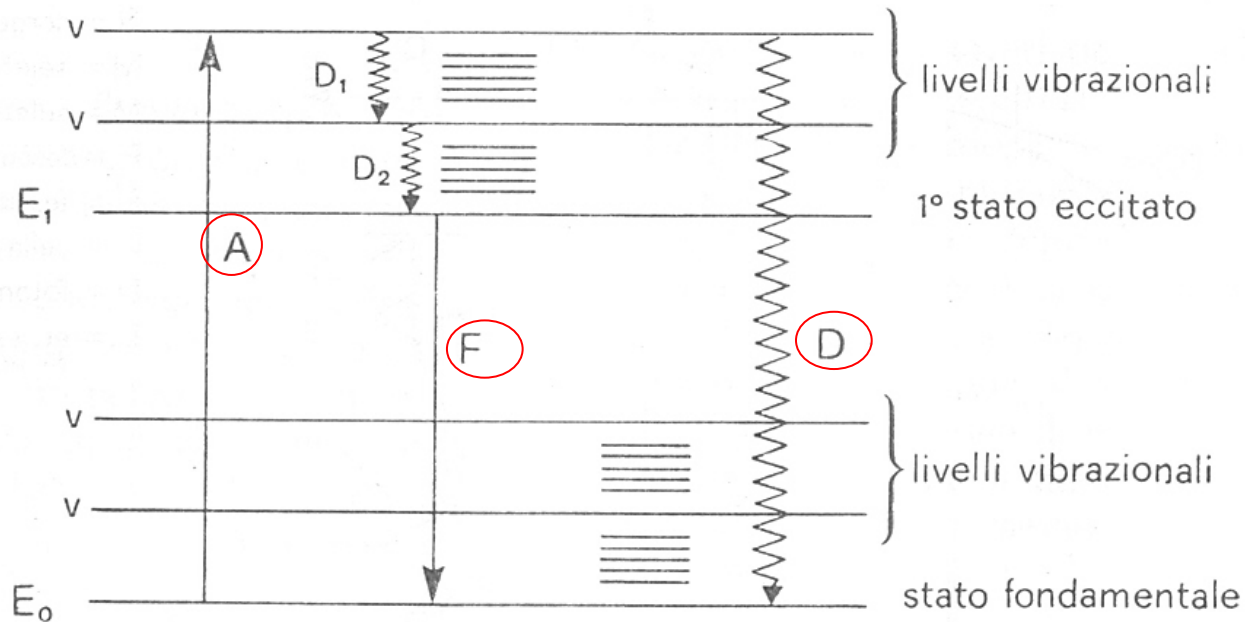


La **fluorescenza** è l'emissione di radiazioni visibili da parte di una molecola che ritorna a uno stato elettronico fondamentale dopo aver raggiunto uno stato eccitato per assorbimento di una radiazione di λ minore di quella emessa



L'assorbimento di una radiazione e la conseguente eccitazione (A) avviene in circa 10^{-15} sec

Il rilasciamento vibrazionale (D) avviene in circa 10^{-13} - 10^{-11} sec

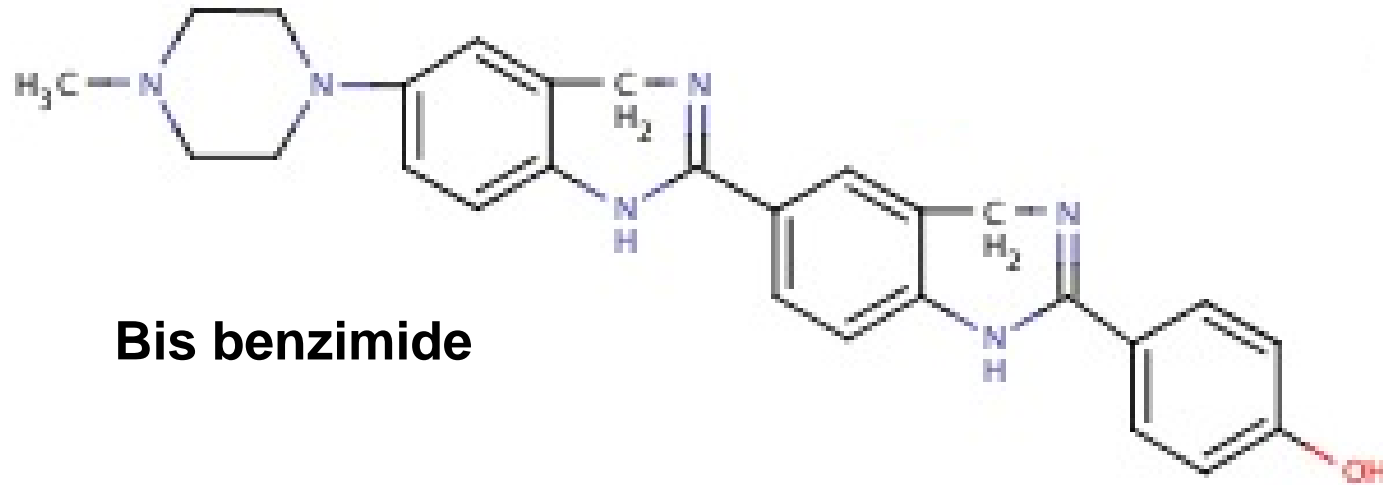
In molecole particolari una parte dell'energia assorbita può essere dissipata per collisioni tra gli atomi (D1 e D2) e il ritorno allo stato fondamentale avviene con emissione di una radiazione di fluorescenza (F)

La radiazione emessa come fluorescenza ha pertanto energia minore rispetto alla radiazione assorbita e quindi lunghezza d'onda maggiore

Si ha **fluorescenza** F se l'intervallo di tempo tra eccitazione ed emissione è dell'ordine di 10^{-9} - 10^{-3} sec

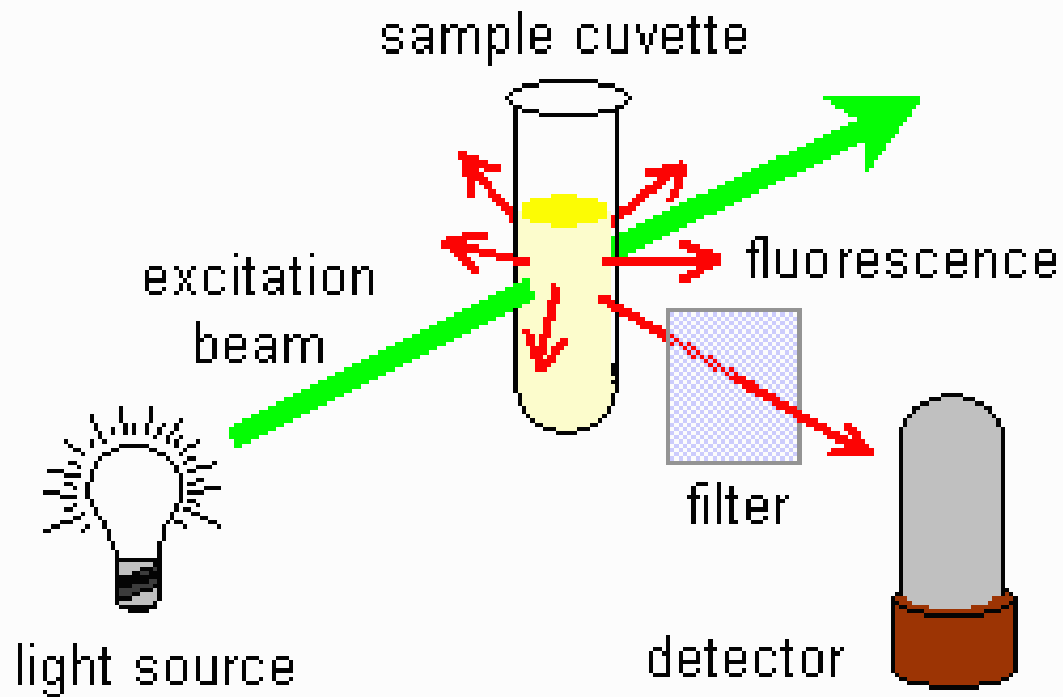
Se l'intervallo di tempo supera 10^{-3} sec il fenomeno è detto **fosforescenza**

**Non è possibile predire se una molecola sarà fluorescente
In genere si tratta di molecole con anelli aromatici condensati,
cioè strutture piuttosto grandi e rigide, con movimenti vibrazionali minimi.**



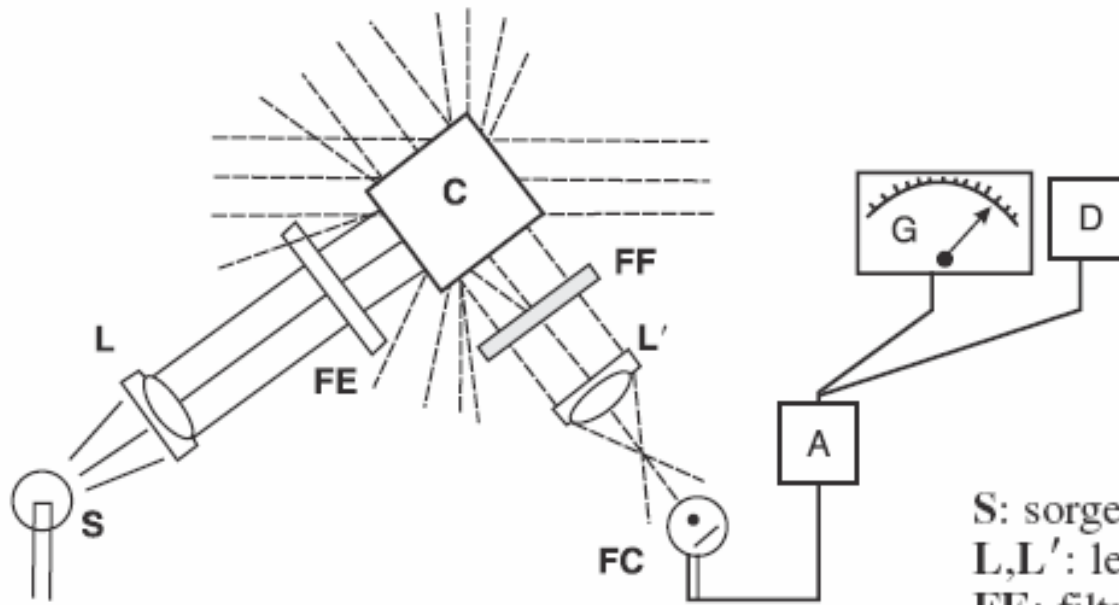
Bis benzimide

Diventa fluorescente se è legata al DNA a doppia elica.



© 2001 B.M. Tissue

FLUORIMETRO



S: sorgente luminosa

L,L': lenti

FE: filtro di eccitamento

FF: filtro di fluorescenza

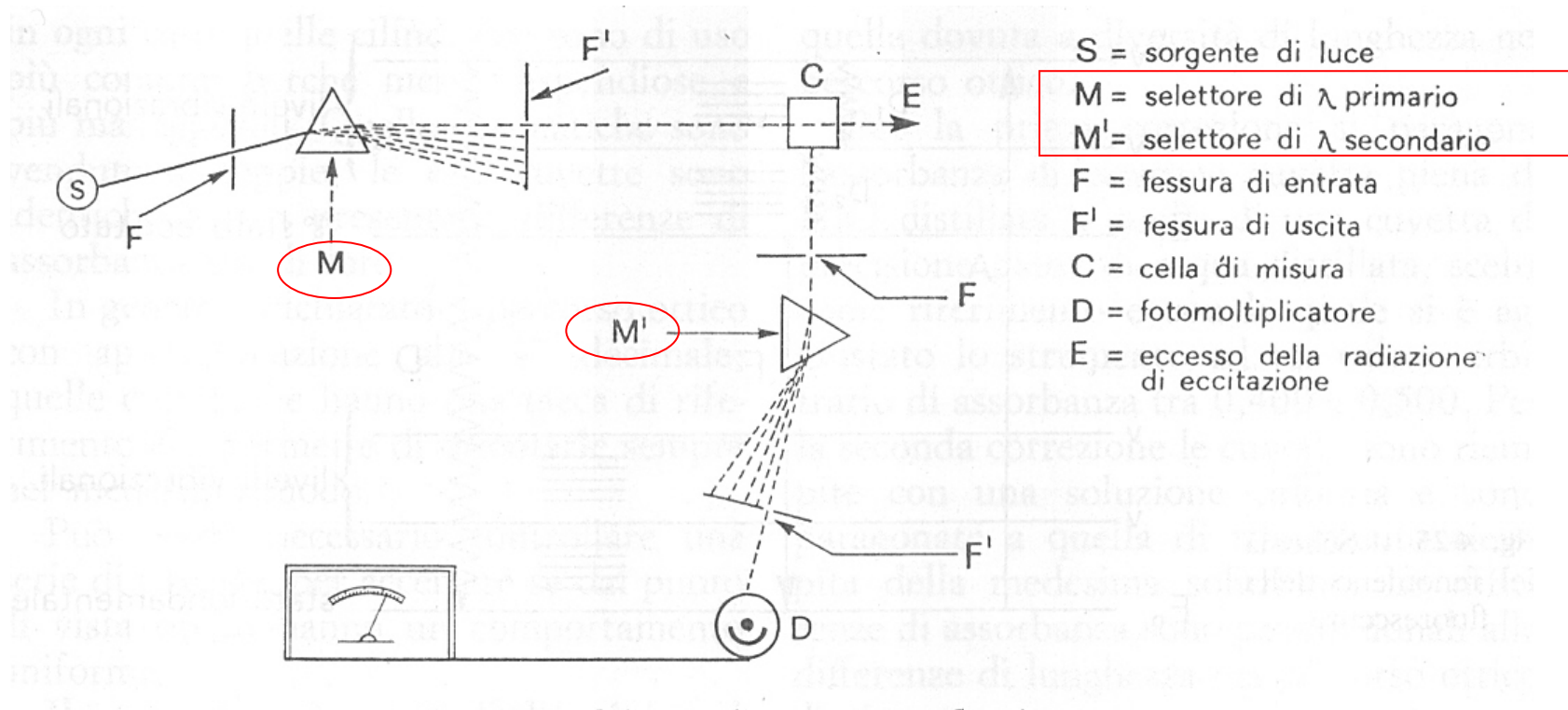
C: cuvetta per il campione in esame

Fc: fotomoltiplicatore

A: amplificatore

G: galvanometro o un misuratore dei segnali di uscita (registratore, integratore ecc.) che vengono trasferiti su un display, D, e quindi ad un computer

In uno spettrofluorimetro FE e FF sono sostituiti da due monocromatori.



Prisma M ruotante, prisma M' escluso → **spettro di eccitazione**

Prisma M fisso sulla λ di massima eccitazione
 prisma M' ruotante → **spettro di emissione**

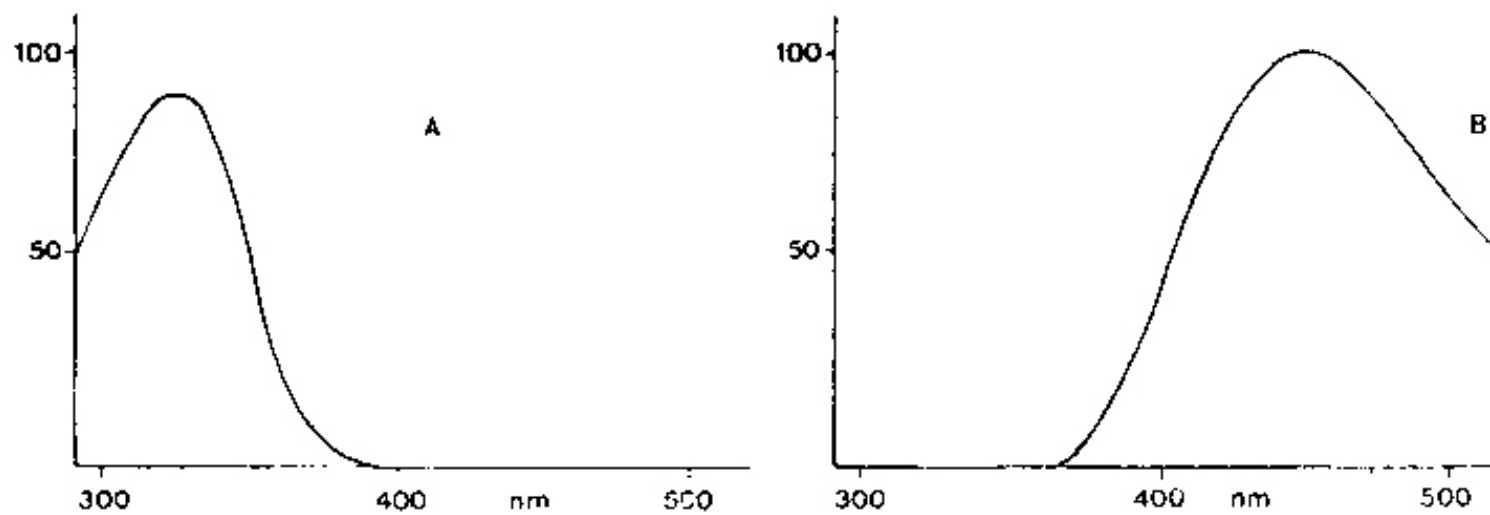


Fig. 64 — Spettro di eccitamento, A, e spettro di fluorescenza, B, del NADH.

nelle misure **fotometriche**
si determina un rapporto tra due intensità luminose I/I_0 ,
e la scala del galvanometro è tarata in percento di trasmissione.

In un **fluorimetro** si effettuano misure assolute di intensità luminosa :
pertanto il galvanometro ha una scala arbitraria che deve essere
di volta in volta calibrata.