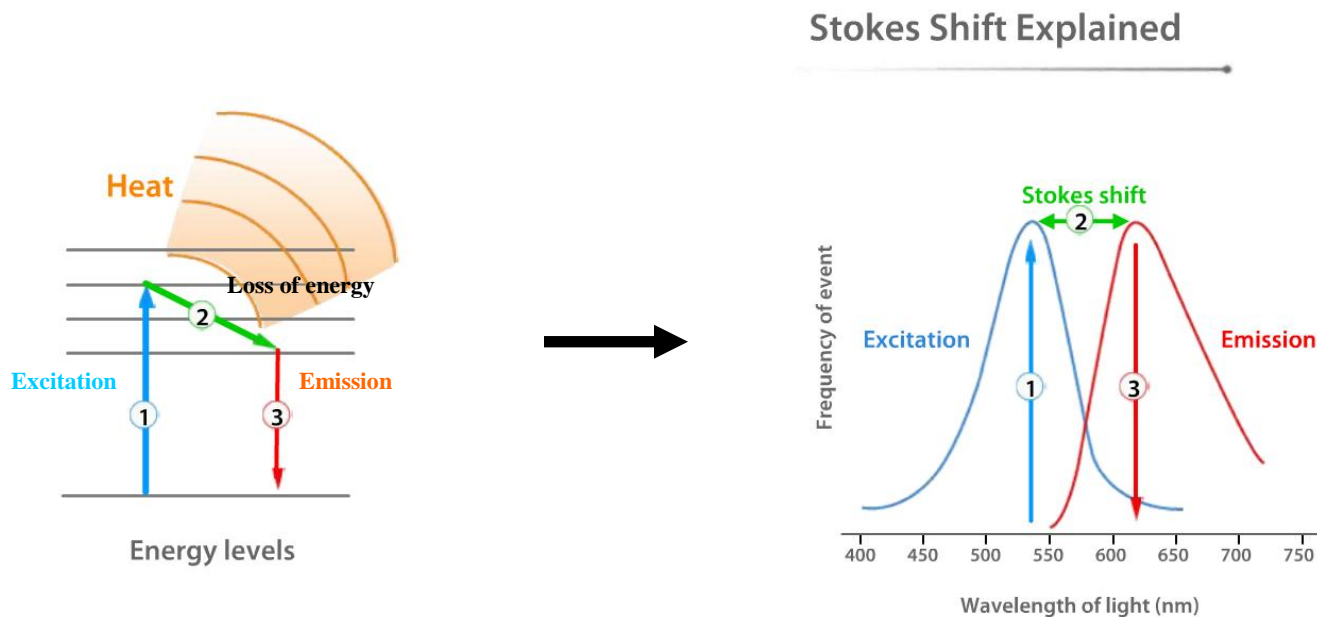


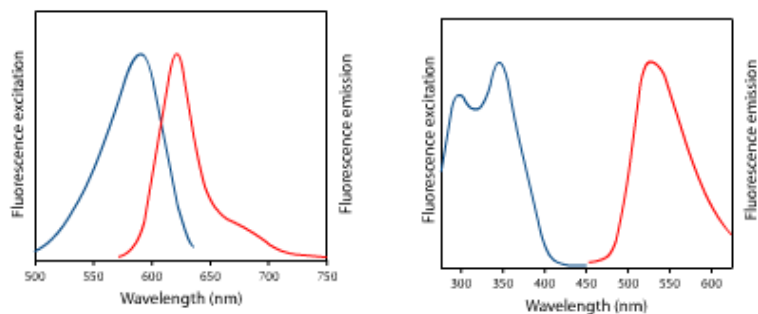
## I. Partea teoretica

- **Fluorescenta** este proprietatea optica a unor molecule de a emite radiatie electromagnetica (lumina) ca urmare a tranzitiei de dezexcitare de pe un nivel electronic superior pe unul inferior, in urma absorbtiei de radiatie electromagnetica situata in domeniul UV sau vizibil.

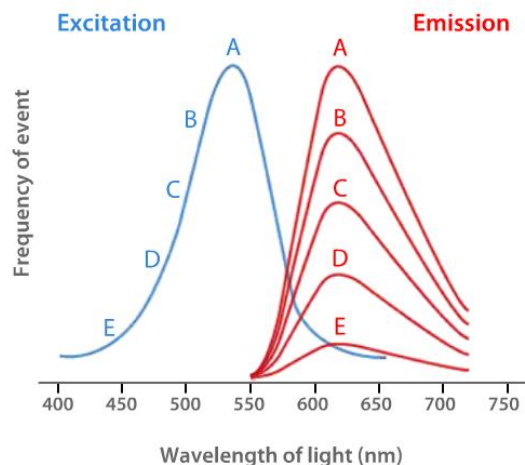


- Emisia radiatiei fluorescente inceteaza odata cu intreruperea iradierii moleculelor probei cu radiatia electromagnetica ce poate produce trecerea moleculei din starea fundamentala intr-o stare excitata.
- Spectrul de fluorescanta este situat la lungimi de unda mai mari decit cel de absorbtie ( $\lambda_{\text{absorbit}} < \lambda_{\text{emis}}$ ), cauza fiind pierderea energiei prin relaxarea vibrationala in starea excitata. Aceasta diferenta intre maximum pozitiei benzi de absorbtie si maximum fluorescetei se numeste deplasarea Stokes -  $\Delta\lambda = \lambda_{\text{em}} - \lambda_{\text{ex}}$

### Exemple:



# Fluorescence Emission

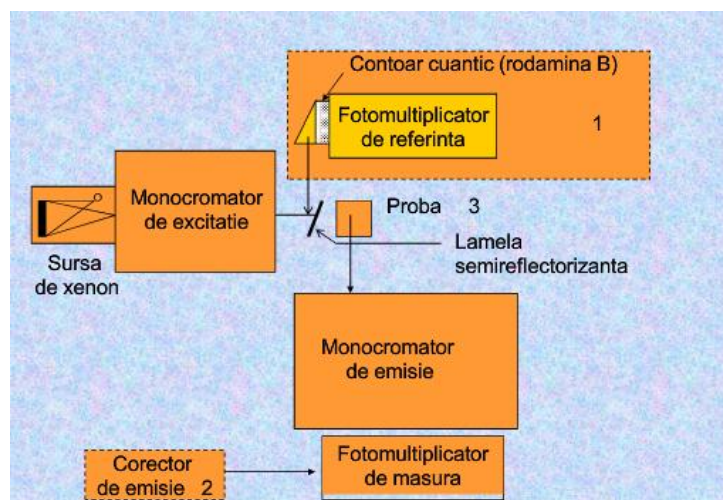


- emisia nu depinde de lungime de unda de excitare;
- iluminarea la lungimi de unda mai mari sau mai mici afecteaza doar intensitatea luminii emise, profilul emisiei ramanand neschimbat.
- intensitatea de fluorescanta depinde de :
  - eficacitatea monocromatorului de emisie
  - sensibilitatea spectrala a fotomultiplcatorului

## II. Partea experimentală

### 2.1 Instrumentatia utilizata: FP-6500 Research Fluorescence Spectrometer

Lumina provenita de la o *lampa de xenon* este focalizata pe fanta de intrare a monocromatorului de excitatie. Aceasta o disperseaza , producind lumina monocroma. O parte din aceasta lumina ajunge pe o fotodioda de monitorizare, iar partea cealalta este focalizata pe centrul suportului de probe. Emisia probei este focalizata pe fanta de intrare a monocromatorului de emisie, care o disperseaza, apoi aceasta lumina trece prin fanta de iesire, ajungand in final pe tubul fotomultiplcator.



Schema de principiu a unui spectrofluorimetru

Atit lumina incidenta pe fotiododa, cit si cea pe tubul fotomultiplicator sunt convertite in cate un semnal electric, care la rindul lor sunt digitizate in convertoare analog-digital si transmise la iesire, cu ajutorul unui calculatorului, sub forma de spectru.

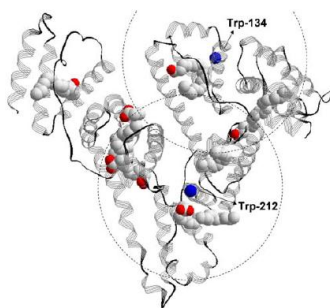
### Specificatii tehnice

Sursa de lumina	Lampa xenon, 150 W
Domeniul de lungime de unda	220-750 nm cu PMT standard 200-900 nm cu PMT optional de emisie 200-900 nm cu PMT optional de excitatie
Latime de banda spectrala	2.5, 5, 10 si 20 nm pe excitatie si pe emisie
Acuratetea lungimii de unda	± 2nm
Viteza de scanare	20, 50, 100, 200, 500, 1000, 2000, 5000, 10000 nm/min
Raspuns	0.02, 0.05, 0.1, 0.2, 0.5, 1, 2, 4, 8 sec.
Sensibilitate	Raportul semnal/ zgomot cu banda Raman a apei mai mare decit 550:1 (cu excitatie la 350 nm)
Viteza maxima a monocromatorului	30000 nm/min
Detector	Fotiododa pe partea de excitatie Tub fotomultiplicator pe partea de emisie

## 2.2 Inregistrarea spectrului de fluorescenta a proteinelor

- proteinele sunt unele dintre cele mai studiate molecule naturale fluorescente.
- exista trei componente moleculare proteice care emit in proteina: triptofanul (Trp), tirozina (Tyr) si fenilalanina (Phe)

### Proteina test utilizata in acest studiu Bovine Serum Albumine (BSA)



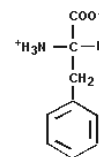
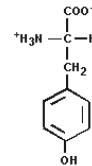
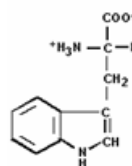
Structura moleculara a BSA-ului

### Intrinsec Natural Fluorofor:

Tryptophan

Tyrosine

Phenylalanine



(aromatic rings)

**Obiectivul lucrării:**

- Inregistrarea spectrelor de emisie și de excitație a soluției proteice de albumina la diferite concentrații
- Monitorizarea poziției maximumului de emisie, respectiv a intensității de emisie a soluției de albumina în funcție de lungimea de undă de excitație.

***2.3 Inregistrarea spectrului de fluorescență a fluoroforului Rose Bengal*****Obiectivul lucrării:**

- Inregistrarea spectrelor de emisie și de excitație a soluției de Rose Bengal
- Monitorizarea spectrului de emisie a Rose Bengal la diferite concentrații