

Chemiluminescence, fluorescence

Miroslava Beňovská

Druhy luminiscence

Luminiscence vzniká po dodání energie v různé podobě

- **Fotoluminiscence** – luminiscence je vyvolána elektromagnetickým zářením (zářivky) - do této kategorie patří **fluorescence** a **fosforescence**
- **Chemiluminiscence** – luminiscence je vyvolána chemickou reakcí (sem patří také bioluminiscence, kdy je emise světelného záření vytvořena živými organismy – světlušky, medúzy)
- **Elektroluminiscence** – luminiscence je vyvolána elektrickým polem (reklamní panely, nouzové osvětlení)
- **Katodoluminiscence** – luminiscence je vyvolána dopadajícími elektrony (stínítko televizní obrazovky).
- **Termoluminiscence** – luminiscence je vyvolána vzrůstem teploty po předchozím dodání energie
- **Radioluminiscence** – luminiscence je vyvolána působením radioaktivního záření
- **Triboluminiscence** – luminiscence je vyvolána působením tlaku (při deformaci tělesa)
- **Sonoluminiscence** - vyvolána dopadem ultrazvuku

Fotoluminiscence

- Podle délky trvání ► **fluorescence**
► **fosforescence**
- Dochází k ní vlivem absorpce energie dopadajícího světelného záření
- Pokud po odstranění zdroje ozařování rychle vymizí ► fluorescence
- Pokud přetrvává (doznívá) i po odstranění zdroje ozařování ► fosforescence

Fotoluminiscence



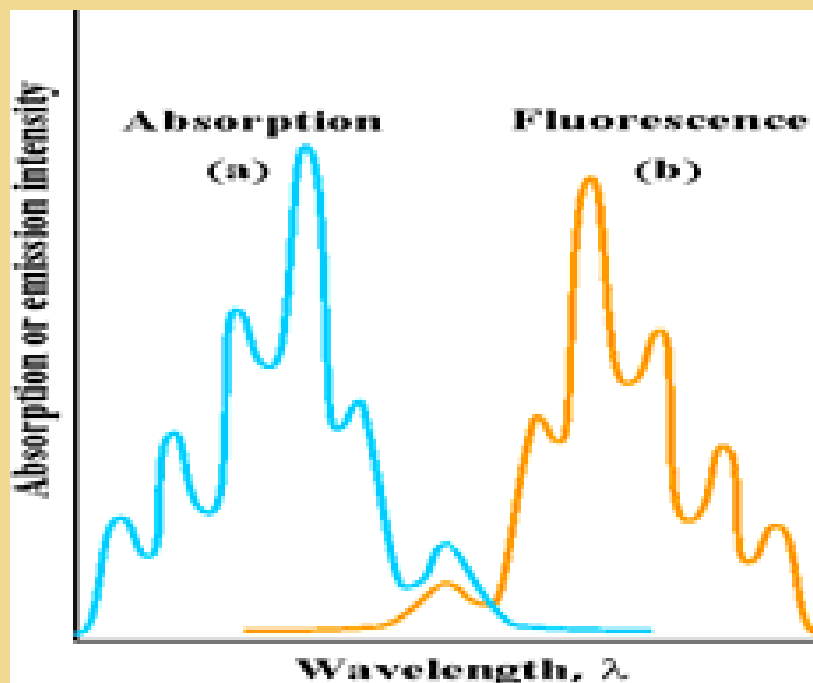
X a X^* je základní a excitovaný stav molekuly
 $h\nu$ a $h\nu'$ dopadající a emitovaná světelná energie

- Emitovaná energie záření je nižší než energie dopadajícího (primárního) záření
- Emitované (sekundární) záření má nižší frekvenci a delší vlnovou délku než světelné záření primární
- Rozdíl mezi vlnovou délkou excitačního a emitujícího záření - **Stokesův posun**

Fluorescence

- Přejchod mezi tzv. povolenými stavy atomu
- K vyzáření **fotonů** dojde již za pár nanosekund (krátkodobé světélkování - 10^{-8} až 10^{-5} s).
- Představuje sekundární záření po absorpci elektromagnetického záření

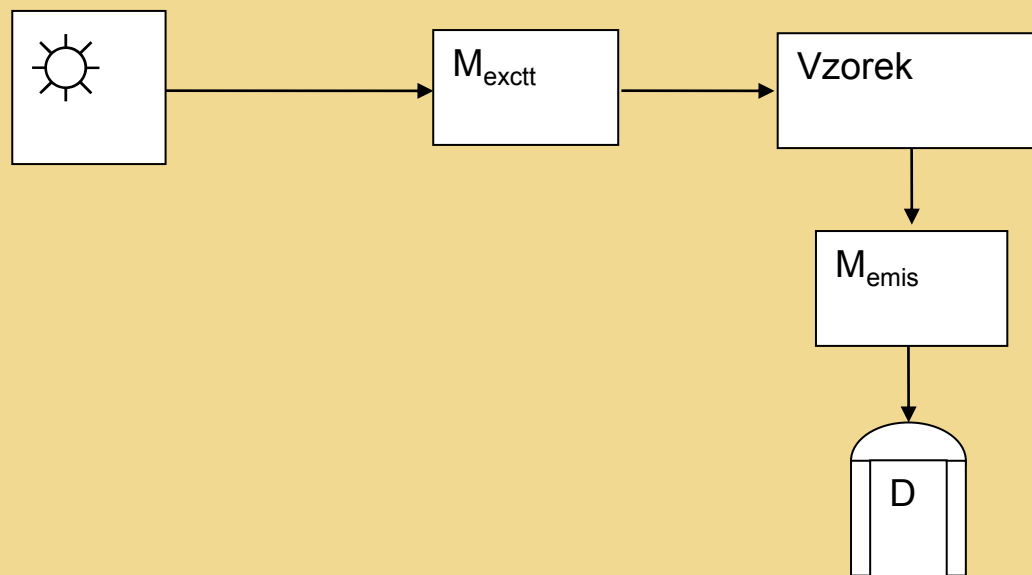
Absorpční a fluorescenční spektrum



- Posunuto k delším vlnovým délkám než původní absorpční spektrum (**Stokesův posun**)
- Zaujímá zrcadlovou pozici

Fluorimetr

- Zdroj světelného záření (xenonová nebo xenonová-rtuťová oblouková výbojka)
- Monochromátor pro výběr excitačního záření
- Kyveta (křemenné)/vzorek
- Monochromátor pro sekundární (emisní) záření
- Detektor (fotonásobič)



Fosforescence

- **Přechod tzv. zakázaný.**
- **Při fosforescenci se fotony vyzáří, ale trvá to až několik minut (dlouhodobé světélkování 10-2s až několik dní)**
- **Nemá v klinické laboratoři praktické využití**

Chemiluminescence

- Je luminiscence vyvolaná energií chemické reakce
- Vzniká vyzářením fotonu z molekuly luminoforu po jeho chemické oxidaci působením oxidantů (H_2O_2 , O_2 , ...)
- Dochází k produkci světelného záření excitovanými molekulami v průběhu chemické reakce
- Chemiluminescence v živých organismech - bioluminescence
- **$A + B \rightarrow X^* \rightarrow P + h\nu$**
A a **B** jsou reaktanty, **X^*** je excitovaný meziprodukt, **P** je produkt v základním stavu a **$h\nu$** je energie emitovaného světelného záření

Luminometr

- Skládá se z měrné komůrky a detektoru (fotonásobiče)
- Měrná komůrka (cela) se vzorkem a ostatními reaktanty obsahuje systém zrcadel – soustřeďují světelné záření na detektor
- Vznik záblesků světla - fotony
- Počet fotonů zachycuje citlivý fotonásobič

Fluorofory, luminofoxy

- **Fluoreskující látky obsahují konjugované dvojné vazby**
- **Spontánně fluoreskuje málo biologických molekul - tryptofan a porfyriny**
- **Luminofoxy produkují záření při chemických reakcích**
- **V imunoanalýze jsou fluorofory a luminofoxy navázány jako značka na protilátky či antigeny nebo tvoří substrát, eventuelně vznikají až po jeho rozštěpení**

Fluorofory, luminofory

Příklady:

Akridin a jeho estery

Adamantyl dioxetan

Methylumbelliferon (MU)

Cheláty platinových kovů (ruténium)

Cheláty lanthanidů (europium)

Luminol, isoluminol

Fluorescein