

Biofizika I

7. Lumineszcencia, lumineszcens fényforrások, alkalmazások az orvostudományban

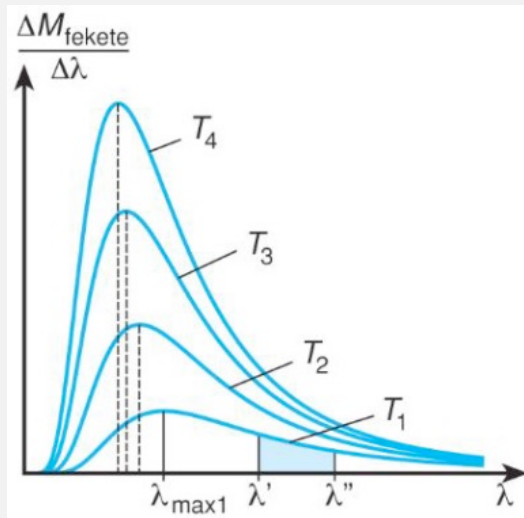
Liliom Károly

2021. 10. 21.

liliom.karoly@med.semmelweis-univ.hu
karoly.liliom.mta@gmail.com

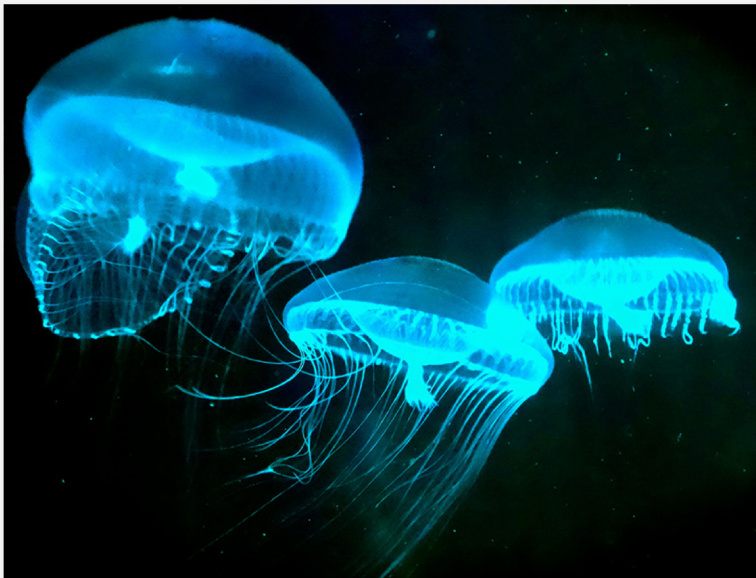
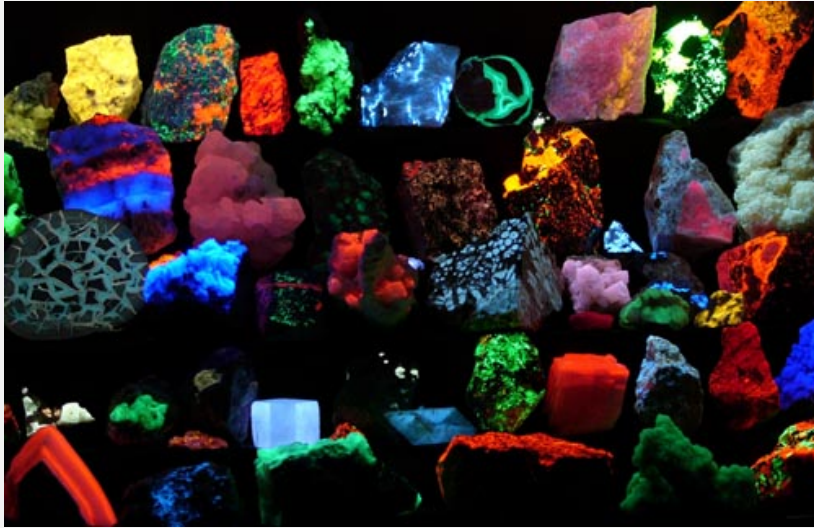
A fényemisszió formái

- Hőmérsékleti (feketetest) sugárzás
- Lumineszcencia
- Lézer

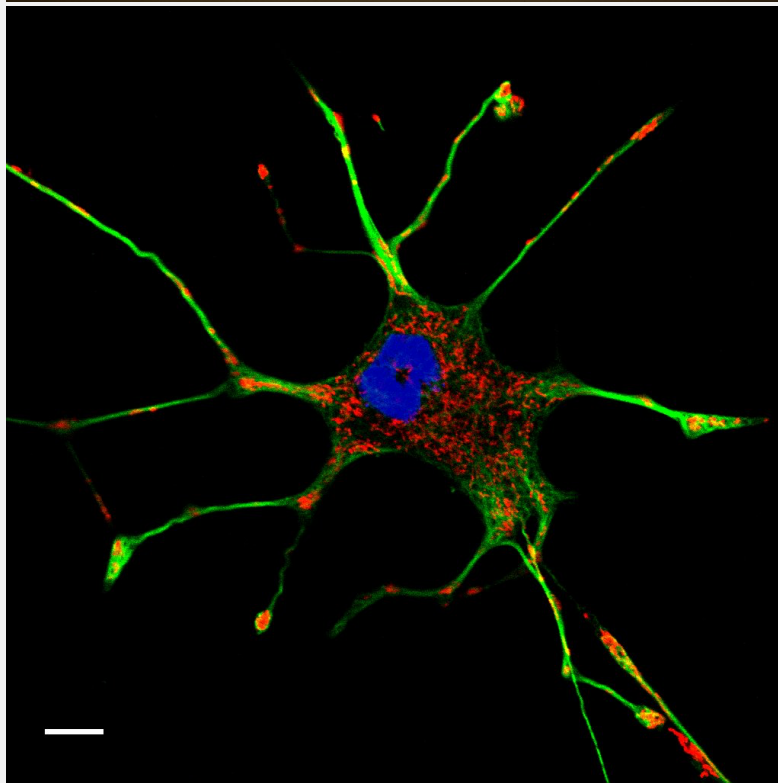


Lumineszcencia: a testek által a hőmérsékleti sugárzáson felül kibocsájtott többlet-sugárzás (hideg fény).

Lumineszcencia a természetben

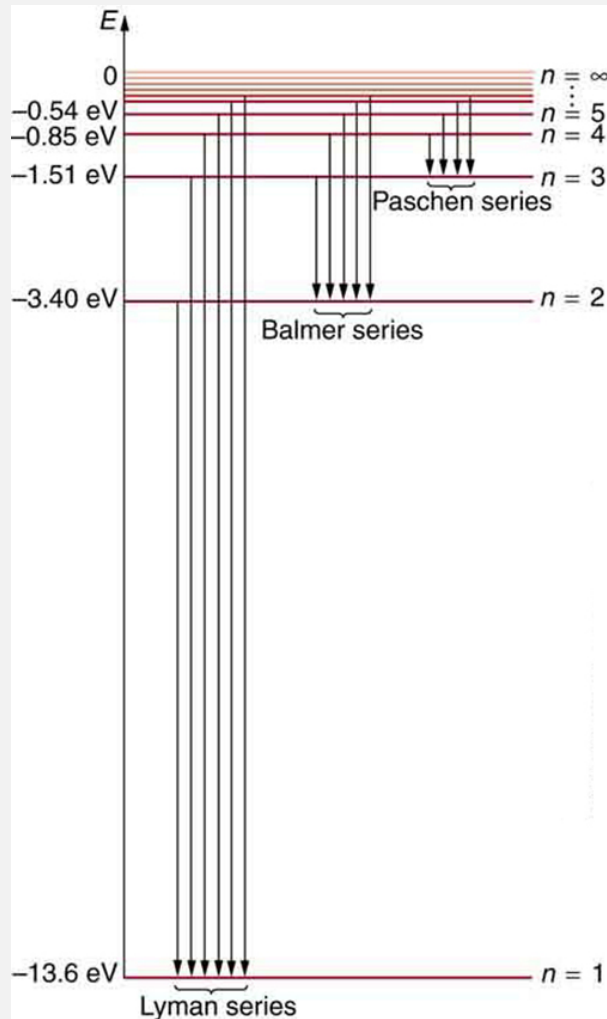


Lumineszcencia alkalmazásai



Atomi energiaszintek

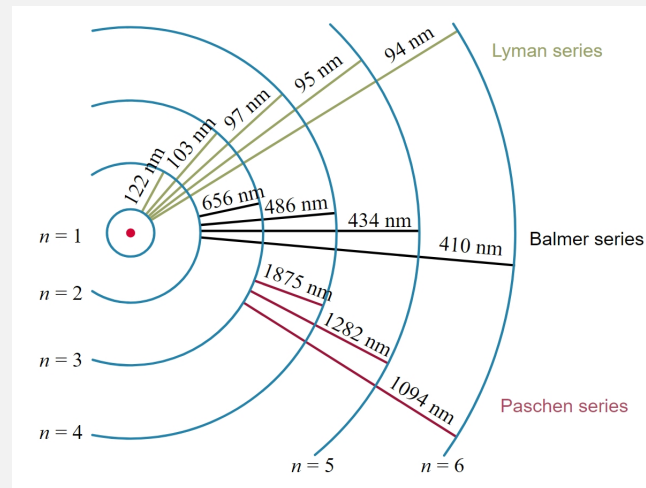
Jablonski-diagram



A hidrogén elnyelési színeke:

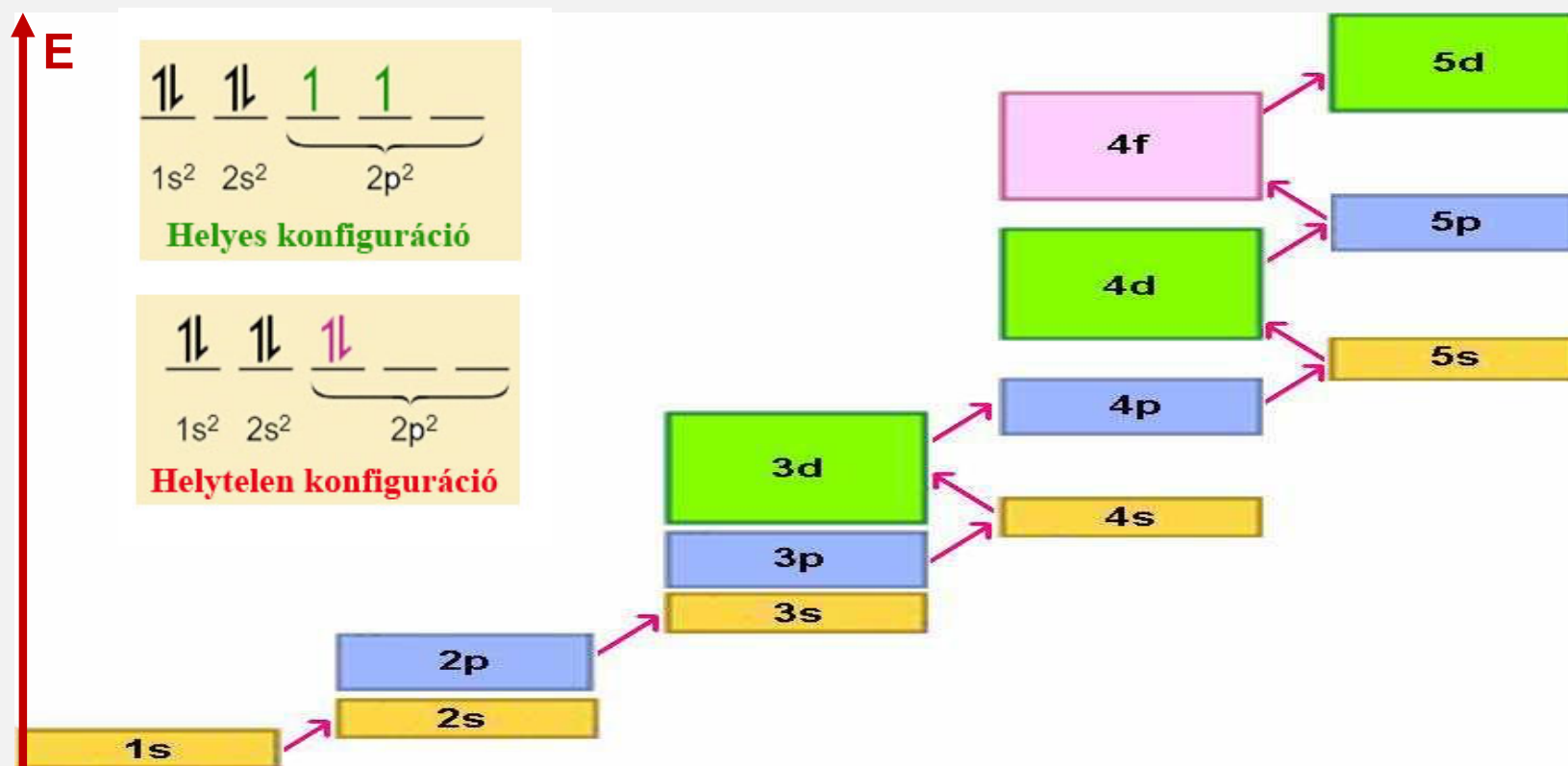


A hidrogén kibocsátási színeke:



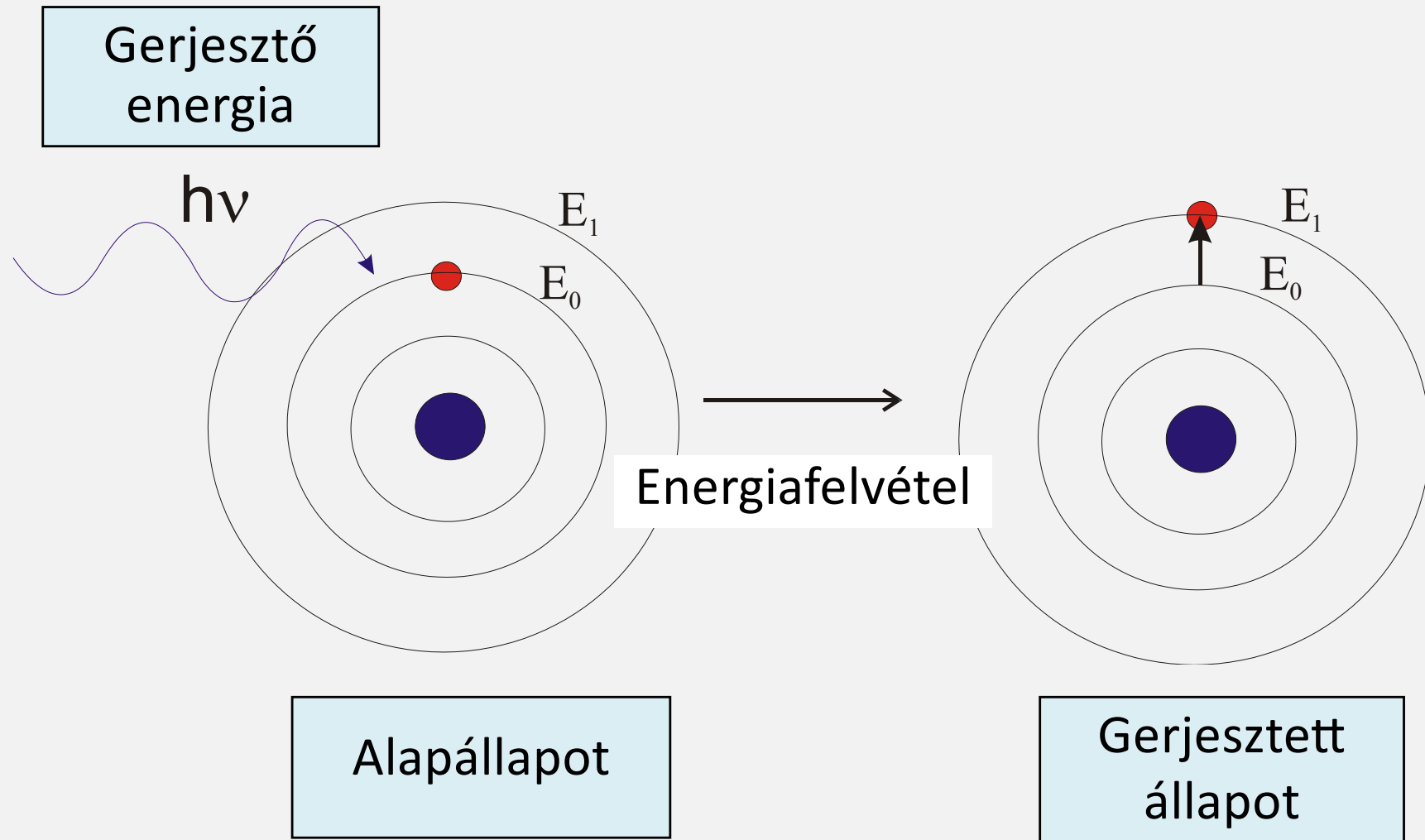
Niels Bohr (1913): Az atomban az elektronok stacionárius pályákon helyezkednek el, nem sugároznak. A stacionárius pályák közötti átmenetek során az elektron a pályák energiakülönbségét kell felvegye, illetve azt sugározza ki.

Atomi energiaszintek



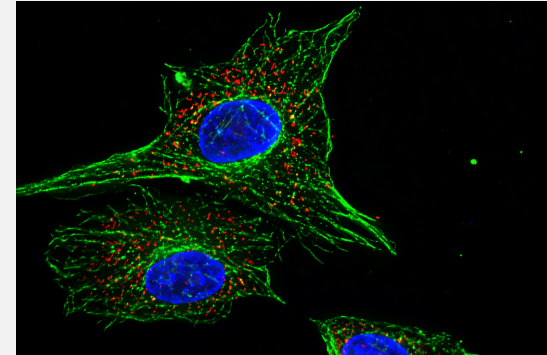
- Az atomban az elektronok energiaállapotai kvantáltak
- A lehetséges legalacsonyabb energiájú állapotot töltik be
- Pauli-féle kizárási elv: egy atomon belül nem létezhet két olyan elektron, amelyeknek mind a négy kvantumszáma megegyezik
- Hund-szabály: adott elektron-konfiguráció mellett a legnagyobb eredő spin-értékű állapotnak van a legalacsonyabb energiája.

Tekintsünk egy atomot

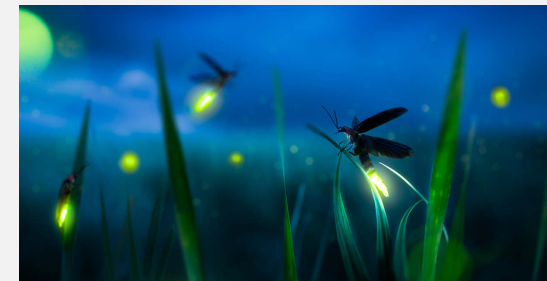


Gerjesztés sokféleképpen lehetséges

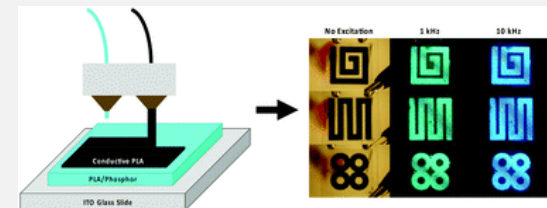
-(fény) foton elnyelése: *fotolumineszcencia*



-kémiai reakció energiája: *kemo/bio-lumineszcencia*



-elektromos tér vagy áram: *elektrolumineszcencia*



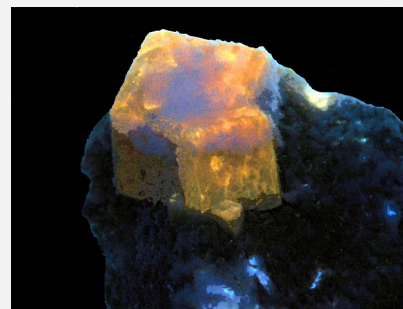
-mechanikai deformáció: *tribolumineszcencia*

mentacukor

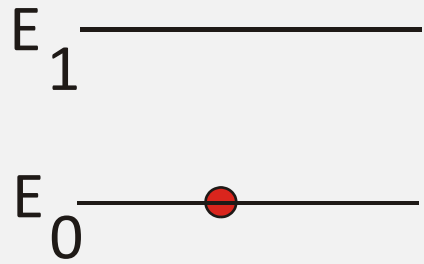


-hőközlés: *termolumineszcencia*

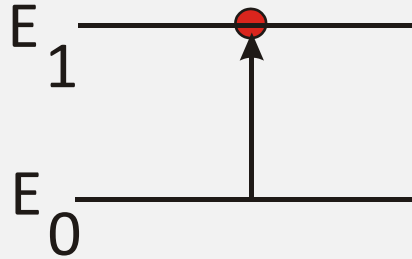
Wulfenit



Relaxáció mechanizmusa

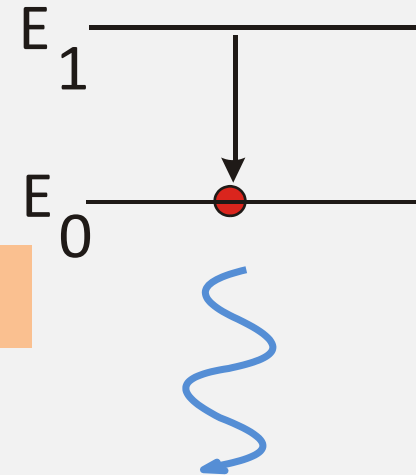


külső héjon lévő
elektron gerjesztése



elektron visszatérése
alapállapotba

Spontán, külső hatás nélkül!



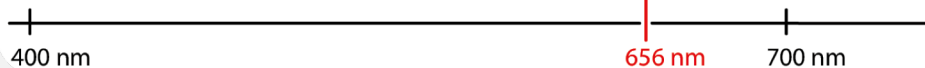
fényemisszió

$$hf = E_1 - E_0$$

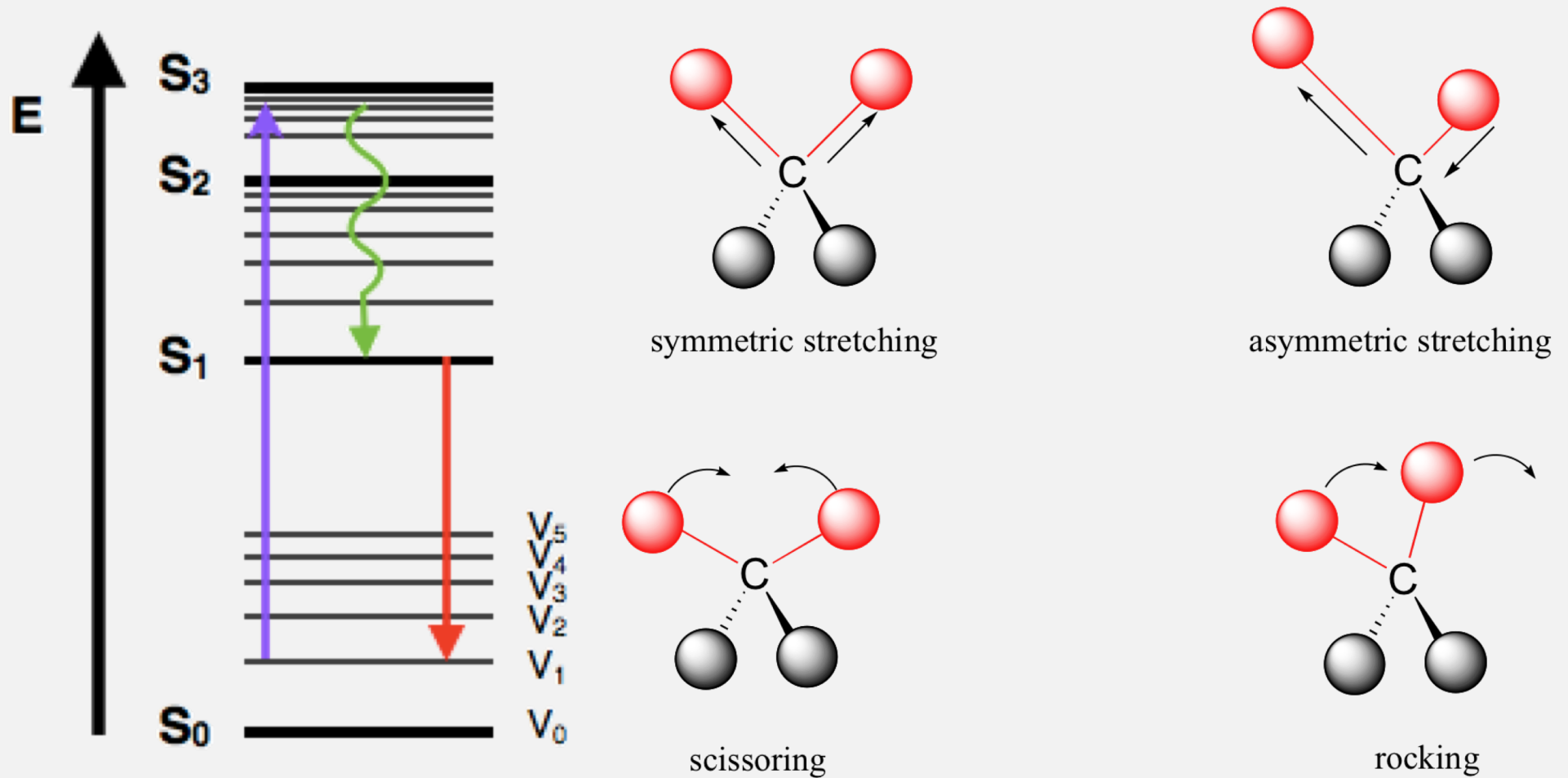
A hidrogén elnyelési színe:



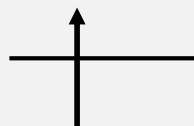
A hidrogén kibocsátási színe:



Molekulák energiaszintjei

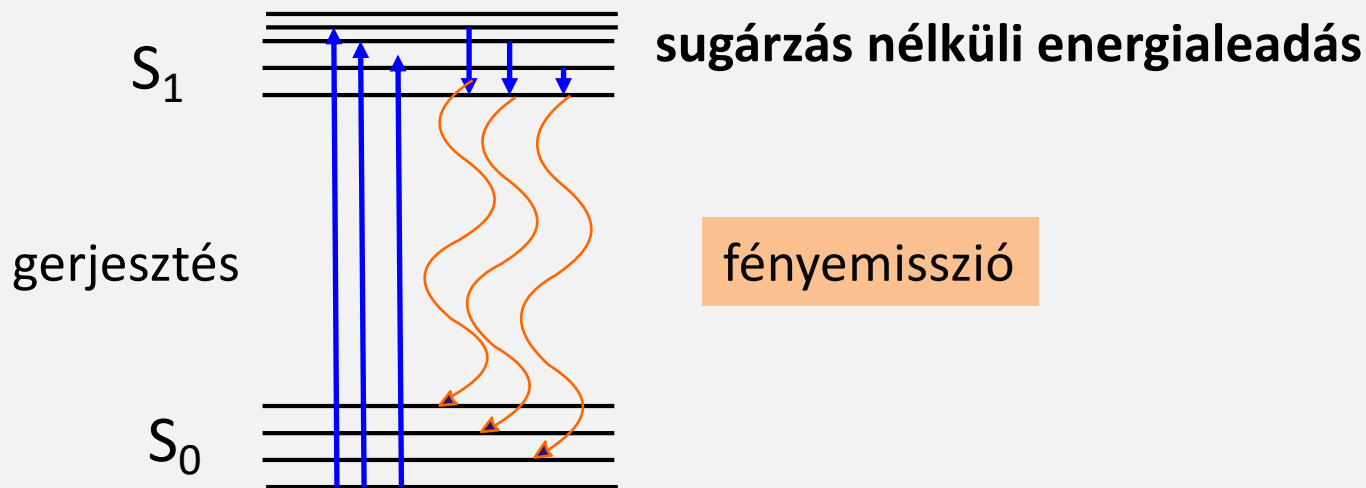


Fluoreszcencia mechanizmusa



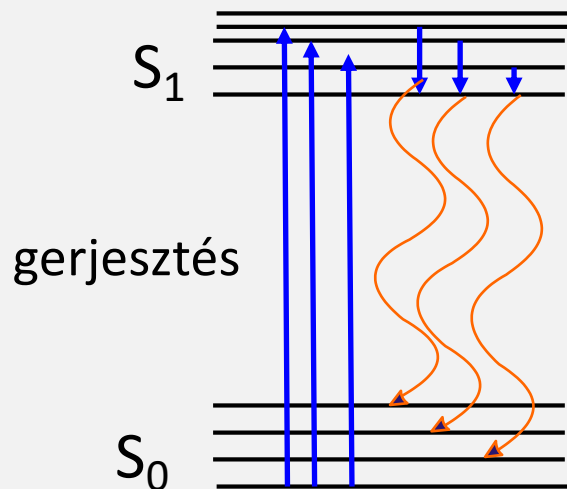
Szingulett állapot

Párosított spinű
elektronok



Fluoreszcencia

Fényemisszió spinváltás nélkül!



Kasha-szabály:

a fényemisszió a legalsó gerjesztett elektronállapot legalsó rezgési nívójáról történik



$$E_{\text{gerjesztés}} \geq E_{\text{fluoreszcencia}}$$

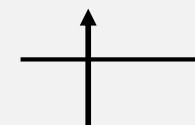
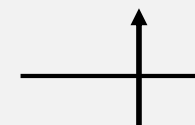
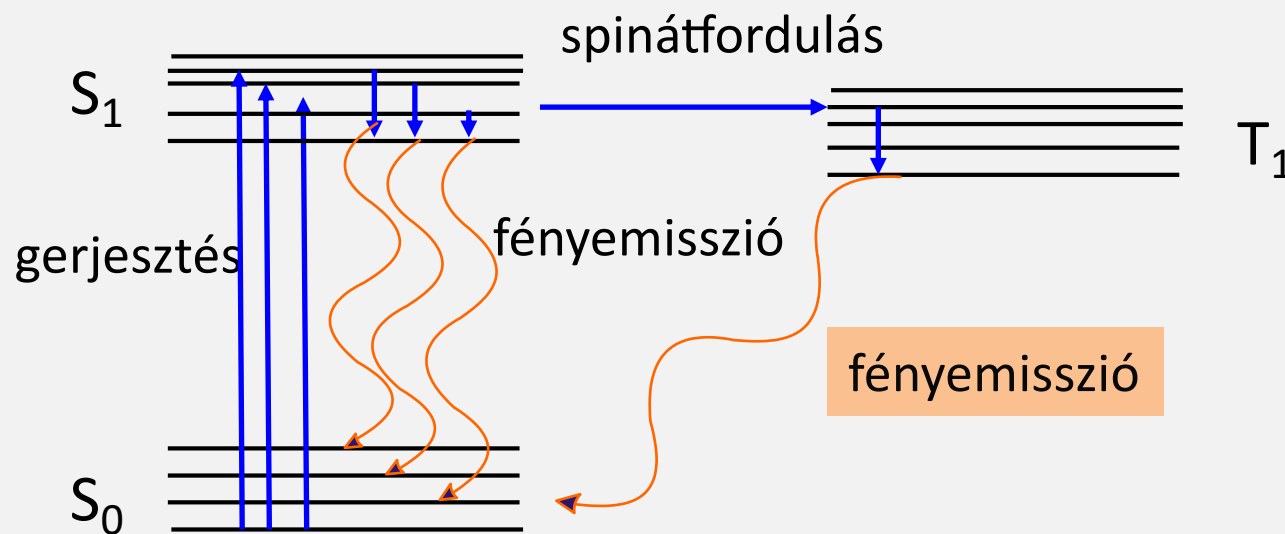
$$\lambda_{\text{gerjesztés}} \leq \lambda_{\text{fluoreszcencia}}$$

Stokes-eltolódás

$$E = h \cdot c / \lambda$$



Foszforeszcencia mechanizmusa



Foszforeszcencia

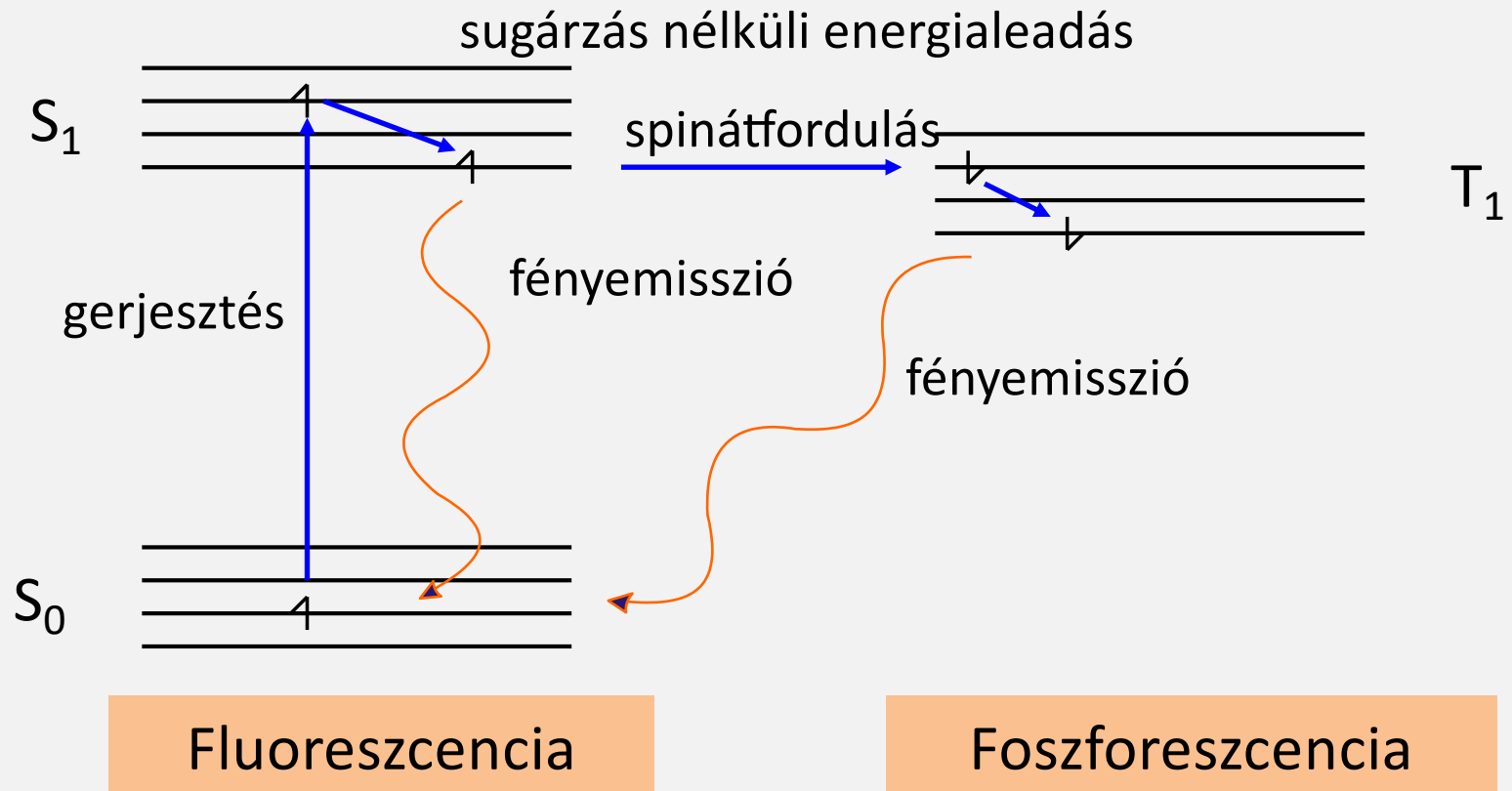
Fényemisszió spinváltozást
követően

Triplett állapot

Párosítatlan
spinű elektronok

Metastabil állapot

Emittált foton energiájának jellemzése



Stokes-
eltolódás

$$E_{\text{gerjesztés}} \geq E_{\text{fluoreszcencia}} > E_{\text{foszforeszcencia}}$$

$$\lambda_{\text{gerjesztés}} \leq \lambda_{\text{fluoreszcencia}} < \lambda_{\text{foszforeszcencia}}$$

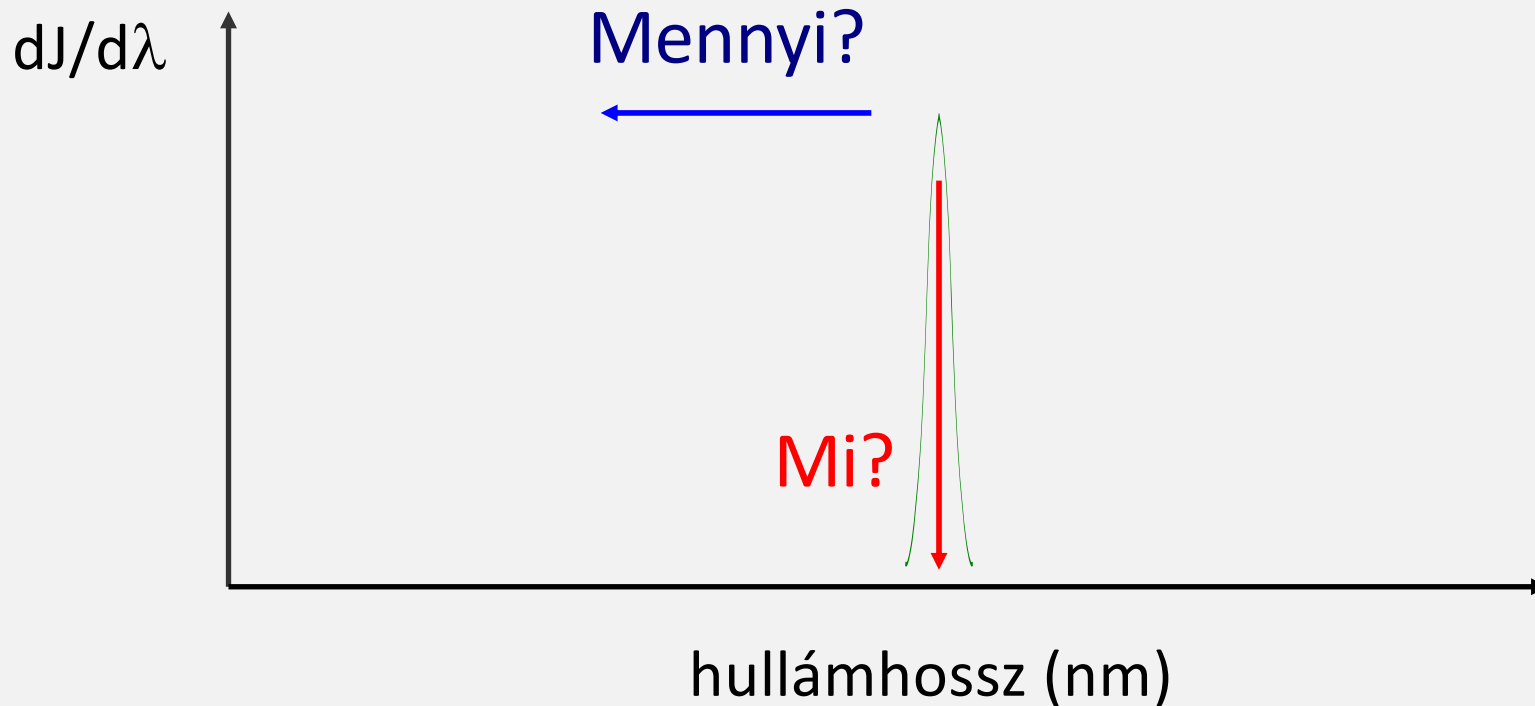
Emisszió jellemzése

Kibocsájtott intenzitás hullámhossz szerinti eloszlása

Emissziós spektrum

Atomok esetében:

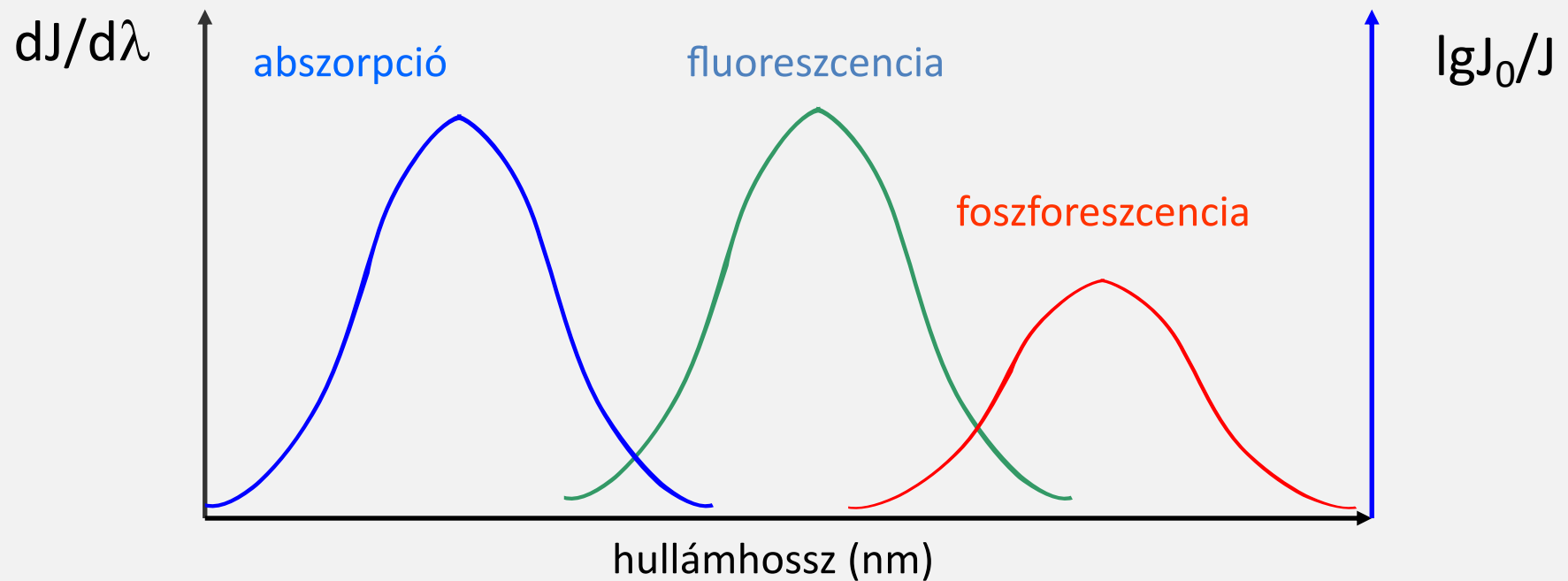
vonalas spektrum



Emittált intenzitás hullámhossz szerinti eloszlása

Emissziós spektrum

Molekulák esetében: sávós spektrum



$$\lambda_{\text{gerjesztés}} \leq \lambda_{\text{fluoreszcencia}} < \lambda_{\text{foszforeszcencia}}$$

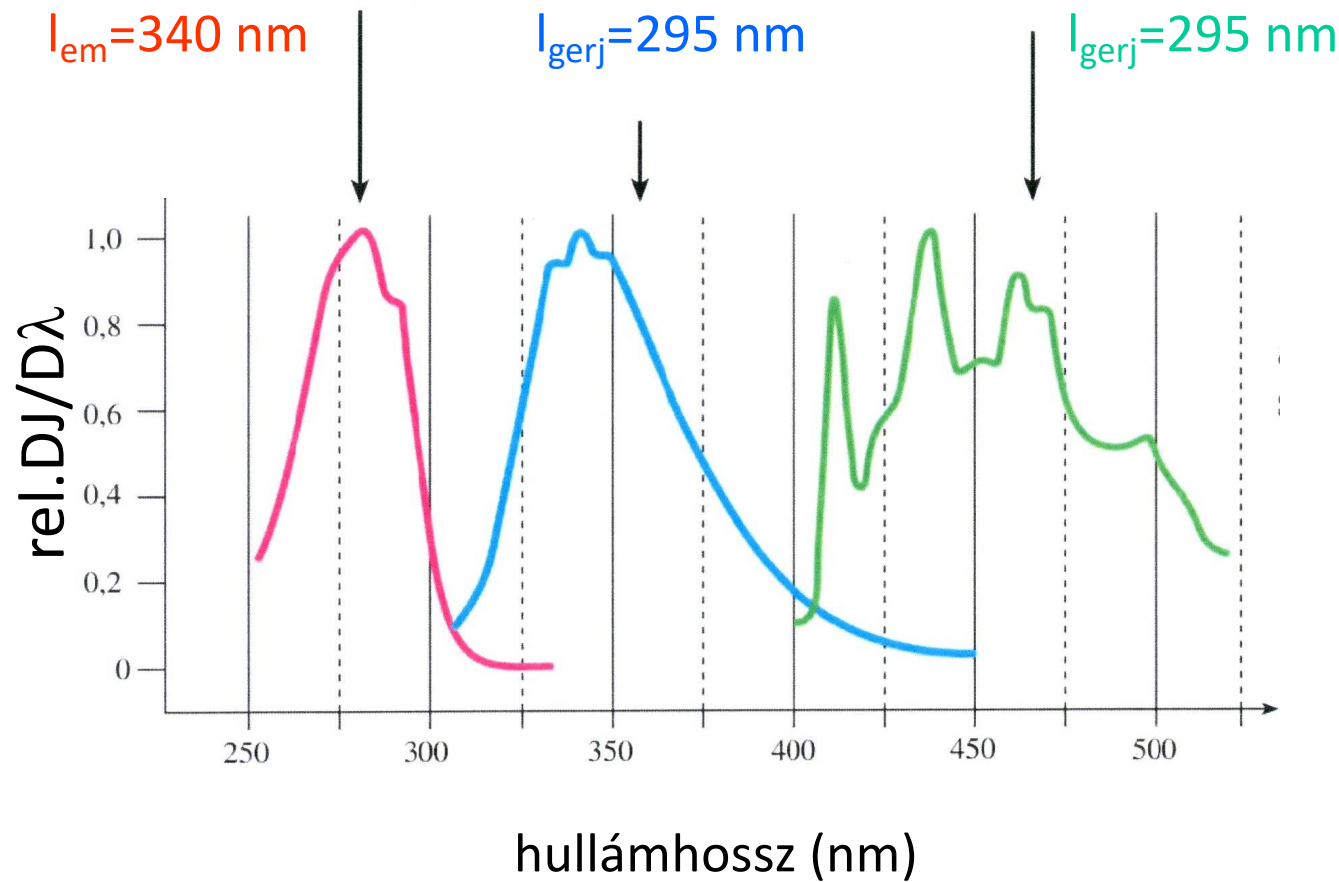
Stokes-eltolódás

Pl.: A triptofán spektrumai

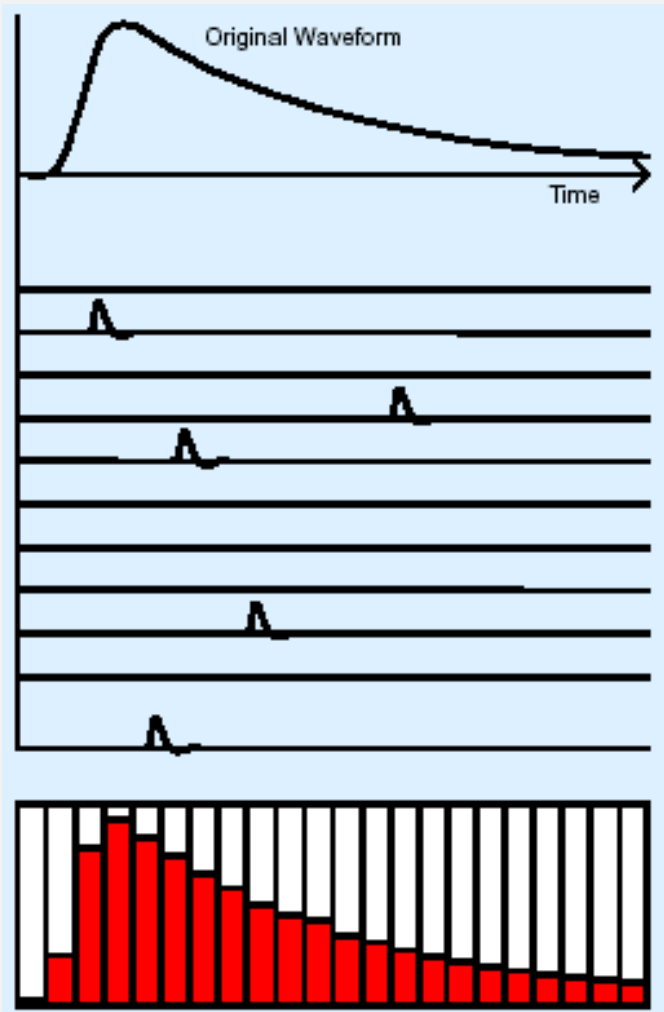
Fluoreszcencia
gerjesztési spektrum

Fluoreszcencia
emissziós spektrum

Foszforeszcencia
emissziós spektrum



Gerjesztett állapot időtartamának jellemzése

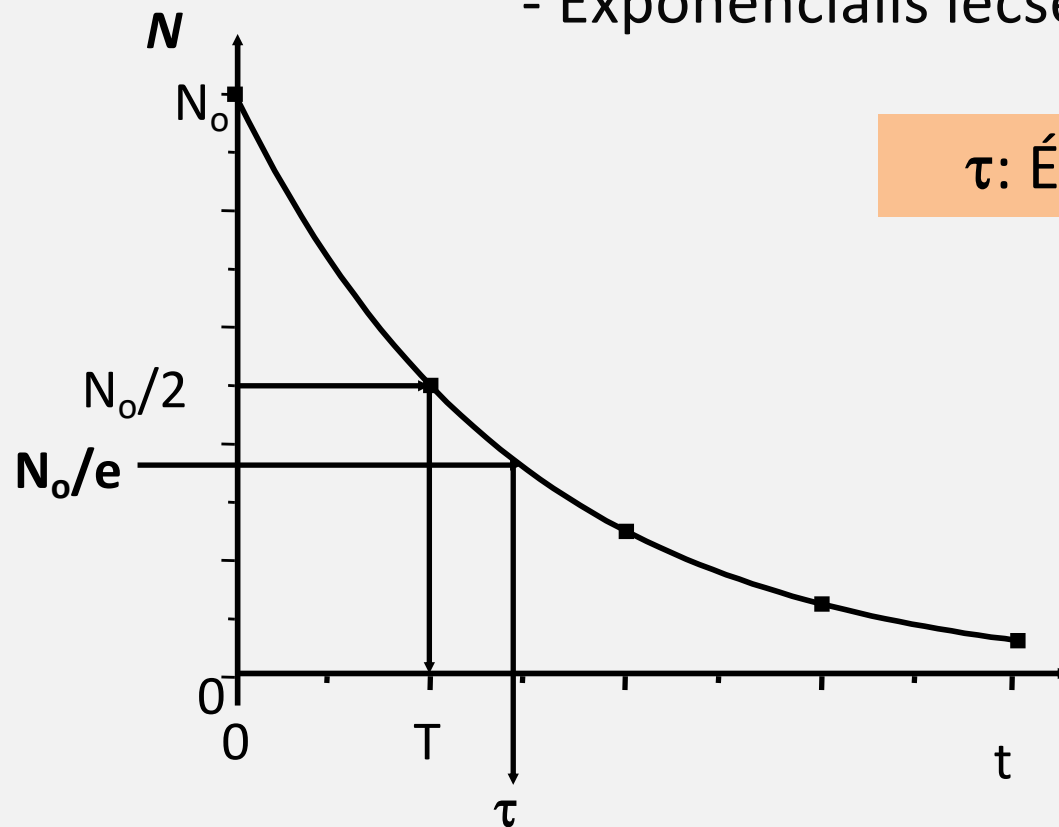


Időkorrelált egyfoton-számlálás

A fluoreszcencia intenzitásának folyamatos mérése helyett a gerjesztő és a detektált impulzus közötti időt mérjük, nagyon sok mérés statisztikája adja a fluoreszcencia lecsengési görbét.

Gerjesztett elektronok száma $\longrightarrow N = N_0 e^{-\frac{t}{\tau}}$

- Exponenciális lecsengés



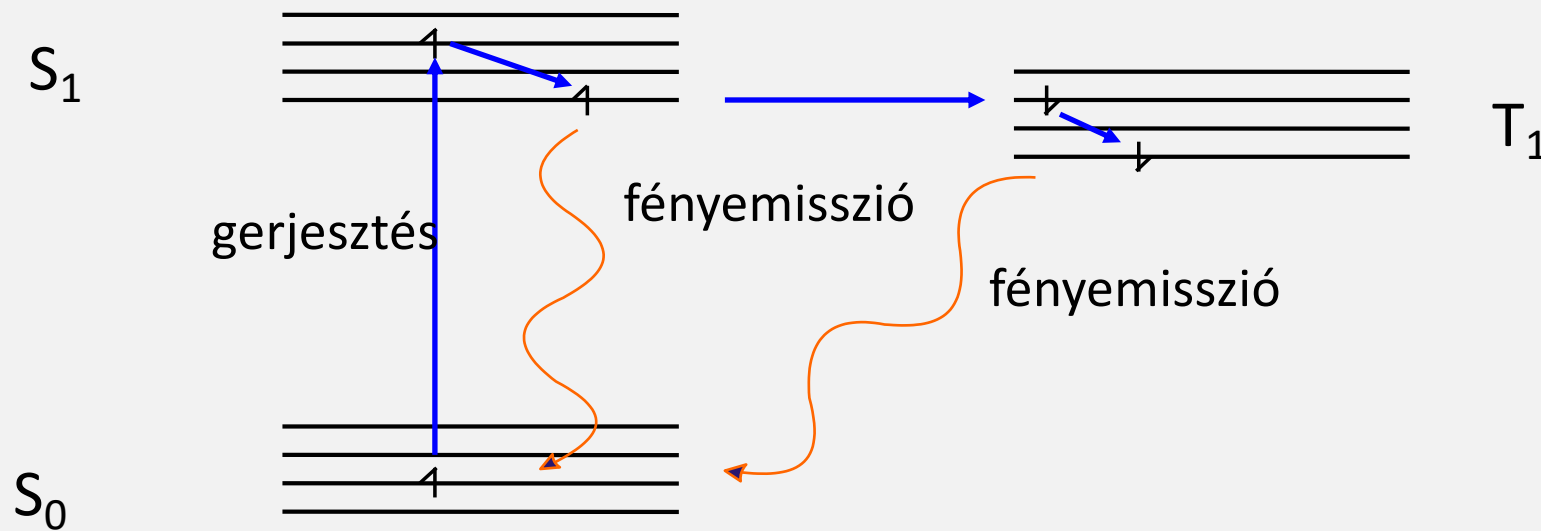
τ : Élettartam

az az idő, ami alatt a gerjesztett elektronok száma a gerjesztés megszűnése után e -ed részére csökken

Gerjesztett állapot időtartamának jellemzése

Élettartam

az az idő, ami alatt a gerjesztett elektronok száma a gerjesztés megszűnése után e -ed részére csökken



Fluoreszcencia

Foszforeszcencia

rövid

hosszú

$10^{-9} - 10^{-7} \text{ s}$

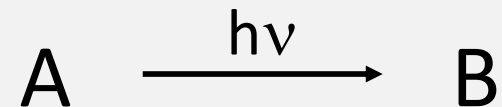
$10^{-3} - 10^2 \text{ s}$

Minden gerjesztést fényemisszió követ?

- Környezetükkel kölcsönhatásban levő molekulák (oldatban, sejtekben, szövetekben) elektronjai ritkán adják le *fotonemisszióval* a gerjesztéskor felvett energiájukat.
- Sokkal valószínűbb, hogy az energialeadás sugárzás nélkül, vagyis hő keltésével vagy kémiai reakciók útján történik.

Minden gerjesztést fényemisszió követ?

Kvantumhatásfok



az egy “B” keletkezéséhez szükséges elnyelt fotonok számának a reciproka

Fluoreszcencia kvantumhatásfoka (Q_F)

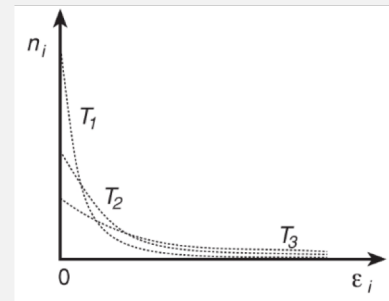
Q_F = kisugárzott fotonok száma / elnyelt fotonok száma

$$Q_F \leq 1$$

Boltzmann-eloszlás

Az energia eloszlása az egyedi részecskék mozgásformái / állapotai / szabadsági fokai között, ha csak azt adjuk meg, hogy egy adott időpillanatban hány darab részecske (n_0, n_1, n_2, \dots) rendelkezik e_0, e_1, e_2 , stb. energiával.

$$n_i = n_0 e^{-\frac{\epsilon_i - \epsilon_0}{kT}}$$



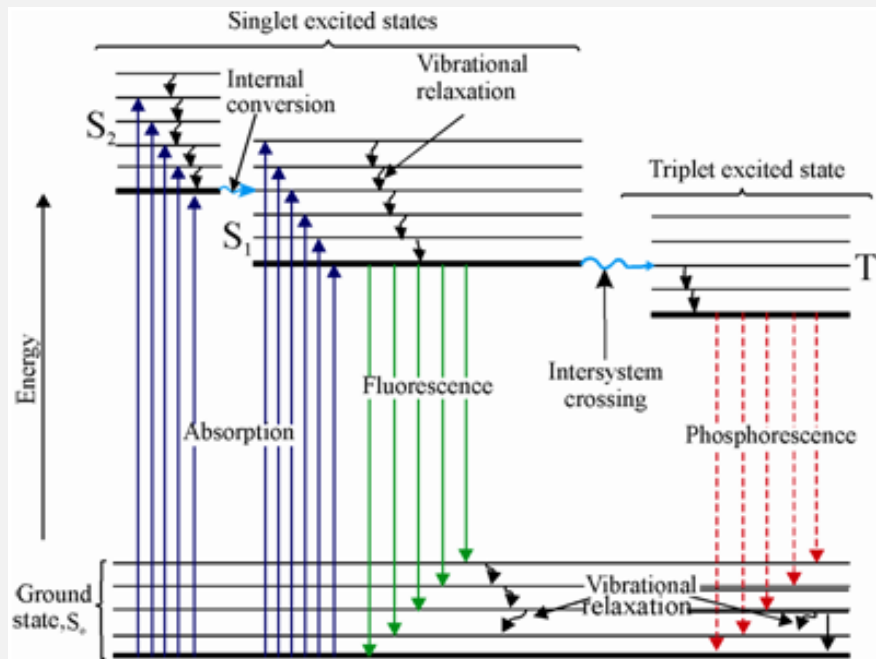
Energiaszintek betöltöttsége $n_1/n_0 = e^{-hf/kT}$

Ha $\lambda = 550 \text{ nm}$, akkor szobahőmérsékleten $n_1/n_0 \sim 10^{-40} !!!$

Lumineszcencia összefoglalás

A lumineszcencia fajtái:

- fluoreszcencia
- foszforeszcencia



Jellemzésük:

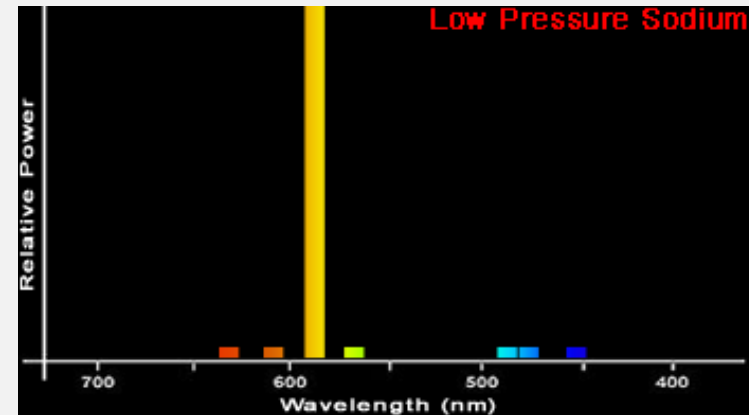
- emissziós spektrum:
 - típusa
 - maximumának helye
 - alakja
 - amplitúdója
- élettartam
- kvantumhatásfok

A lumineszcencia alkalmazási területei

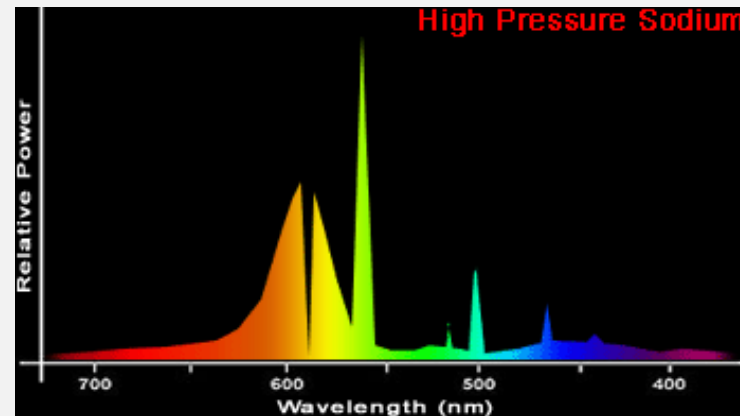
- fényforrások (világítás, sterilizálás, szolárium, terápiais alkalmazások, stb.)
- koncentráció meghatározása (pl. lángfotométer)
- lumineszcencia spektroszkópia
- lumineszcencia mikroszkópia
- diagnosztika
- dózismérés (lásd majd dozimetria)
- régészeti kormeghatározás
- belső építészet
- biztonságtechnika ...

Fényforrások

Fémgőz lámpák

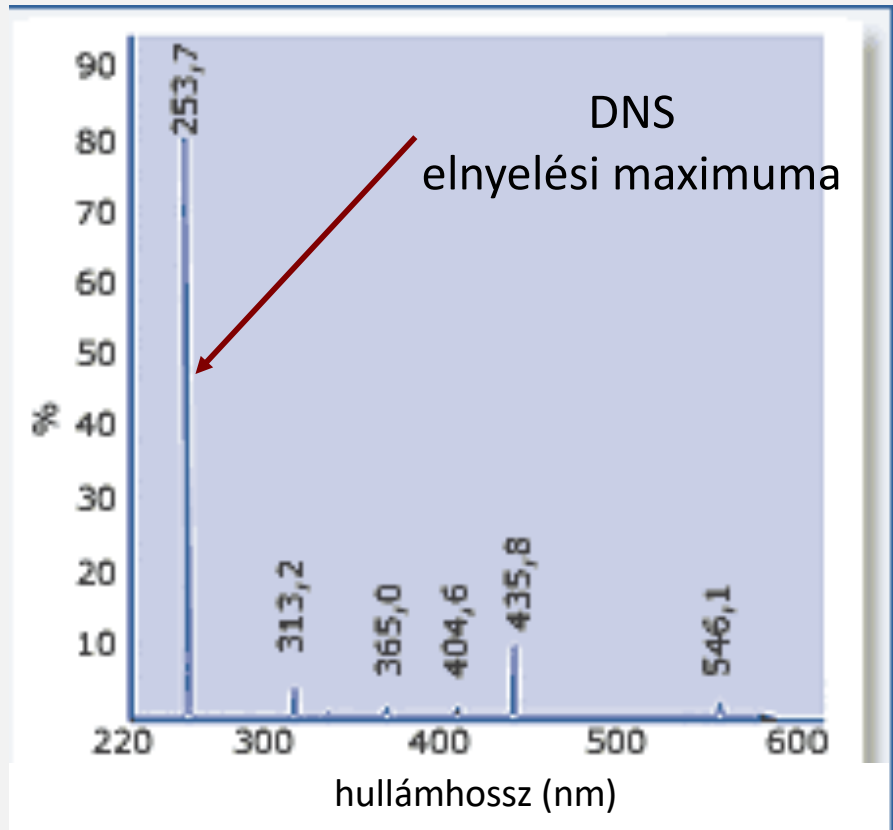


Kisnyomású Na-gőz lámpa
emissziós spektruma

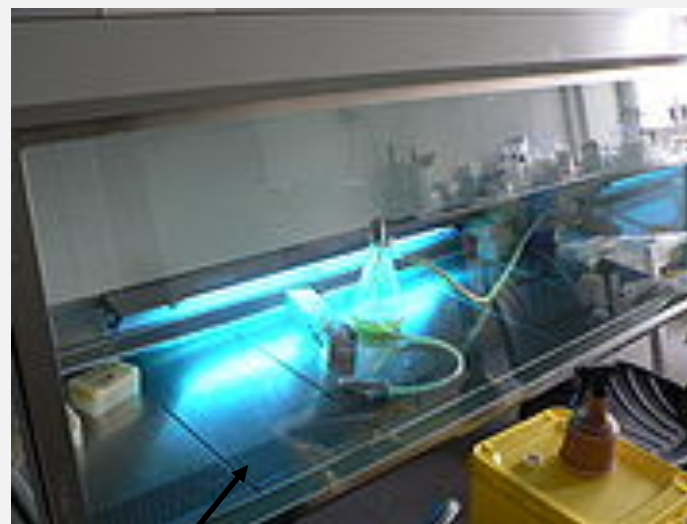


Nagynyomású Na-gőz lámpa
emissziós spektruma

Kisnyomású Hg-gőz lámpa



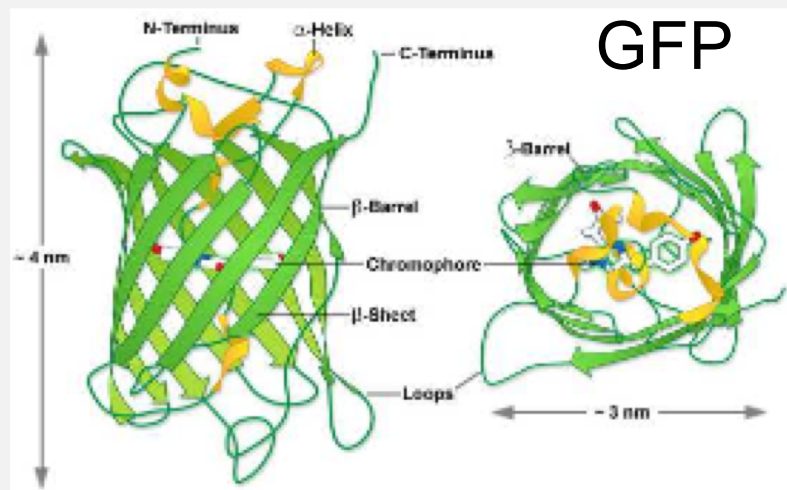
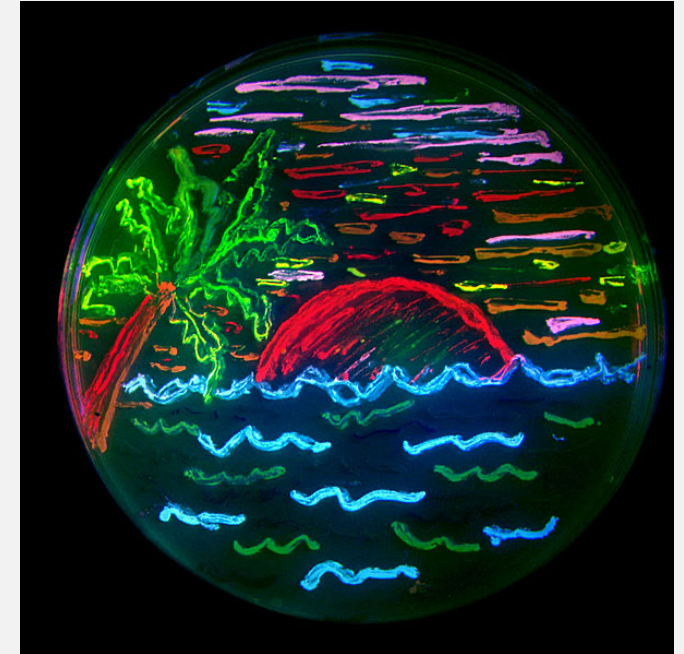
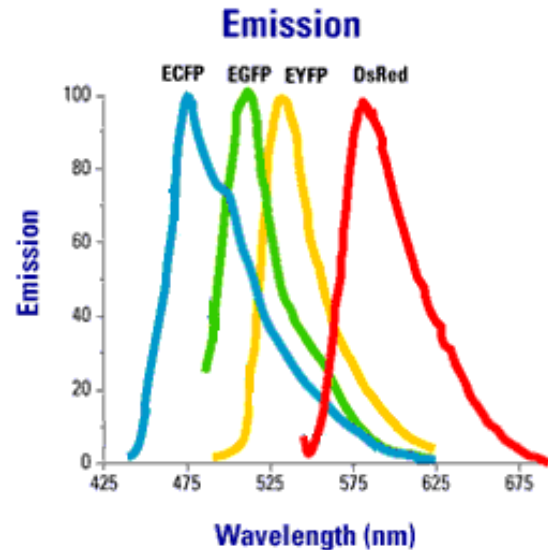
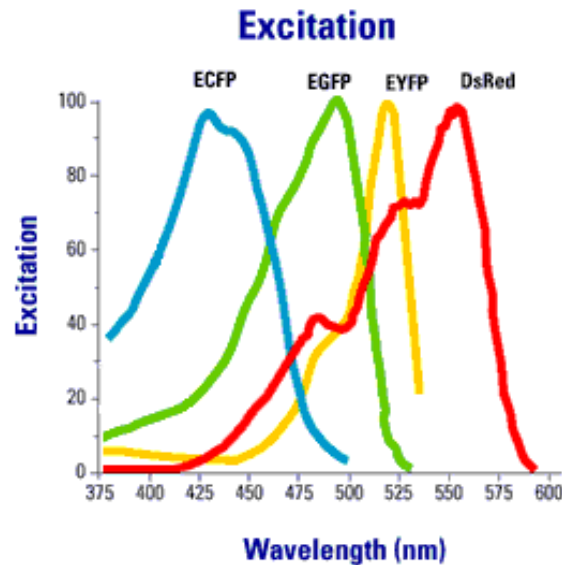
emissziós
spektruma



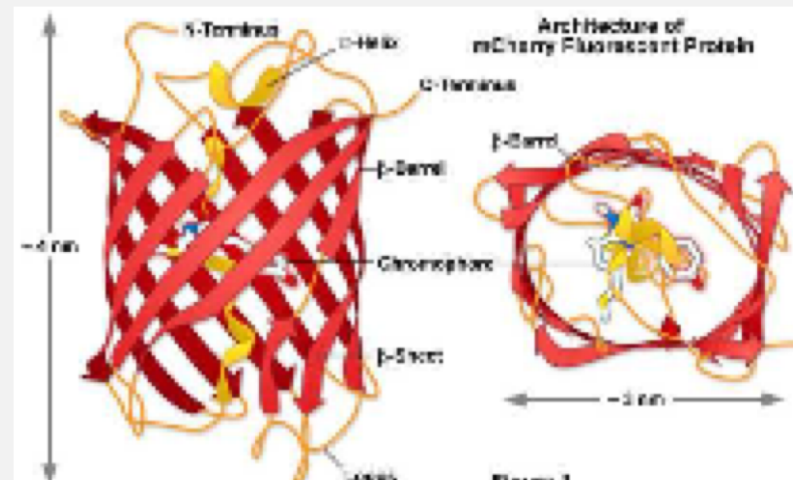
Sterilizálás
„germicid lámpa”



Az orvosi diagnosztikában és kutatómunkában elterjedtek a lumineszcencián alapuló módszerek

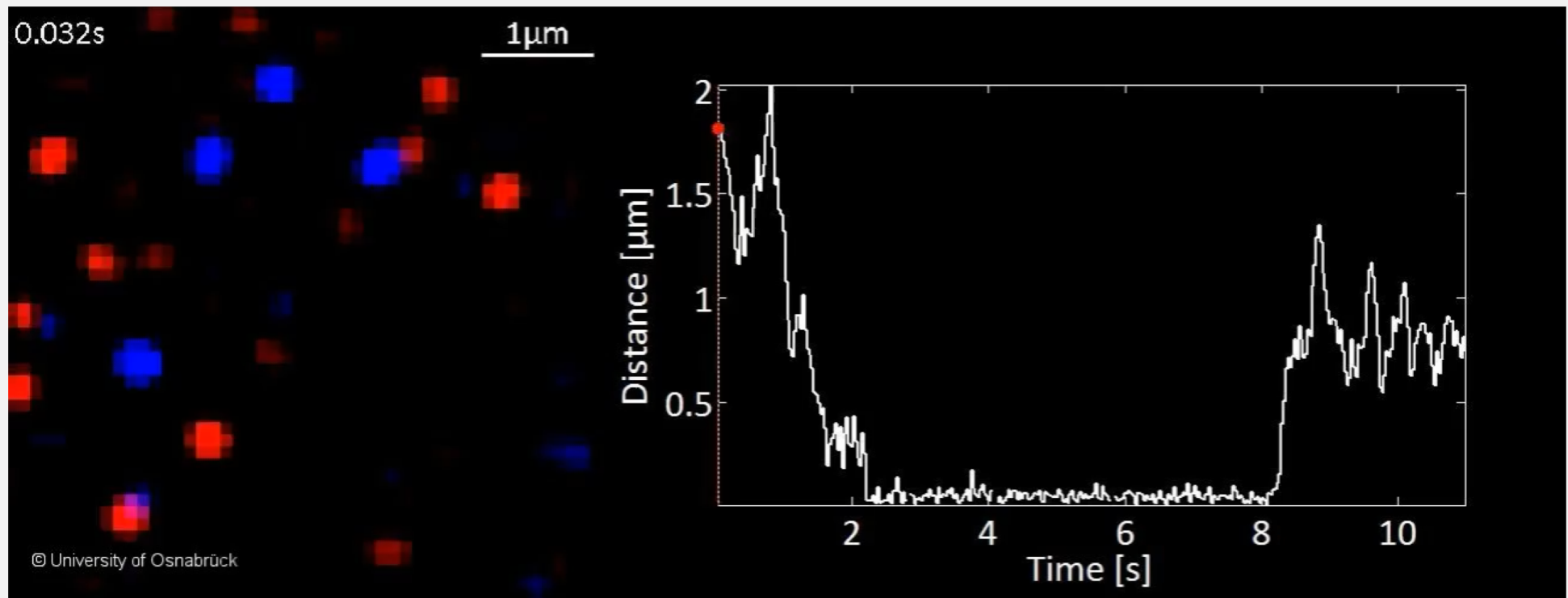


GFP (medúza)

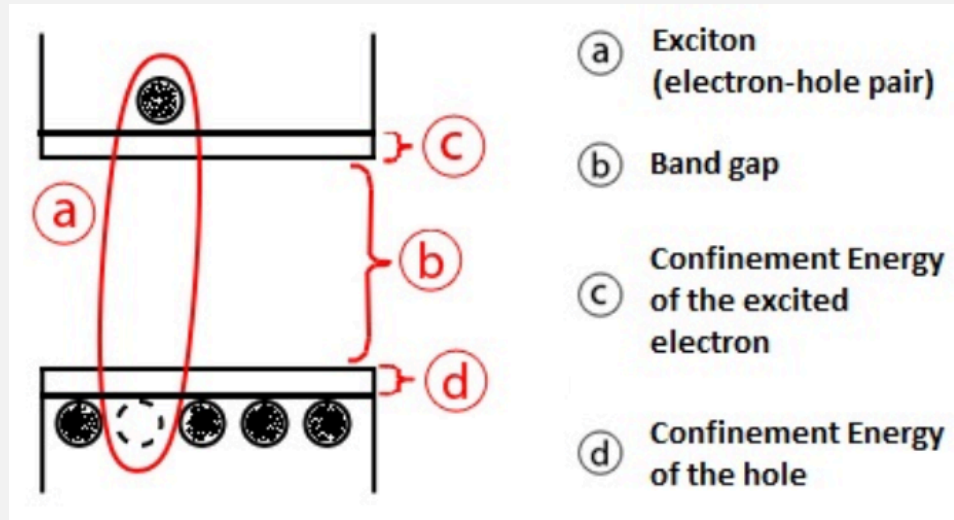


DsRed (vörös korall)

Fluoreszcens fehérjék alkalmazása fehérjék kölcsönhatásának követésére



Fluoreszcens kvantumpöttyök (QD)



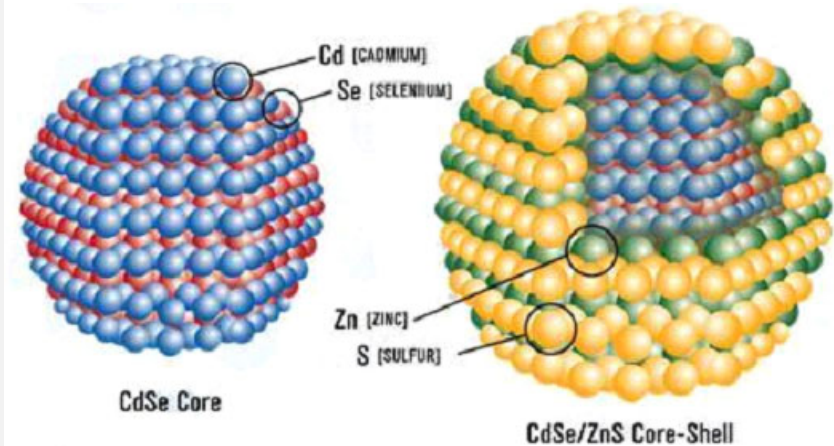
Félvezető anyagban elektron-lyuk vezetópárt hozunk létre, amelyet geometriai kényszerekkel szűk térrészbe zárunk (confinement). Az így csapdázott exciton energiaszintje a csapda méretével fordítottan arányos.

$$E_{\text{confinement}} = \frac{\hbar^2 \pi^2}{2a^2} \left(\frac{1}{m_e} + \frac{1}{m_h} \right) = \frac{\hbar^2 \pi^2}{2\mu a^2}$$

$$E_{\text{exciton}} = -\frac{1}{\epsilon_r^2} \frac{\mu}{m_e} R_y = -R_y^*$$

$$E = E_{\text{bandgap}} + E_{\text{confinement}} + E_{\text{exciton}}$$

$$= E_{\text{bandgap}} + \frac{\hbar^2 \pi^2}{2\mu a^2} - R_y^*$$



A leggyakoribb a kadmium/szelenium QD mag, amelyet ZnS köpeny vesz körül, de már sokféle anyagból lehet QD-t készíteni, a legújabb alapanyag a grafén.

Fluoreszcens kvantumpöttyök (QD)

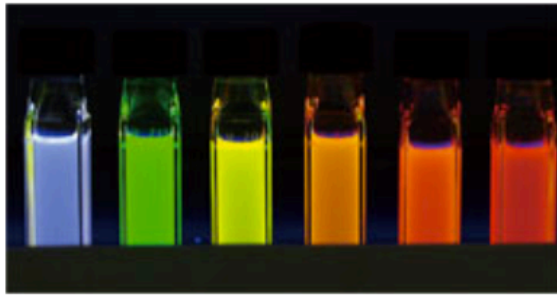
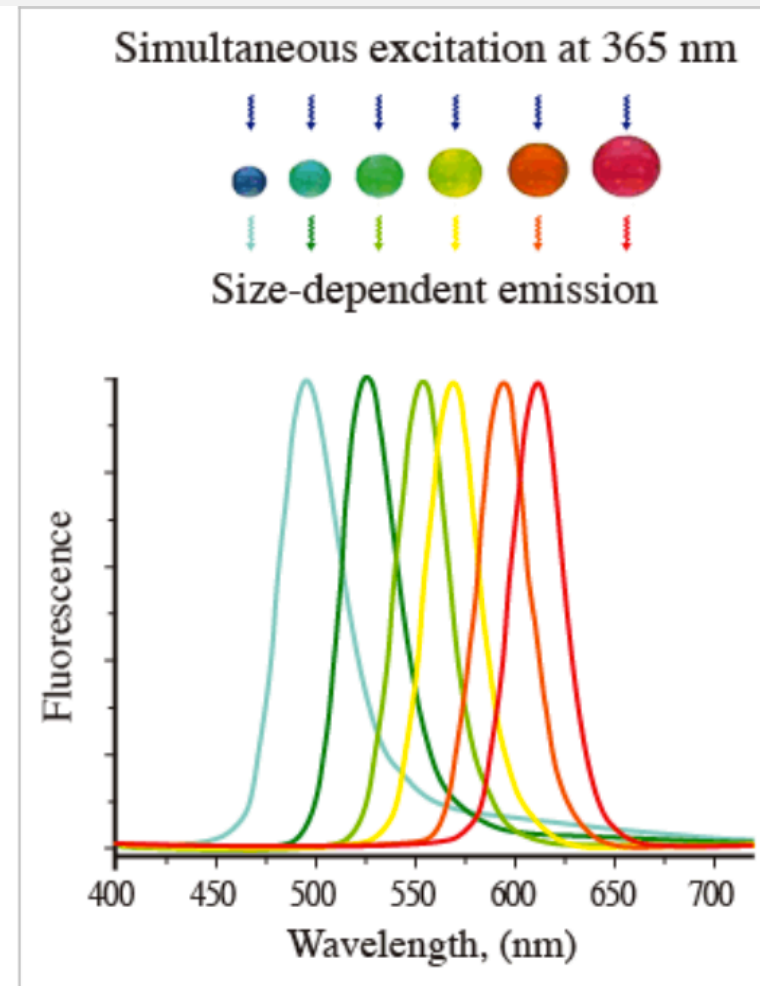


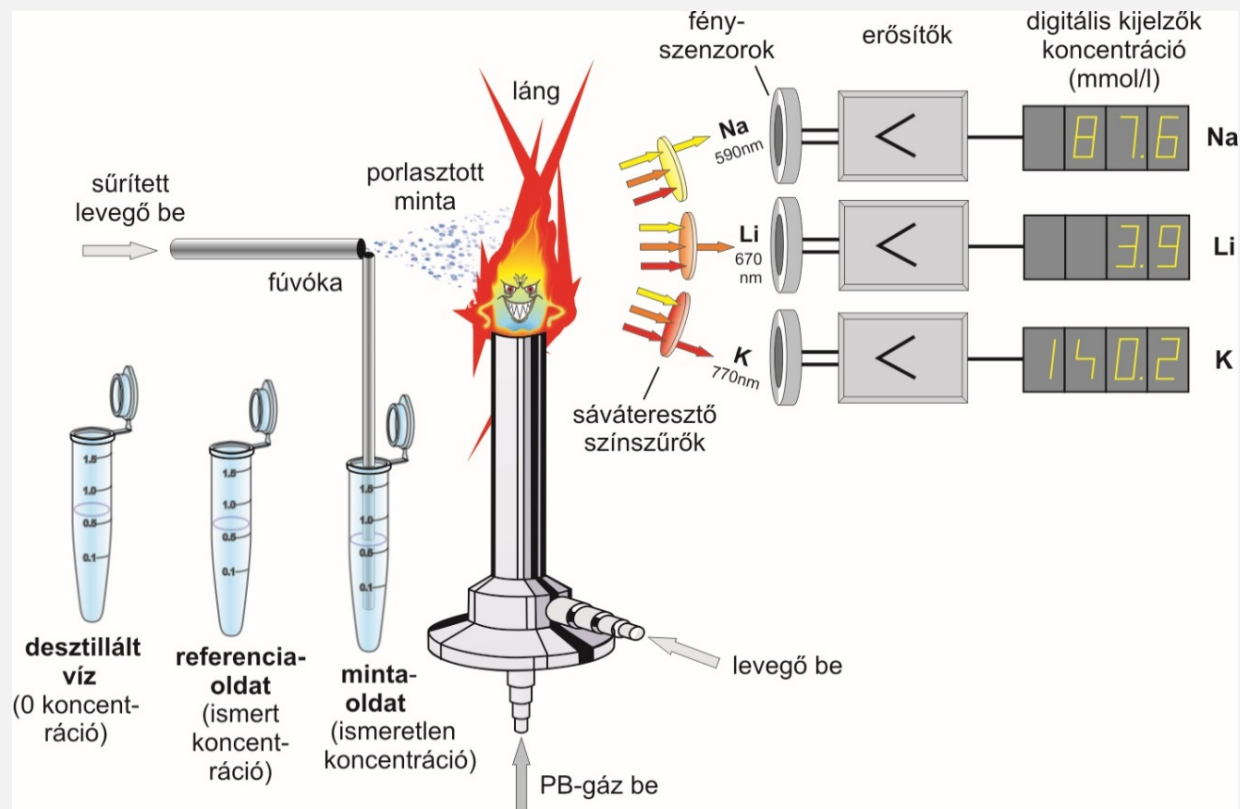
Figure 1: Fluorescence emitted from quantum dots. Blue fluorescence can be emitted from small particles of approximately 2 nm in diameter, green from ~3 nm particles, yellow from ~4 nm particles, and red from large particles of ~5 nm. The wavelength of the excitation light is 365 nm.

A gerjesztési spektrumok jól átfednek kb 400 nm-ig, tehát lehetséges egy hullámhosszon egy egész sorozat kvantumpöttyöt gerjeszteni.



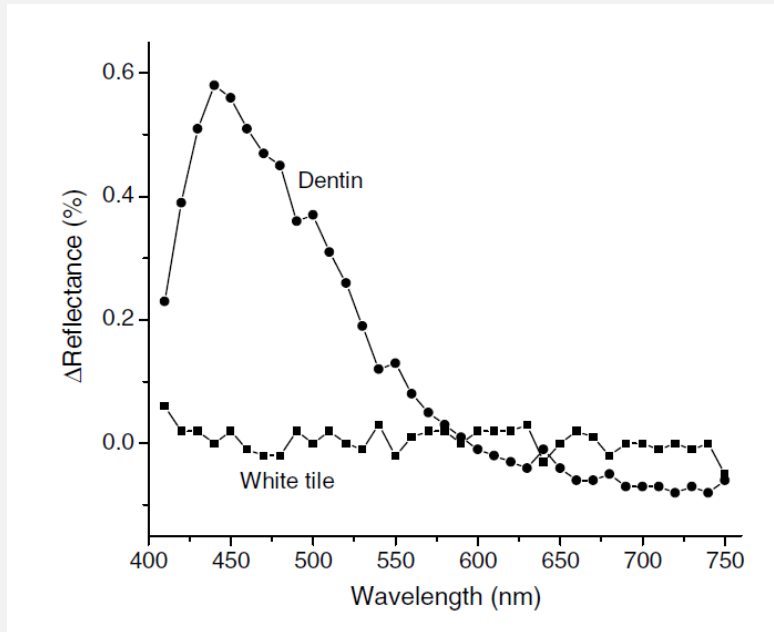
A kvantumpöttyök 1-2 nagyságrenddel foto-stabilabbak és világosabbak a hagyományos fluoreszcens festékeknél és fehérjéknél !!!

Lángfotométer

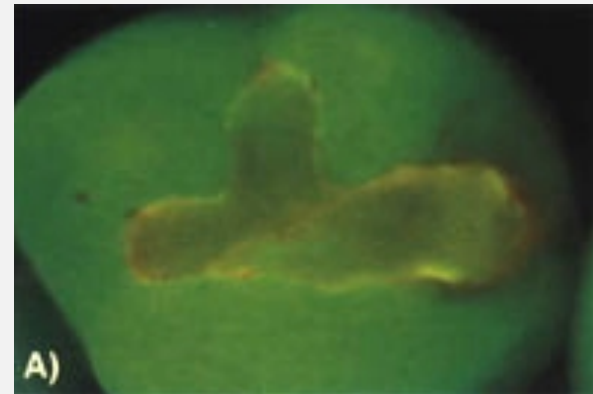


K^+ , Li^+ és Na^+ mennyiségi meghatározása

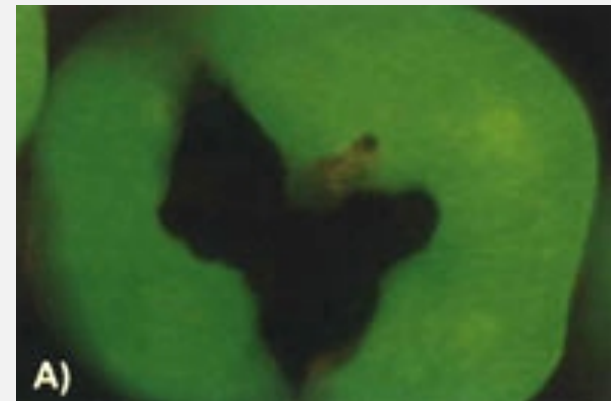
Példák a fogorvosi alkalmazásra



Lee, Journal of Biomedical Optics 20(4),
040901 (April 2015)



Piros fluoreszcencia a tömés peremén
jelzi a tökéletlen illeszkedést és a
megtelepedő baktériumokat



Amalgám tömés elégtelen
illeszkedése

0 – 14	No special measures.
15 – 20	Usual prophylactic measures.
21 – 30	More intensive prophylaxis or restoration: indication is dependent on: *Caries activity. *Caries risk. * Recall interval, etc.
from 30	Restoration and more intensive prophylaxis.

KaVo DIAGNOdent
- How it Functions

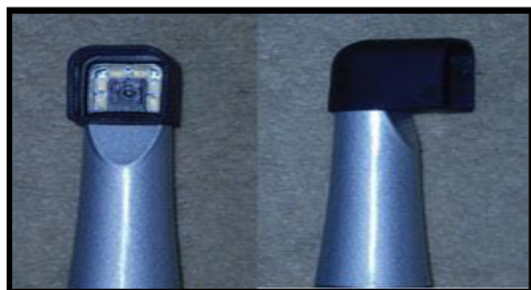
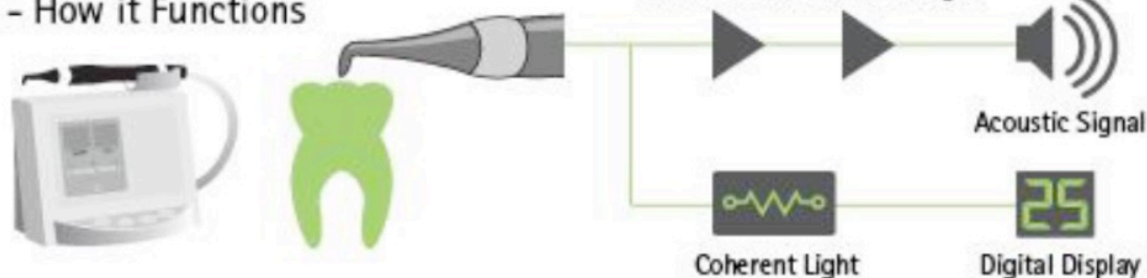


Figure (5) Spectra camera with spacer on (Kurtzman, 2010).

Table 2: Interpretation of Spectra data (Kurtzman, 2010).

Displayed Color	GREEN → BLUE → RED → ORANGE → YELLOW				
Displayed Number	1 —————→ 5				
Depth of Involvement	Sound Enamel	Initial Enamel Caries	Deep Enamel Caries	Initial Dentin Caries	Deep Dentin Caries



SOPROCARE. (A) Carious lesion invisible in DAYLIGHT mode. (B) Carious lesion visible in CARIO mode

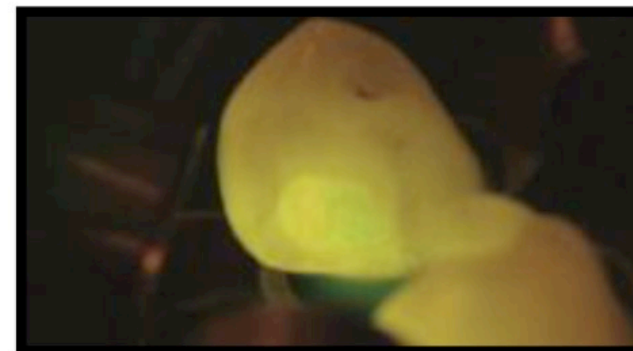
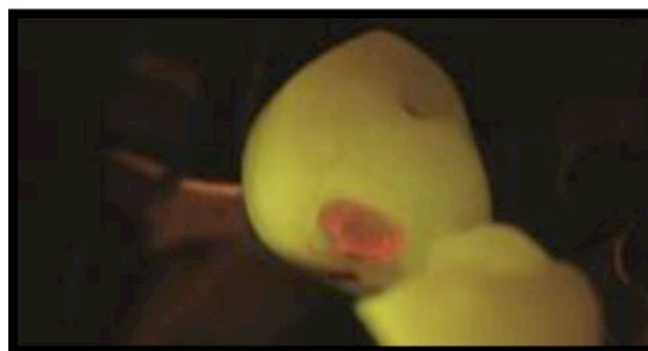
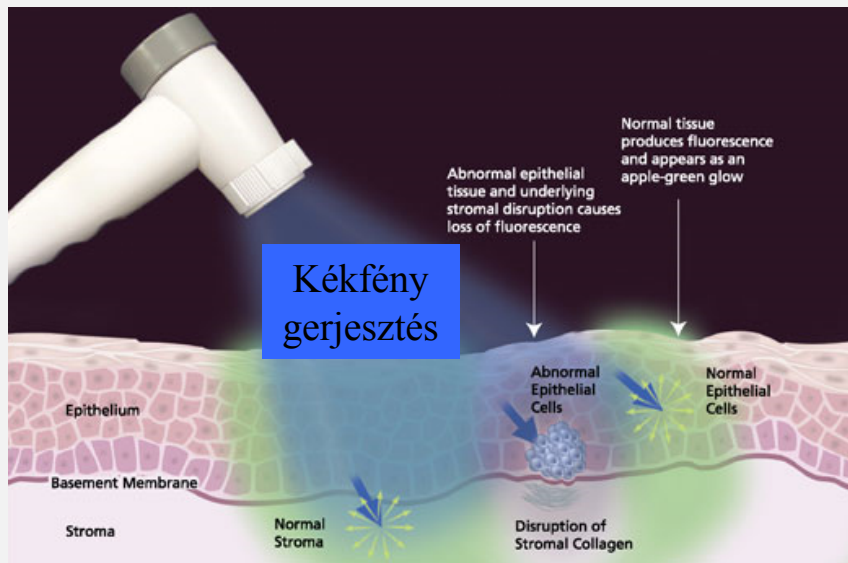
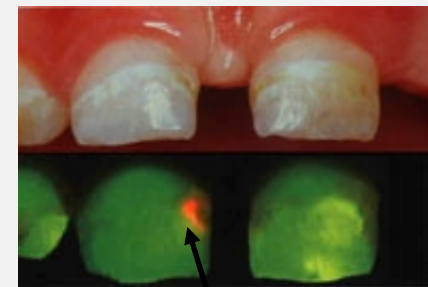


Figure (8) Photos showed cavity illumination with Facelight before and after caries excavation (21).

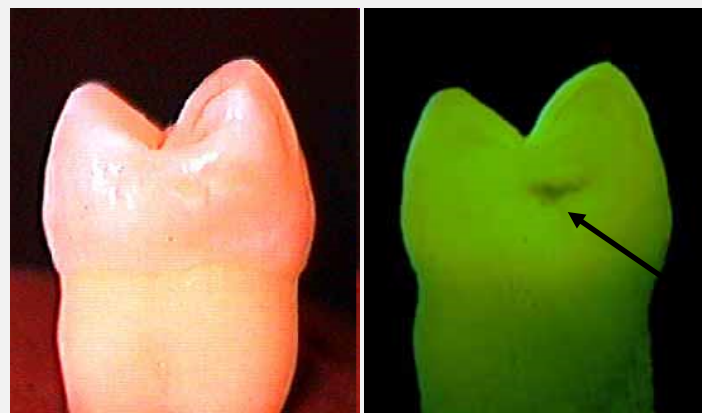


Egészséges és malignus szövetek eltérő fluoreszcens tulajdonságai

Tejfogak felszíne
natív állapotban és fluroescens
festés után



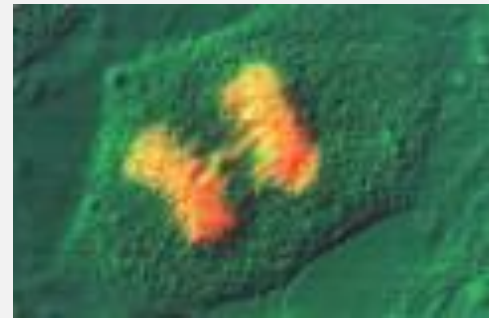
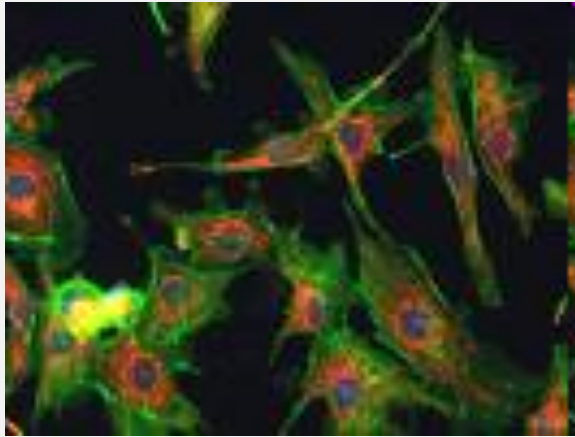
Aktív caries



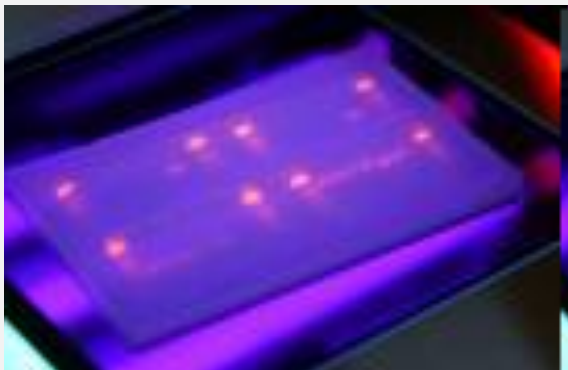
Fog felszíne
natív állapotban és fluroescens festés után

*Kezdődő
caries*

Lumineszcencia mikroszkópia



Laboratóriumi alkalmazás számos területe



Ellenőrző kérdések

Lumineszcencia

Alapállapot – gerjesztett állapot

Gerjesztés fajtái

Jablonski diagram

Fluoreszcencia

Foszforeszcencia

Kasha-szabály

Stokes-eltolódás

Élettartam

Kvantumhatásfok

Fényforrások

Orvosi/fogorvosi alkalmazások

Kapcsolódó fejezetek:

Damjanovich, Fidy, Szöllősi: Orvosi Biofizika

II. 2.2

2.2.4

2.2.6

VI.3.3

3.3.1

3.3.2

3.3.3