

Biofizika I

7. Lumineszcencia és alkalmazásai az orvostudományban

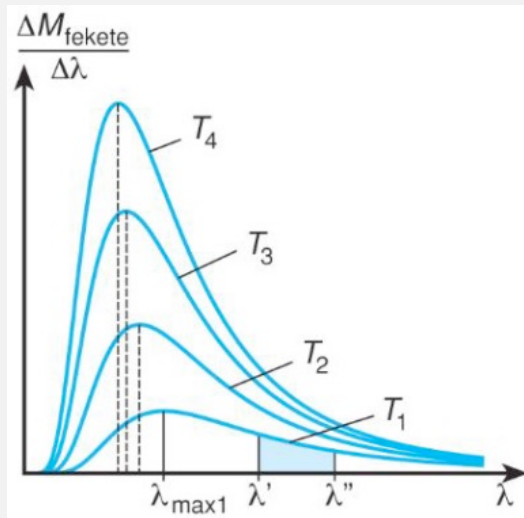
Liliom Károly

2022. 10. 20.

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

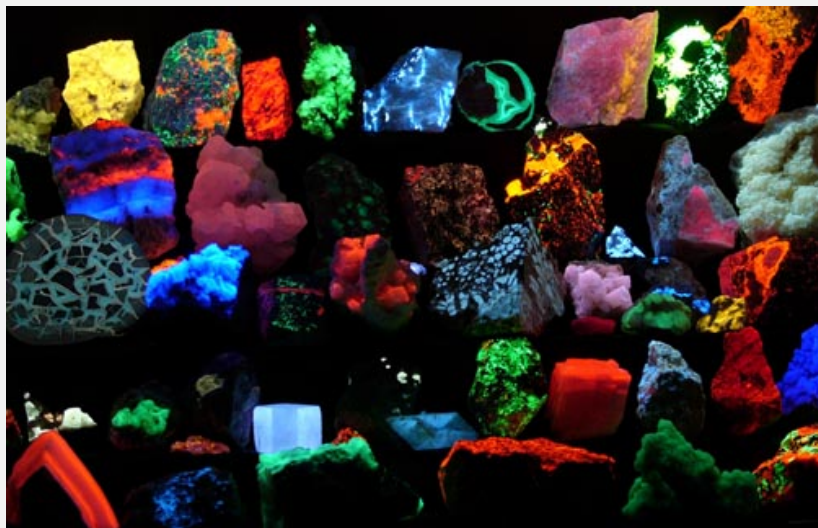
A fényemisszió formái

- Hőmérsékleti (feketetest) sugárzás
- Lumineszcencia
- Lézer



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

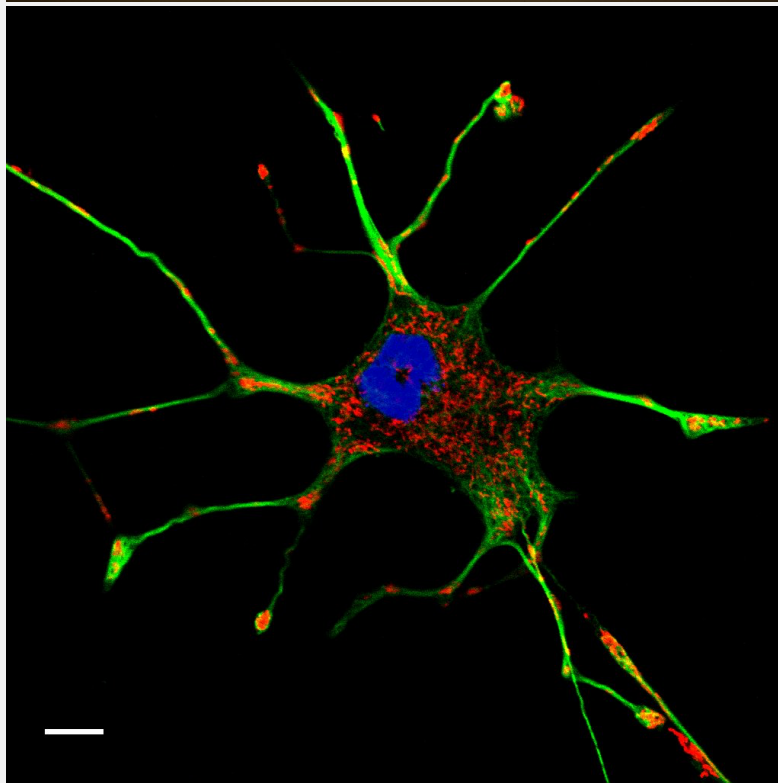
Lumineszcencia a természetben



ásványok, medúzák, plankton, algák, növények...

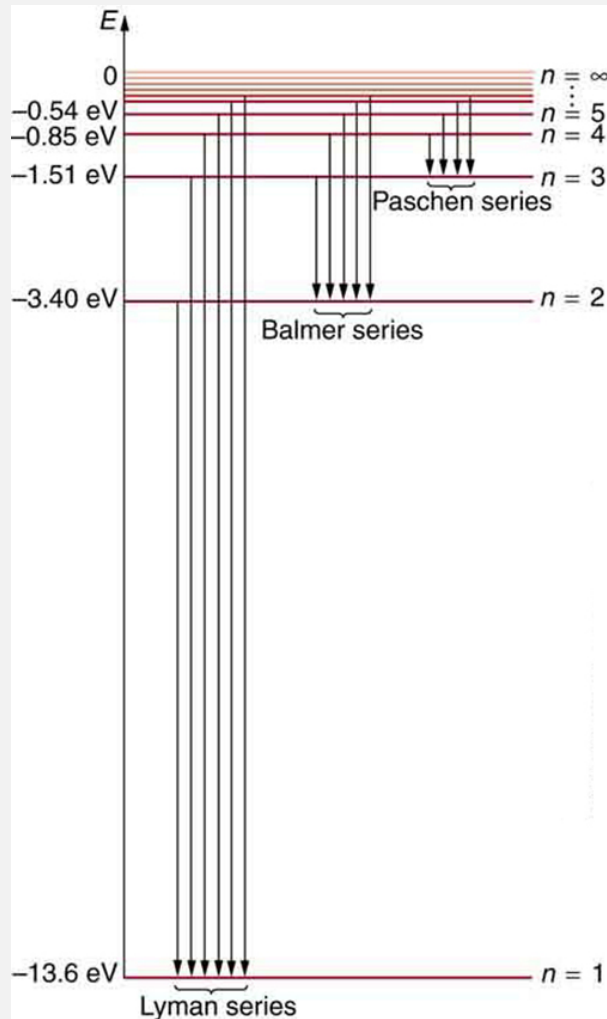


Lumineszcencia alkalmazásai



Atomi energiaszintek

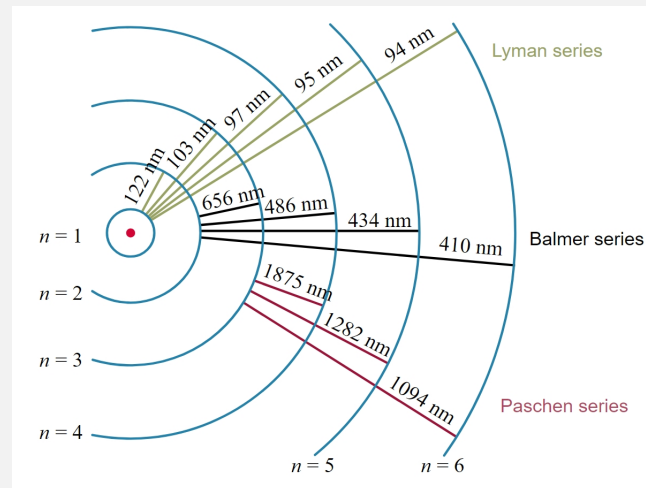
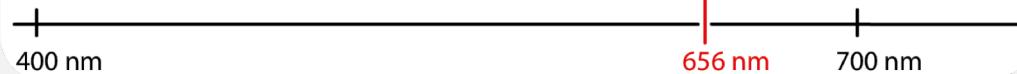
Jablonski-diagram



A hidrogén elnyelési színeke:

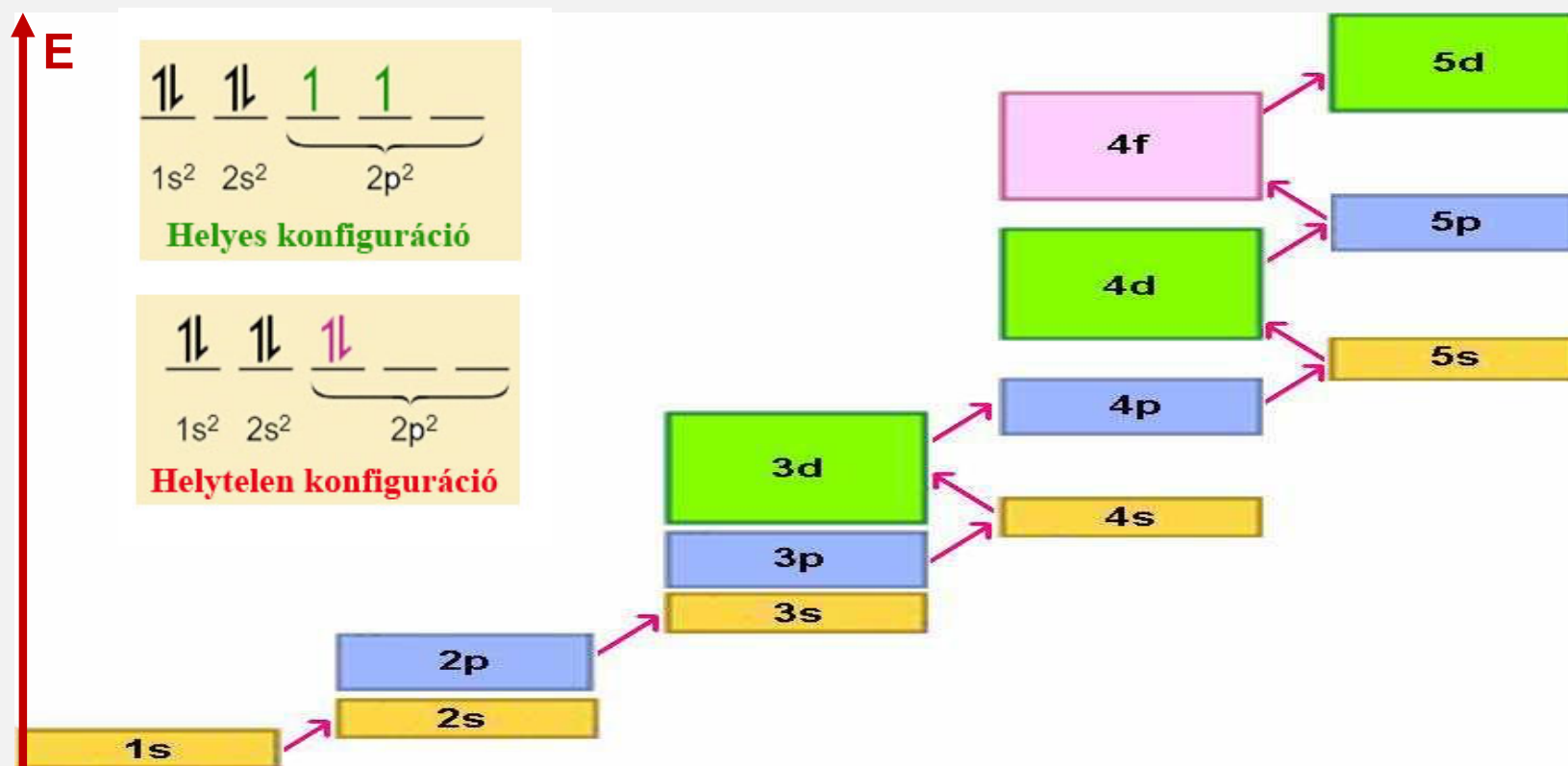


A hidrogén kibocsátási színeke:



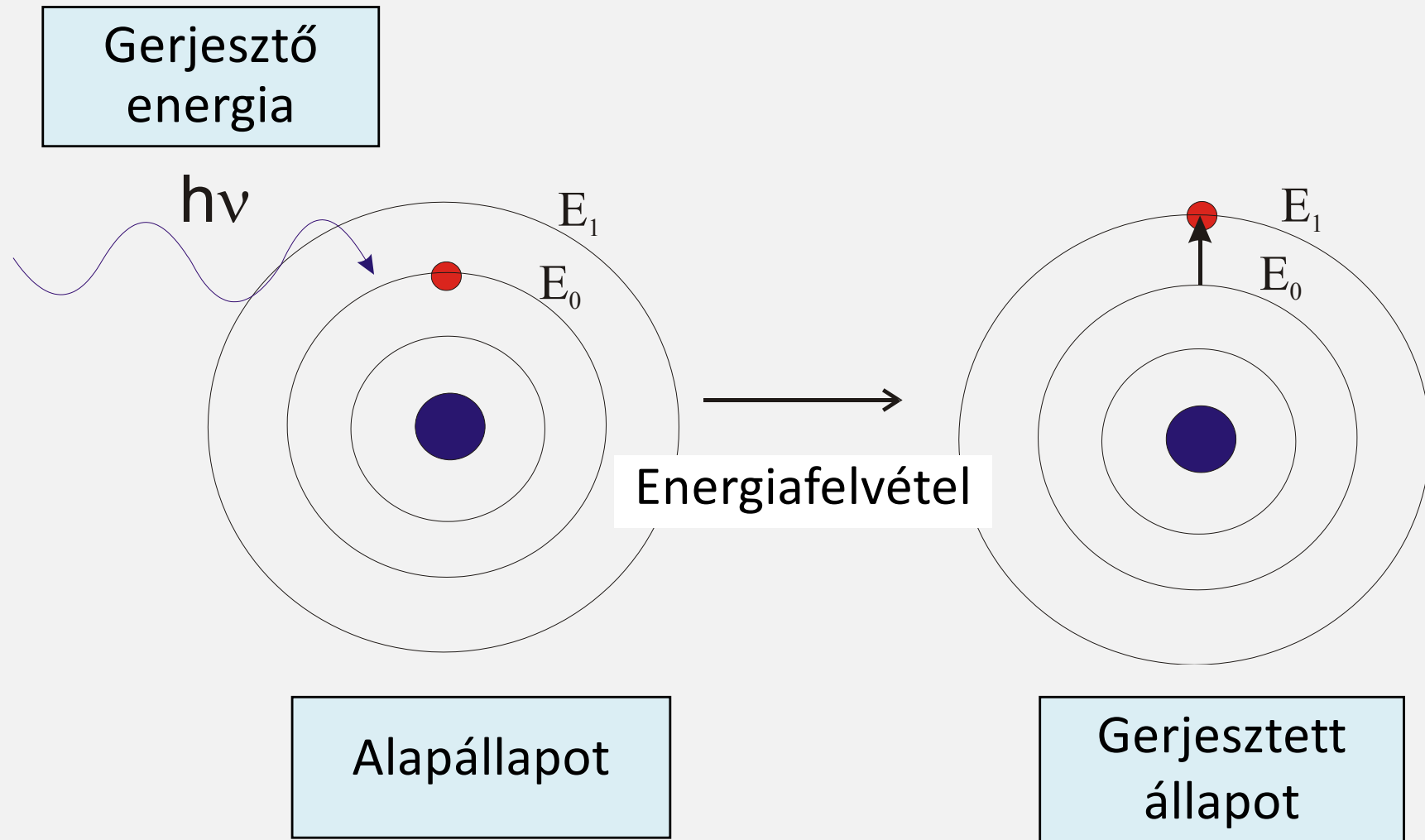
Niels Bohr (1913): Az atomban az elektronok stacionárius pályákon helyezkednek el, nem sugároznak. A stacionárius pályák közötti átmenetek során az elektron a pályák energiakülönbségét kell felvegye, illetve relaxáció során azt sugározza ki.

Atomi energiaszintek



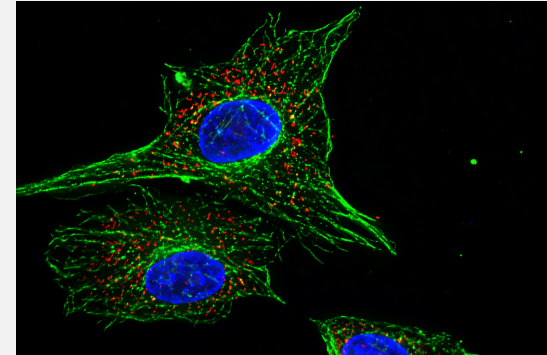
- Az atomban az elektronok energiaállapotai kvantáltak
- A lehetséges legalacsonyabb energiájú állapotot töltik be
- Pauli-féle kizárási elv: egy atomon belül nem létezhet két olyan elektron, amelyeknek mind a négy kvantumszáma megegyezik
- Hund-szabály: adott elektron-konfiguráció mellett a legnagyobb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

Tekintsünk egy atomot

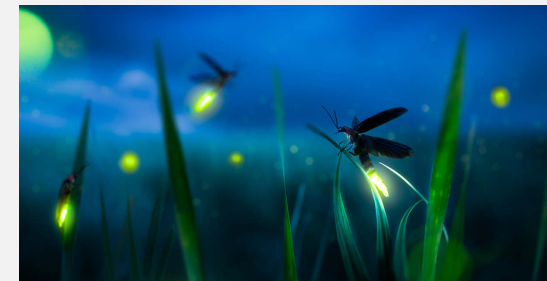


Gerjesztés sokféleképpen lehetséges

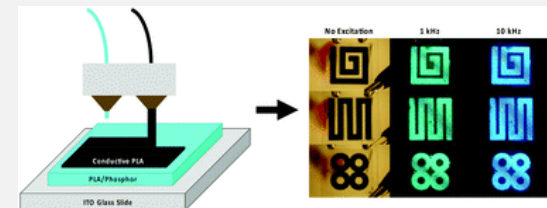
-(fény) foton elnyelése: *fotolumineszcencia*



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



-elektromos tér vagy áram: *elektrolumineszcencia*



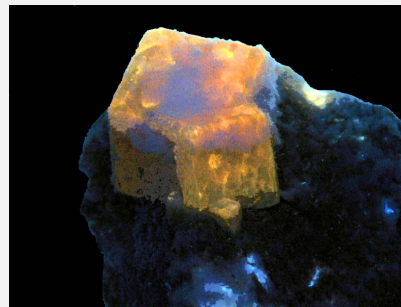
-mechanikai deformáció: *tribolumineszcencia*

mentacukor

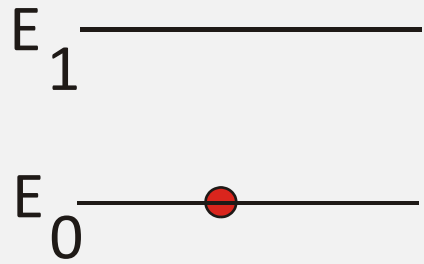


-hőközlés: *termolumineszcencia*

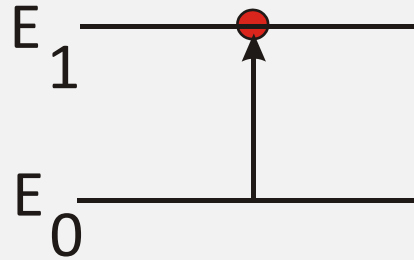
Wulfenit



Relaxáció mechanizmusa

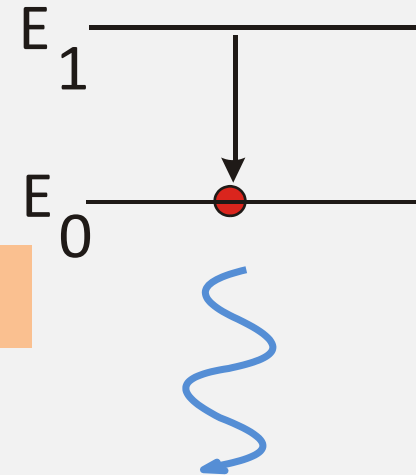


külső héjon lévő
elektron gerjesztése



elektron visszatérése
alapállapotba

Spontán, külső hatás nélkül!



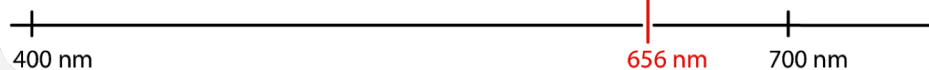
fényemisszió

$$hf = E_1 - E_0$$

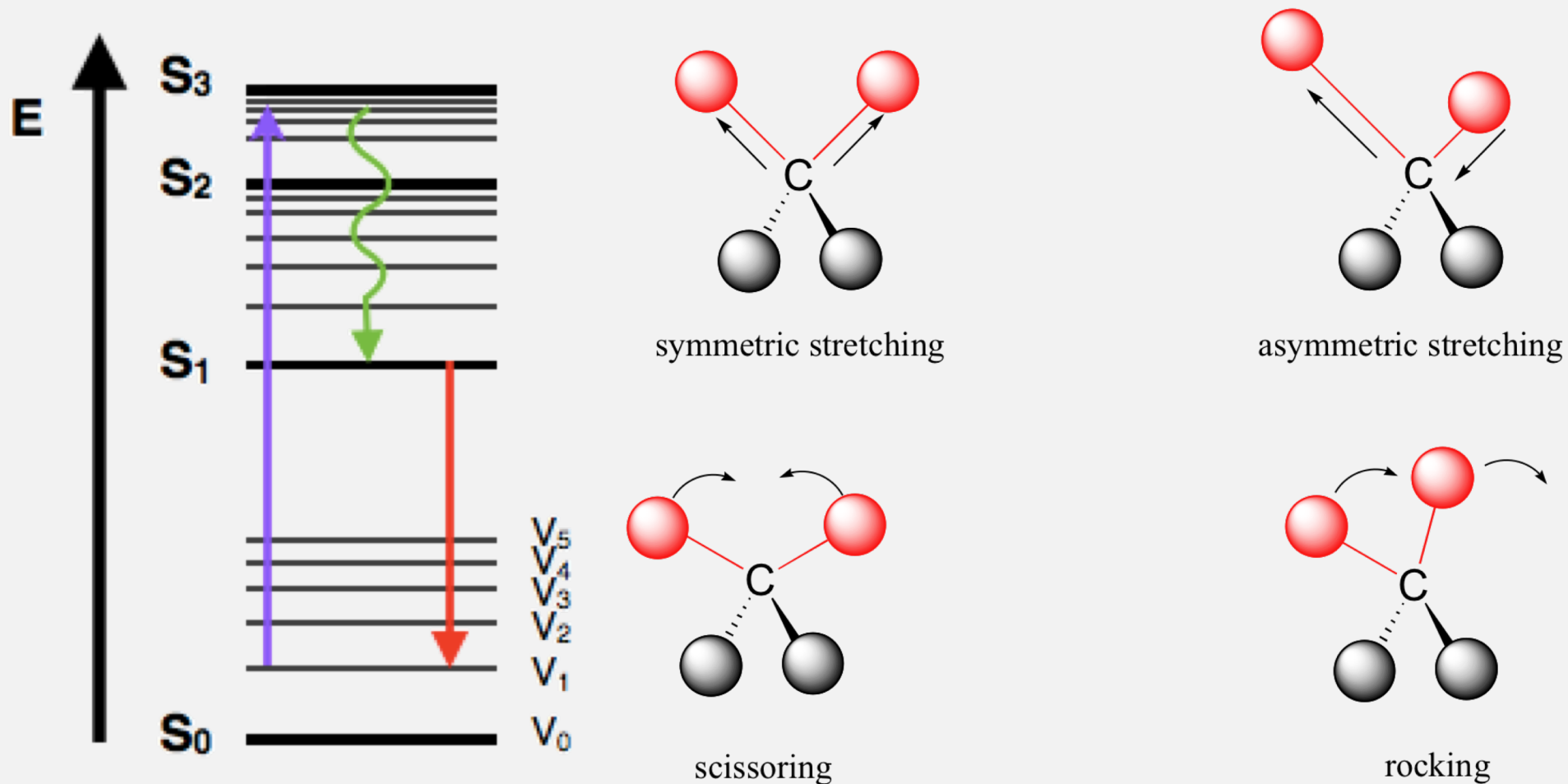
A hidrogén elnyelési színe:



A hidrogén kibocsátási színe:

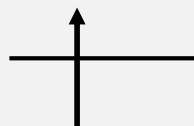


Molekulák energiaszintjei



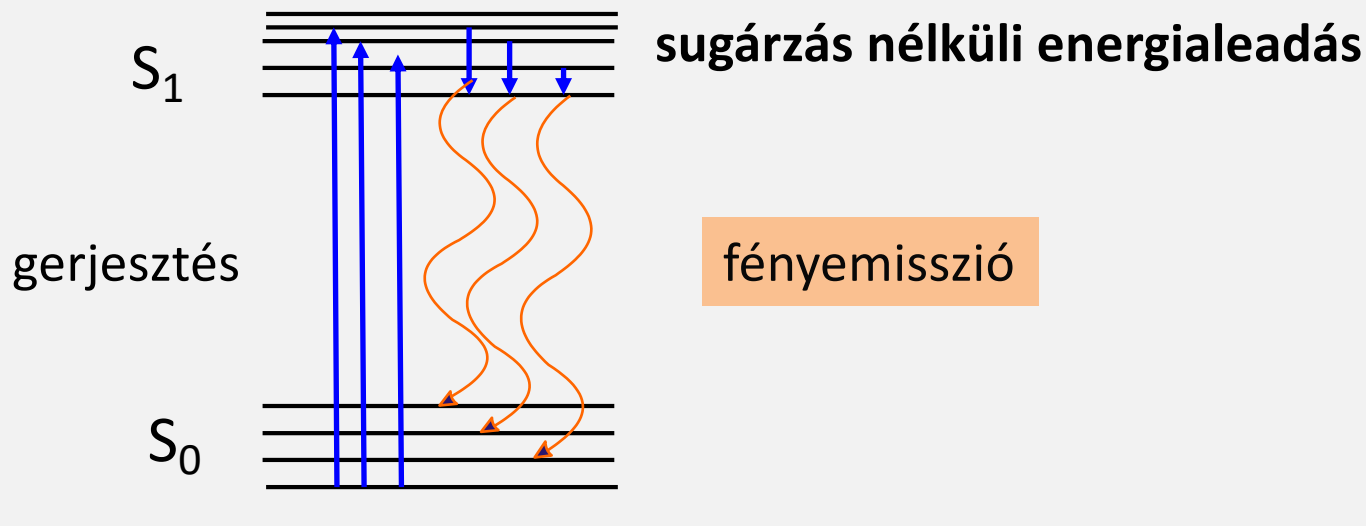
A vibrációs energiaszintek is kvantáltak!

Fluoreszcencia mechanizmusa



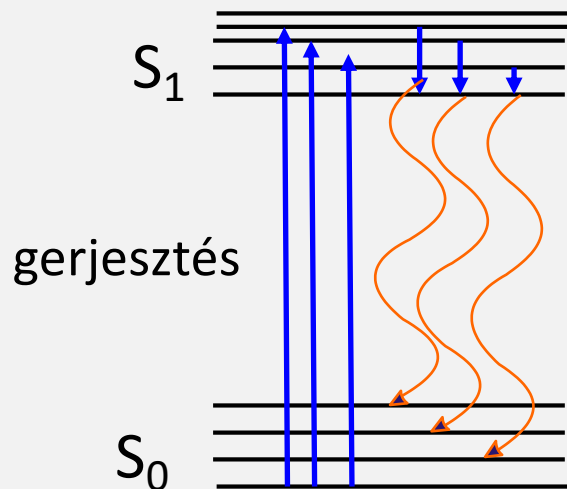
Szingulett állapot

Párosított spinű
elektronok



Fluoreszcencia

Fényemisszió spinváltás nélkül!



Kasha-szabály:

a fényemisszió a legalsó gerjesztett elektronállapot legalsó rezgési nívójáról történik



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

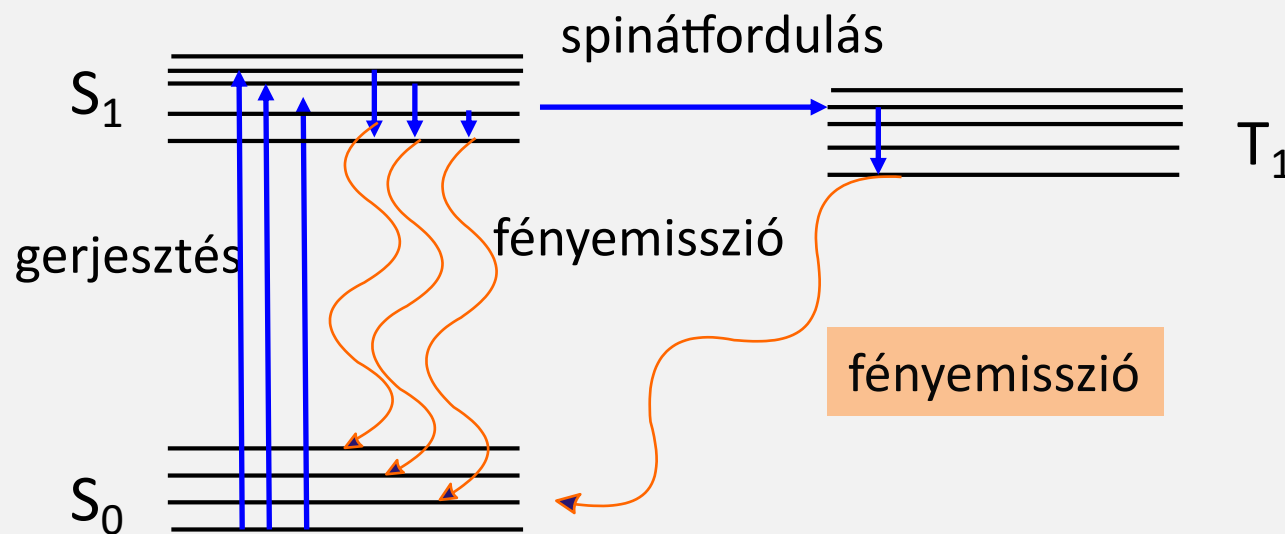
$$\lambda_{\text{gerjesztés}} \leq \lambda_{\text{fluoreszcencia}}$$

Stokes-eltolódás

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



Foszforeszcencia mechanizmusa

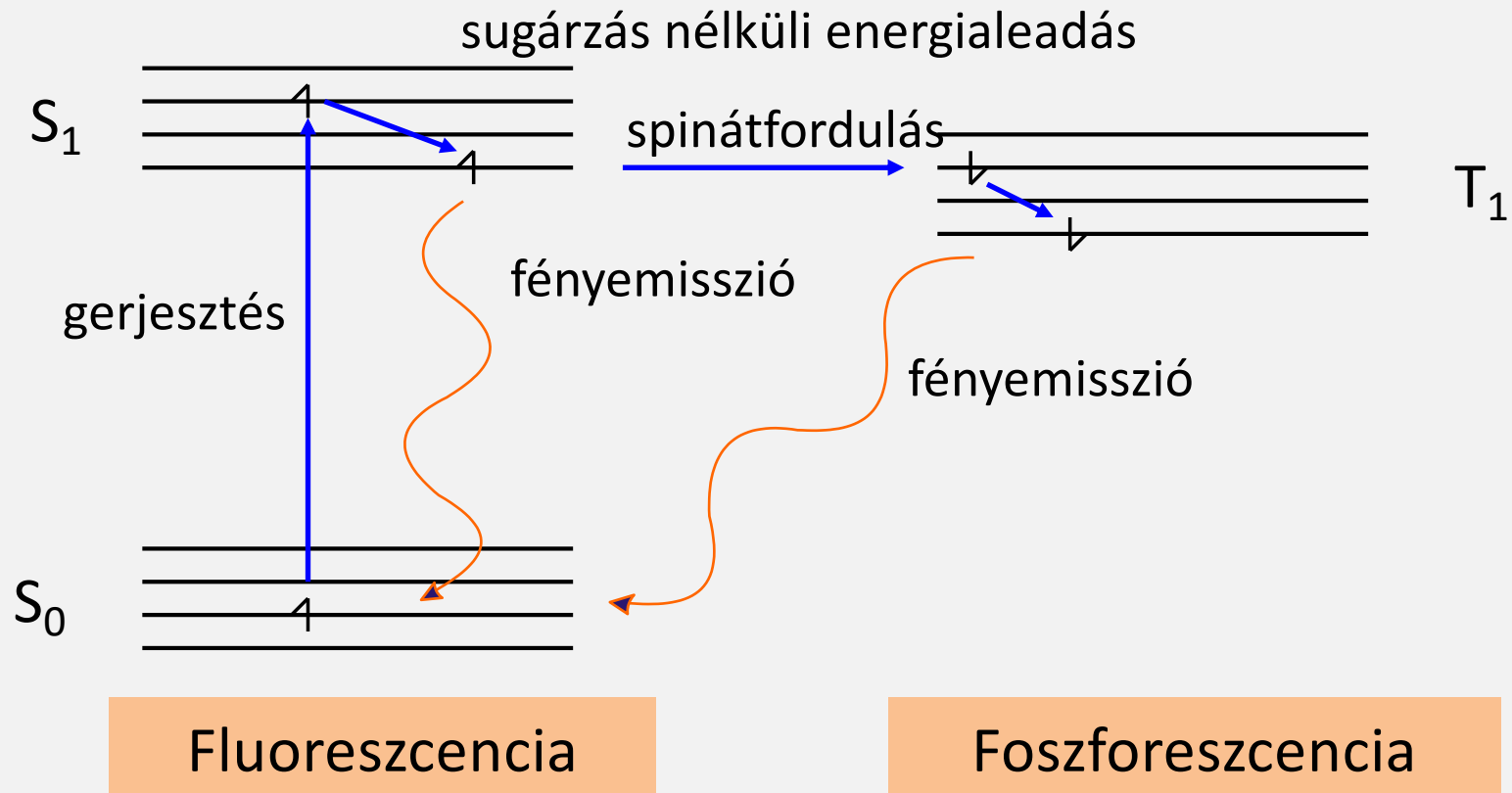


Foszforeszcencia

Fényemisszió spinváltozást
követően

Triplett állapot
Párosítatlan
spinű elektronok
Metastabil állapot

Emittált foton energiájának jellemzése



**Stokes-
eltolódás**

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

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

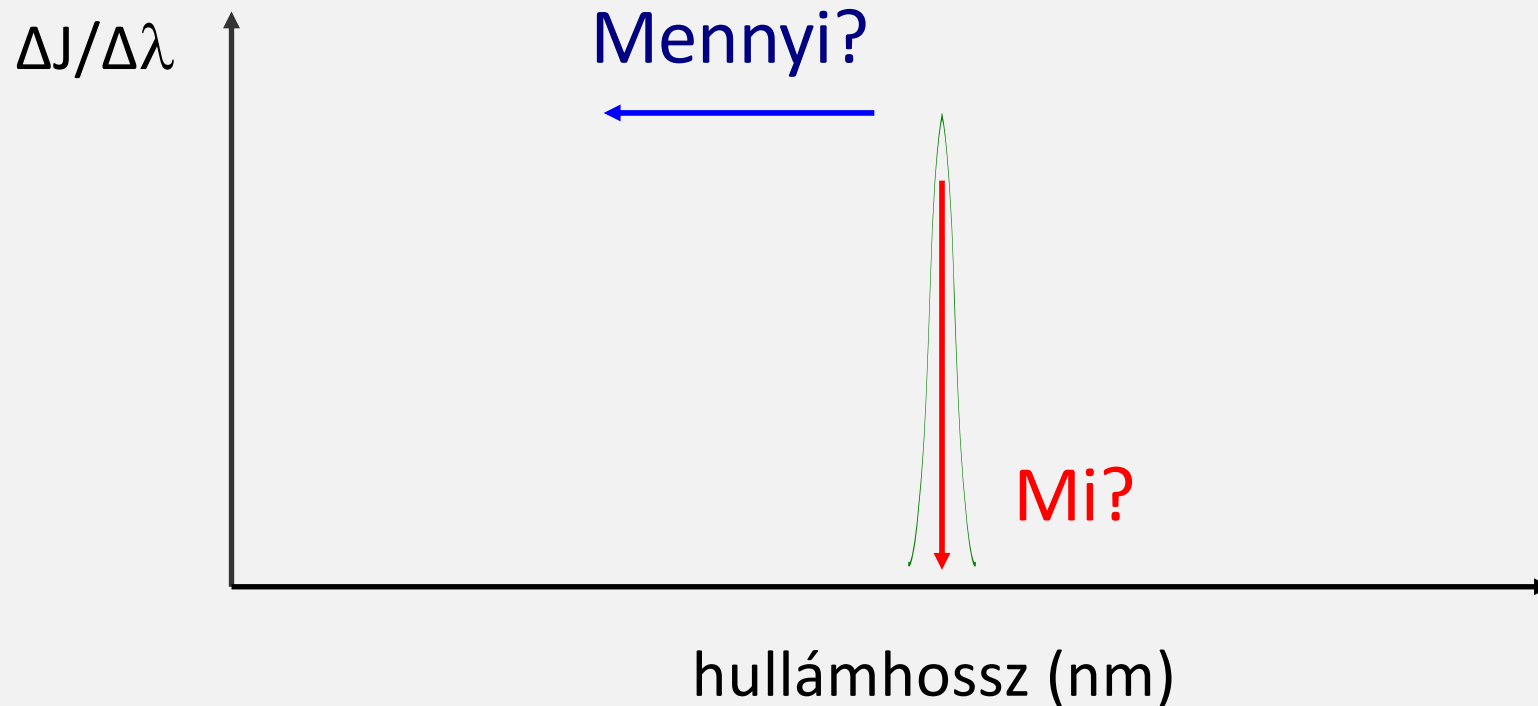
Emisszió jellemzése

Kibocsájtott intenzitás hullámhossz szerinti eloszlása

Emissziós spektrum

Atomok esetében:

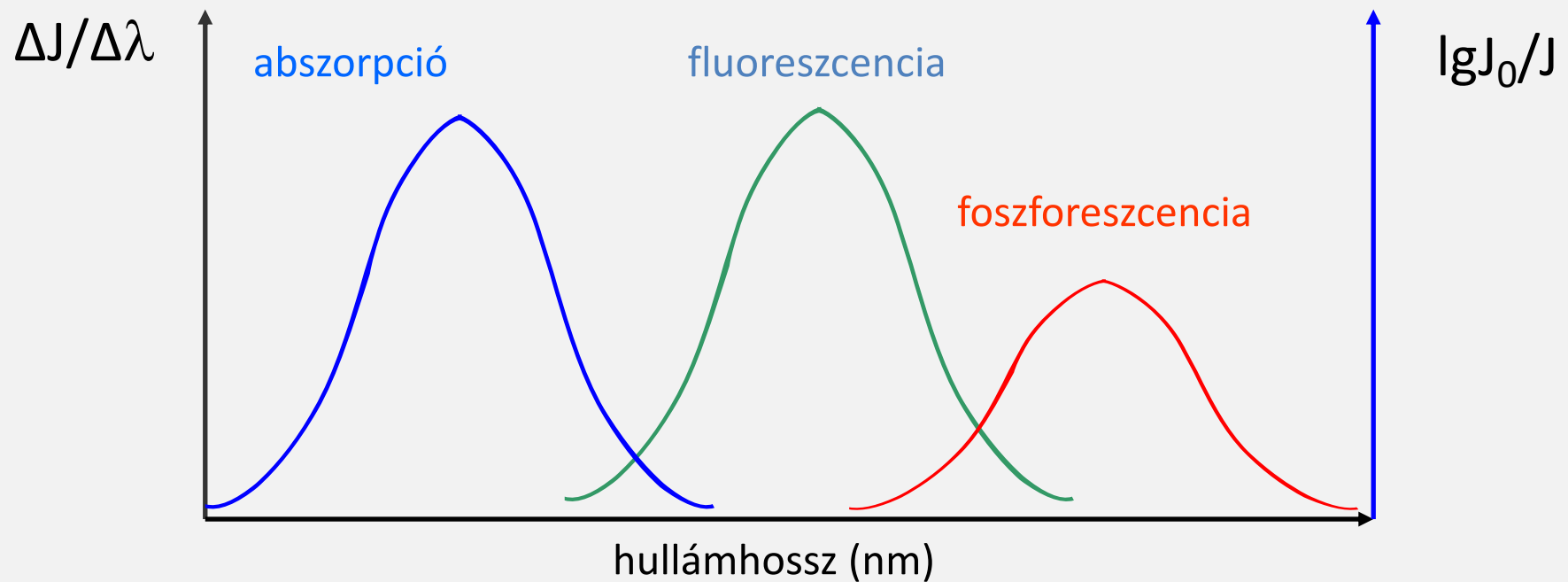
vonalas spektrum



Emittált intenzitás hullámhossz szerinti eloszlása

Emissziós spektrum

Molekulák esetében: sávos spektrum



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

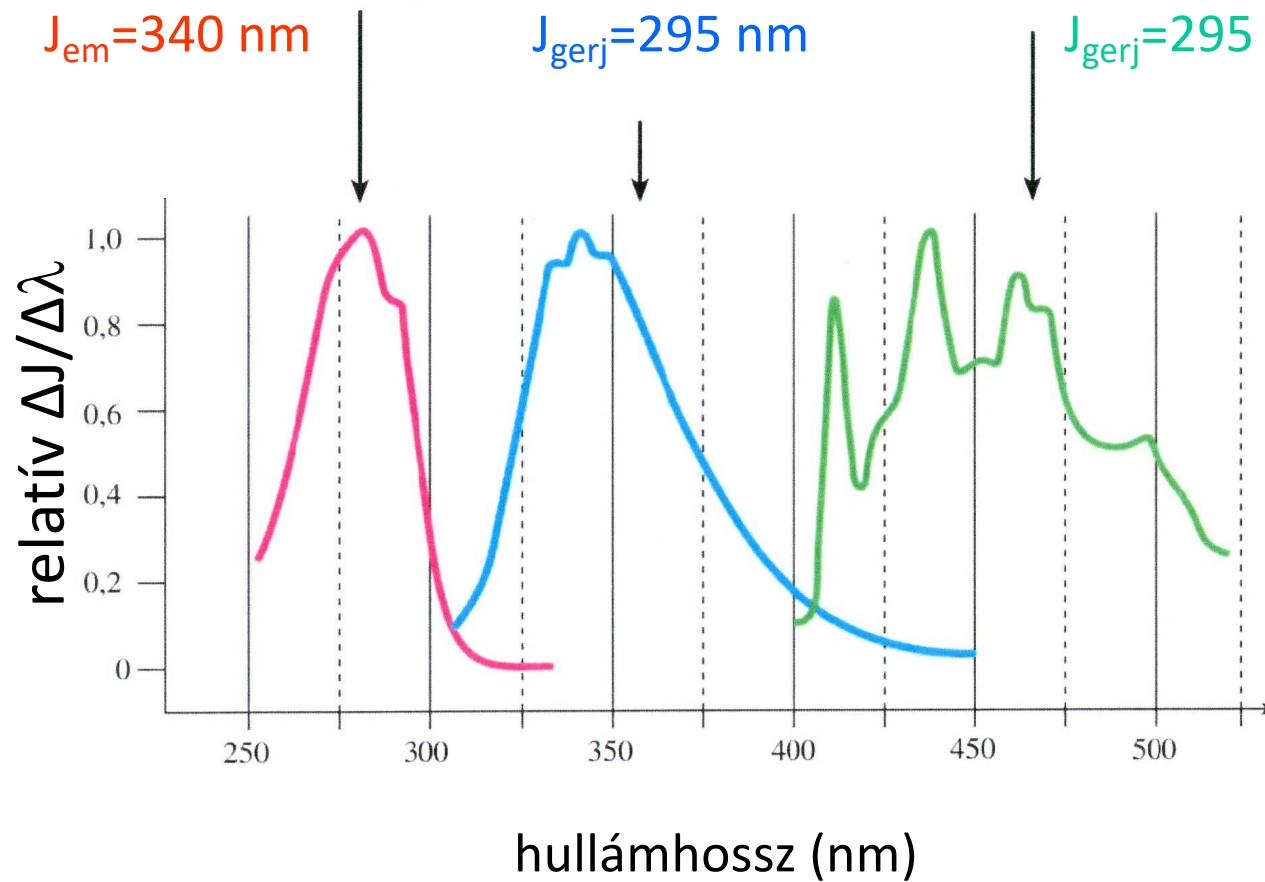
Stokes-eltolódás

Pl.: a triptofán aminosav spektrumai

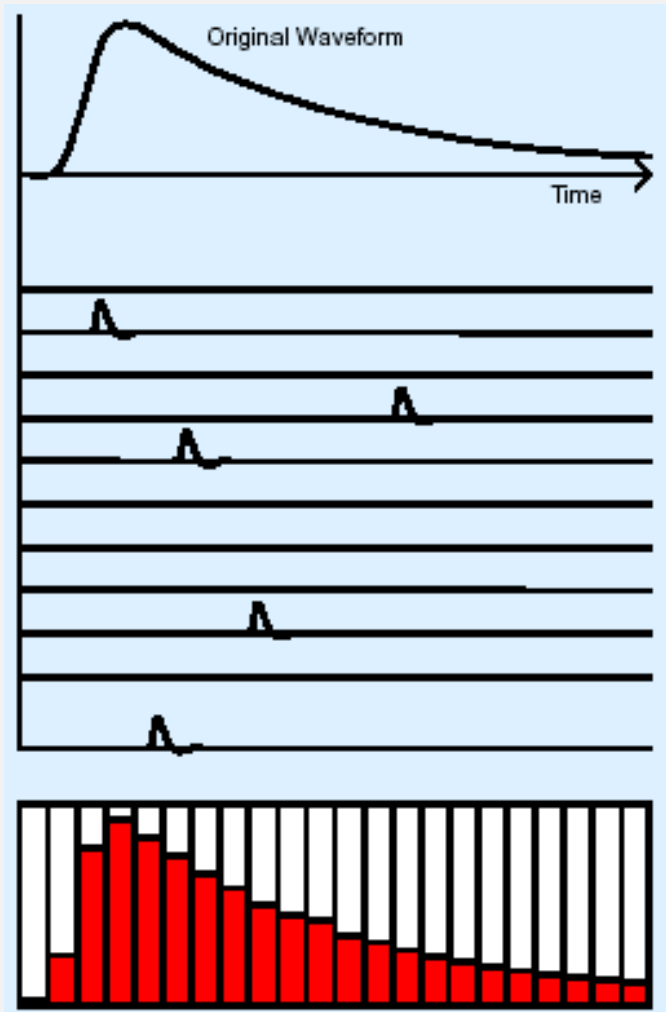
Fluoreszcencia
gerjesztési spektrum

Fluoreszcencia
emissziós spektrum

Foszforeszcencia
emissziós spektrum



Gerjesztett állapot időtartamának jellemzése

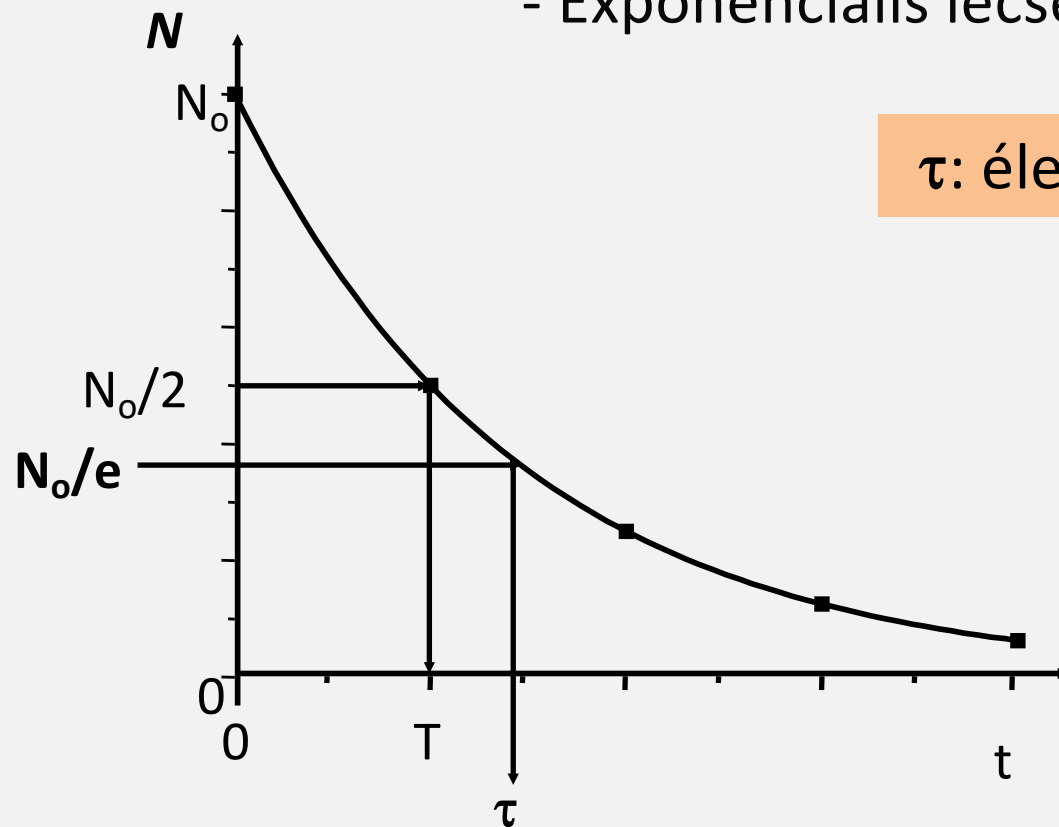


Időkorrelált egyfoton-számlálás

A fluoreszcencia intenzitásának folyamatos mérése helyett a gerjesztő és a detektált impulzus közötti időt mérjük, sok mérés összege az időkülönbség függvényében ábrázolva kiadja a fluoreszcencia lecsengési görbét.

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

- Exponenciális lecsengés



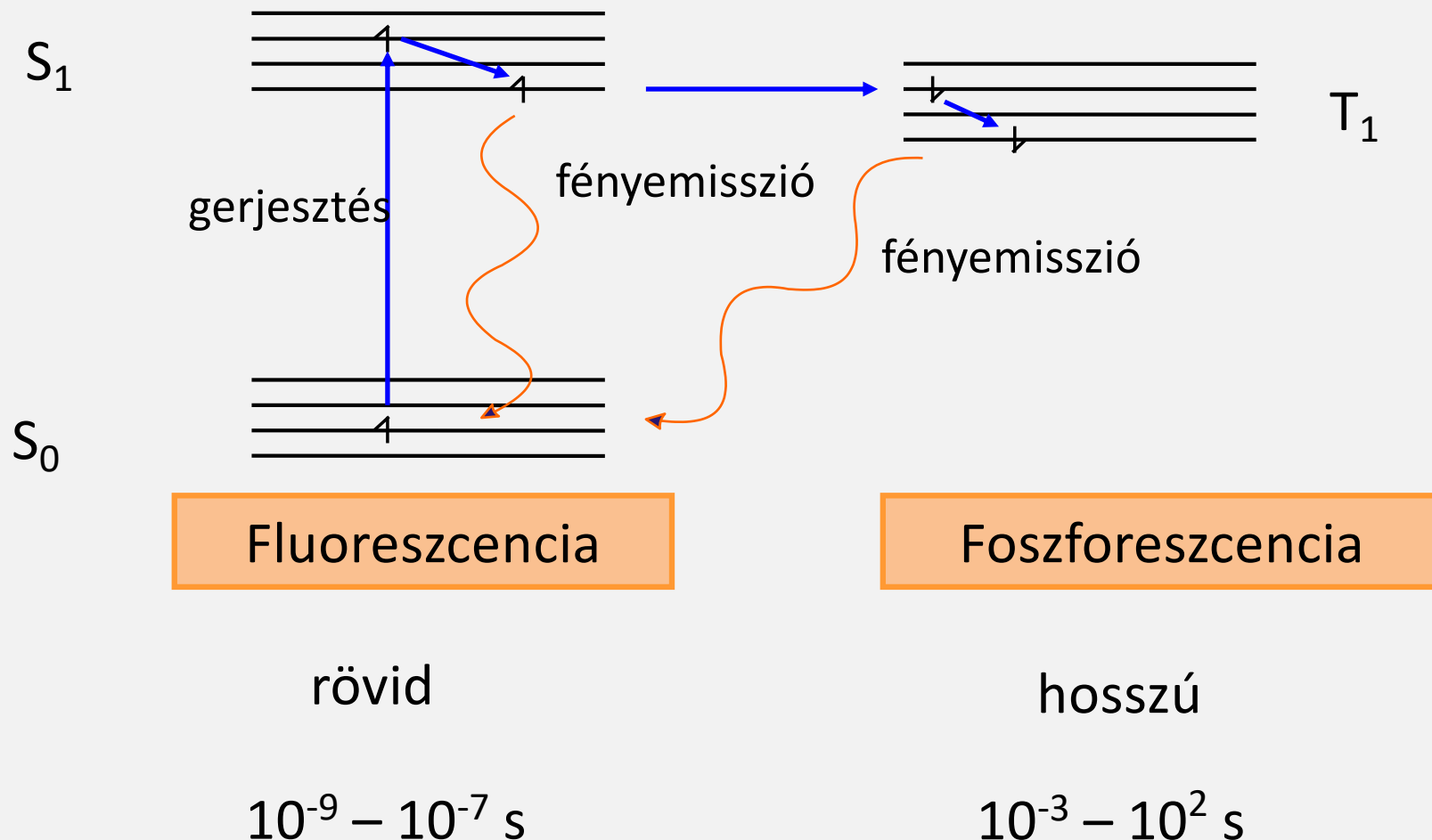
τ : élettartam T : fél-életidő

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

Gerjesztett állapot élettartamának jellemzése

Élettartam

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



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?

Fluoreszcencia kvantumhatásfoka (Q_F)

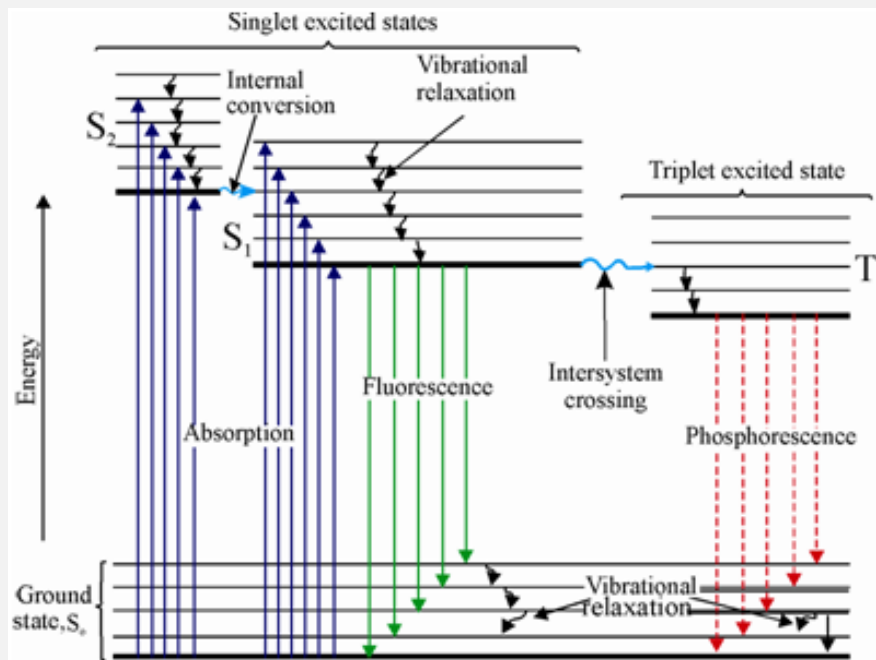
Q_F = kisugárzott fotonok száma / elnyelt fotonok száma

$$Q_F \leq 1$$

Lumineszcencia összefoglalás

A lumineszcencia fajtái:

- fluoreszcencia
- foszforeszcencia



Jellemzésük:

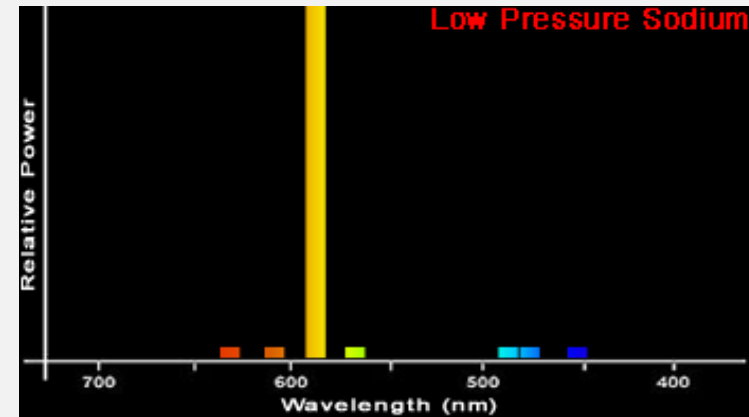
- emissziós spektrum:
 - típusa
 - maximumának helye
 - alakja
 - amplitúdója
- élettartam
- kvantumhatásfok

A lumineszcencia alkalmazási területei

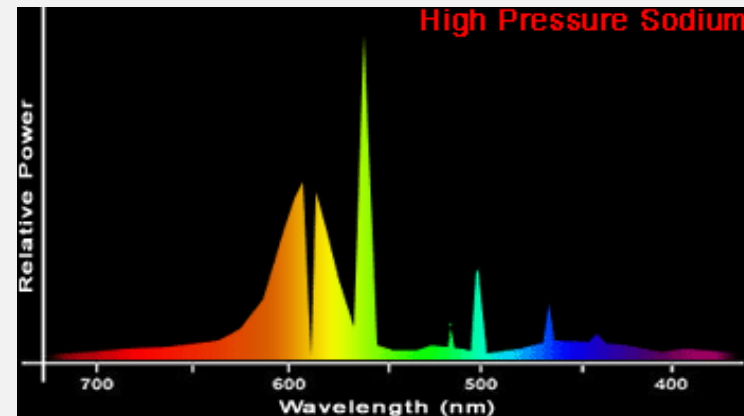
- fényforrások (világítás, sterilizálás, szolárium, terápiais alkalmazások, stb.)
- koncentráció meghatározása (pl. lángfotométer)
- lumineszcencia spektroszkópia
- lumineszcencia (fluoreszcencia) mikroszkópia
- diagnosztika
- dózismérés (lásd majd dozimetria)
- régészeti kormeghatározás
- belső építészet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

Fényforrások

Fémgőz lámpák



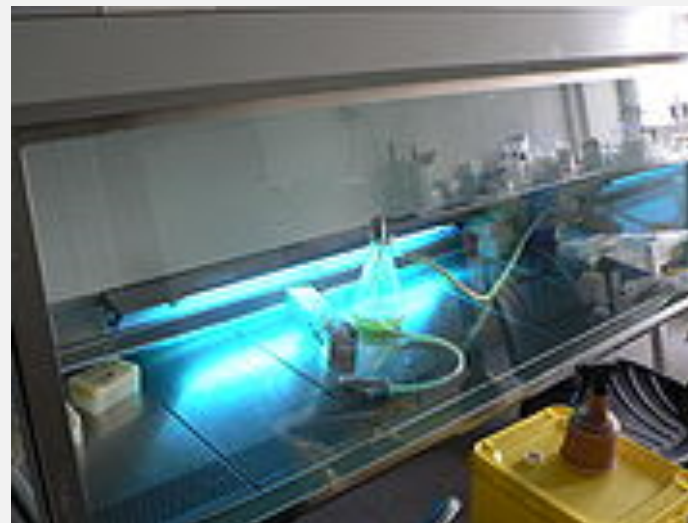
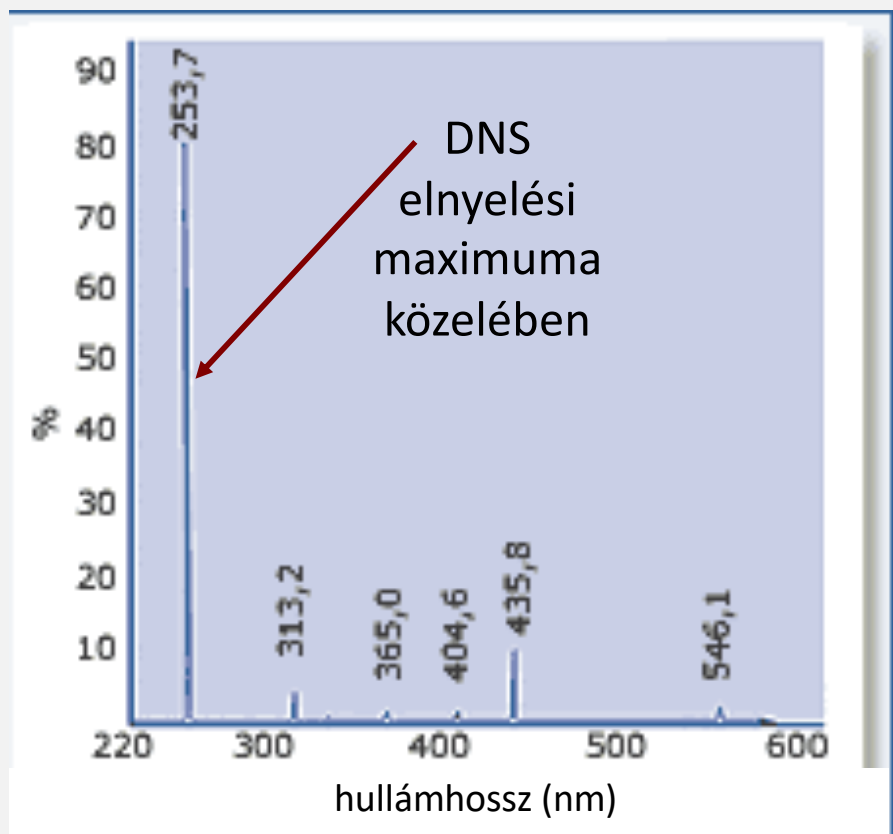
Kisnyomású Na-gőz lámpa
emissziós spektruma



Nagynyomású Na-gőz lámpa
emissziós spektruma



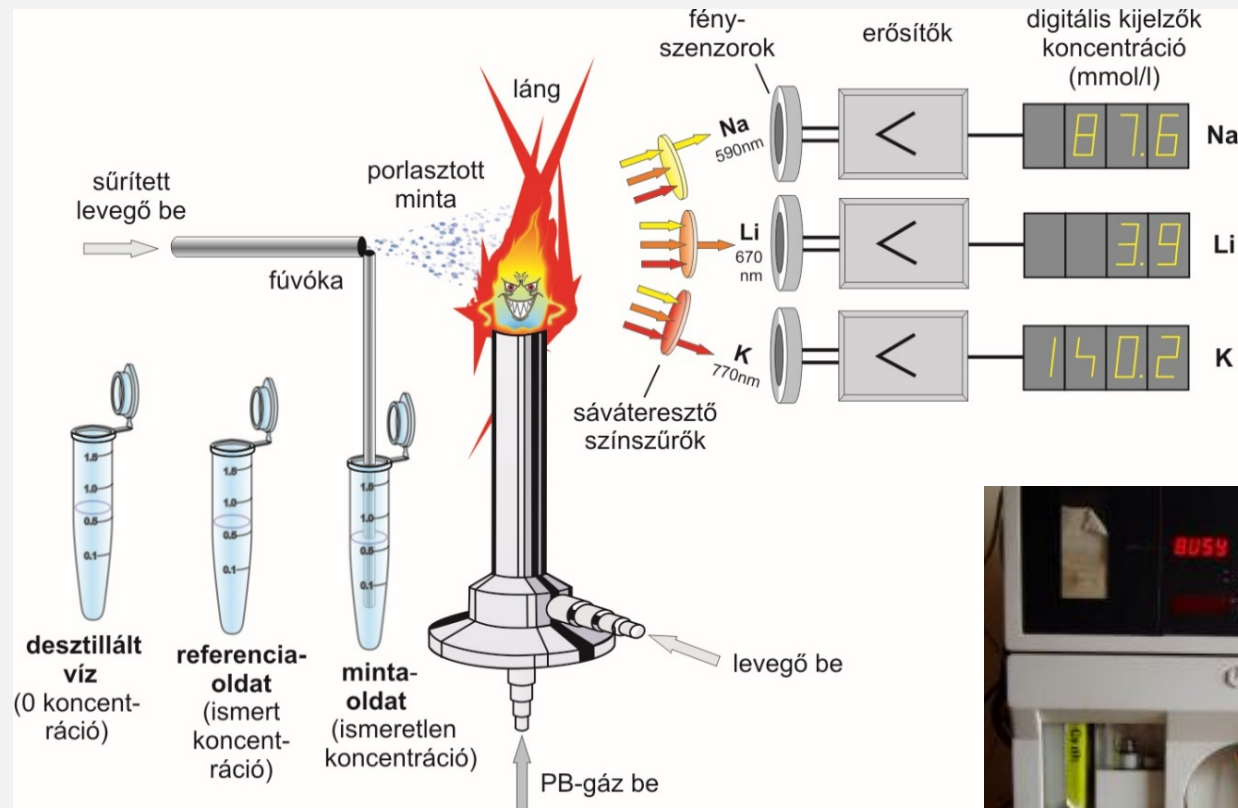
Kisnyomású Hg-gőz lámpa



Sterilizálás
„germicid lámpa”

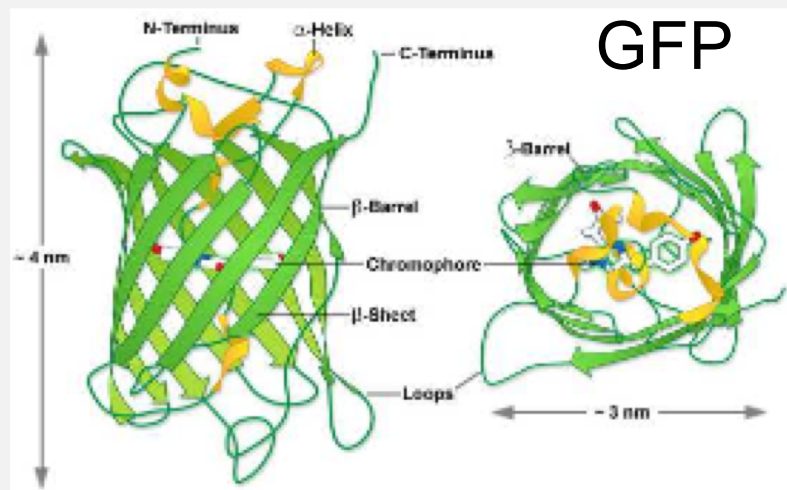
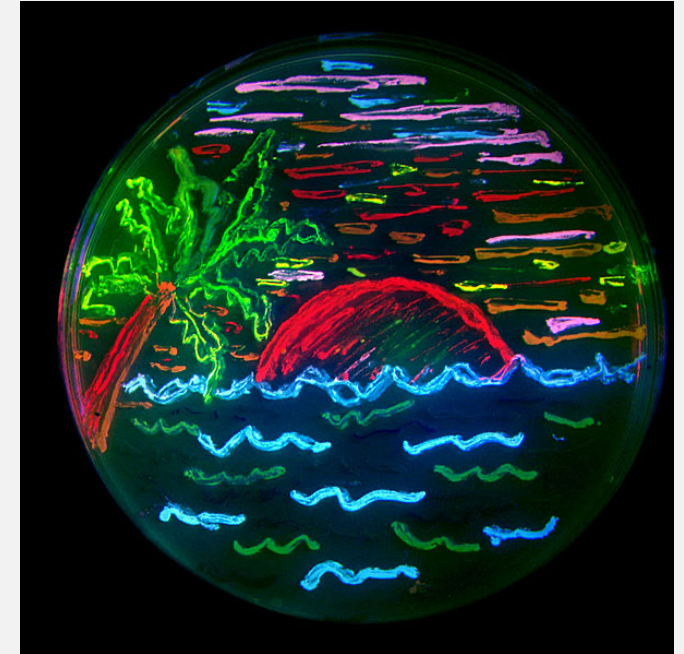
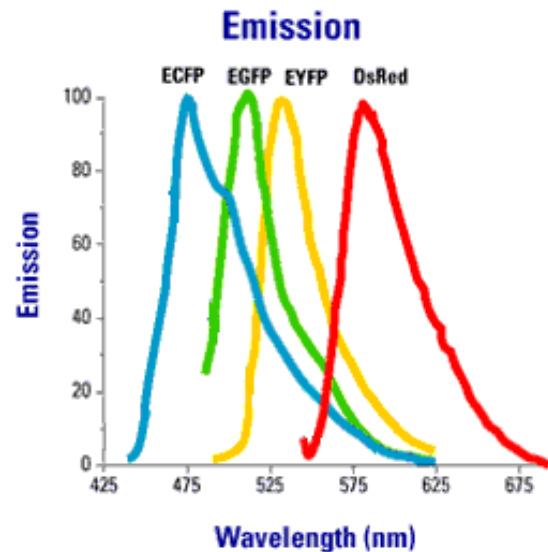
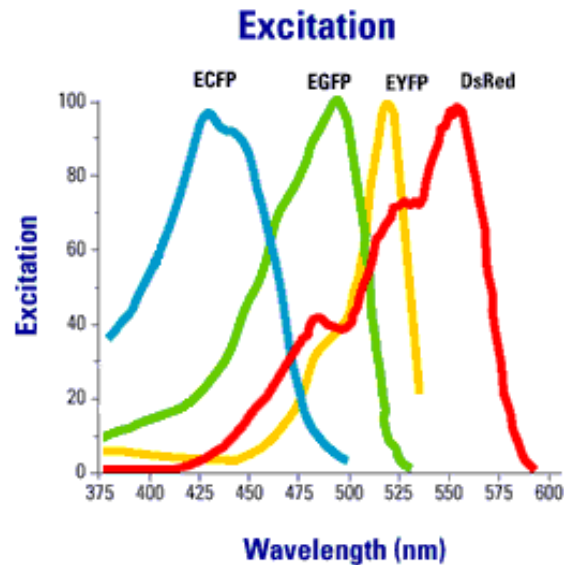


Lángfotométer

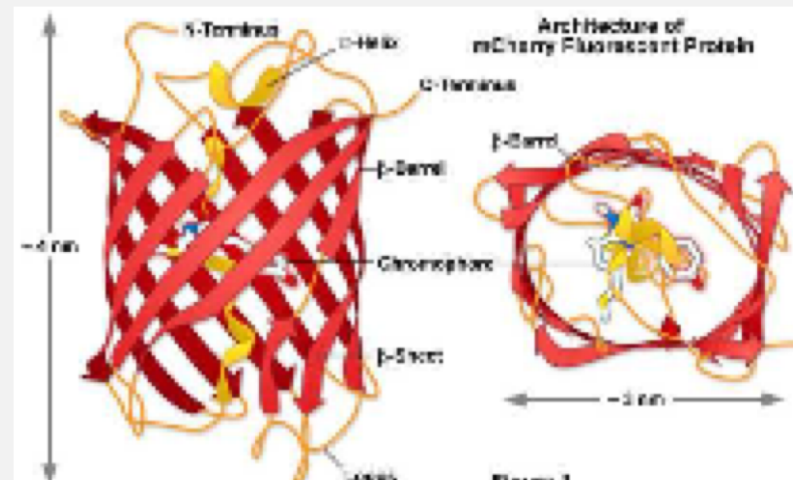


K^+ , Li^+ és Na^+ mennyiségi meghatározása

Az orvosi diagnosztikában és kutatómunkában elterjedtek a lumineszcencián alapuló módszerek

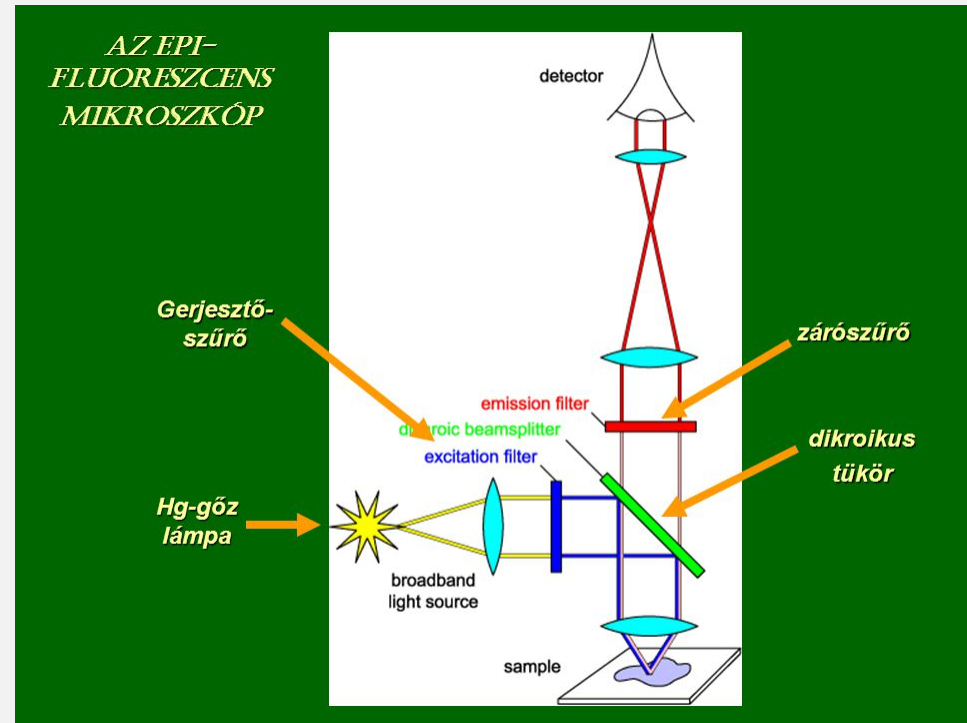
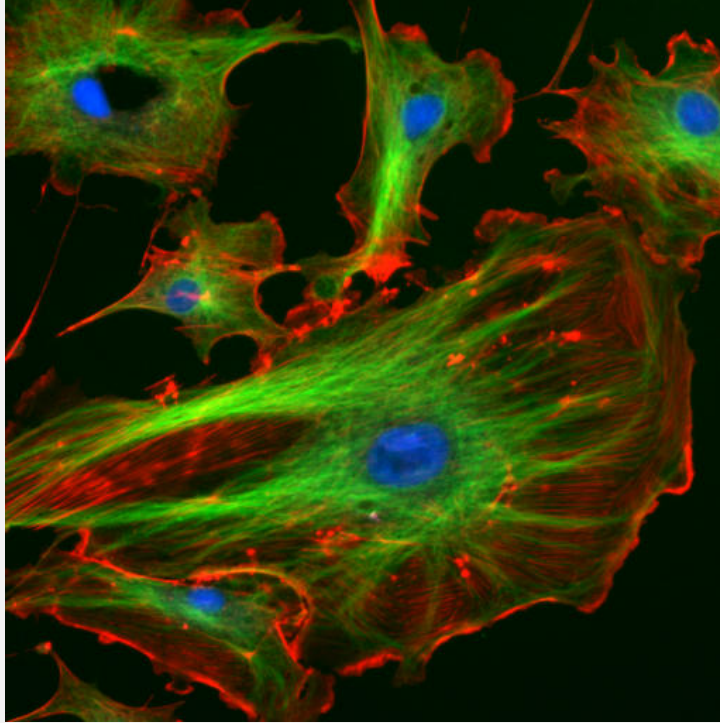


GFP (medúza)

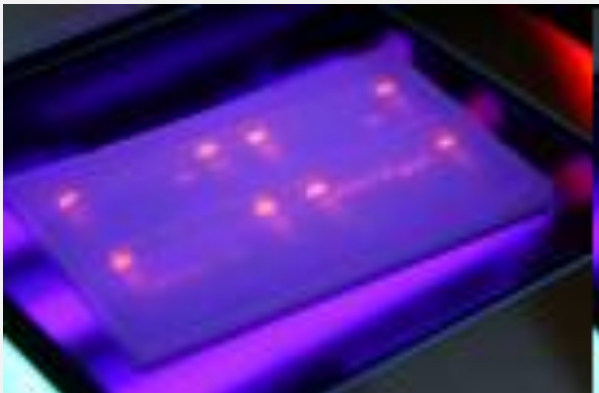


DsRed (vörös korall)

Fluoreszcens mikroszkópia



Laboratóriumi alkalmazás számos területe...

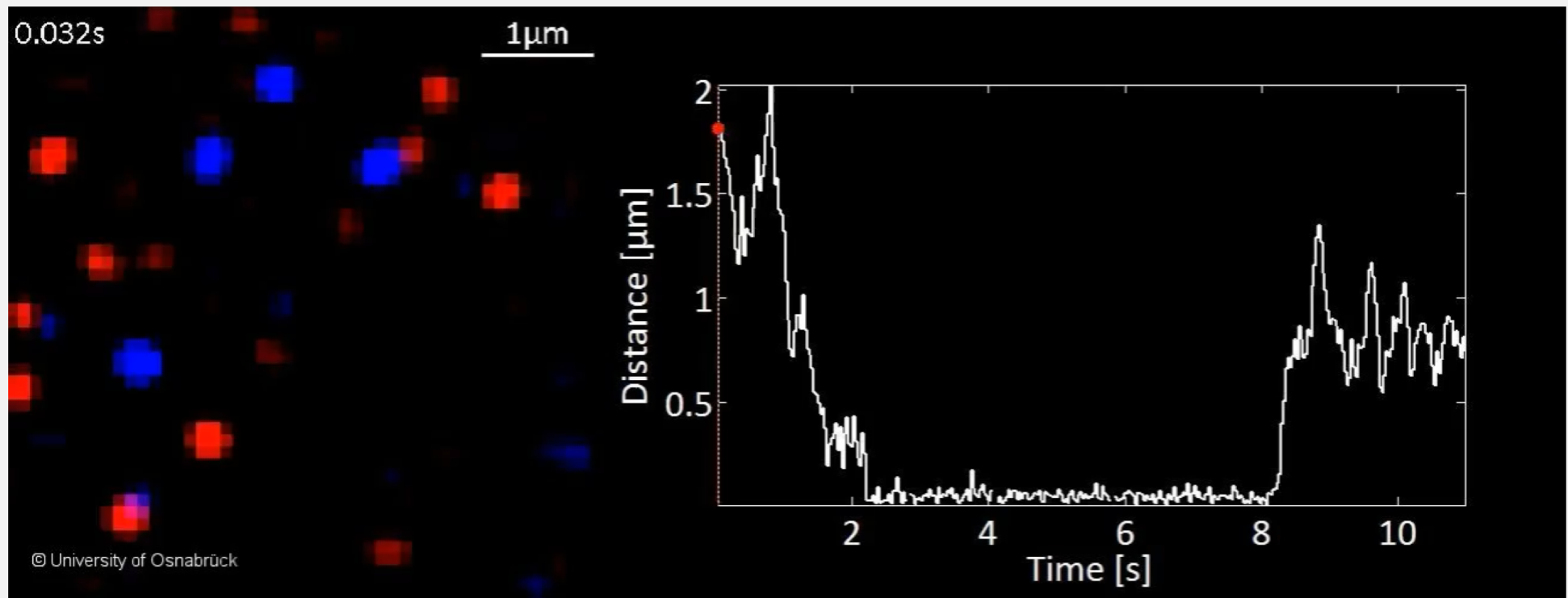


gélfestés

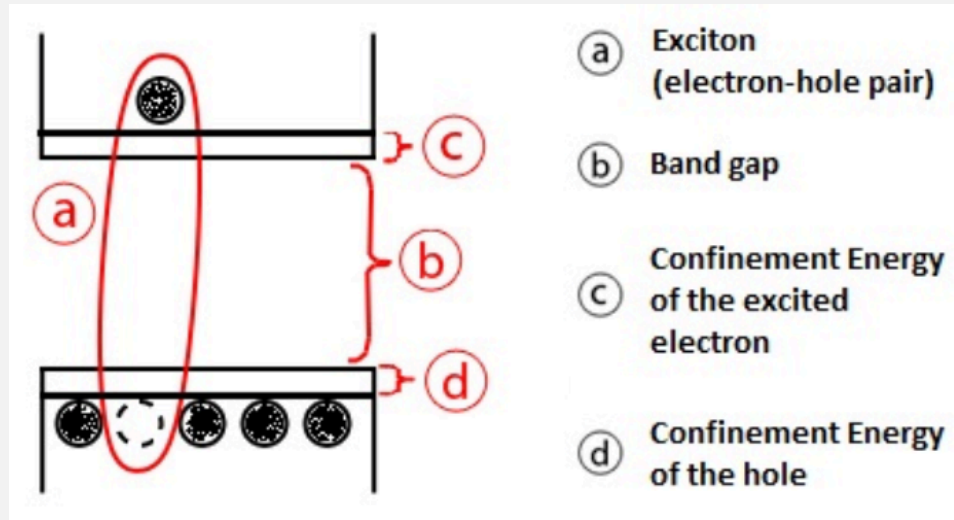


fluoreszcens állatmodell

Fluoreszcens fehérjék alkalmazása egyedi fehérjék kölcsönhatásának követésére



Fluoreszcens kvantumpöttyök (QD)



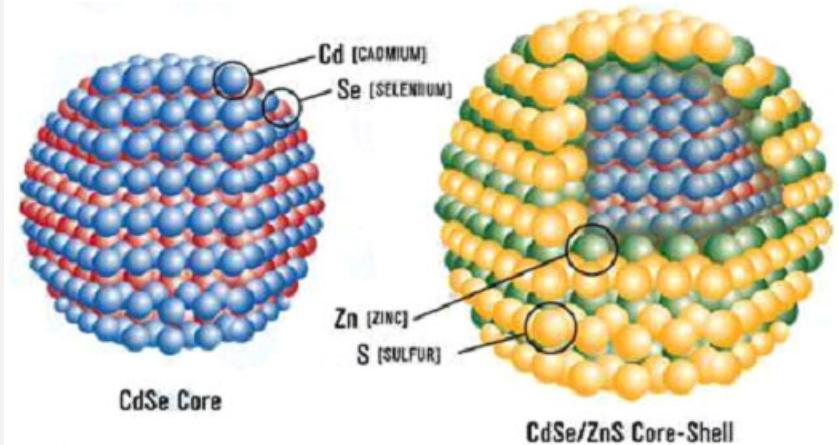
Félvezető anyagban elektron-lyuk vezetópárt hozunk létre, amelyet geometriai kényszerekkel szűk térrészbe zárunk (confinement). Az így csapdázott exciton energiaszintje a csapda méretével fordítottan arányos.

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

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

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

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



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)

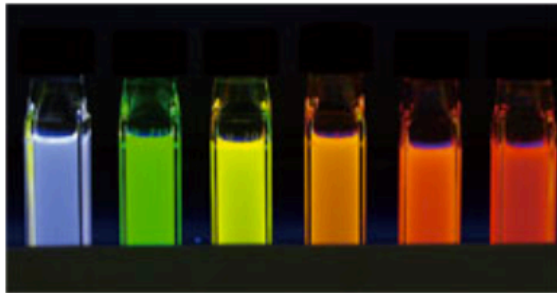
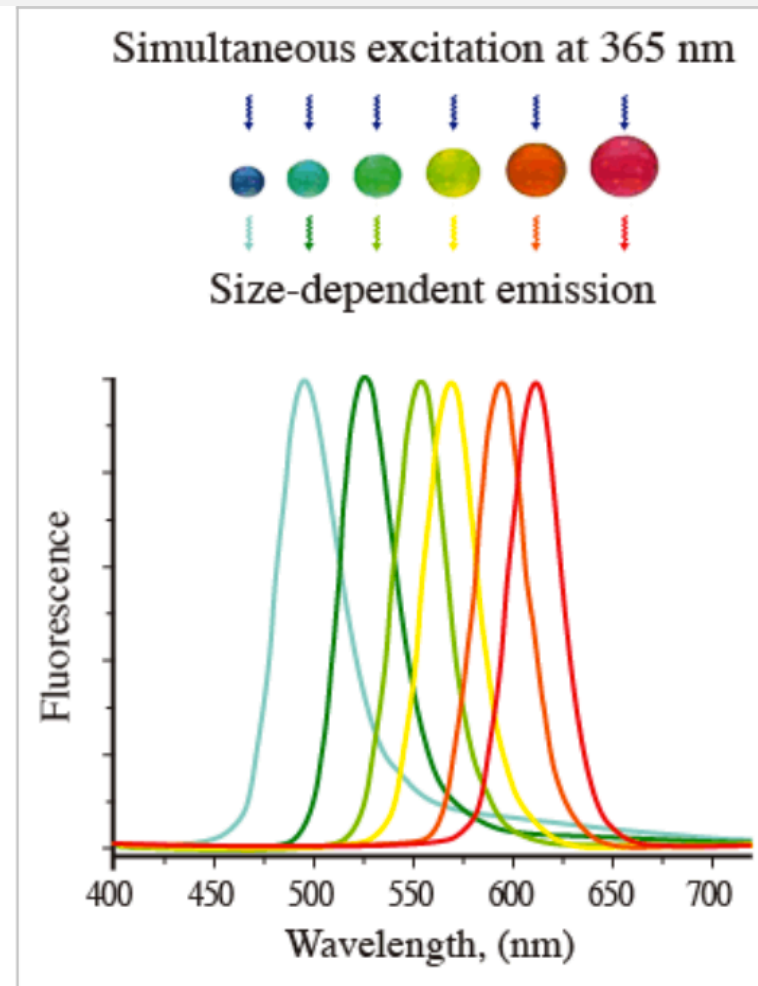


Figure 1: Fluorescence emitted from quantum dots. Blue fluorescence can be emitted from small particles of approximately 2 nm in diameter, green from ~3 nm particles, yellow from ~4 nm particles, and red from large particles of ~5 nm. The wavelength of the excitation light is 365 nm.

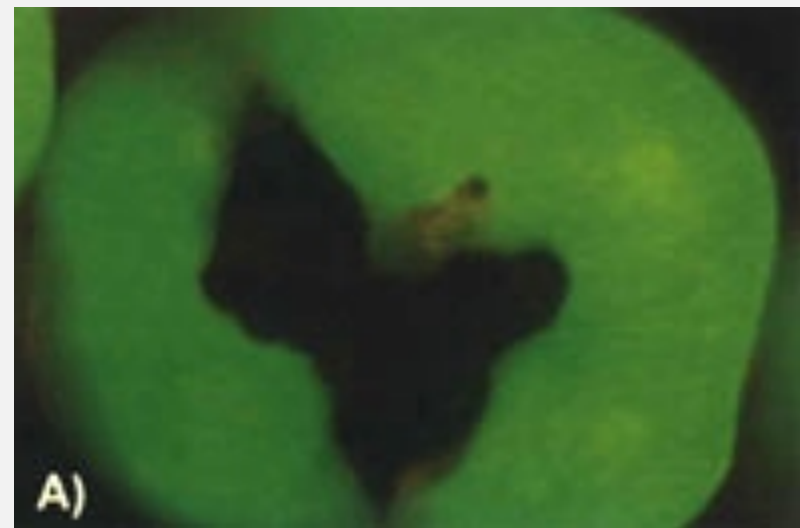
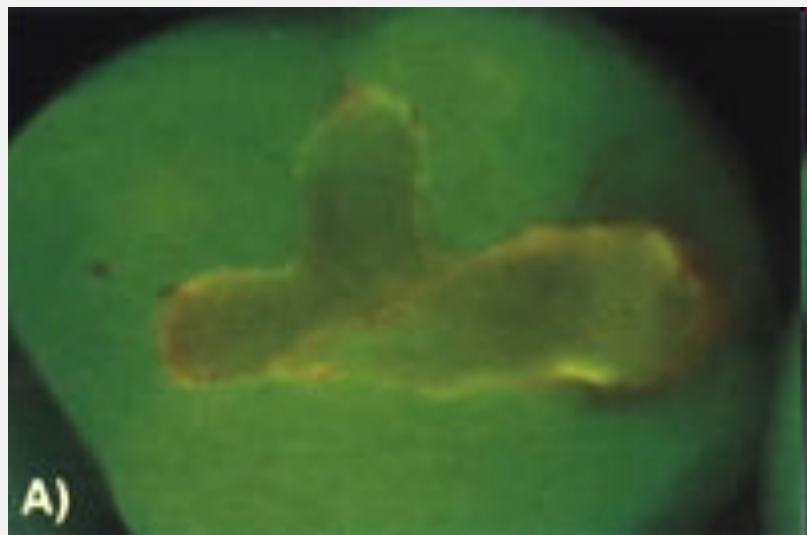
A gerjesztési spektrumok jól átfednek kb 400 nm-ig, tehát lehetséges egy hullámhosszon egy egész sorozat kvantumpöttyöt gerjeszteni.



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

Példák a fogorvosi alkalmazásra

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

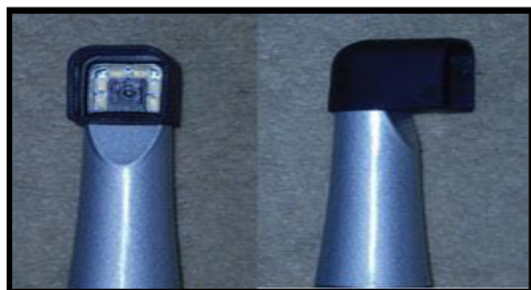
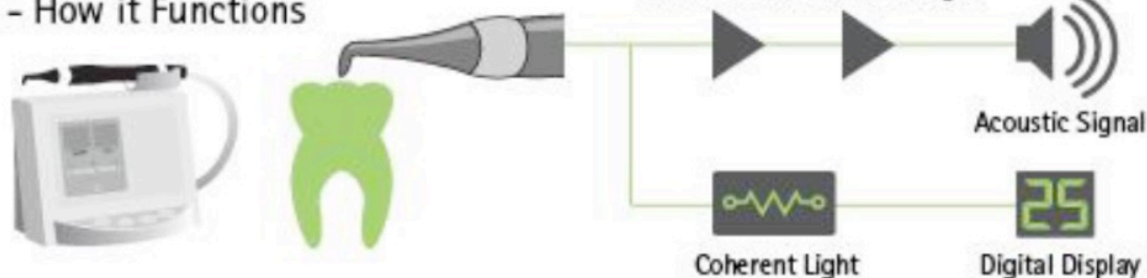


Figure (5) Spectra camera with spacer on (Kurtzman, 2010).

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

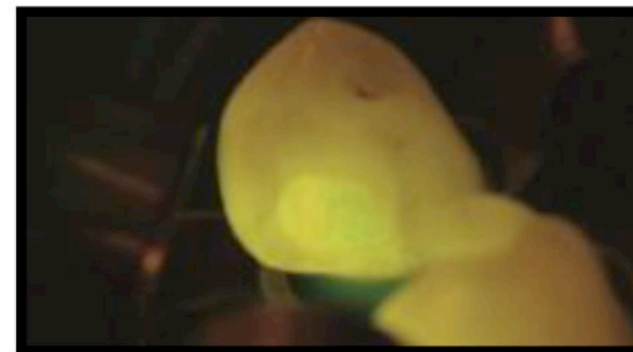
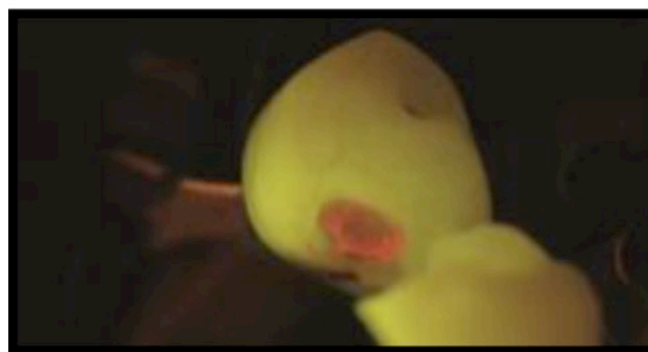
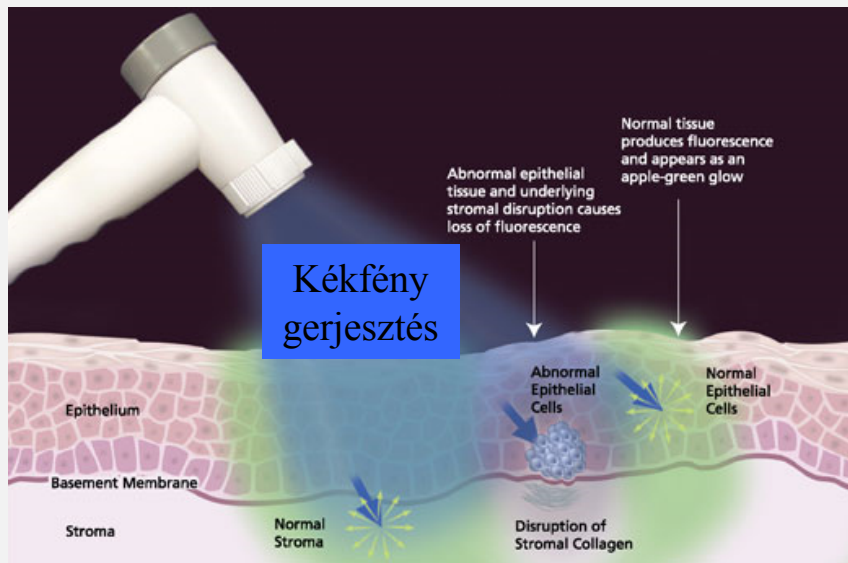
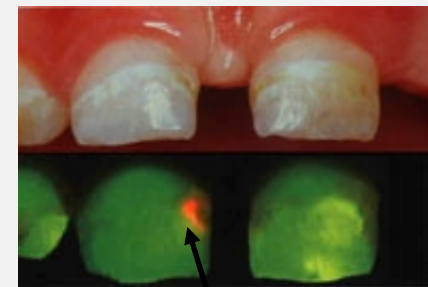


Figure (8) Photos showed cavity illumination with Facelight before and after caries excavation (21).



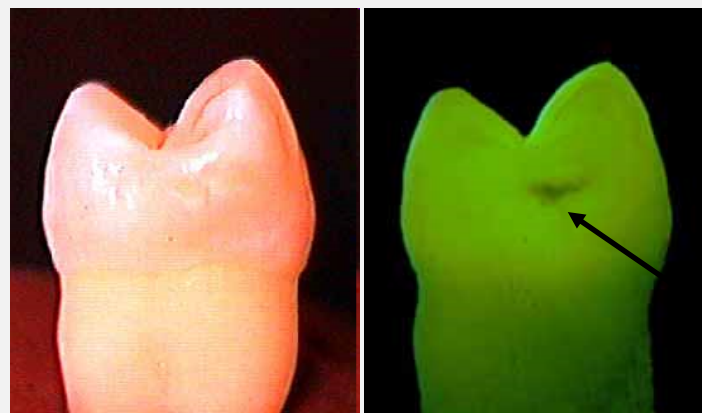
Kékfény
gerjesztés

Tejfogak felszíne
natív állapotban és fluoreszcens
festés után



Aktív caries

Egészséges és malignus szövetek eltérő
fluoreszcens tulajdonságai



Fog felszíne
natív állapotban és fluoreszcens festés után

*Kezdődő
caries*

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