

Biophysik für Pharmazeuten I.

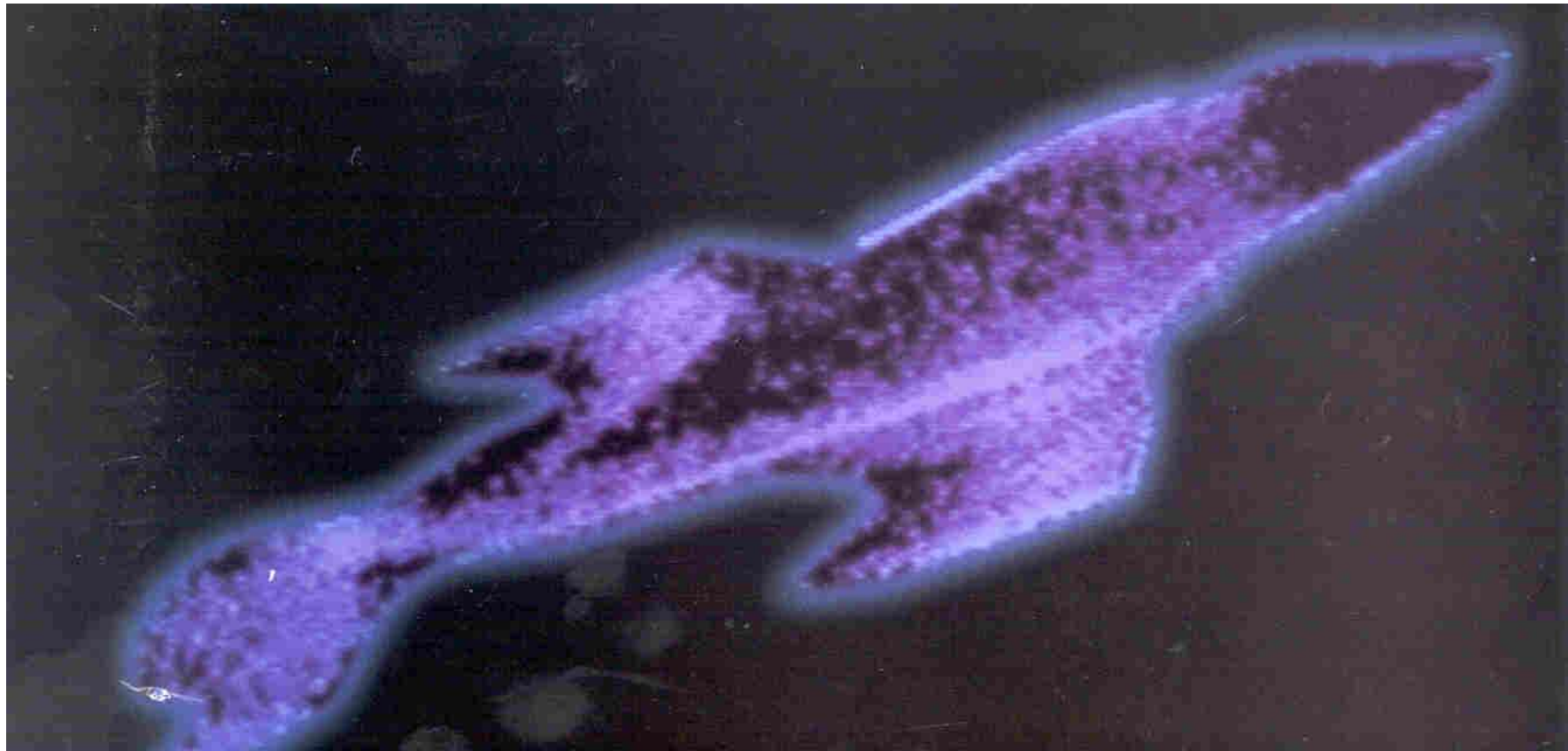
2021/22 I.

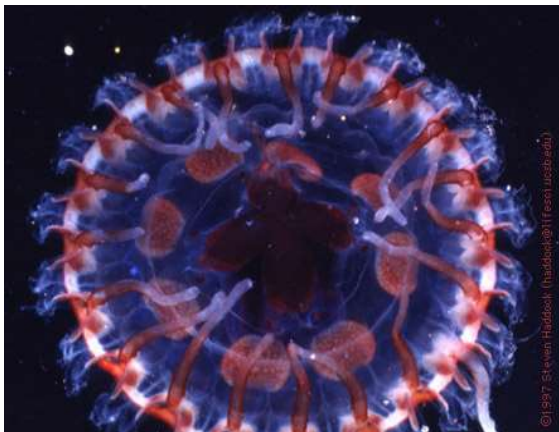
Vorlesung 7

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

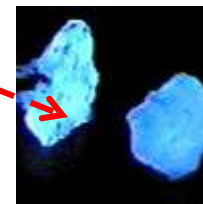
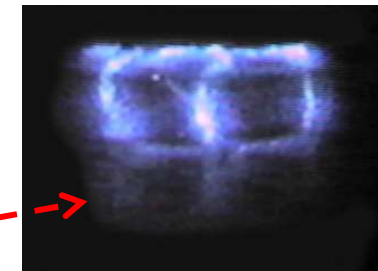
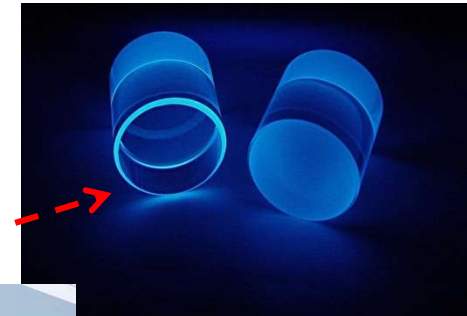


Elektronenanregungen

Klassifizierung der Lumineszenz nach der Anregungsart

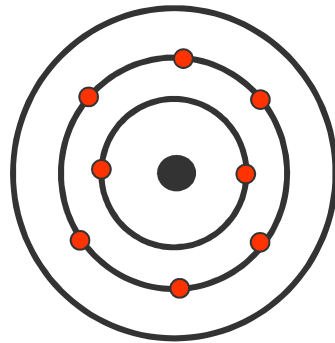
Fluoreszenz&Phosphoreszenz

<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 ₄ (Dy)

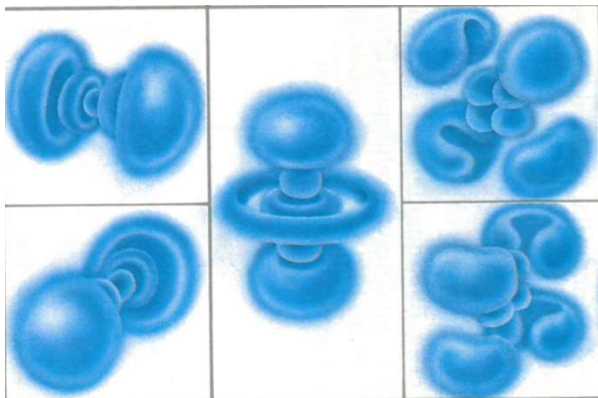


Aufbau des Atoms

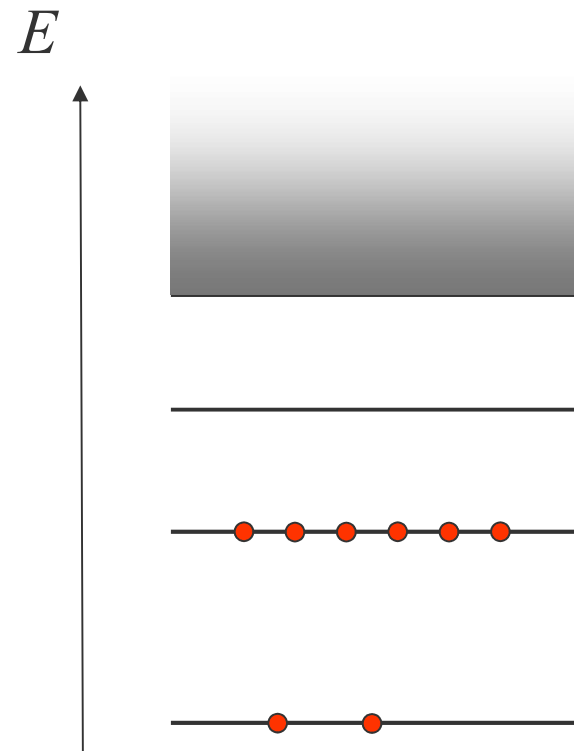
Bohrsches Atommodell



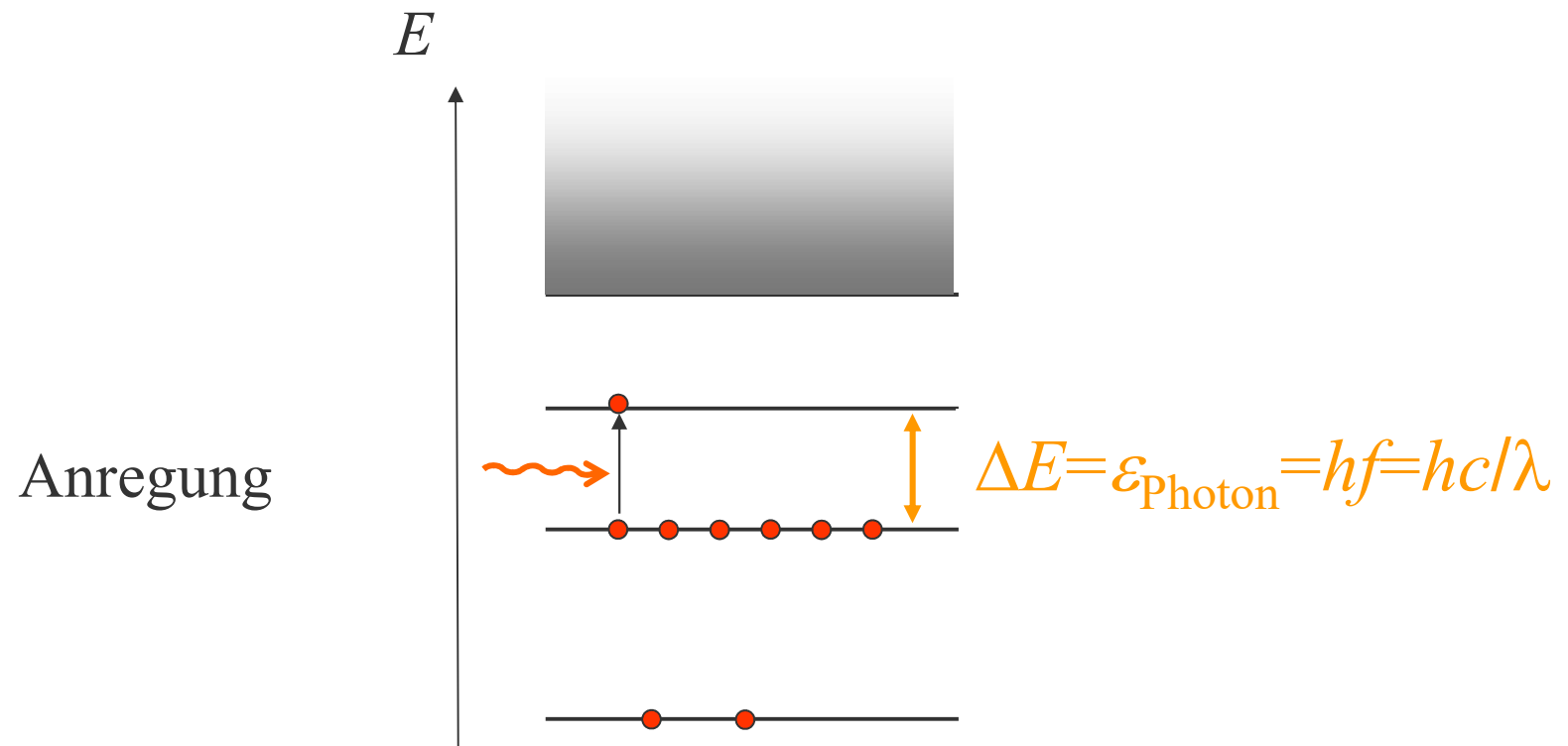
Quantenmechanische Beschreibung des Atoms



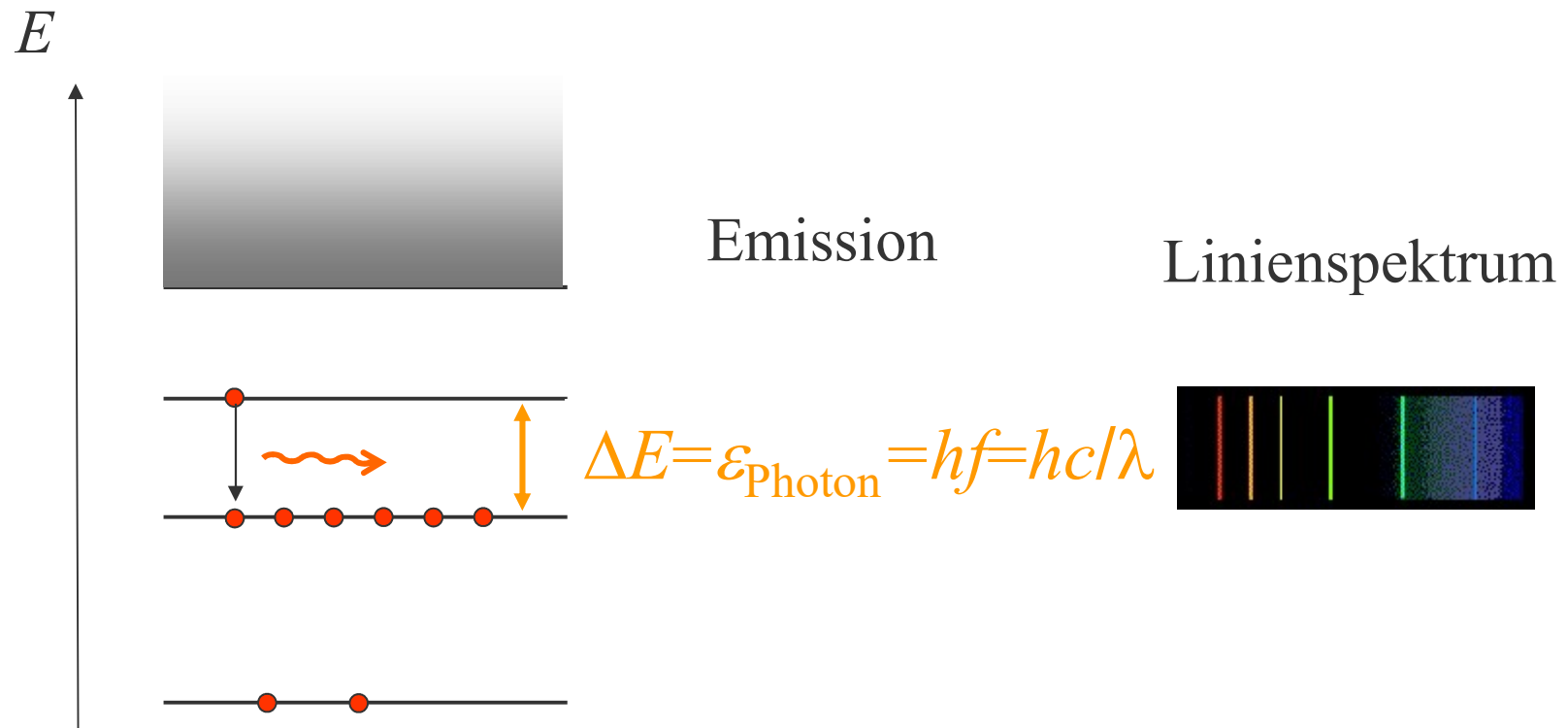
Energieniveaus



Elektronenübergänge

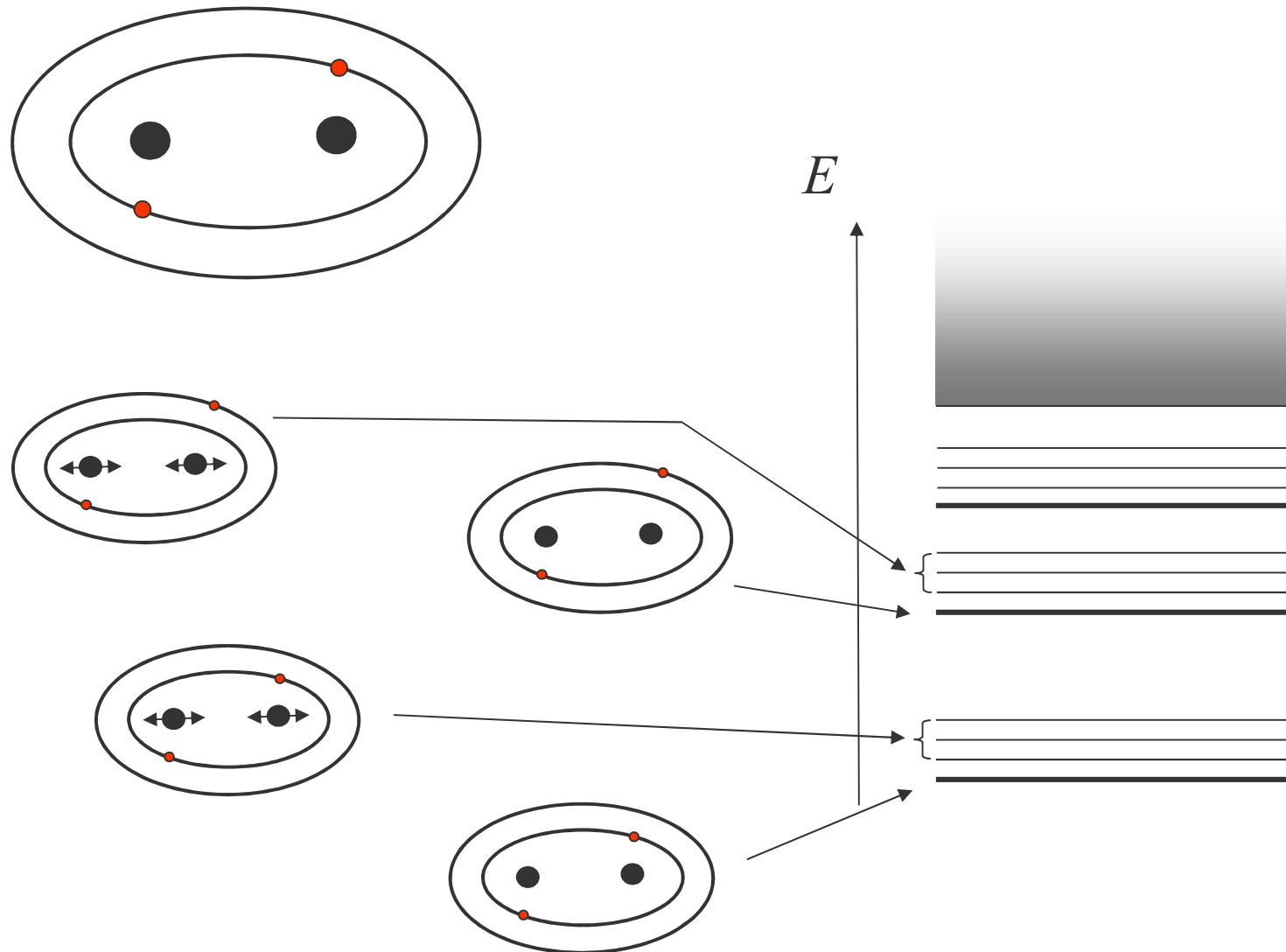


Elektronenübergänge



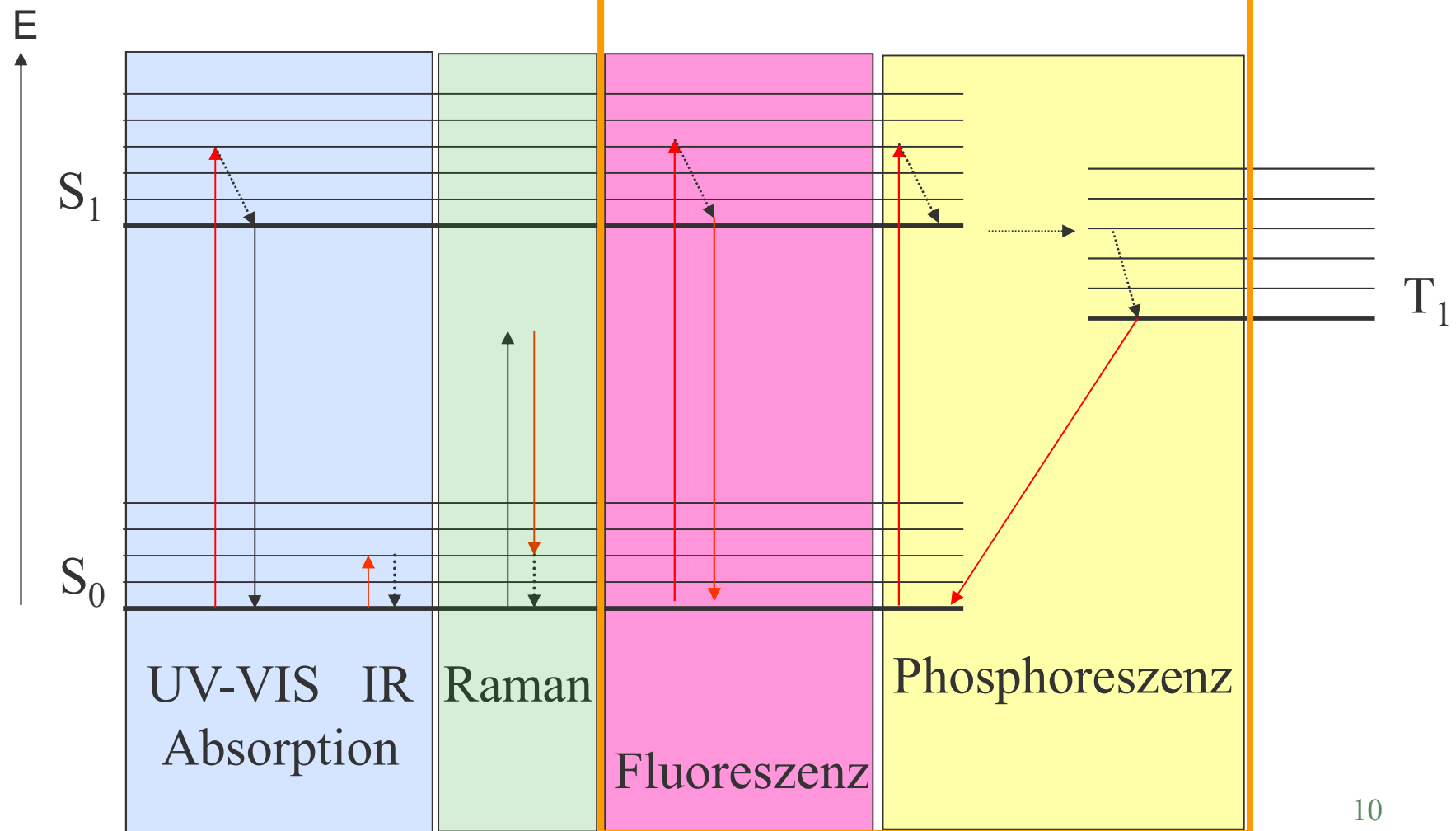
Siehe Praktikum!

Energiezustände der Moleküle

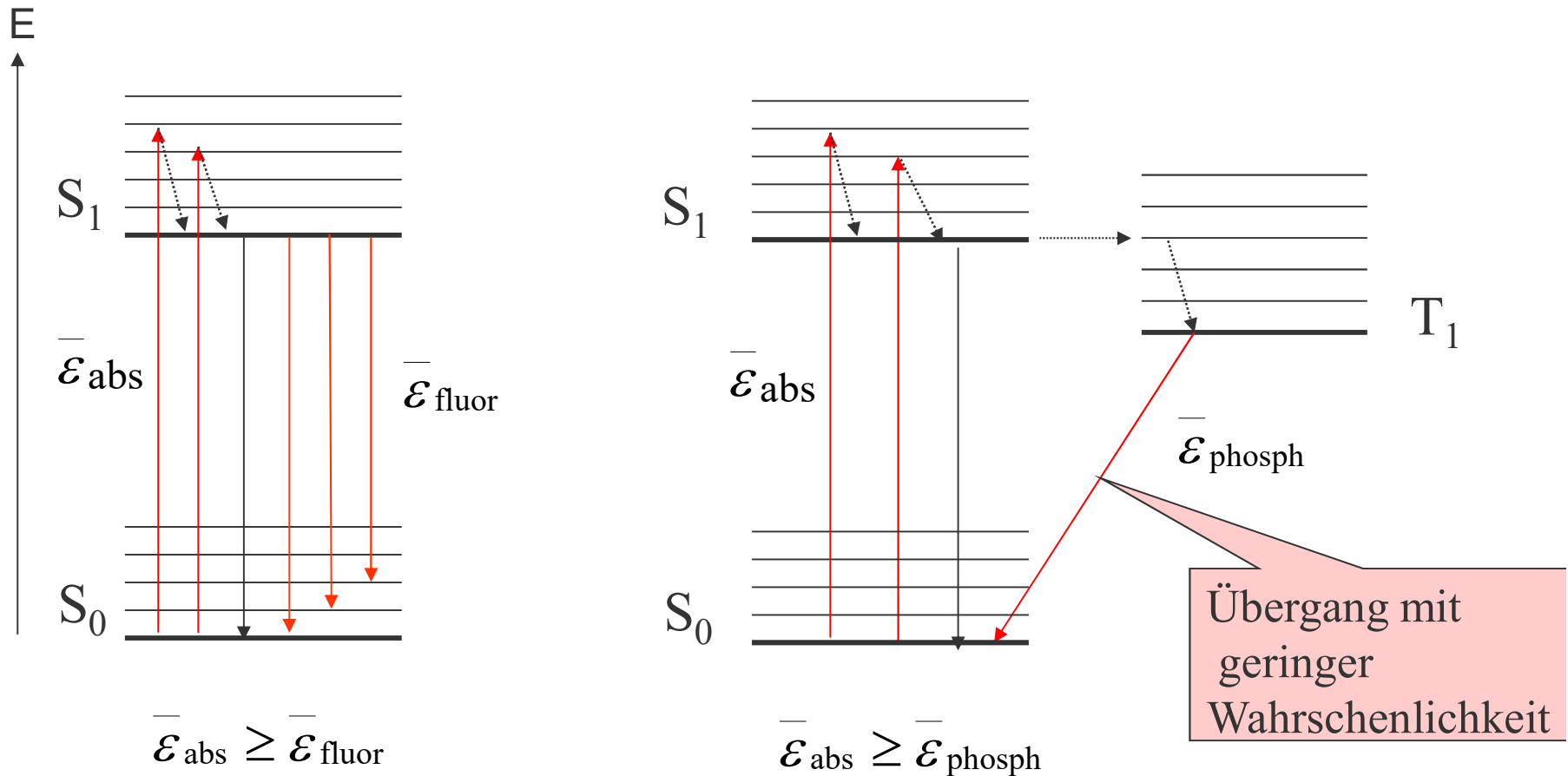


Jablonski Diagramm

Mögliche Übergänge



Fluoreszenz und Phosphoreszenz



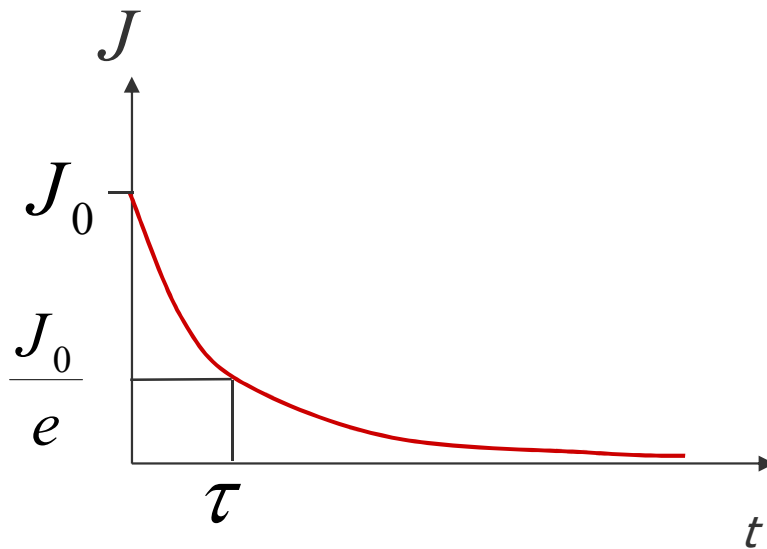
$$\bar{\mathcal{E}}_{\text{abs}} \geq \bar{\mathcal{E}}_{\text{fluor}} \geq \bar{\mathcal{E}}_{\text{phos}}$$

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

↓ 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



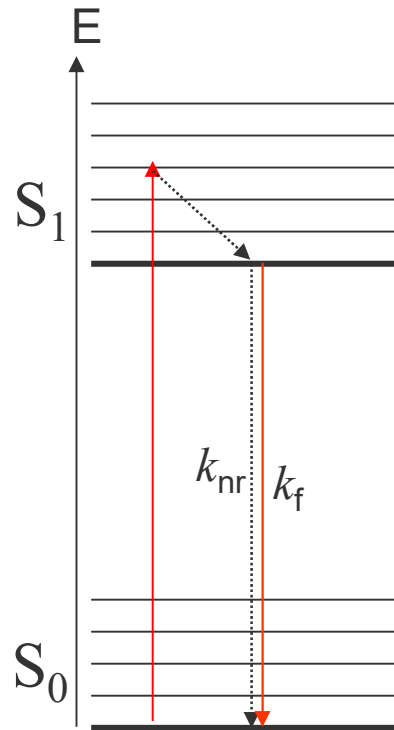
$$J = J_0 \cdot e^{-\frac{t}{\tau}}$$

τ : *Lumineszenz-Lebensdauer*

τ ist umgekehrt
proportional mit der
Übergangswahrschein-
lichkeit: $\tau_{\text{fluor}} \ll \tau_{\text{phos}}$

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

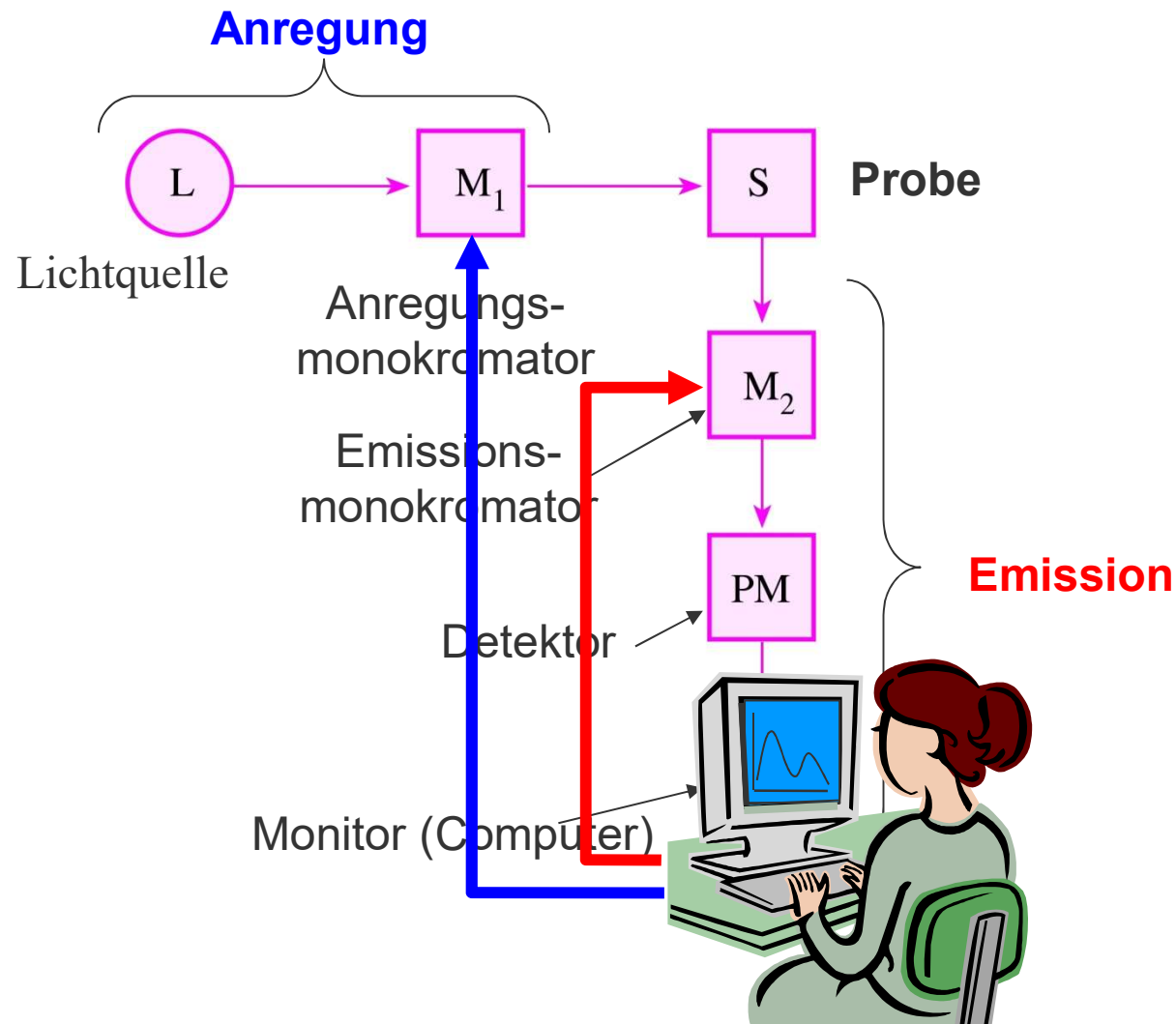
Messbare Größen:

- 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

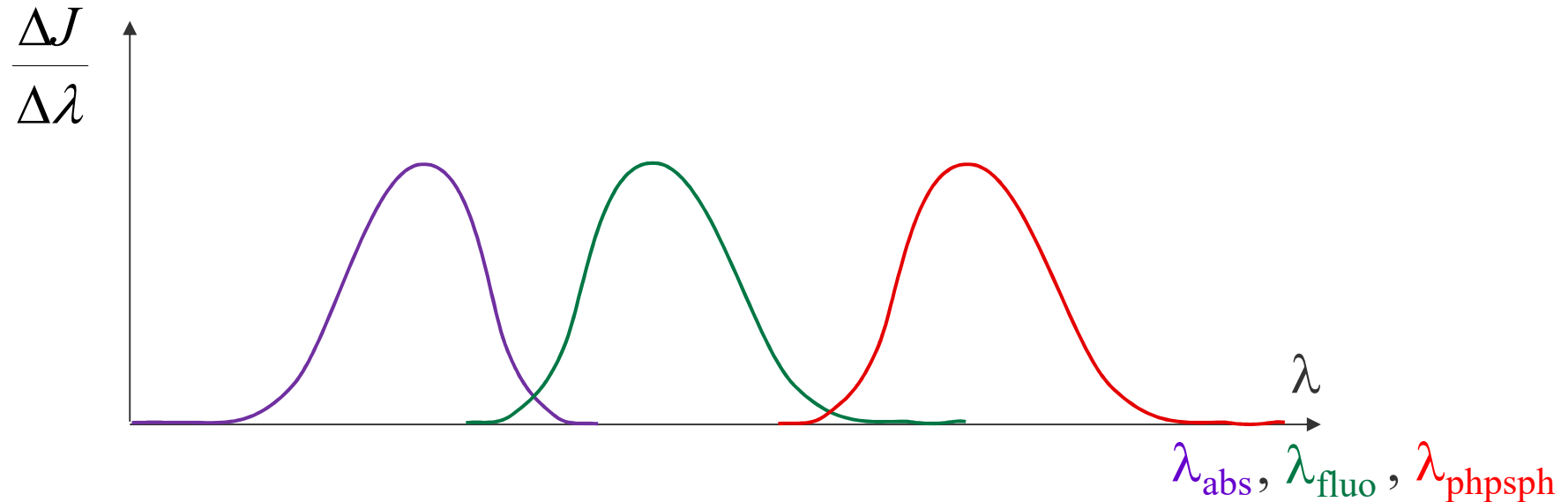


Information (Struktur, Umgebung,
Bewegung, Menge...)

Messung – Aufbau eines Luminometers



Die Spektren

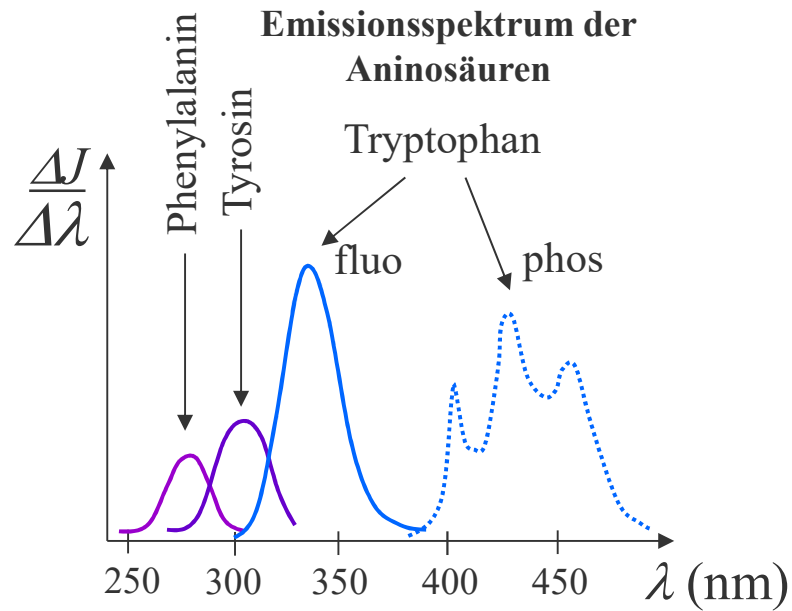


- Emissionsspektrum

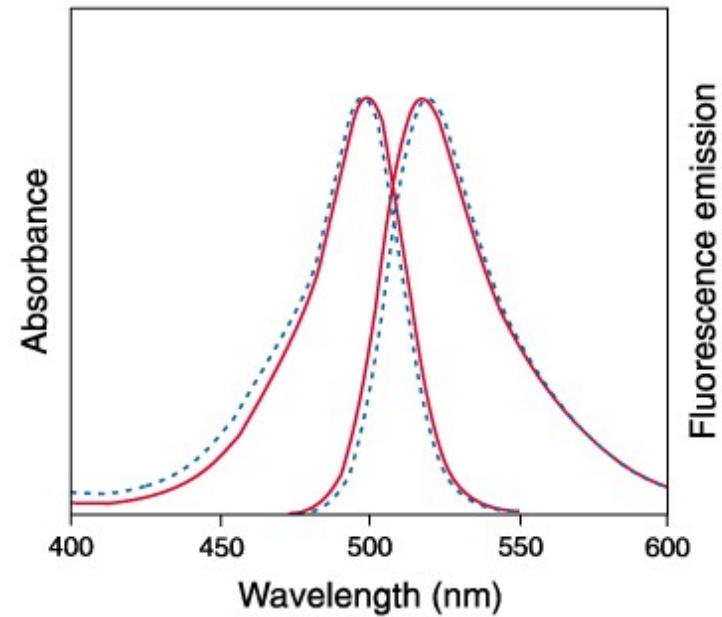
- Fluoreszenzspektrum λ_{fluo}
- Phosphoreszenzspektrum λ_{phosph}

- Anregungsspektrum λ_{abs}

Beispiele



Fluorescein



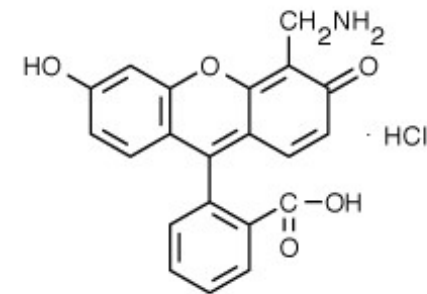
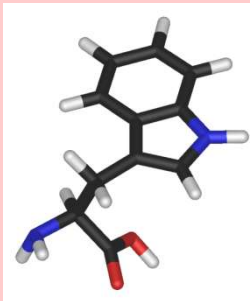
z. B. Tryptophan:

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

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

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

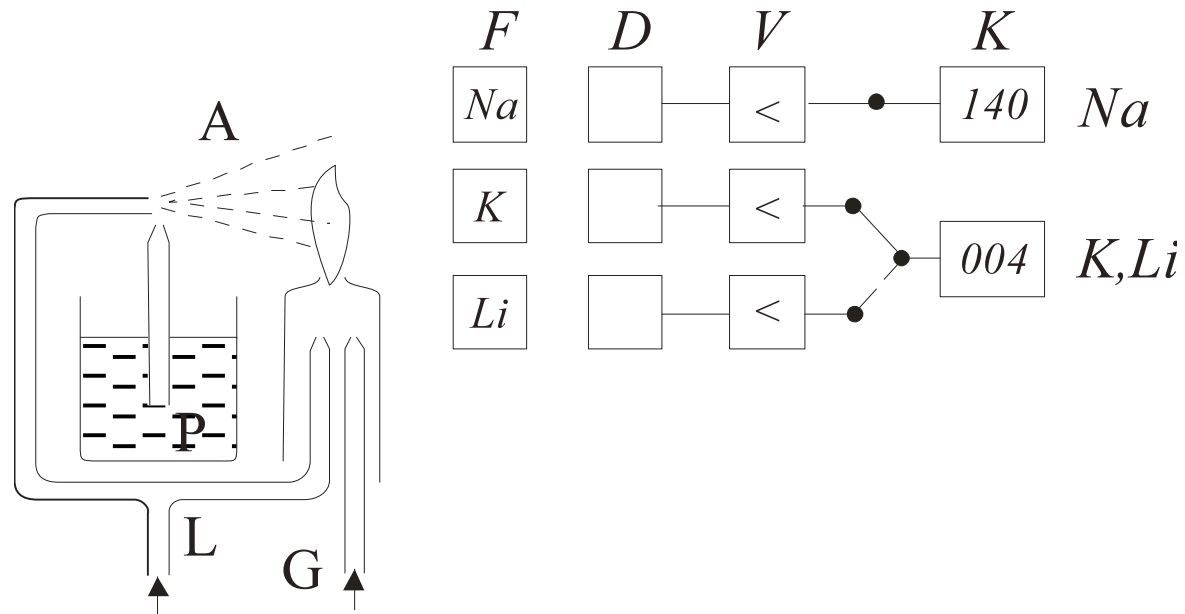
$$\tau_{\text{phos}} = 0,001 - 5 \text{ s}$$

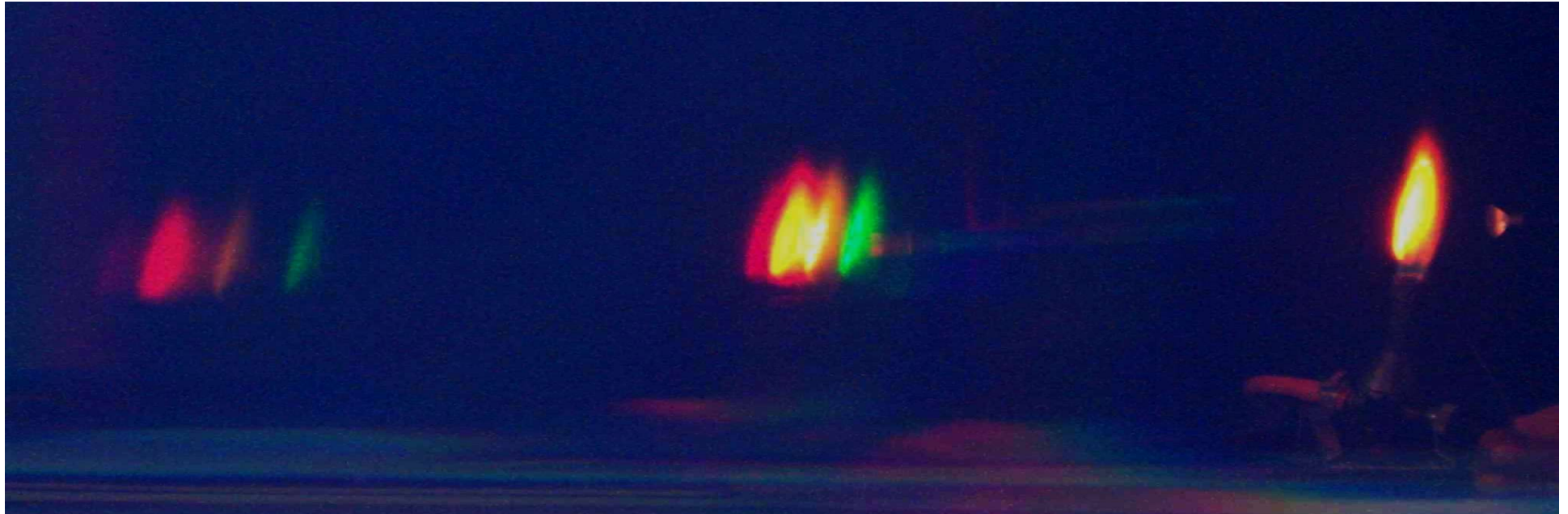


Anwendungen

1. Labordiagnostik

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

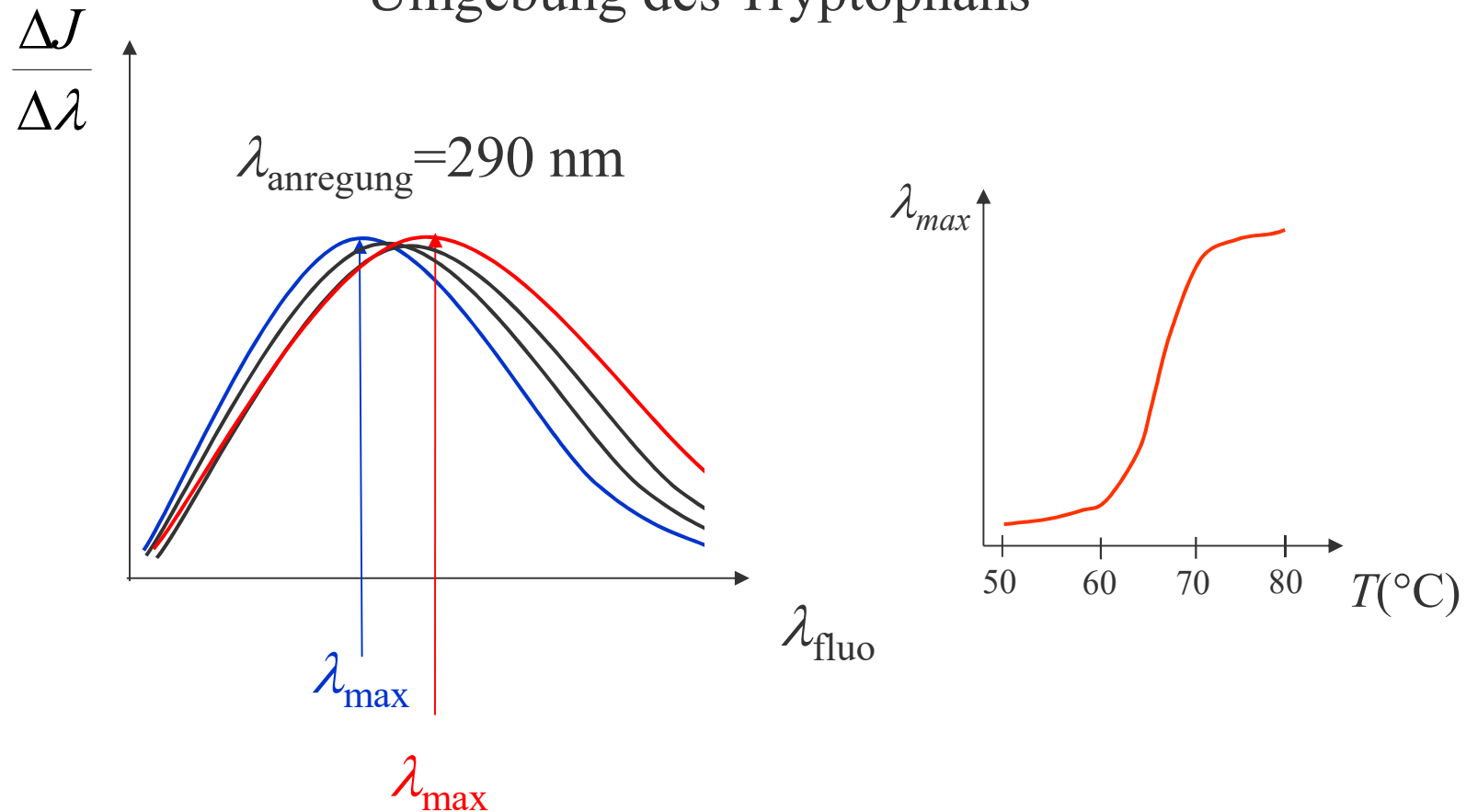




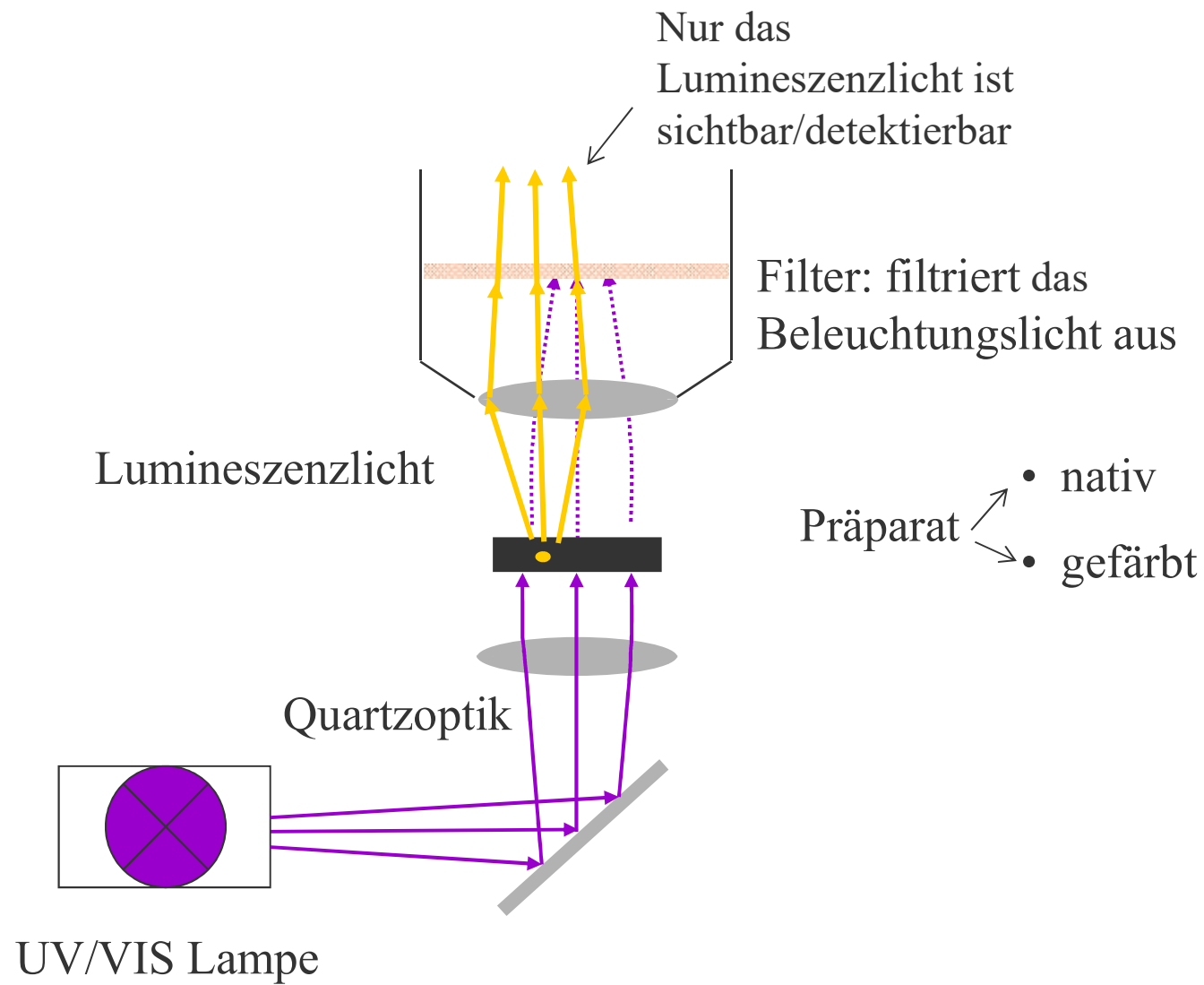
2. Untersuchung von biol. Makromolekülen (z. B. Proteine)

Denaturation eines Eiweißes mit Hilfe der
Fluoreszenz des Tryptophans

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



3. Lumineszenzmikroskopie

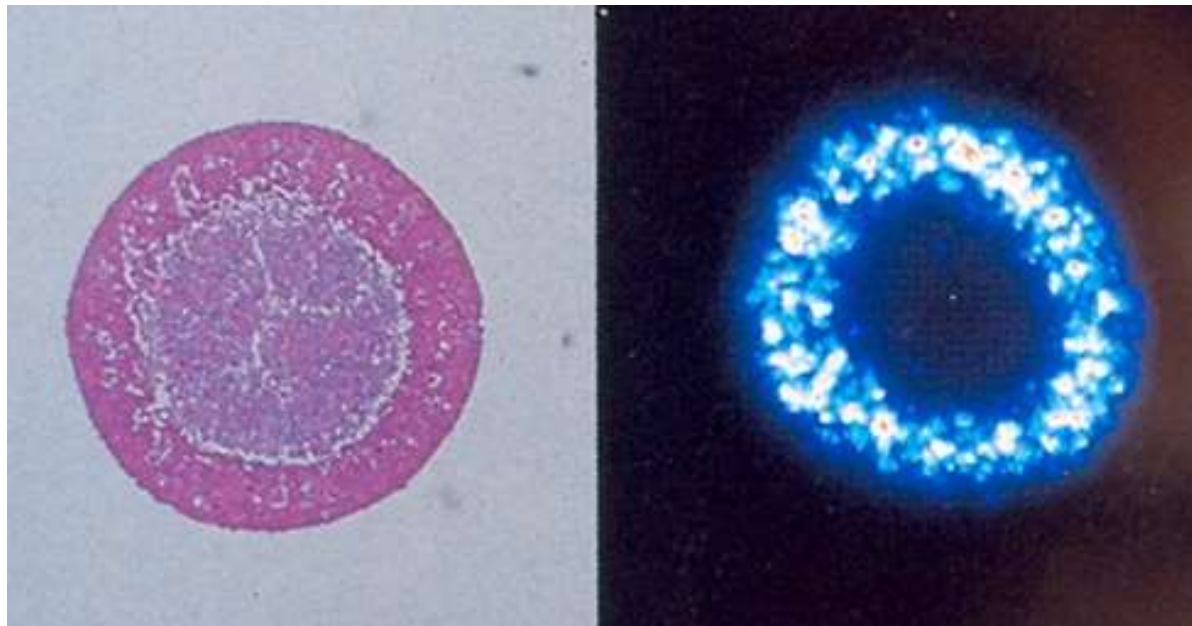


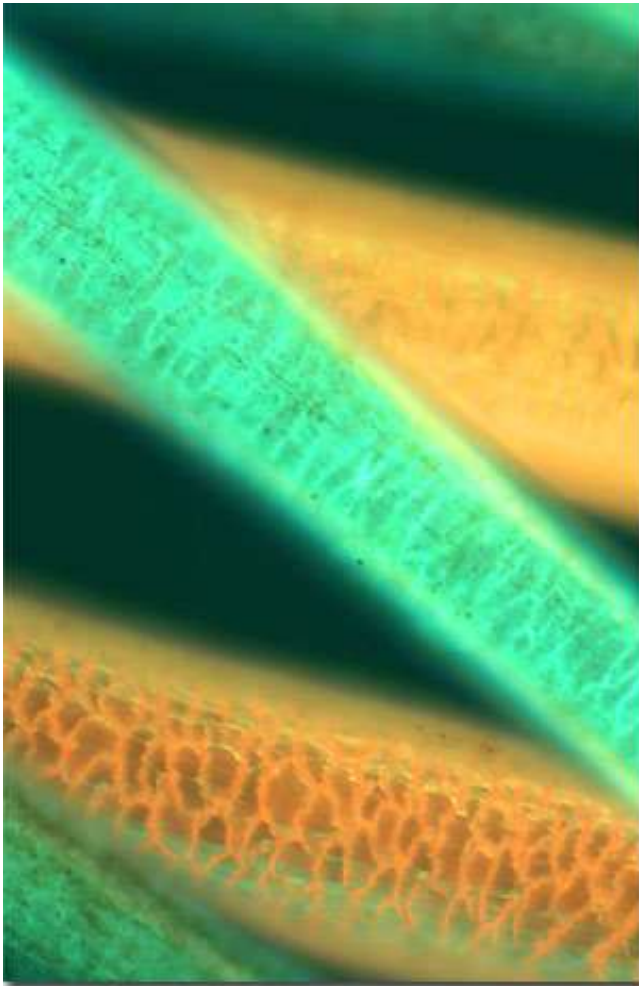
Beispiel:

ATP – Verteilung detektiert durch Fluoreszenz von Luciferine

Transmissionsbild

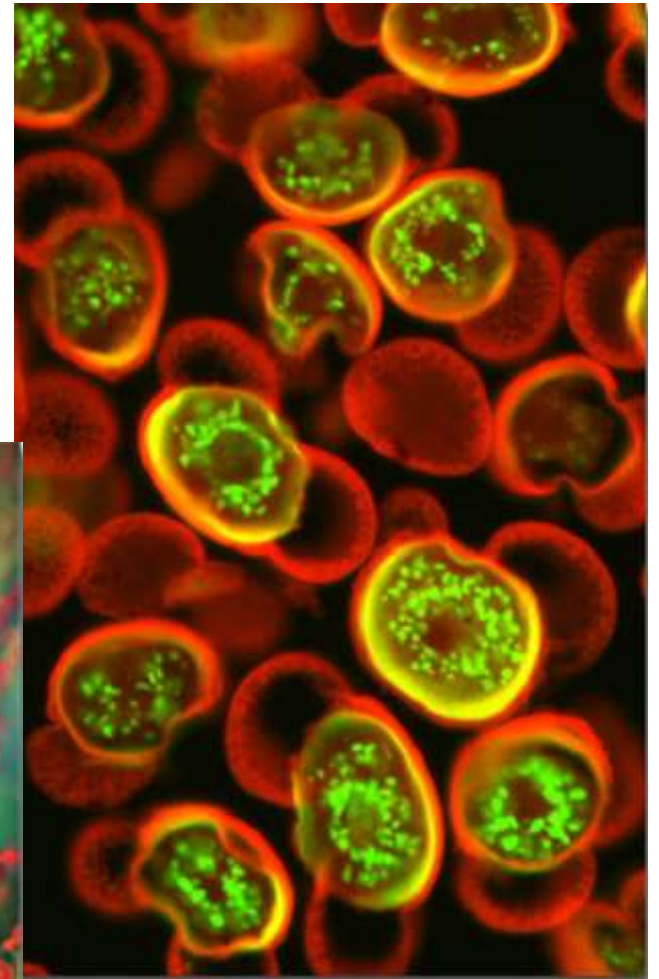
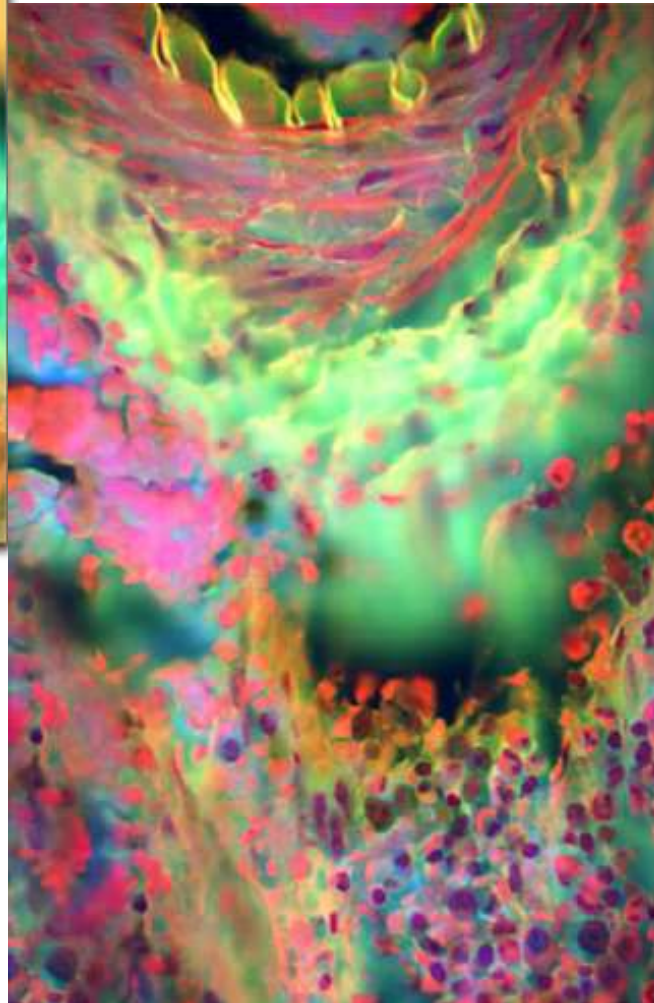
Fluoreszenzbild





Bauchhaar des
japanischen Ponys

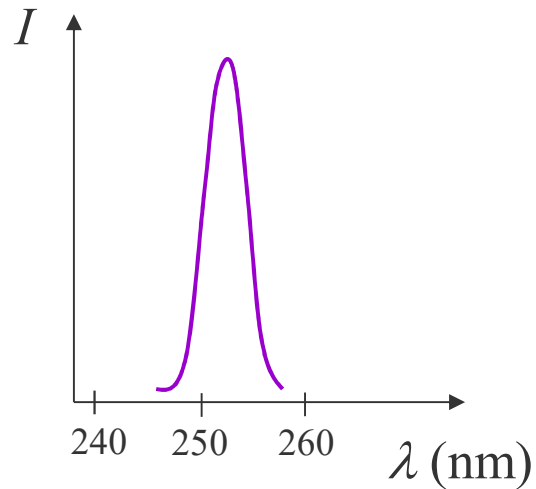
Knochengewebe



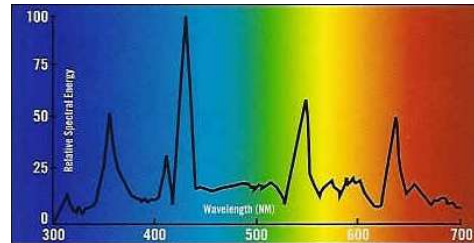
Pollen der Kiefer

4. Lumineszenzlampen

- Natriumlampen →
- Quecksilberlampen:
- Germizidlampe



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



• Quartzlampe, Solariuml.

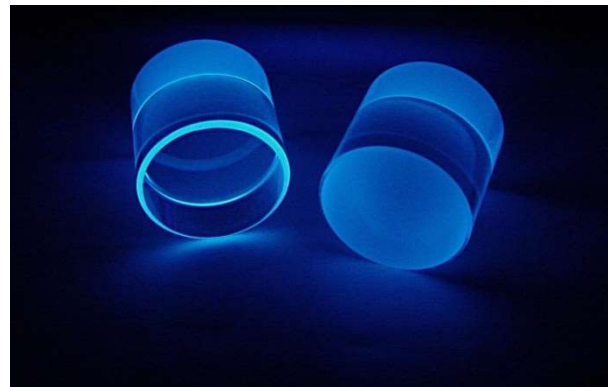
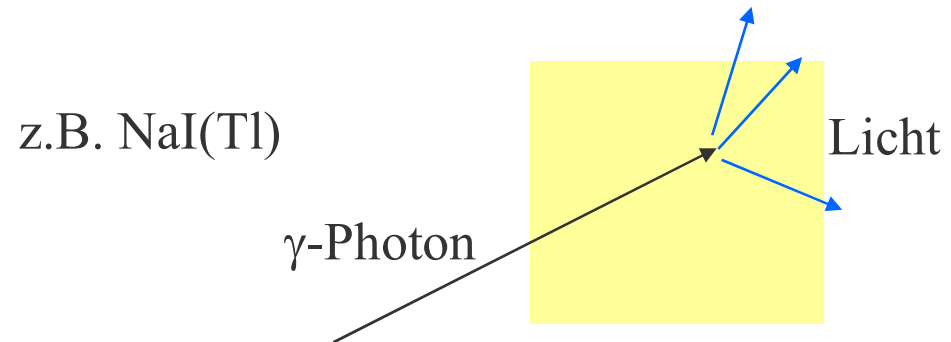
← • Leuchtröhren



z.B.
photodynamische
Therapie

5. Strahlungsdetektoren

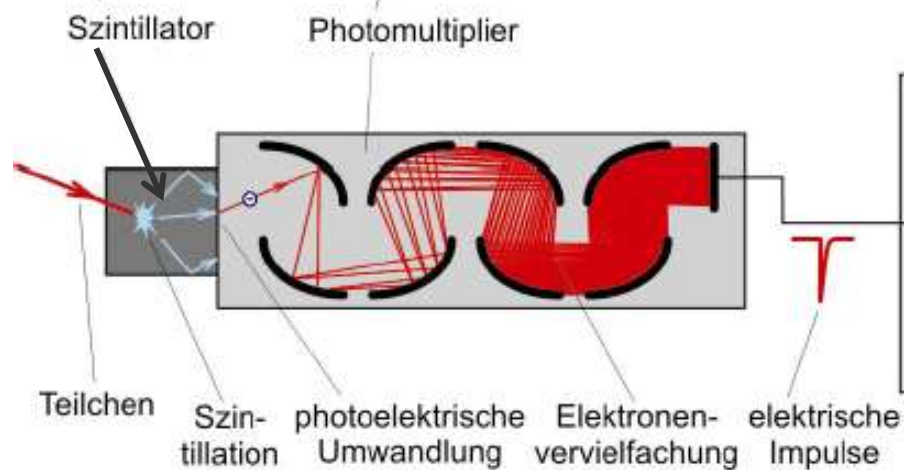
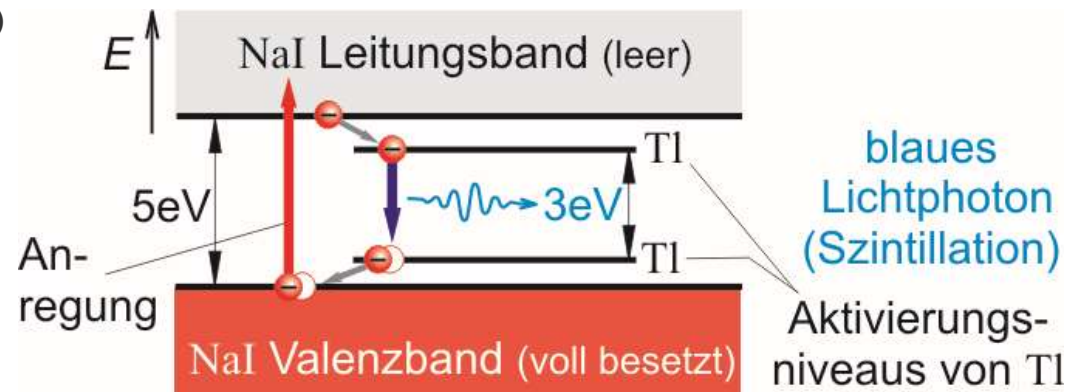
(Röntgenstrahlung, radioaktive Strahlungen, ...)



5. Strahlungsdetektoren

(Röntgenstrahlung, radioaktive Strahlungen, ...)

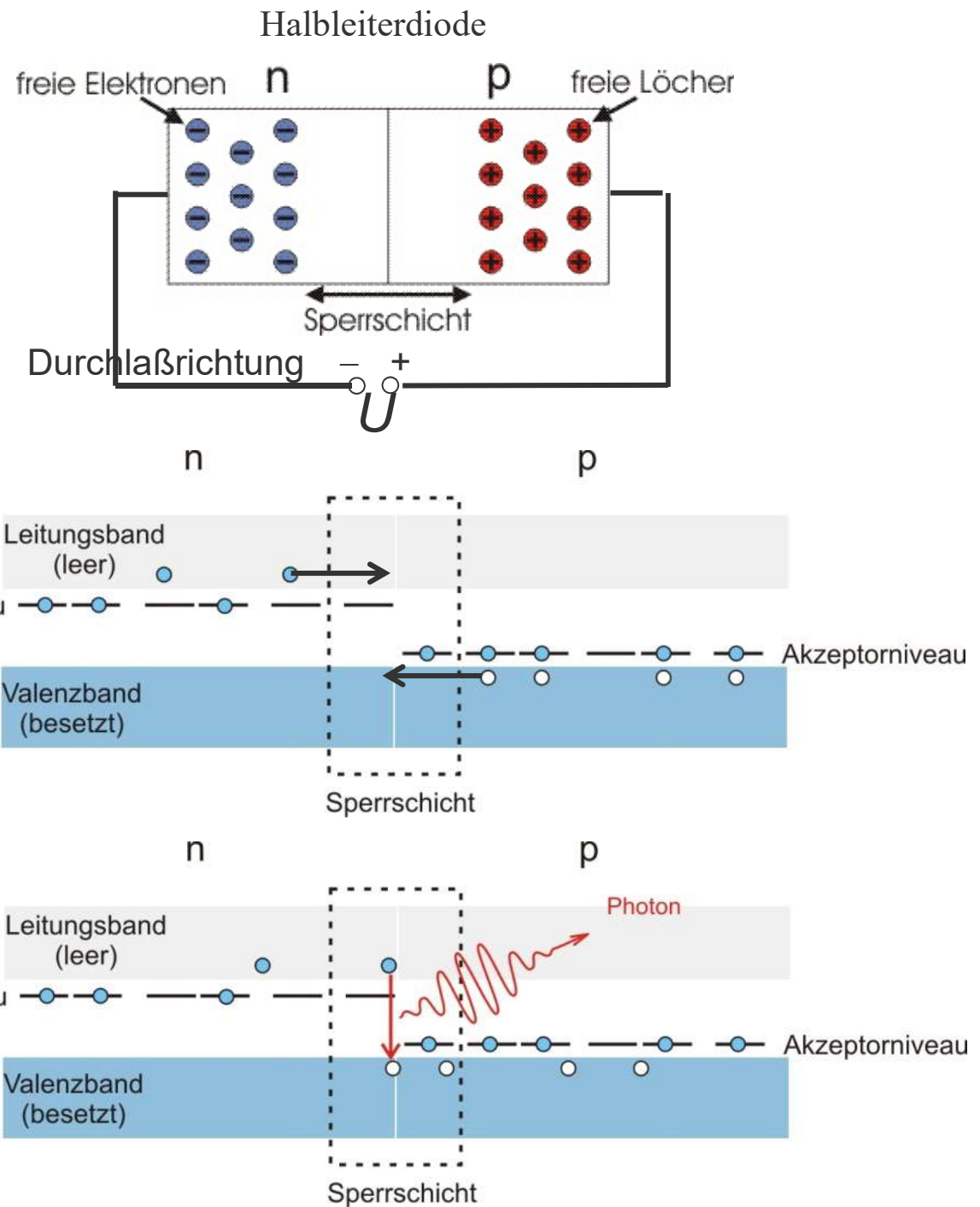
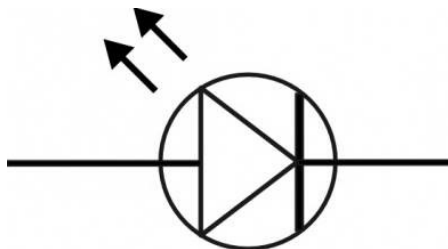
z. B. NaI(Tl)



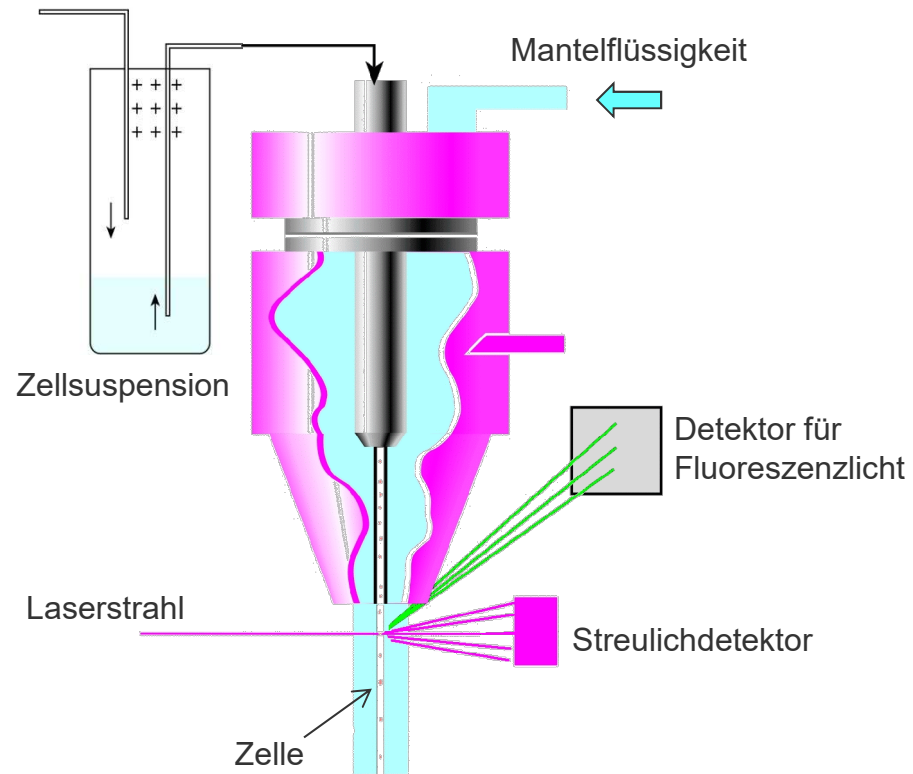
(s. noch
Thermolumineszenz-
dosimeter)

6. Leuchtdiode

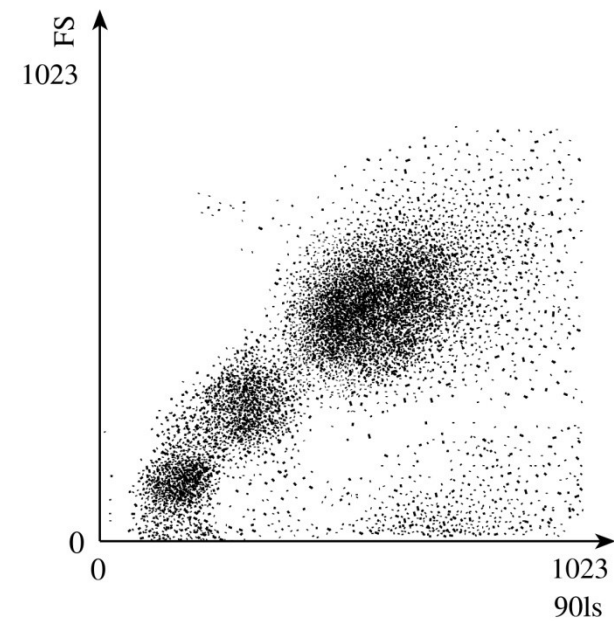
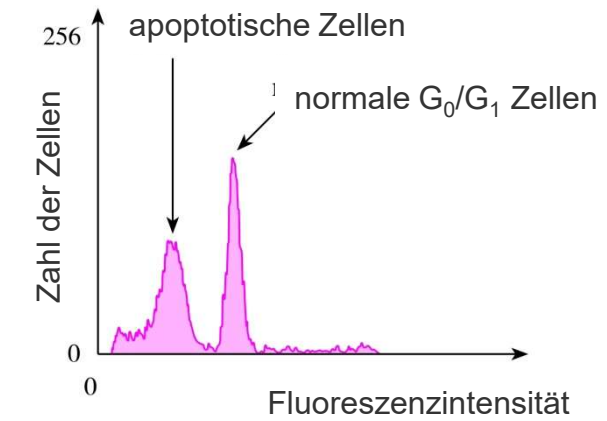
(light emitting diode —



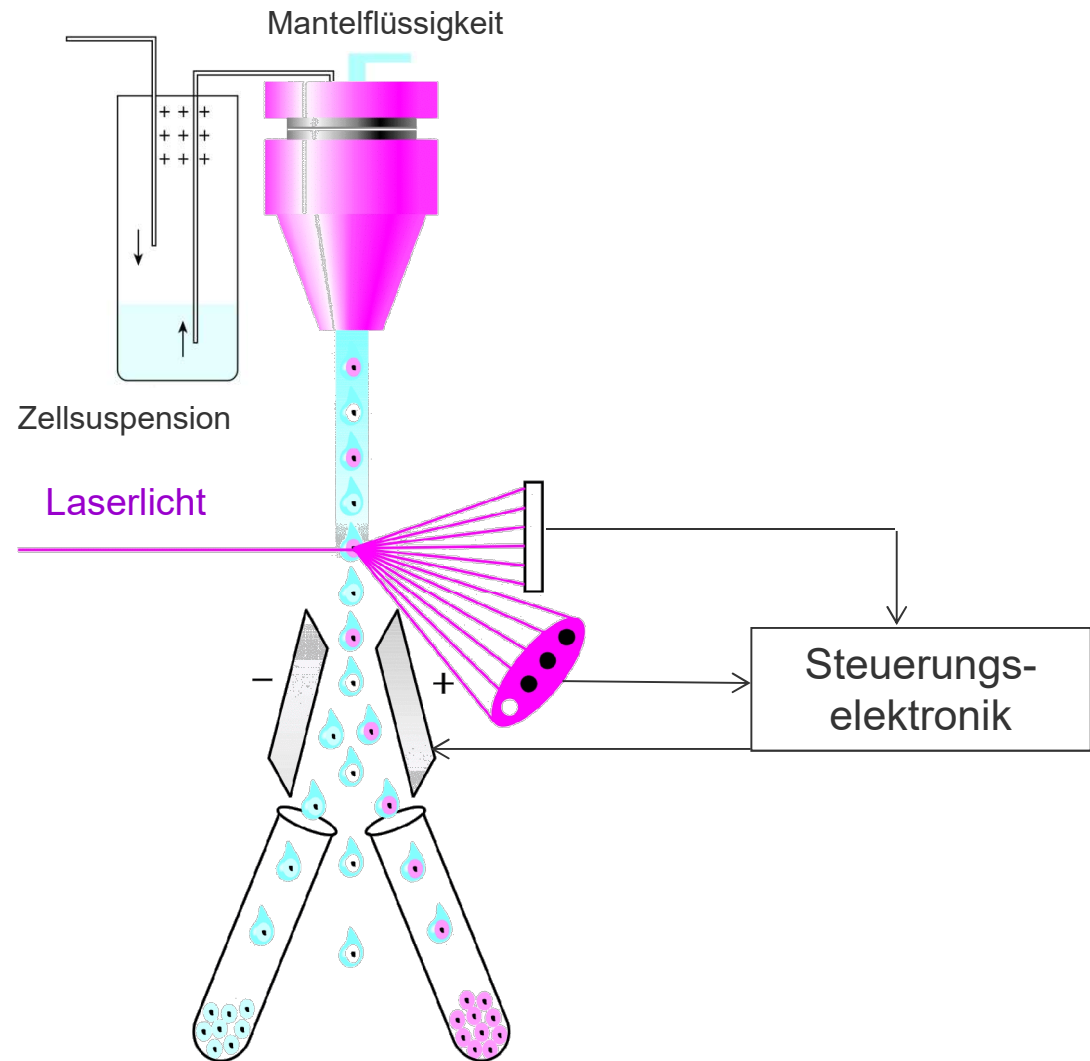
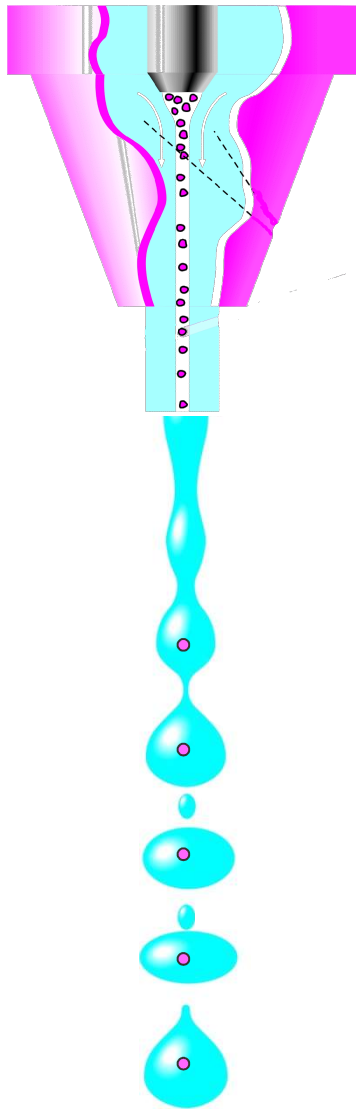
Durchflusszytometrie



Zweidimensionale analyse
mit Hilfe zwei Parameter



Zelleseparation



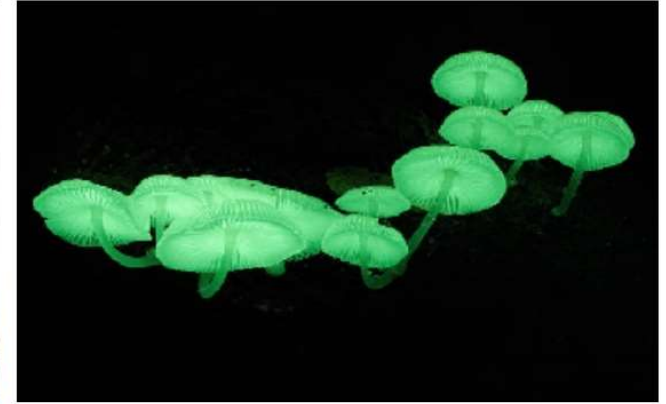
Beispiele für Biolumineszenz



Medusen



Schwebeflora



Pilz



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

GFP (grün
fluoreszierendes
Protein)

