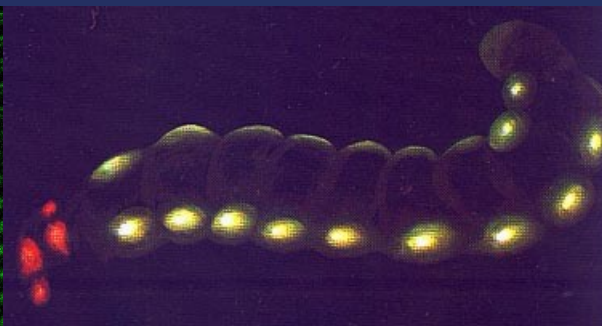
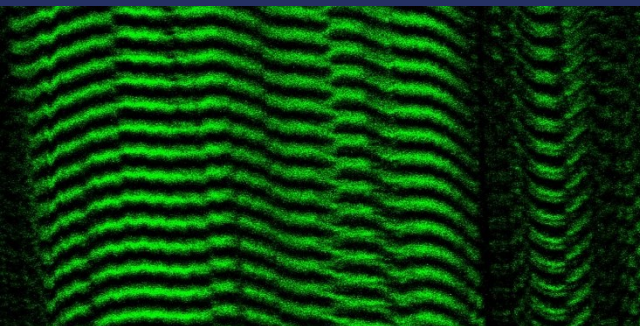
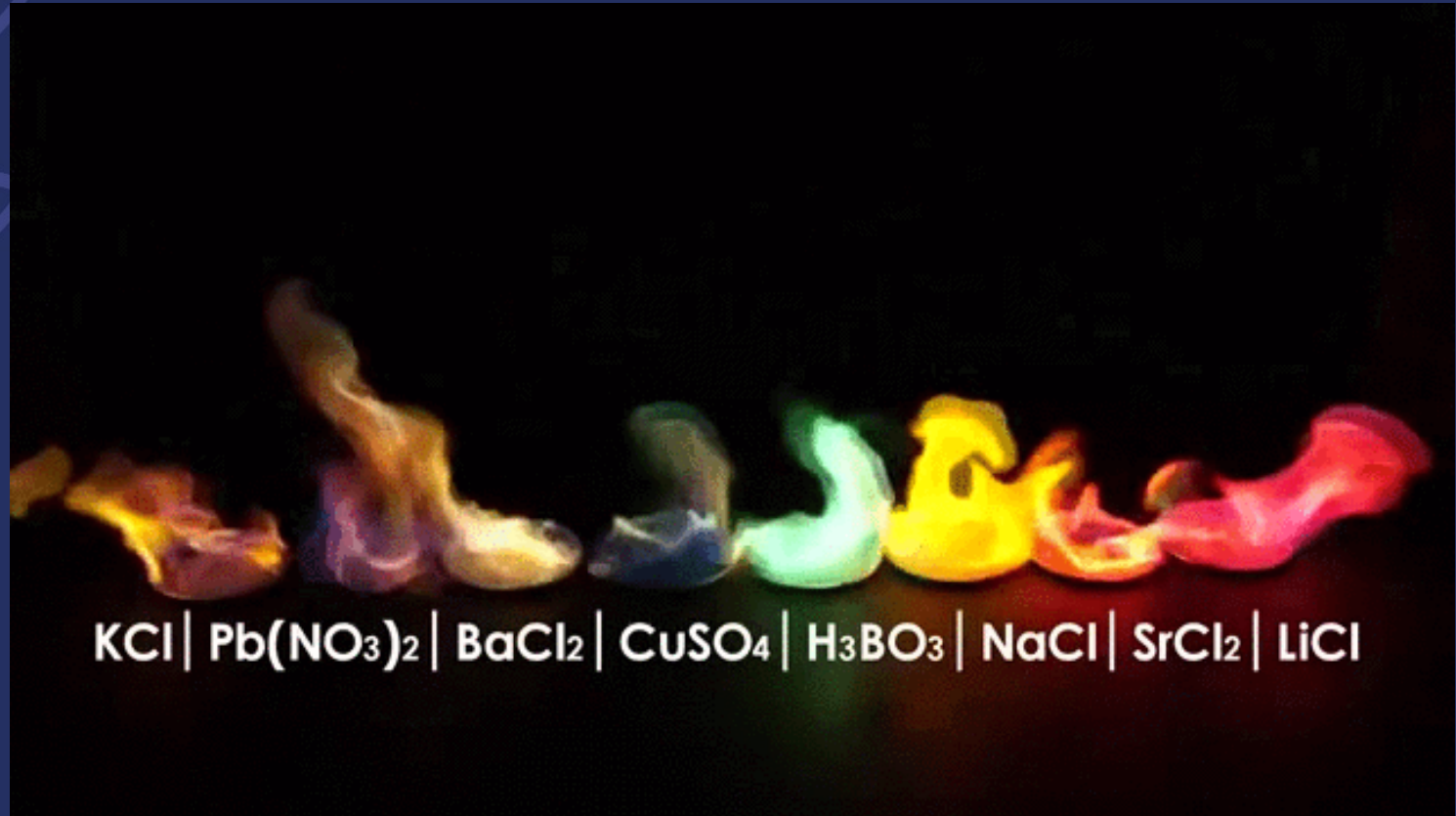


Lumineszenz und Anwendungen

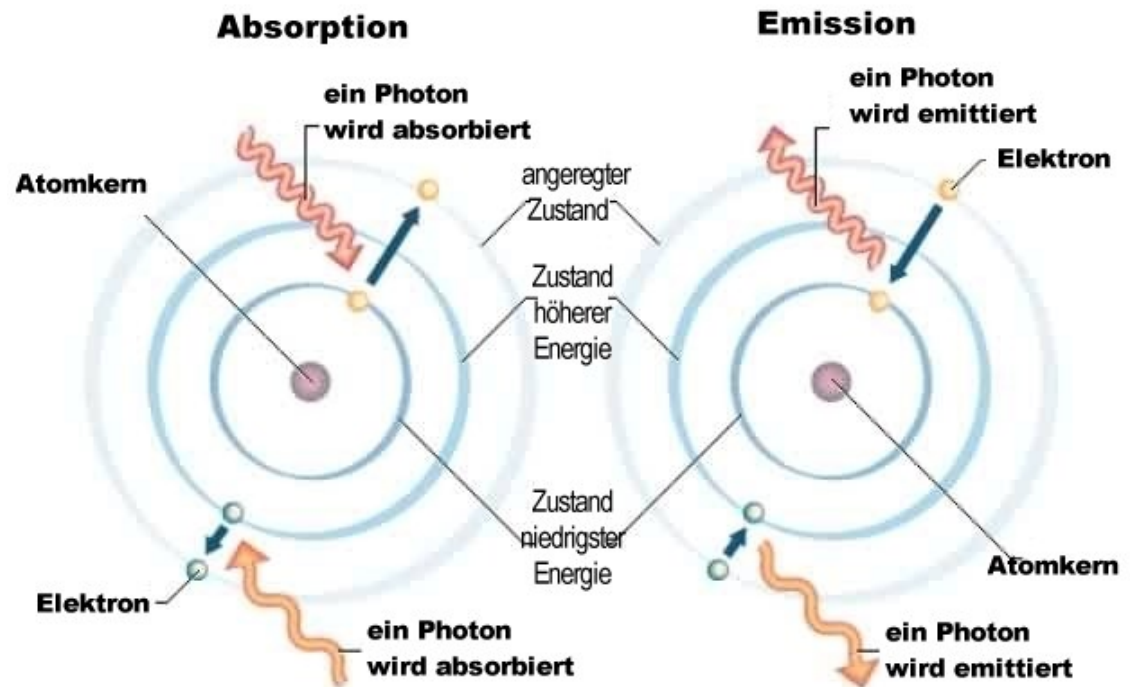
G.Schay



SEMMELWEIS
UNIVERSITY 1769

Lumineszenz: Lichtemissionsüberschuss eines Körpers im Vergleich zu seiner Temperaturstrahlung. Angeregte Elektronen kehren zum Grundzustand zurück und emittieren Photonen.

Atomare Grundlagen der Absorption und Emission



ohne Anregung ist der Grundzustand am meisten bevölkert

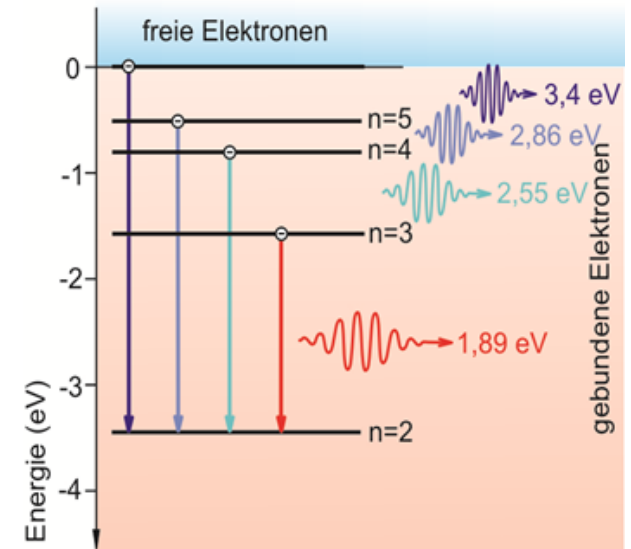
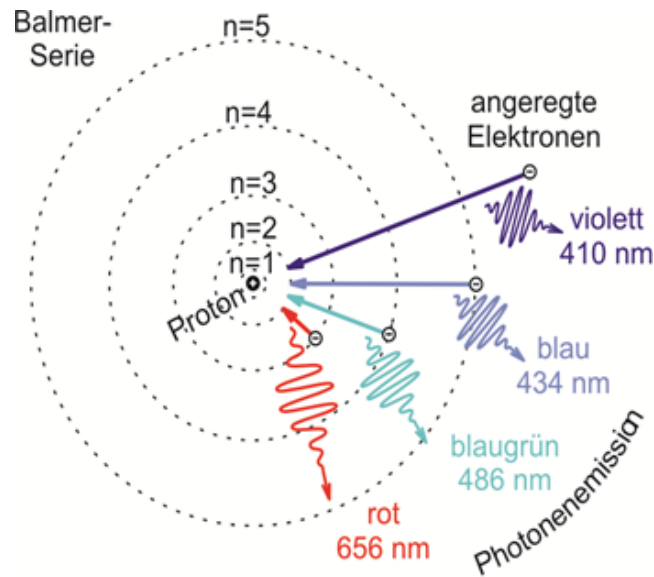
„angeregter Zustand“: alle Zustände höherer Energie

durch Aufnahme eines entsprechenden Energiequantens kann das Elektron in den angeregten Zustand gelangen

Energieniveaus der Elektronen

- die innere Energie eines Elektrons: bestimmt die benötigte Energie um frei zu werden
- die Elektronen sind nur auf bestimmten Energieniveaus (elektronische Zustände) vorhanden,
- die durch die Quantenzahlen eindeutig definiert sind
- ohne Anregung sind die niedrigsten Energieniveaus am meisten bevölkert

Wasserstoff-atom



Die Atome des Niederdruck-Wasserstoffgases bewegen sich unabhängig voneinander

Klassifizierung der Lumineszenz nach der Anregungsart

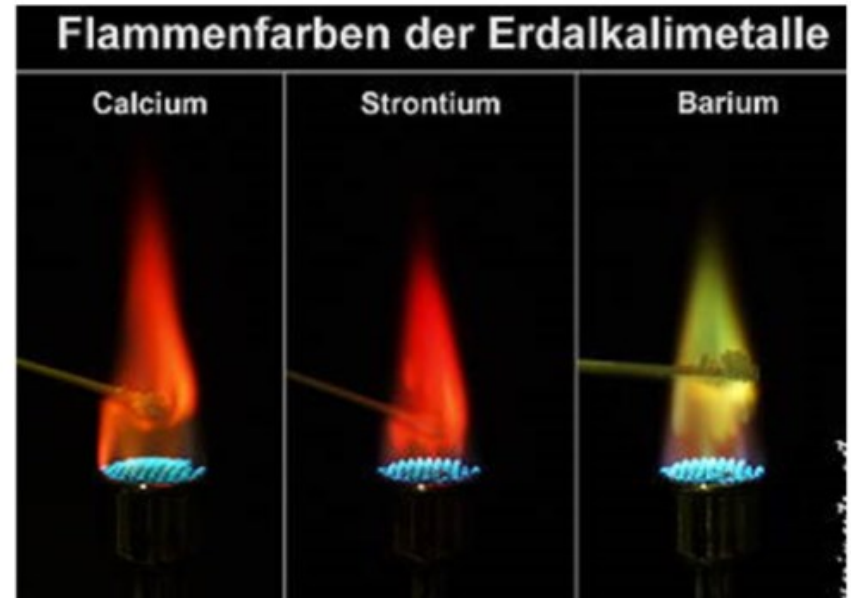
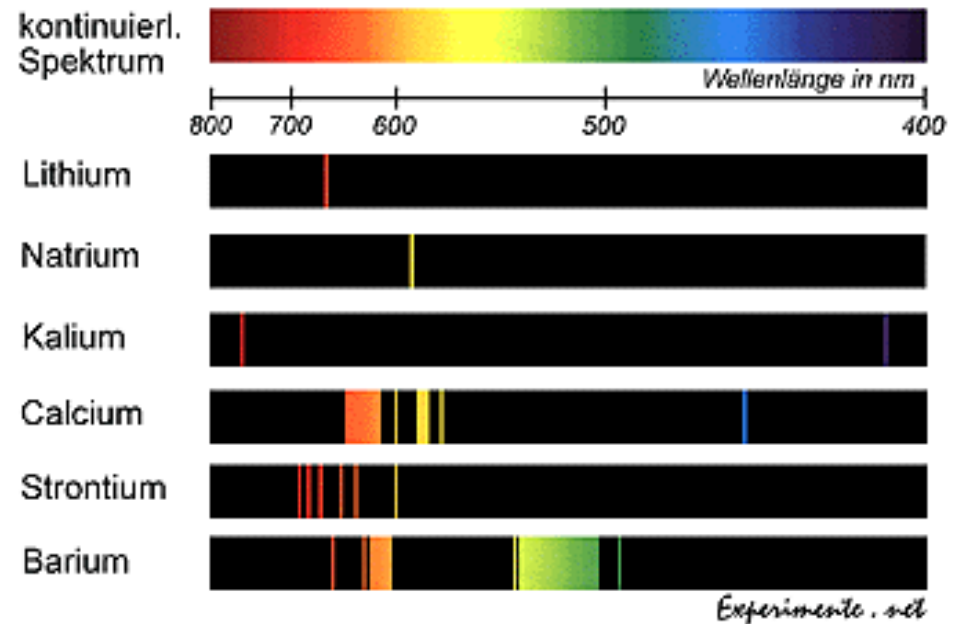
Art der Anregung	Name (-lumineszenz)	Beispiel
Licht	Photo-	Chinin-sulphat, Phosphor, ...
Wärme	Thermo-	CaSO ₄ (Dy)
Röntgenstrahlung	Röntgen-	NaI (Tl)
radioaktive Strahlung	Radio-	NaI (Tl)
elektrisches Feld	Elektro-	Quecksilberdampf- lampen, Leuchtdioden
Beschuss mit Elektronen	Kathodo-	Leuchtschicht einer Kathodenstrahlröhre
mechanische Wirkung	Tribo-	bei Zuckerkristallen
chemische Reaktion	Chemi-	Luminol zum Nachweis von Blut
chemische Reaktion in lebenden Organismen	Bio-	Glühwürmchen, Oxidation von Luciferin im Leuchtkäfer



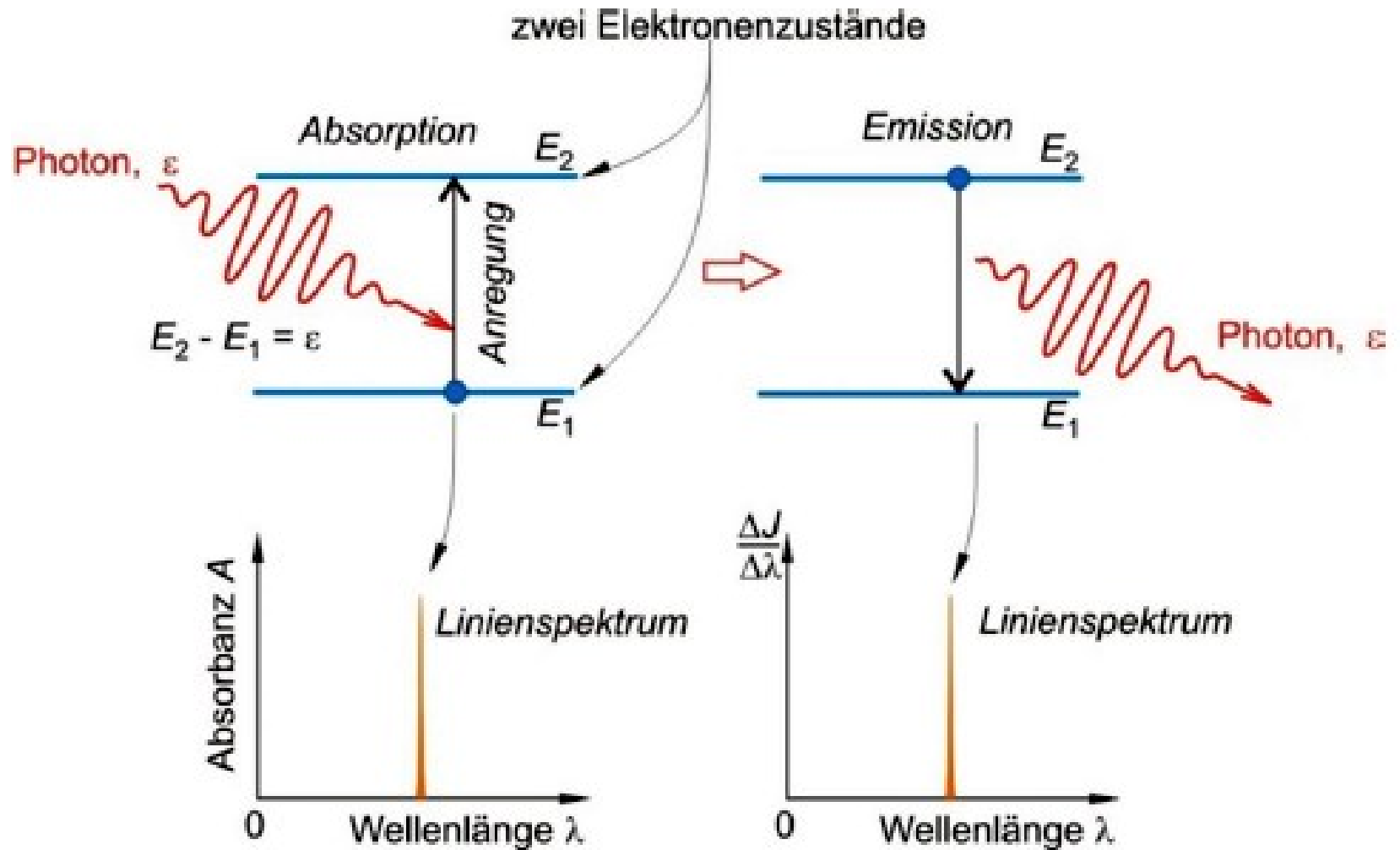
Thermolumineszenz, Flammenfärbung

Energieumwandlung kommt durch Valenzelektronen zustande, die durch die Wärmeenergie in einen angeregten Zustand gehoben werden und unter der Abgabe von Licht wieder zurückfallen.

Linienpektren der Alkali- und Erdalkalimetalle



Photolumineszenz

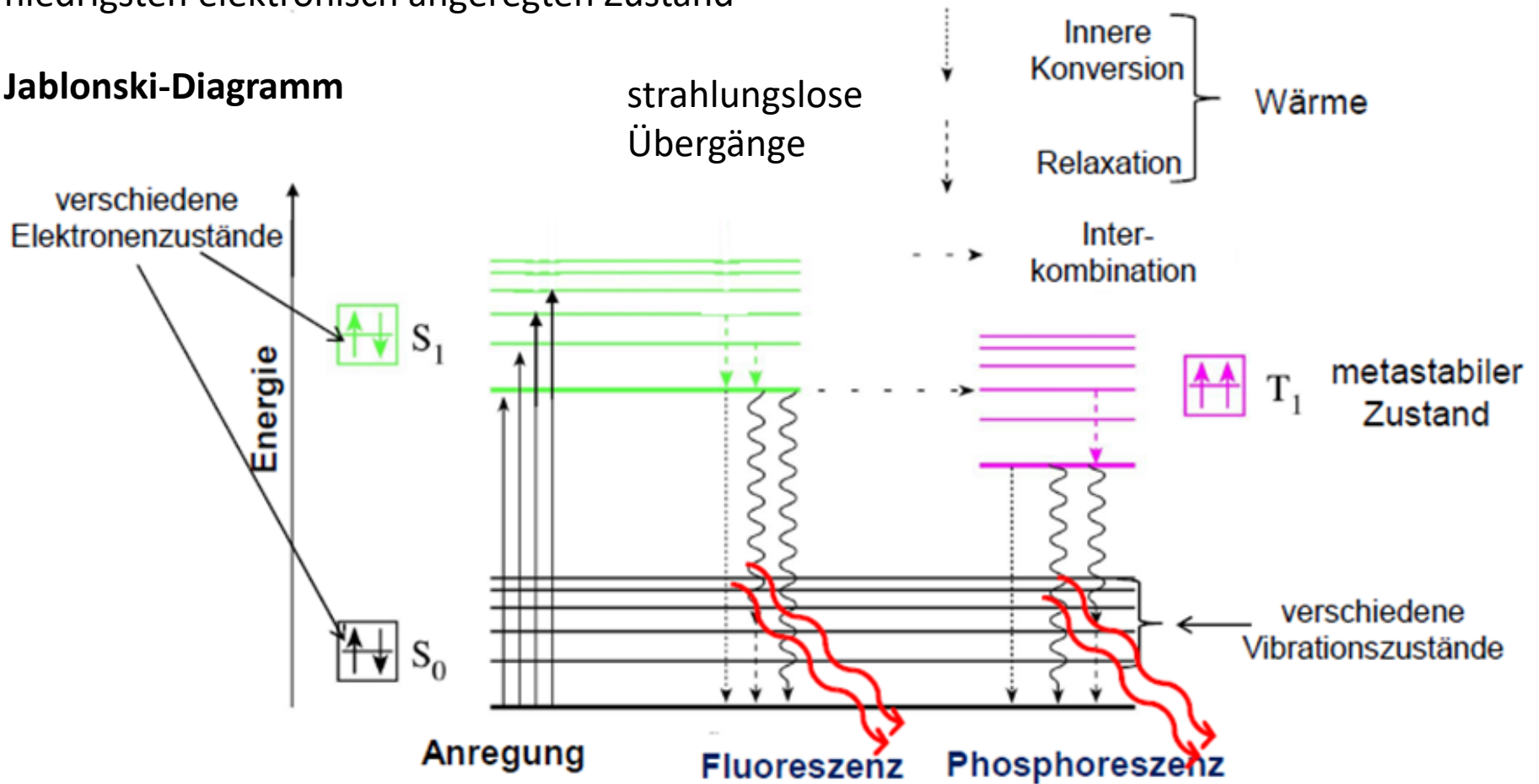


Photolumineszenz von Molekülen

Energie: $E_{\text{Molekül}} = E_{\text{Elektron}} + E_{\text{Vibration}} (+ E_{\text{Rotation}})$

Kasha-Regel: das Elektron gelangt immer auf das niedrigste Vibrationsniveau des ersten angeregten Zustands und die Emission eines Photons stammt aus diesem niedrigsten elektronisch angeregten Zustand

Jablonski-Diagramm



S_i : Singulettzustand

T_i : Triplettzustand

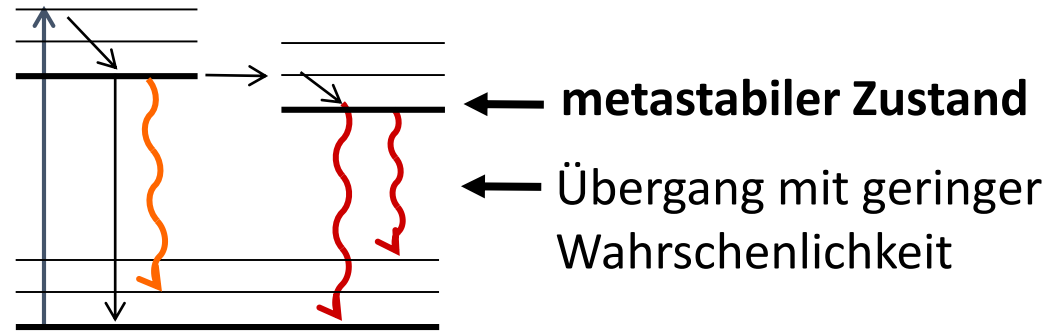
Photolumineszenz: Fluoreszenz und Phosphoreszenz

angeregter
Zustand

Anregung

z.B. Absorption

Grundzustand



Fluoreszenz **Phosphoreszenz**

z. B. Tryptophan:

Stokes-
Verschiebung

$$\bar{\epsilon}_{\text{phos}} \leq \bar{\epsilon}_{\text{fluo}} \leq \bar{\epsilon}_{\text{abs}}$$

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

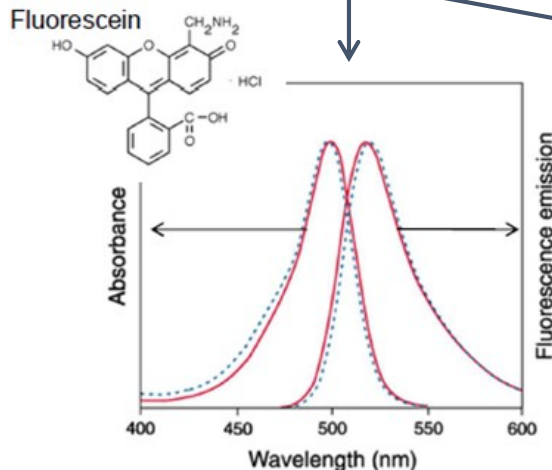
$$\bar{\lambda}_{\text{abs}} \leq \bar{\lambda}_{\text{fluo}} \leq \bar{\lambda}_{\text{phos}}$$

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

$$\tau_{\text{fluo}} \ll \tau_{\text{phos}}$$

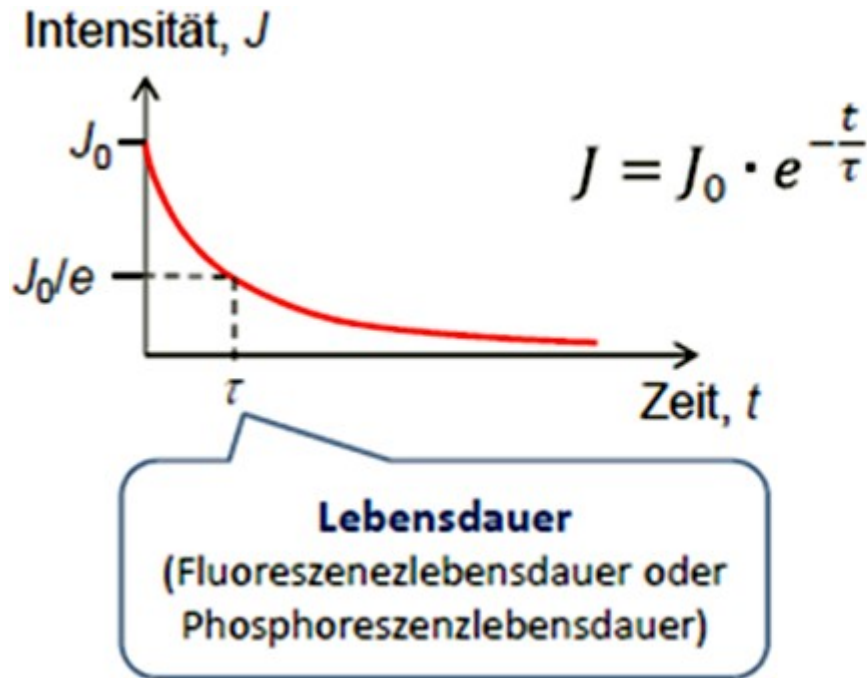
$$\tau_{\text{fluo}} = 0,1 - 5 \text{ ns}$$

$$\tau_{\text{phos}} = \mu\text{s} - \text{s}$$



Eigenschaften des Lichtes

exponentielles Abklingen in der Zeit nach einer kurzzeitigen impulsförmigen Anregung



$$\tau_{\text{fluo}} < \tau_{\text{phos}}$$

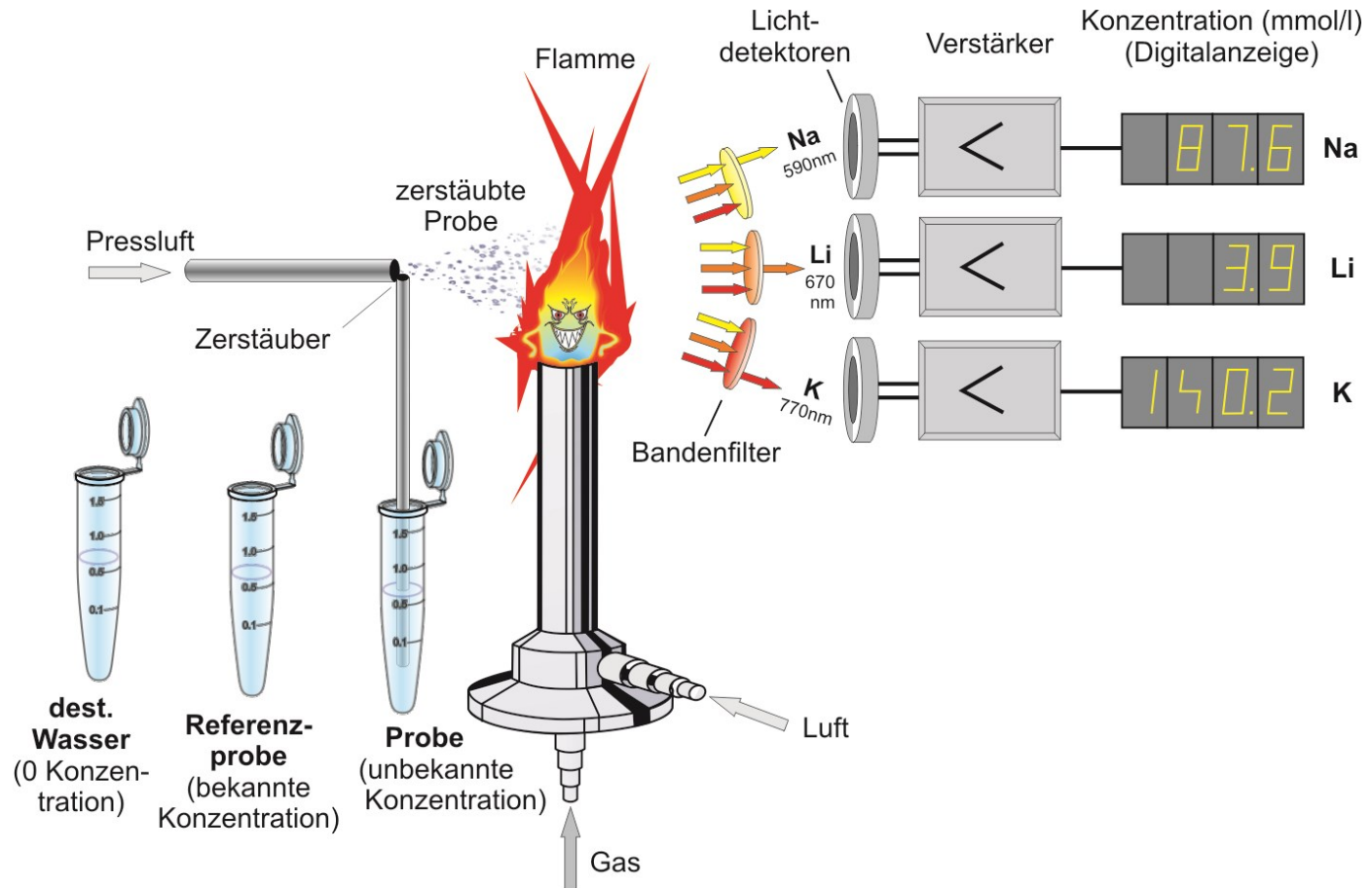
$\approx \text{ns}$ $\approx \mu\text{s} - \text{s}$

Quantenausbeute: das Verhältnis zwischen der Anzahl der emittierten Photonen und der Anzahl der absorbierten Photonen

$$Q_{\text{Fluoreszenz}} = \frac{n_{\text{Photonen,emittiert}}}{n_{\text{Photonen,absorbiert}}} \leq 1$$

Anwendungen

Labordiagnostik

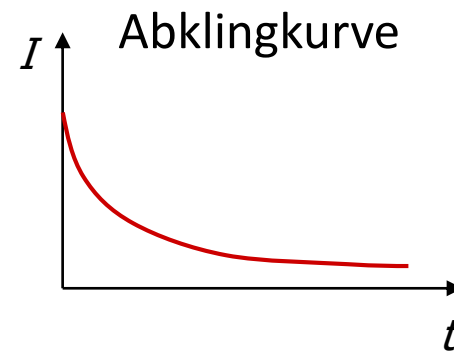
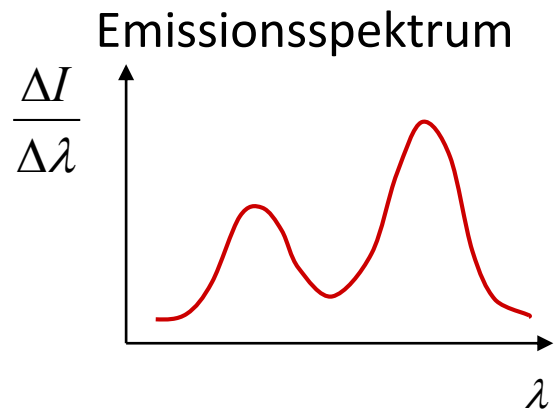
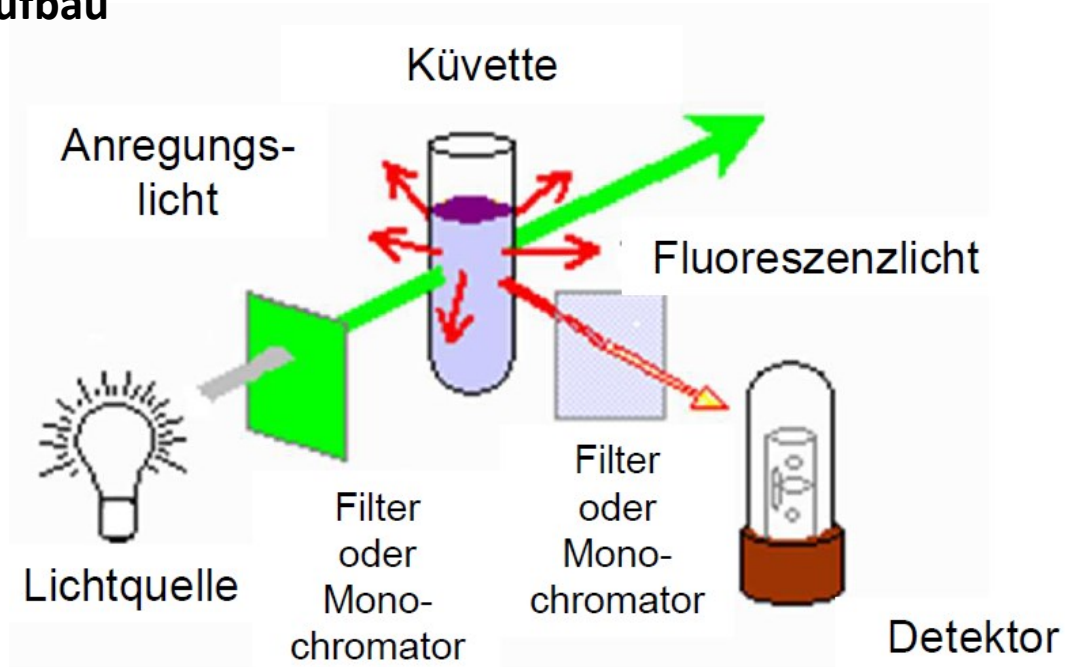


Konzentrationsbestimmung von Na, K, Li, ... mit Hilfe des Flammenphotometers

Fluorimeter

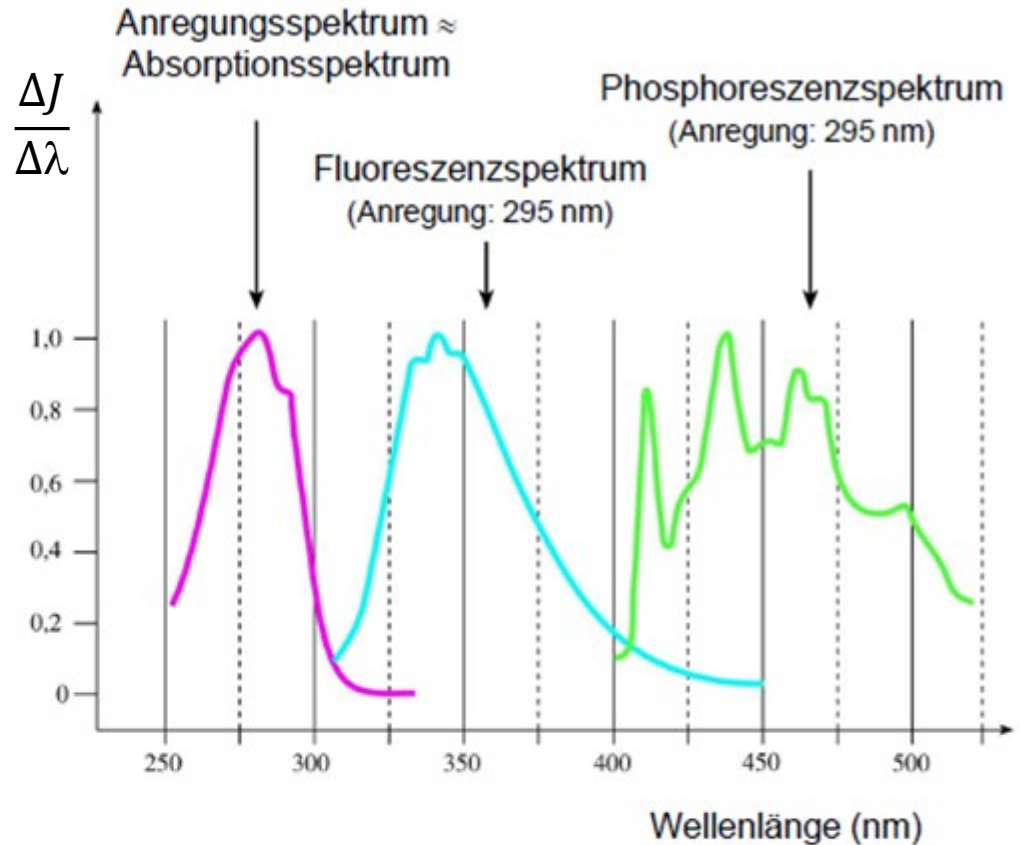
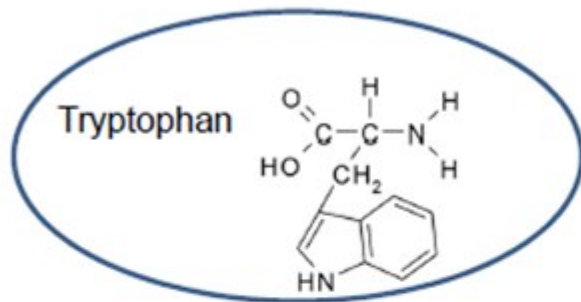
Aufbau

ein Gerät



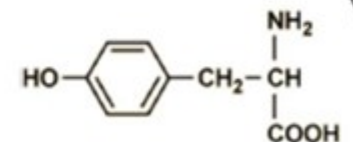
Fluoreszenzspektroskopie

z.B. Proteinforschung

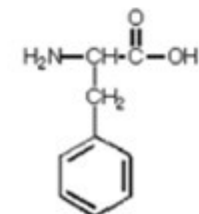


Die Eigenschaften des Lumineszenzlichtes (Intensität, spektrale Verteilung, Stokes-Verschiebung, Lebensdauer, ...) sind sehr empfindlich gegen der Umgebung, Molekülkonformation, Änderungen in diesen, ...

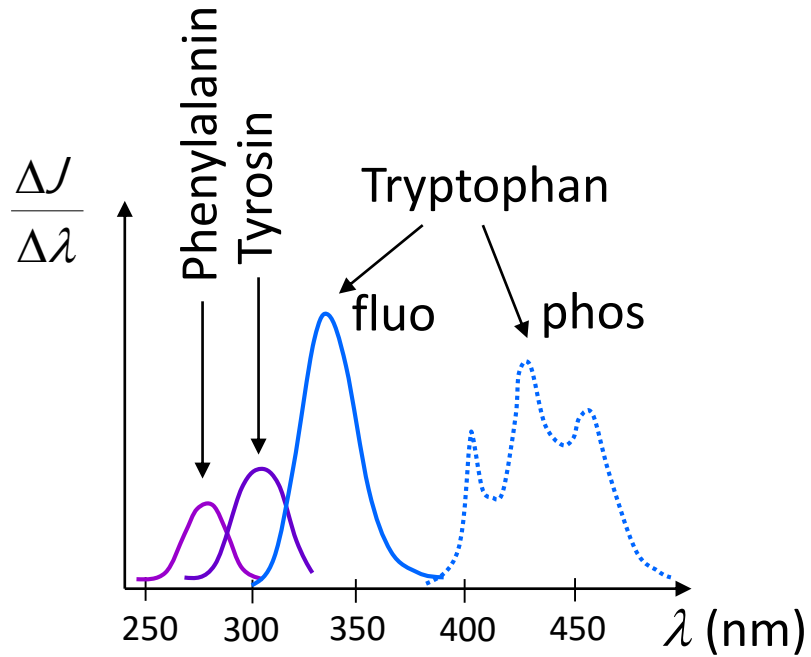
Tyrosin



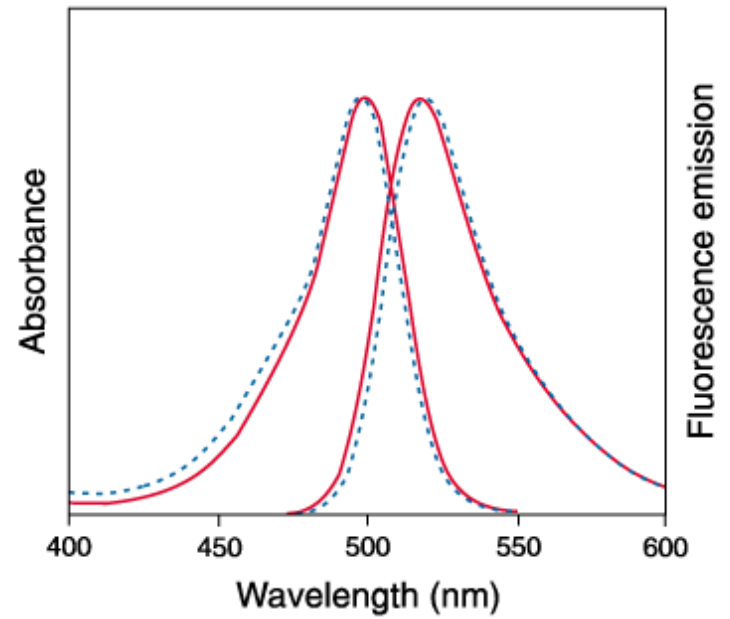
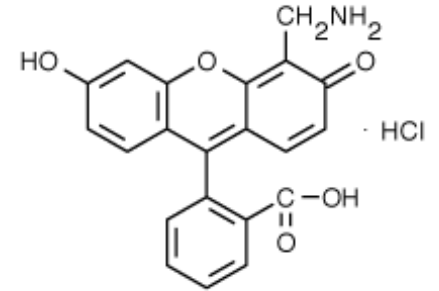
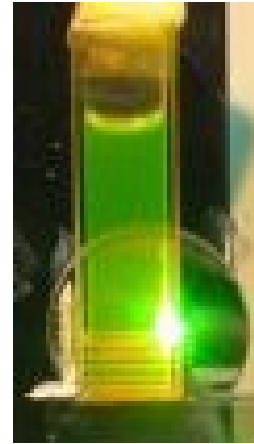
Phenylalanin



Beispiele:



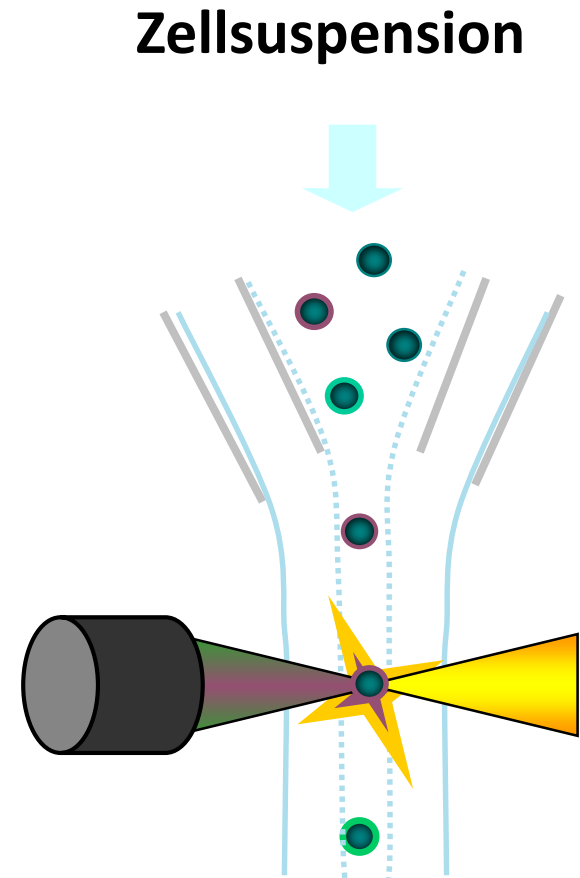
Fluorescein



FACS: Fluorescence Activated Cell Sorting

eine Art der **Durchflusszytometrie (Flow Cytometry)**

- (meistens) Blutzellen werden fluoreszierend gemacht, und die Fluoreszenz von jeder einzelnen Zelle gemessen
- sehr genaue Bestimmung des Blutbildes, der Weissblutzellenzusammensetzung und des Zustandes des Immunsystems



FRET: Förster/Fluoreszenz-Resonanzenergietransfer

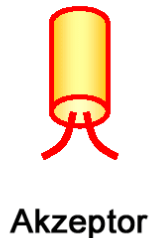
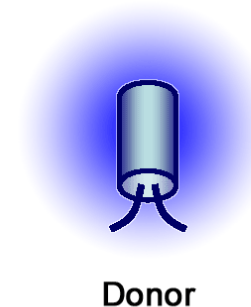
die Energie eines angeregten Farbstoffs (D) wird auf einen zweiten Farbstoff (A) übertragen

die Energie wird dabei strahlungsfrei ausgetauscht

Nachweis der Proximität zweier Moleküle

„molekulares Messband“:

Distanzbestimmung in molekularen Größen möglich

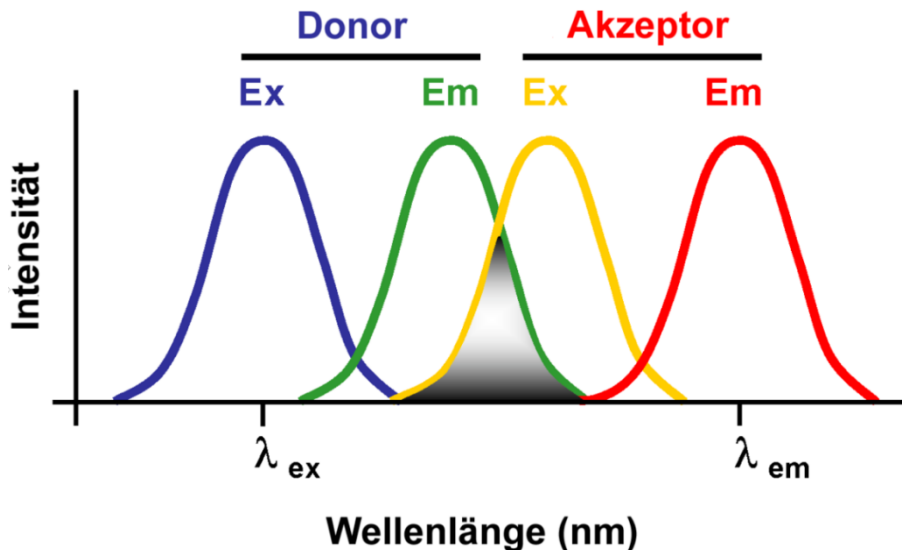


$$\text{Effizienz} = \frac{1}{1 + \left(\frac{R}{R_0}\right)^6}$$

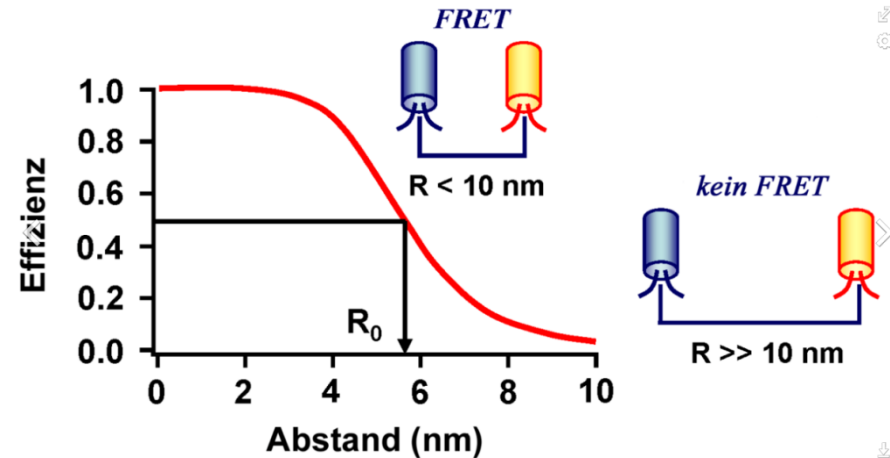
R_0 (Förster-Radius) entspricht dem Abstand zwischen beiden Farbstoffen, bei dem die Energieübertragung zu 50 % erfolgt (für jedes Fluorophorpaar anders)

Voraussetzungen für FRET

Spektrum. Überlappung der Spektren von Donoremission und Akzeptorabsorption



Abstand < 10 nm

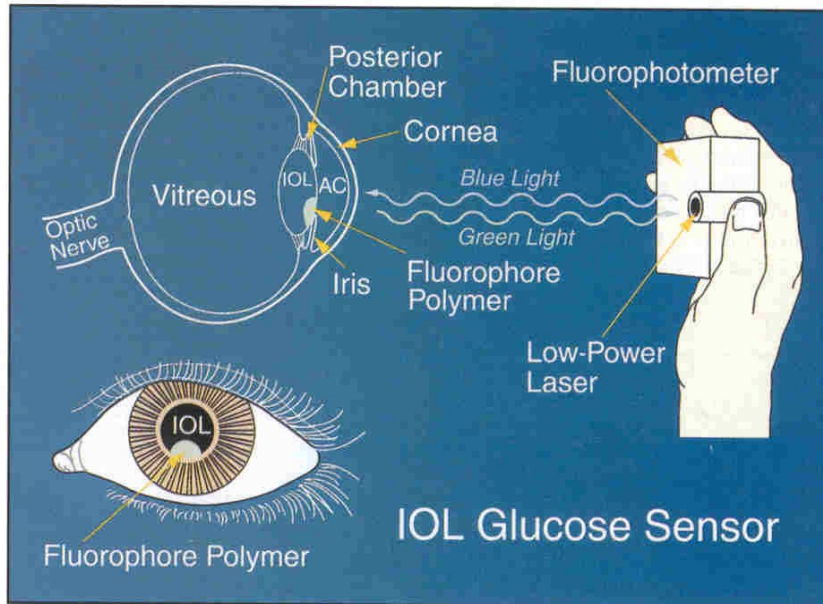


Orientierung

D- und A-Farbstoff sollten möglichst parallele elektronische Schwingungsebenen haben

Biosensoren

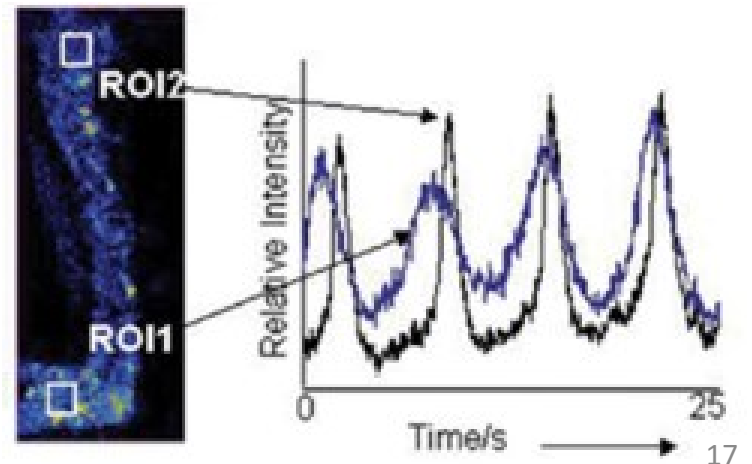
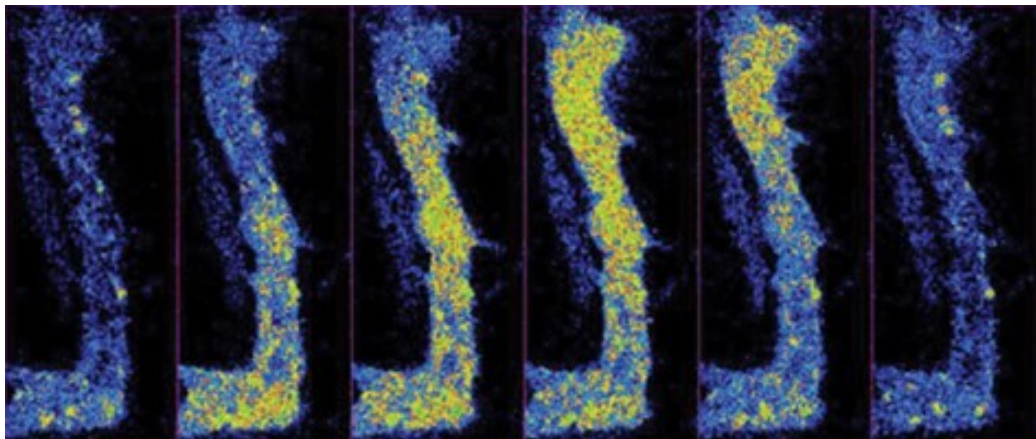
Glukosesensor



Sauerstoffsensor



Calciumsensor, Calciumwelle



Lumineszenz-Mikroskopie, Fluoreszenzmikroskopie

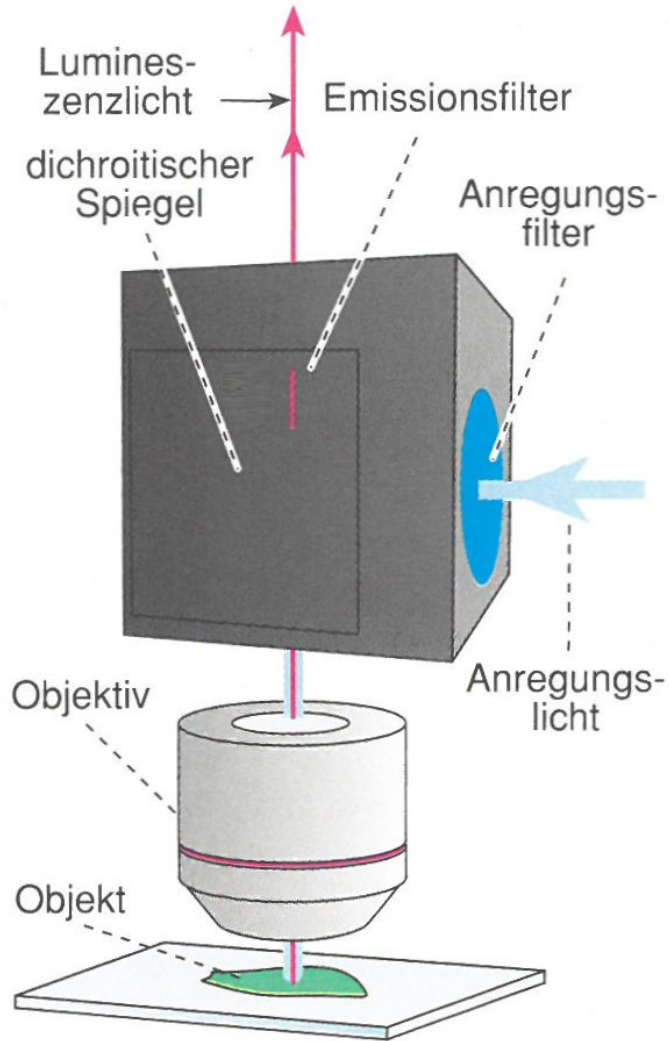


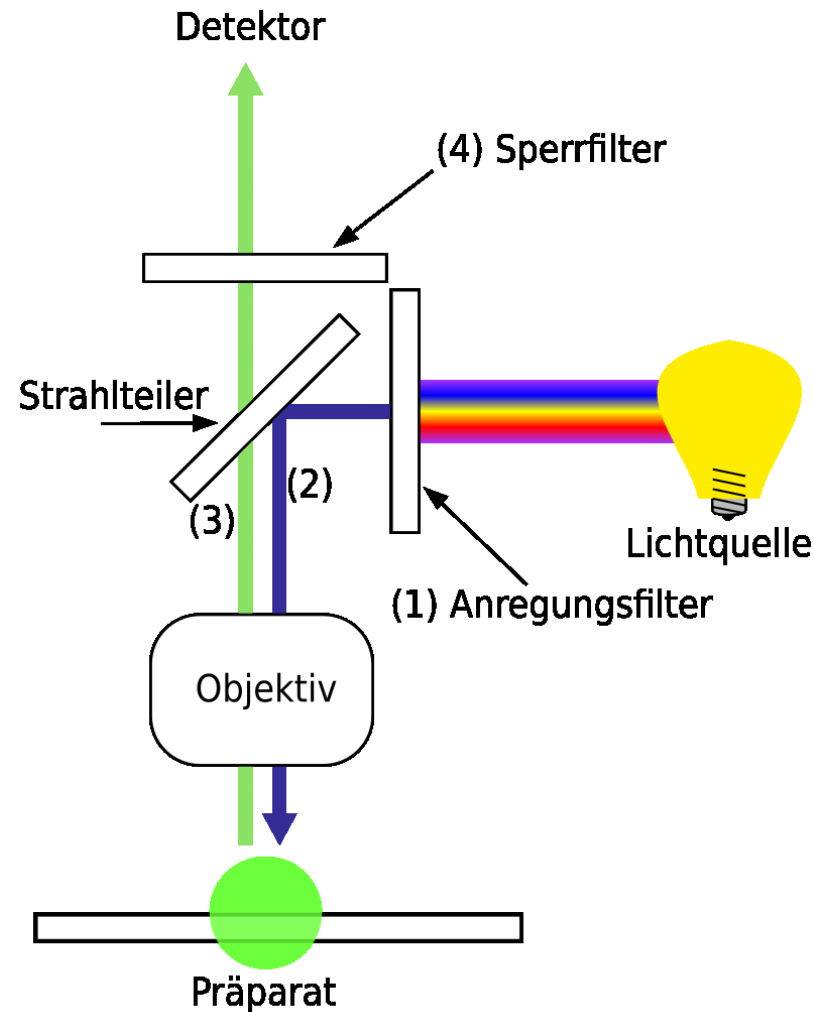
Abb. VI.13. Epifluoreszenz-Anordnung
(Biophysik Lehrbuch)

UV/VIS Lampe

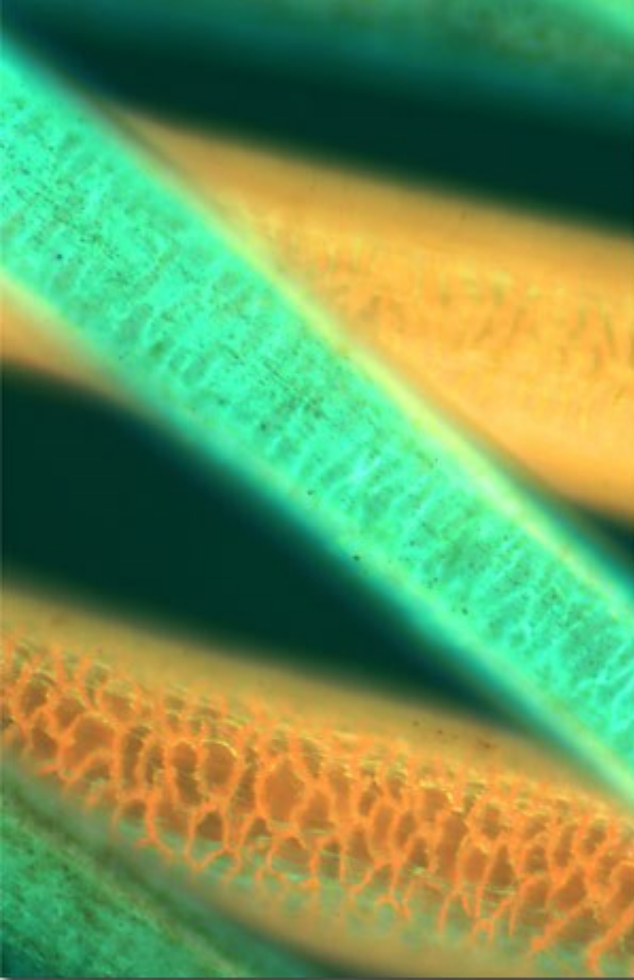
Quartzoptik

Präparat:

- nativ
- gefärbt

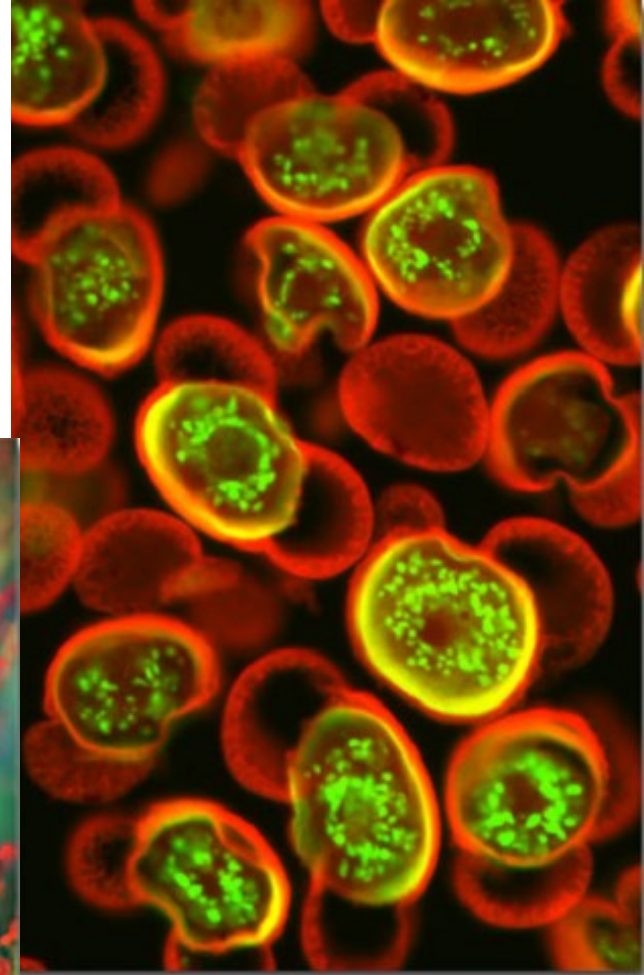
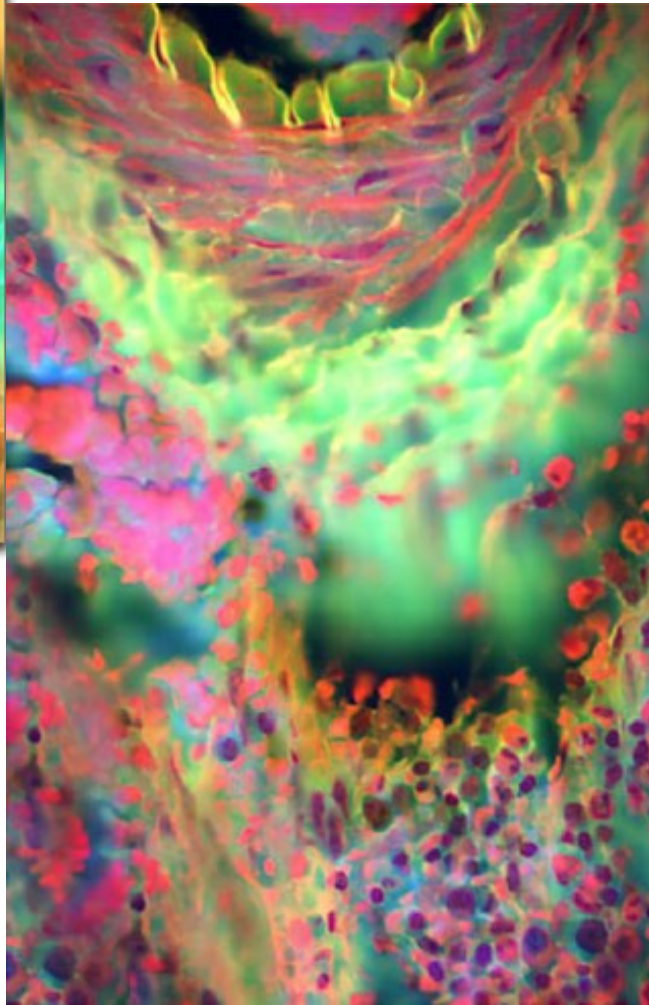


Schema eines Epifluoreszenzmikroskops
(Wikipedia)



Bauchhaar des
japanischen Ponys

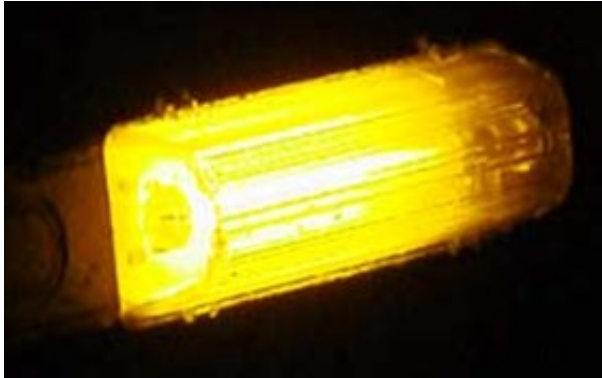
Knochengewebe



Pollen der
Kiefer

Lampen

Natriumlampe 590 nm



Blaulichttherapie von
Neugeborengelbsucht

430-490 nm



Leuchtröhren



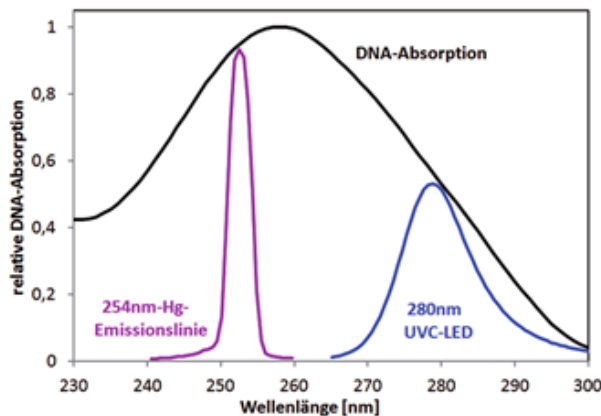
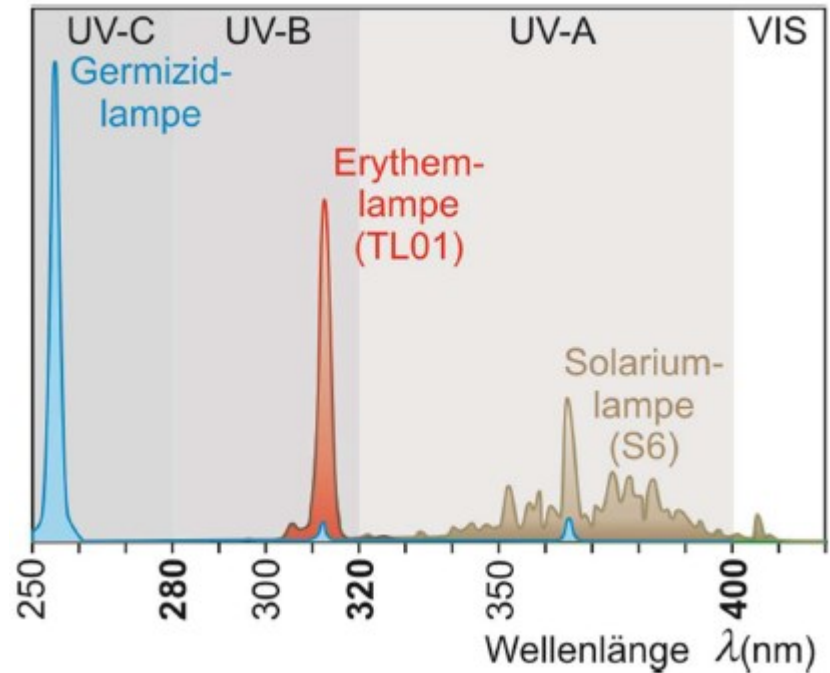


Germizidlampe



$$\frac{\Delta J}{\Delta \lambda}$$

Quecksilberdampf lampen

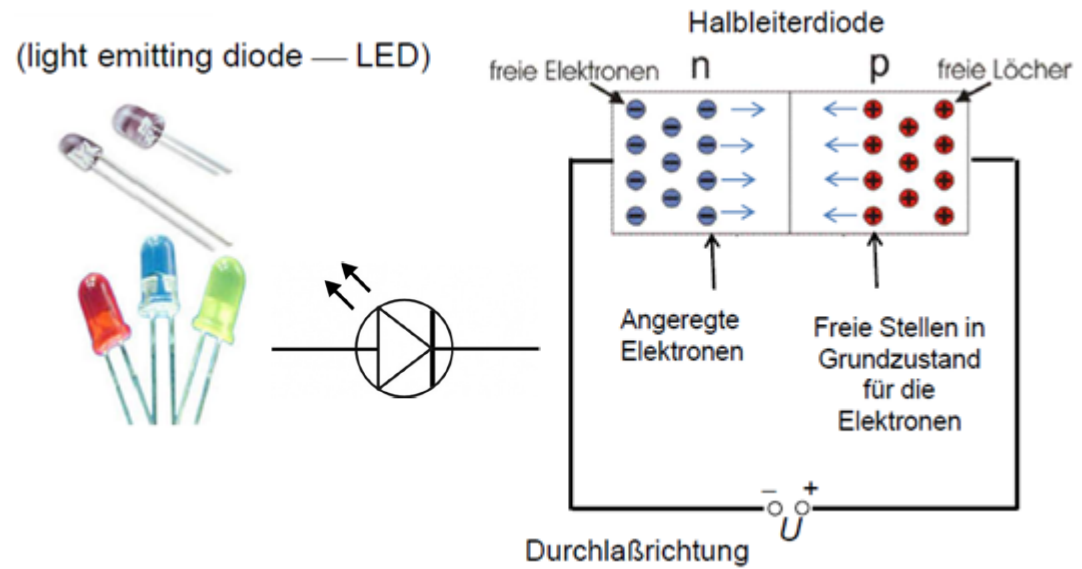


s. Absorptionsspektrum von DNA \Rightarrow Bakterizidwirkung (Entkeimung in OP-Räumen)

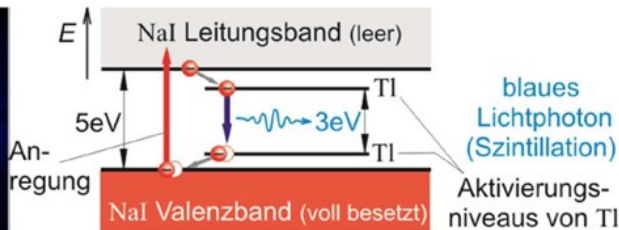
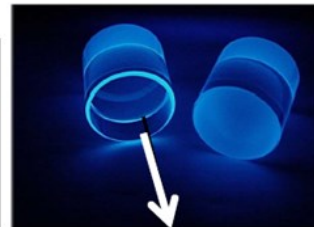


Quartzlampe, Solariumlampe

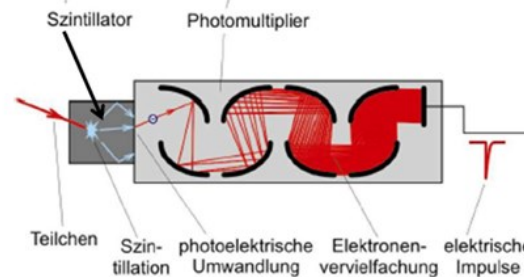
Leuchtdioden



z. B. NaI(Tl)

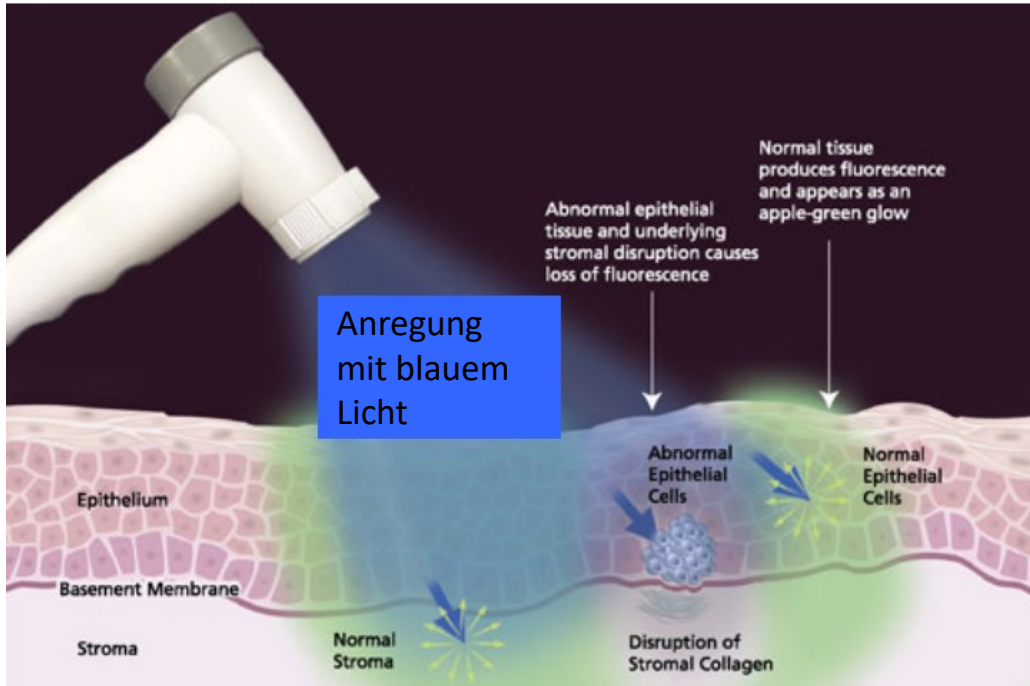


Strahlungsdetektoren

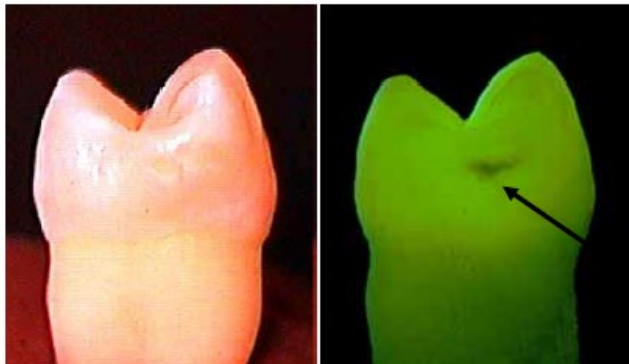


(s. noch Thermolumineszenzdosimeter)

Anwendungen in der Zahnheilkunde



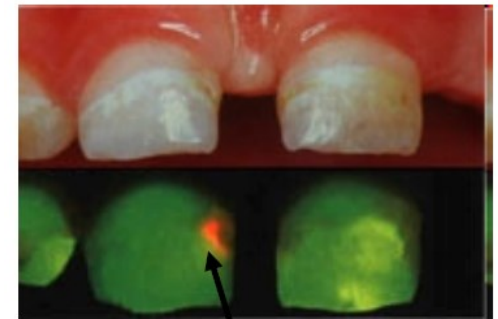
unterschiedliche Fluoreszenzeigenschaften
von gesunden und malignen Geweben



Zahnoberfläche
im nativen Zustand und nach
Fluoreszenzfärbung

sondierbare Karies

Oberfläche der
Milchzähne im nativen
Zustand und nach
Fluoreszenzfärbung



aktive Karies