

# **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 organizmy – 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



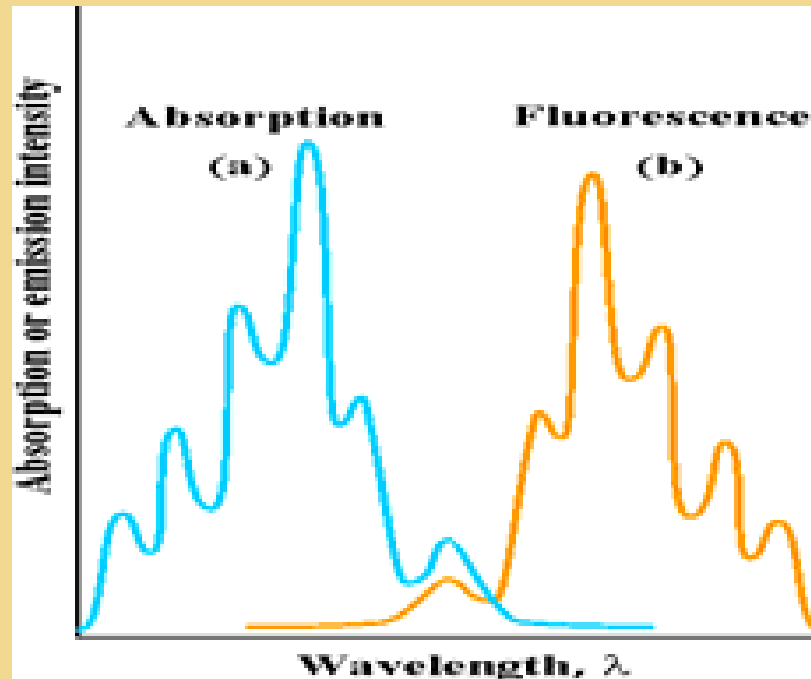
$X$  a  $X^*$  je základní a excitovaný stav molekuly  
 $h\nu$  a  $h\nu'$  dopadající a emitovaná světelná energie

- 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

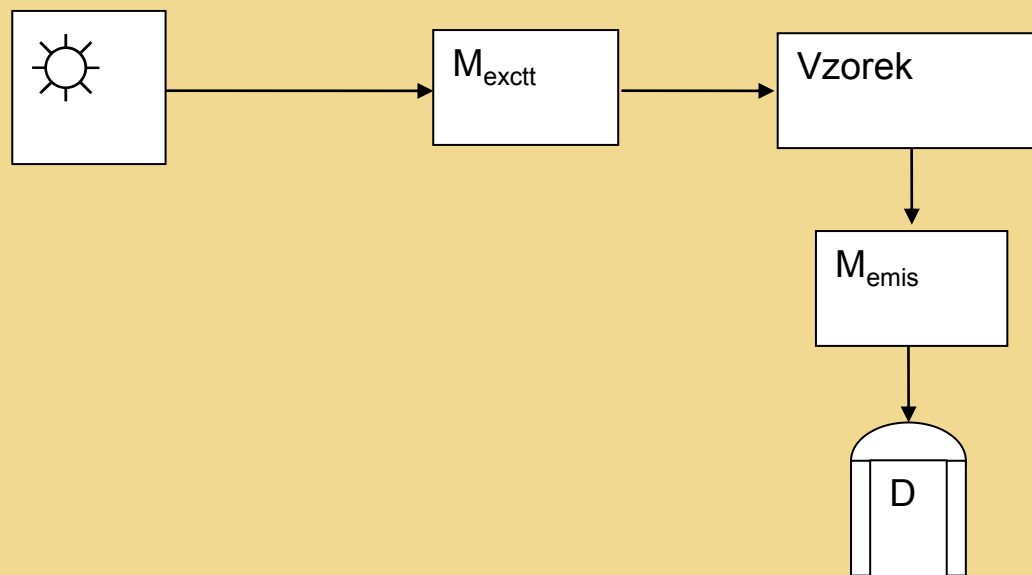
# Absorpční a fluorescenční spektrum



- 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 ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{O}_2$ , ...)
- Dochází k produkci světelného záření excitovanými molekulami v průběhu chemické reakce
- Chemiluminescence v živých organismech - bioluminescence
- $\mathbf{A + B \rightarrow X^* \rightarrow P + h\nu}$   
**A** a **B** jsou reaktanty, **X\*** je excitovaný meziprodukt, **P** je produkt v základním stavu a **hν** 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, luminofory

- **Fluoreskující látky obsahují konjugované dvojné vazby**
- **Spontánně fluoreskuje málo biologických molekul - tryptofan a porfyriny**
- **Luminofory produkují záření při chemických reakcích**
- **V imunoanalýze jsou fluorofory a luminofory 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