreszcencia élettartam

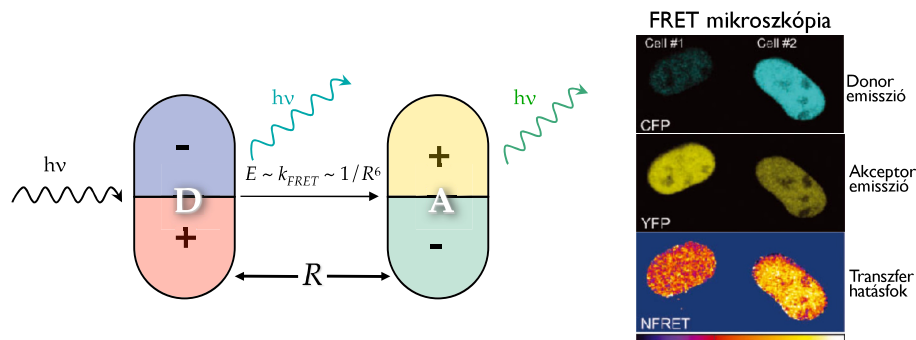
A FLUORESZCENCIA MÉRÉSE

Fluoreszcencia spektrométer (“Steady-state” spektrofluoriméter)



Förster Rezonancia Energia Transzfer (FRET)

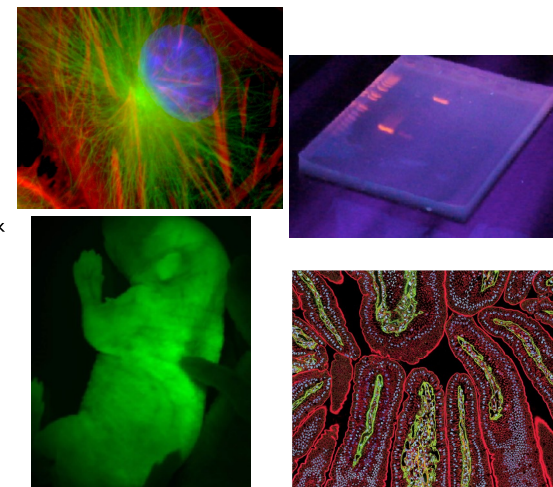
- A gerjesztett állapotban lévő molekula (**donor**), valamint egy megfelelő spektroszkópiás követelményeket kielégítő molekula (**akceptor**) között **dipól-dipól** kölcsönhatás révén, **sugárzás nélküli** energiaátadás formájában jön létre.
- Fluoreszcencia Rezonancia Energia Transzfer (FRET)**: ha az energiatranszfer szereplői fluorofórok.
- Feltételek**: A donor és akceptor molekula közötti **távolság (R)** 2-10 nm!
Átfedés a donor emissziós spektruma és az akceptor abszorpciós spektruma között.
- Alkalmazások**: molekuláris mérőszalag (2-10 nm tartományon); kötődések, kölcsönhatások, intramolekuláris távolságok mérése.



A fluoreszcencia orvosi-biológiai alkalmazásai

Néhány példa:

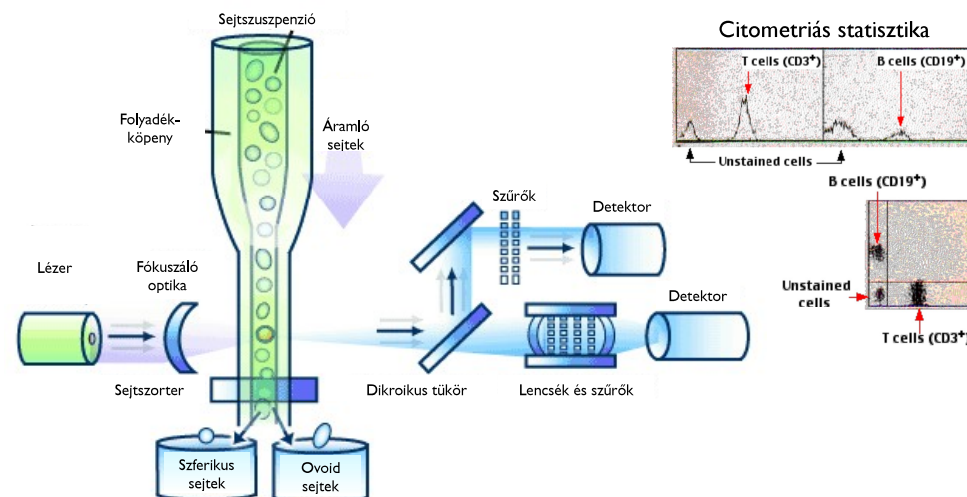
- DNS szekvenálás (lánc terminációs módszer)
- DNS festés (EtBr)
- DNS microarray technológia
- Immunfluoreszcencia
- Fluoreszcens fehérje-konjugációs technikák (GFP)
- Jelölés kvantum pontokkal (quantum dots)
- Förster rezonancia energia transzfer (FRET)
- Fluoreszcencia-aktivált sejt válogatás (FACS)
- “Fluorescence recovery after photobleaching” (FRAP)
- Speciális fluoreszcencia mikroszkópiák



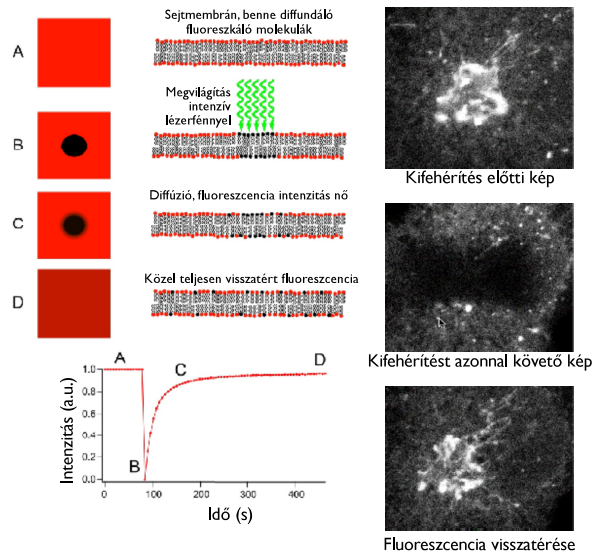
Fluorescence activated cell sorter (FACS)

Fluoreszcencia aktivált sejtválogatás; Áramlási citometria (flow cytometry)

- Fluoreszcensen fajlagosan megjelölt sejtuszpenziót sejtenként analizálunk
- Sok paramétert mérünk (fluoreszcencia intenzitás különböző hullámhosszokon, kis- és nagyszögű szórás)
- Statistikai analízist végzünk
- Szükség esetén a sejteket szétválogathatjuk a paraméterek alapján



Fluorescence Recovery After Photobleaching (FRAP)



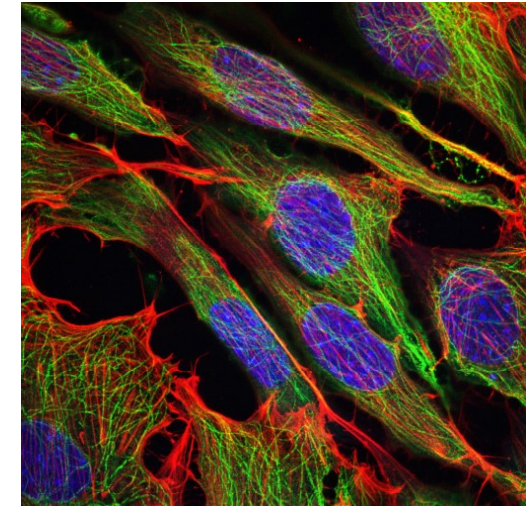
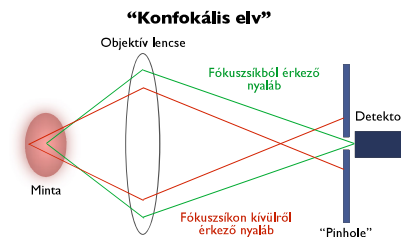
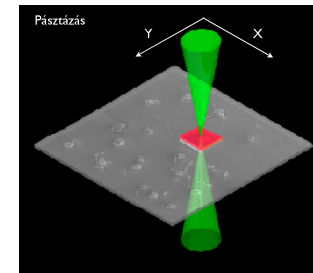
N.B.:
"Bleaching": fehérítés
"Photobleaching": fotokifehérítés

Diffúziós állandó meghatározható a fluoreszcencia intenzitás visszatérésének időbeli lefutásából:

$$D = \frac{w^2}{4t_D}$$

D = diffúziós állandó
 w = kifehérített terület átmérője
 t_D = időállandó

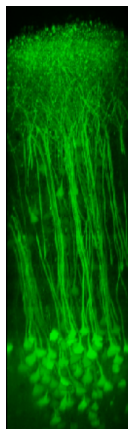
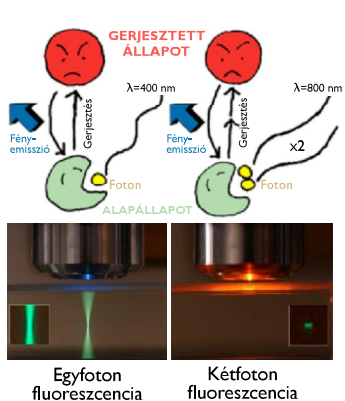
Lézer pásztázó konfokális mikroszkópia



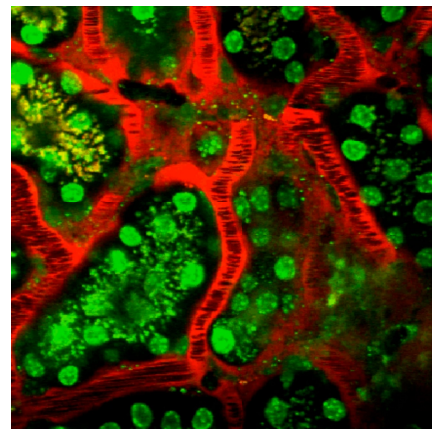
Zöld: mikrotubulusok; Vörös: aktin; Kék: sejtmag

Multifoton mikroszkópia

- Két (vagy több) foton energiája összeadódik a gerjesztéskor
- Gerjesztés (következésképp emisszió) csak a fókuszpontban (limitált fotokárosítás)
- Gerjesztés nagy (közel IR) hullámhosszú, rövid (fs) fényimpulzusokkal
- Nagy hullámhossz miatt mély optikai behatolás (akár 2 mm)



Agykérgi piramissejtek



Zöld: proximális vesetubulusok; Vörös: albumin (plazma)

Szuperfelbontású mikroszkópia

Kémiai Nobel-díj, 2014

A feloldási problémát pozíciómeghatározási problémává alakítjuk!



STORM ("stochastic optical reconstruction microscopy"); PALM ("photoactivated localization microscopy")

