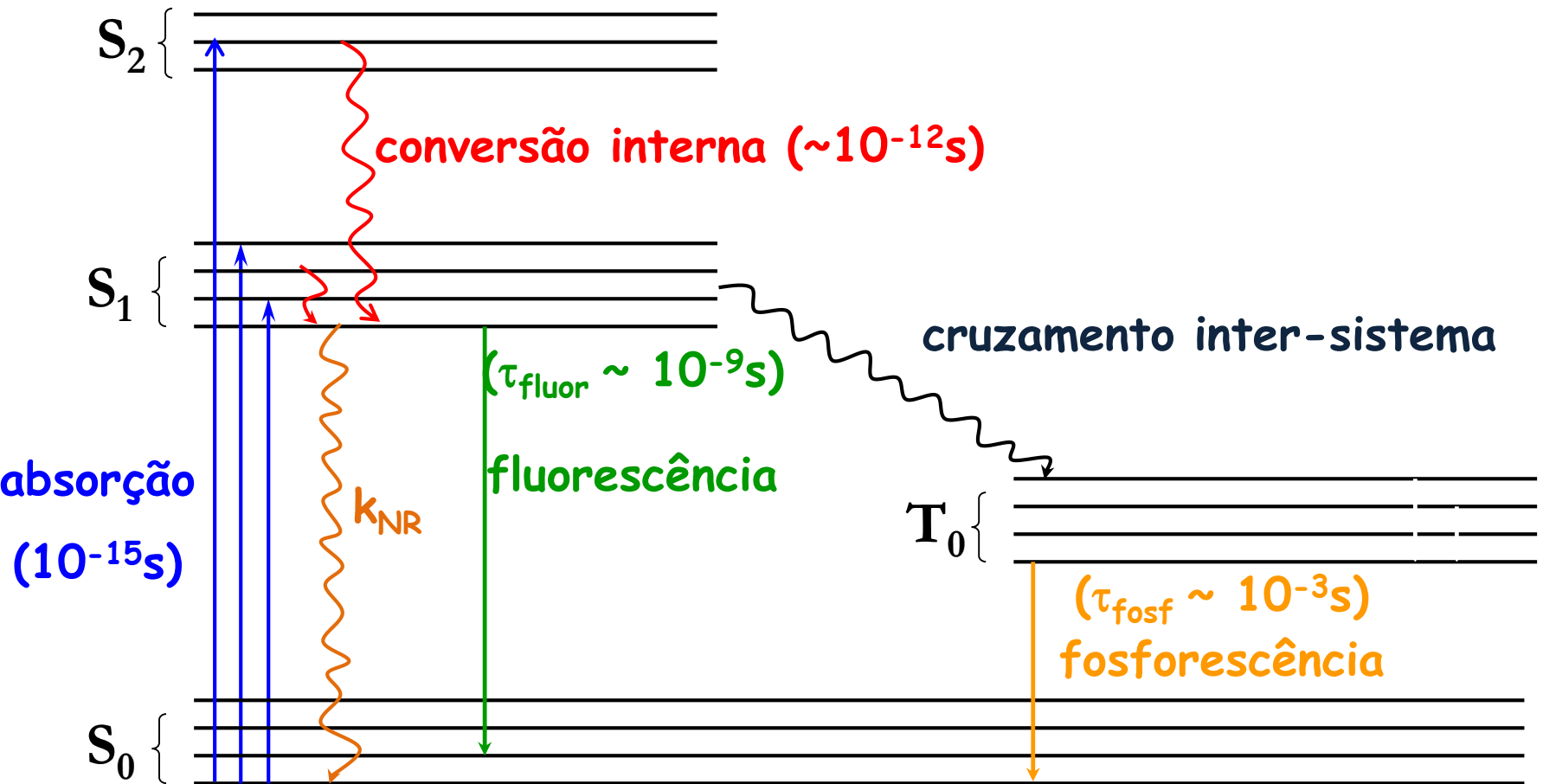
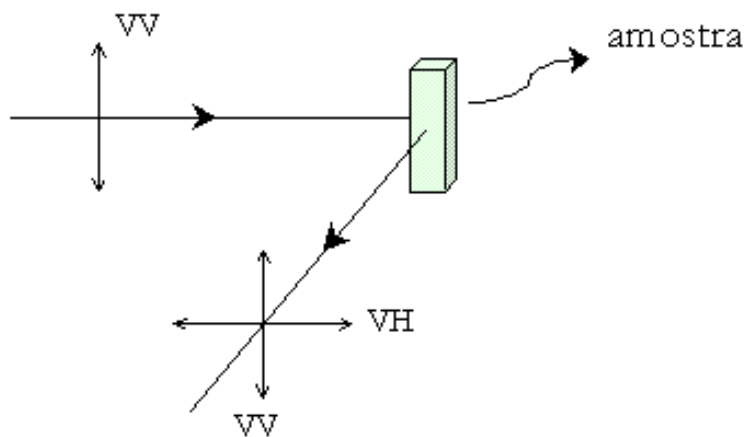


Diagrama de Jablonski

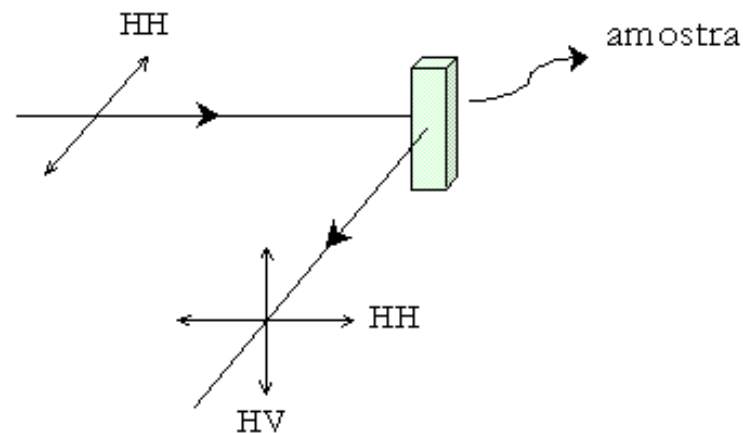


Anisotropia de fluorescência (experimento)

Excitação Vertical



Excitação Horizontal



anisotropia

$$A = \frac{I_{//} - I_{\perp}}{I_{//} + 2I_{\perp}}$$

experimental

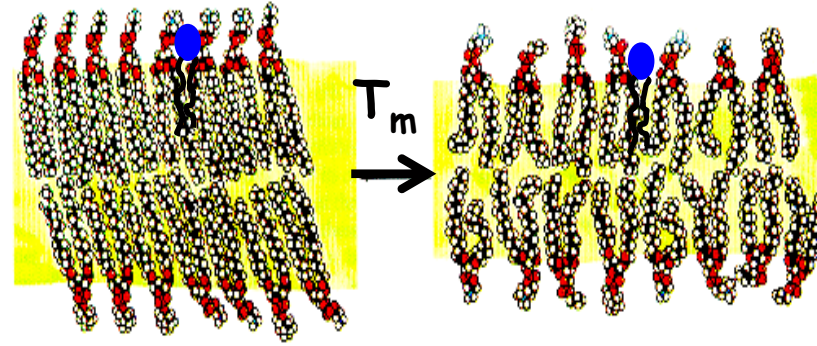
$$A = \frac{I_{vv} - GI_{vh}}{I_{vv} + 2GI_{vh}}$$

Sensibilidade do detector à polarização

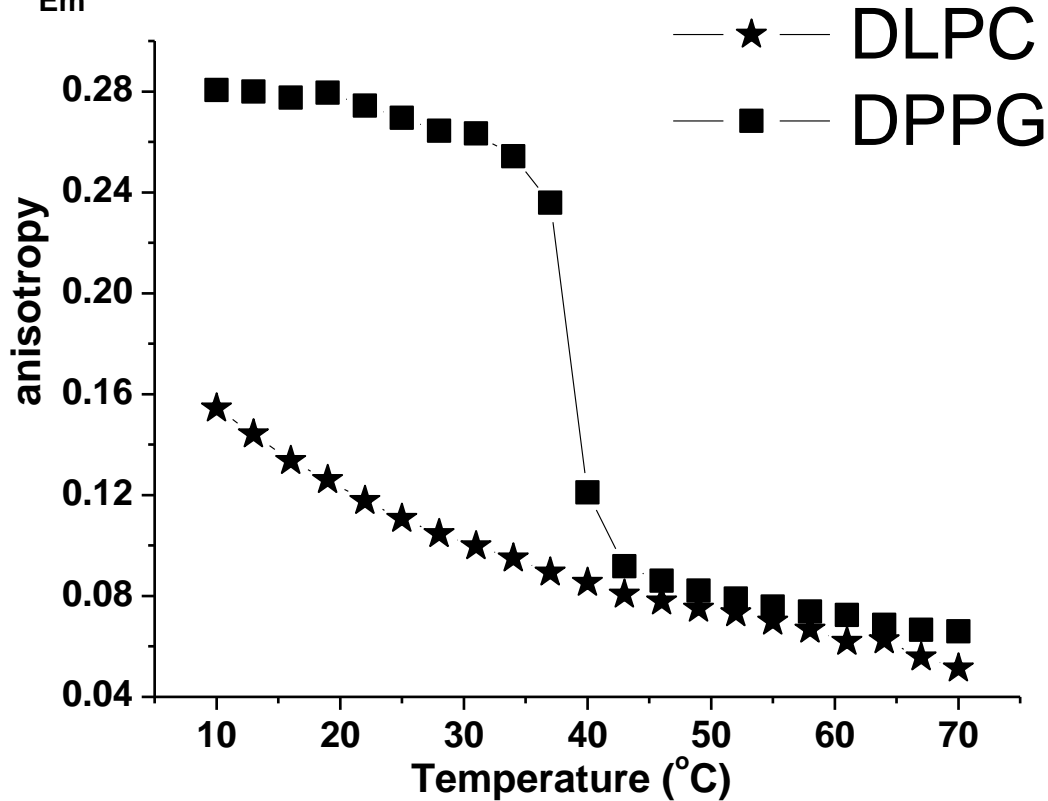
$$G = \frac{I_{hv}}{I_{hh}}$$

Anisotropia de fluorescência

Laurdan em bicamadas lipídicas



$\lambda_{Em} = 480 \text{ nm}$



DPPG

$T_m \sim 41 \text{ }^\circ\text{C}$

DLPG

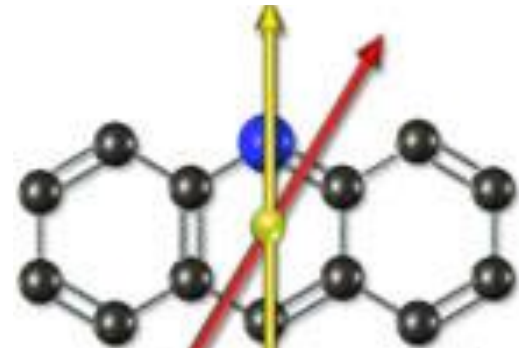
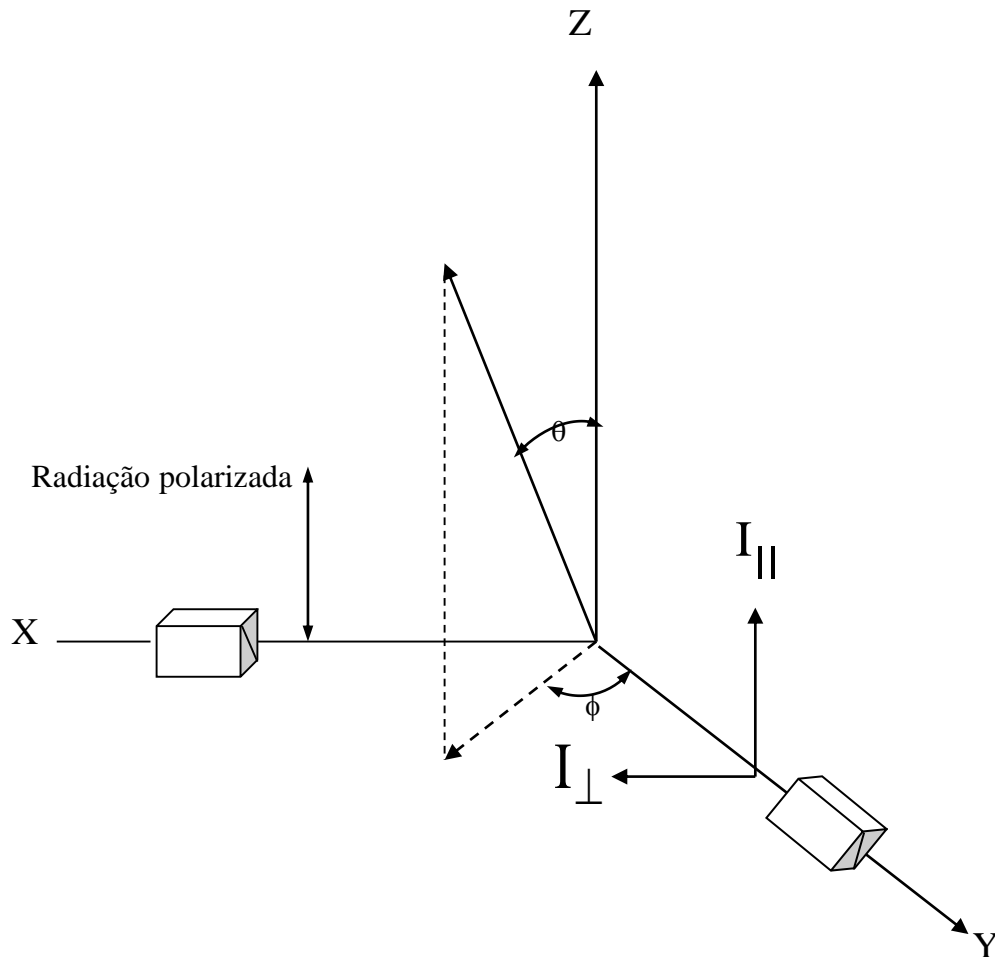
$T_m \sim 0 \text{ }^\circ\text{C}$



$$A = \frac{I_{//} - I_{\perp}}{I_{//} + 2I_{\perp}}$$

Na lousa...

Anisotropia de fluorescência

Absorção de foton: momento de dipolo é criado no fluoróforo (momento de dipolo de transição)



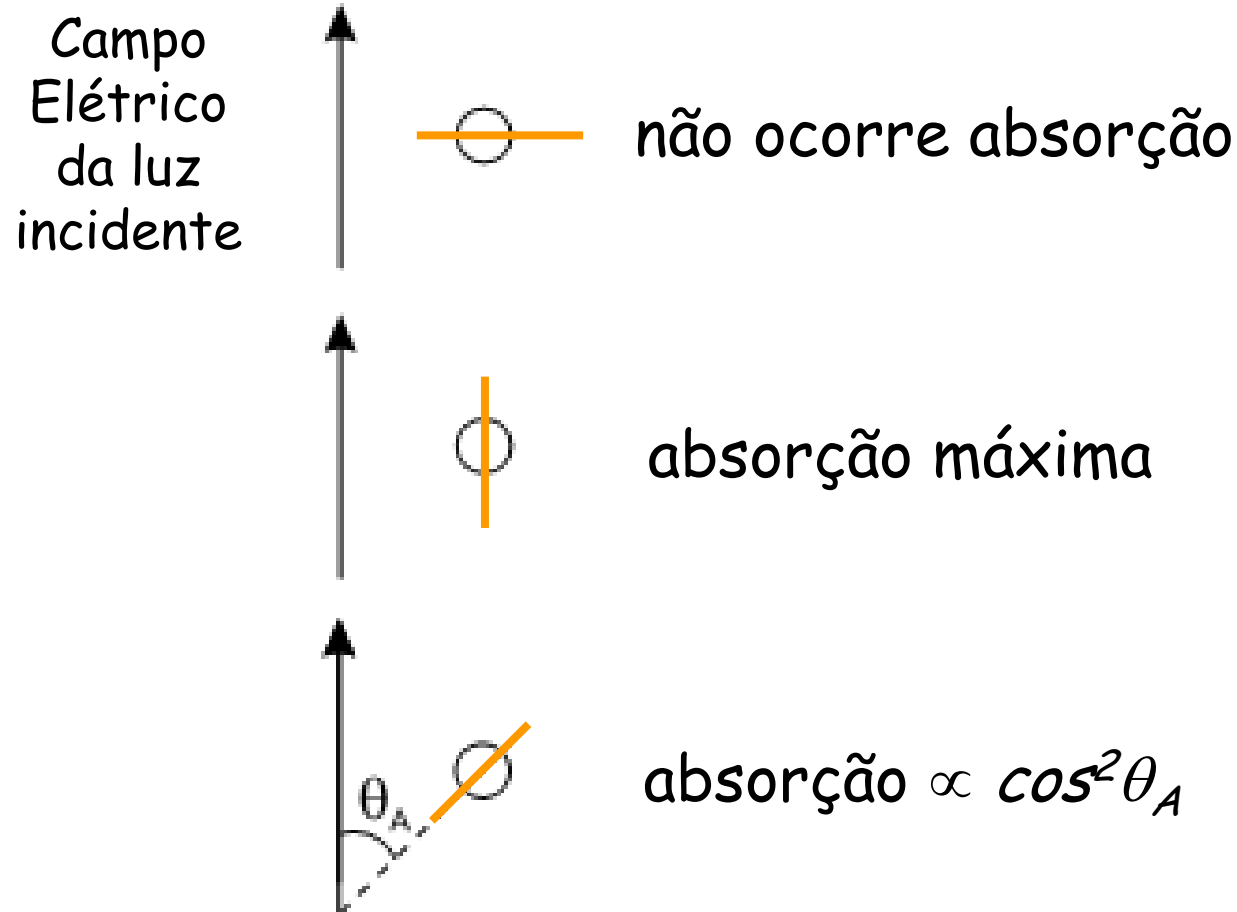
-  Momento de Dipolo de Absorção
-  Momento de Dipolo de Emissão

$$e\langle\Psi_b|\vec{r}|\Psi_a\rangle=e\vec{r}_{ba}$$

Excitação é foto-seletiva

dipolo elétrico
de absorção

$$e\langle\Psi_a|\vec{r}|\Psi_b\rangle = e\vec{r}_{ab}$$

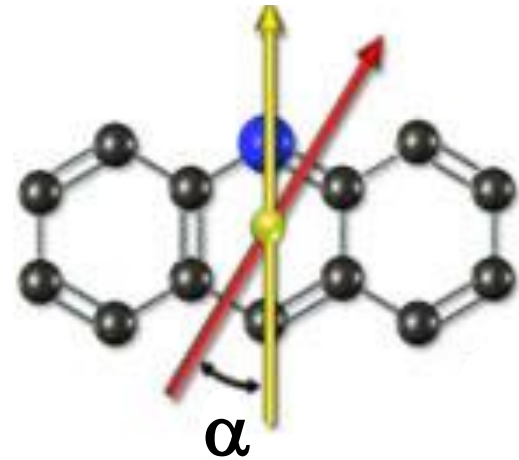


Anisotropia de fluorescência

Se a molécula está parada:

$$A_0 = \frac{2}{5} \left(\frac{3 \cos^2 \alpha - 1}{2} \right)$$

$A_0 \rightarrow$ anisotropia
fundamental

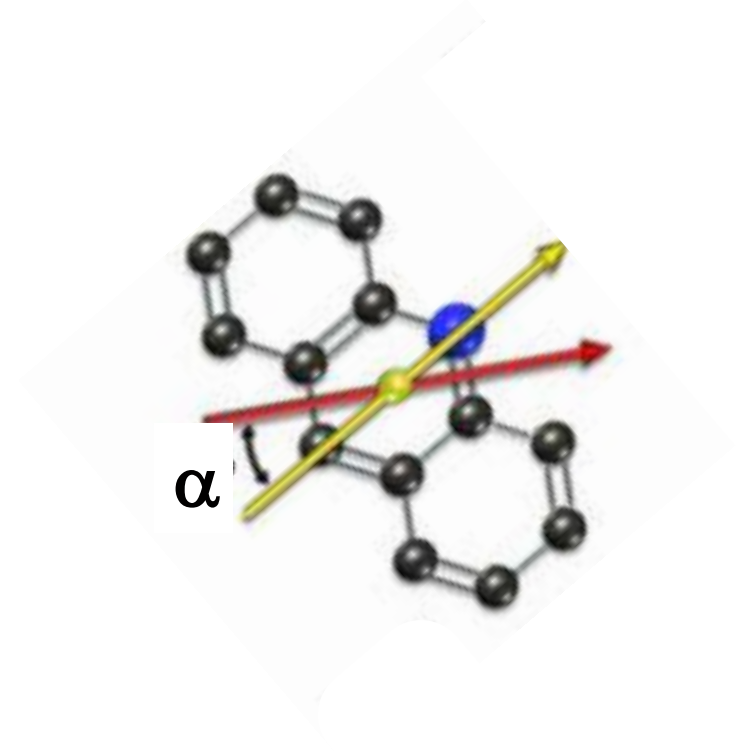
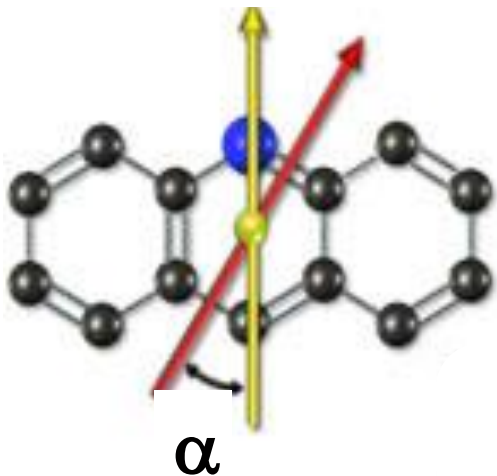


→ Momento de Dipolo de
Absorção

→ Momento de Dipolo de
Emissão

Anisotropia de fluorescência

Se a molécula **gira** durante o tempo de vida do estado excitado:
Fornece informações acerca da **mobilidade da molécula** no meio.



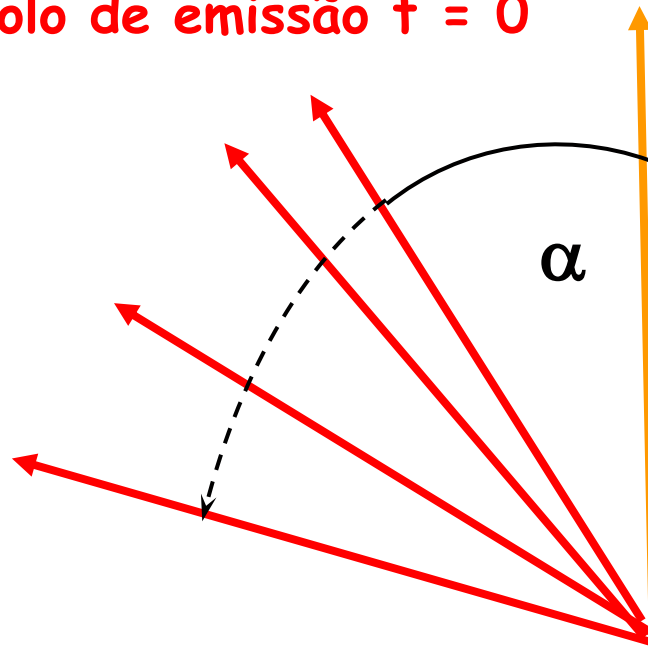
Despolarização da emissão: mede movimento do fluoróforo

Fluoróforo pode girar durante o tempo de vida do estado excitado

Dipolo de emissão $t = 0$

Dipolo de absorção

Dipolo de emissão
 $t > 0$



Emissão: tem componente perpendicular à absorção

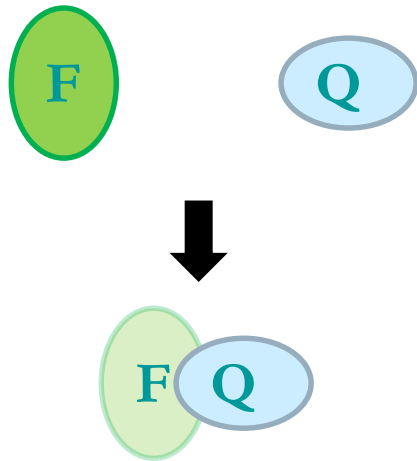
anisotropia

$$A = \frac{I_{//} - I_{\perp}}{I_{//} + 2I_{\perp}}$$

Supressão de Fluorescência

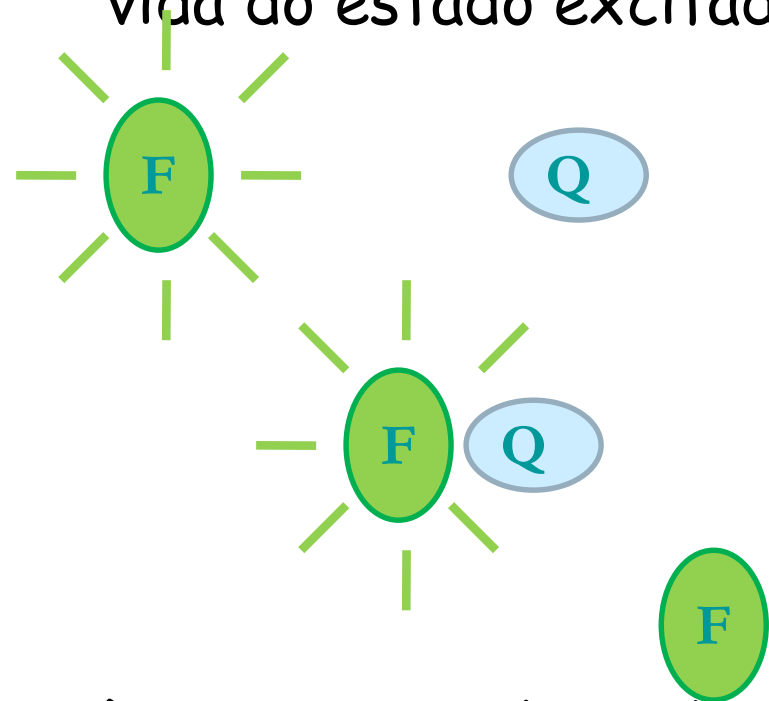
Supressão Estática

Formação de complexos não fluorescentes



Supressão Dinâmica (ou colisional)

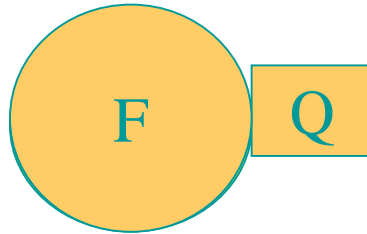
Colisões durante o tempo de vida do estado excitado



Mede acessibilidade/distância do fluoróforo às moléculas supressoras

Supressão Colisional

Fluoróforo excitado interage (curto alcance) com átomo ou molécula supressora

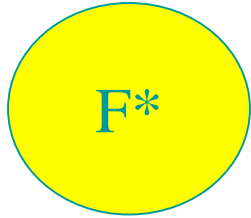


Aumenta taxa de transições não-radiativas para o estado fundamental.

Diminui intensidade

Diminui tempo de vida

Supressão Colisional

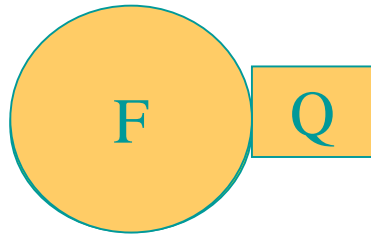


Intensidade:

$$F_0 = k_R / (k_R + k_{NR})$$

Tempo de vida:

$$\tau_0 = 1 / (k_R + k_{NR})$$



Intensidade:

$$F = k_R / (k_R + k_{NR} + k_q [Q])$$

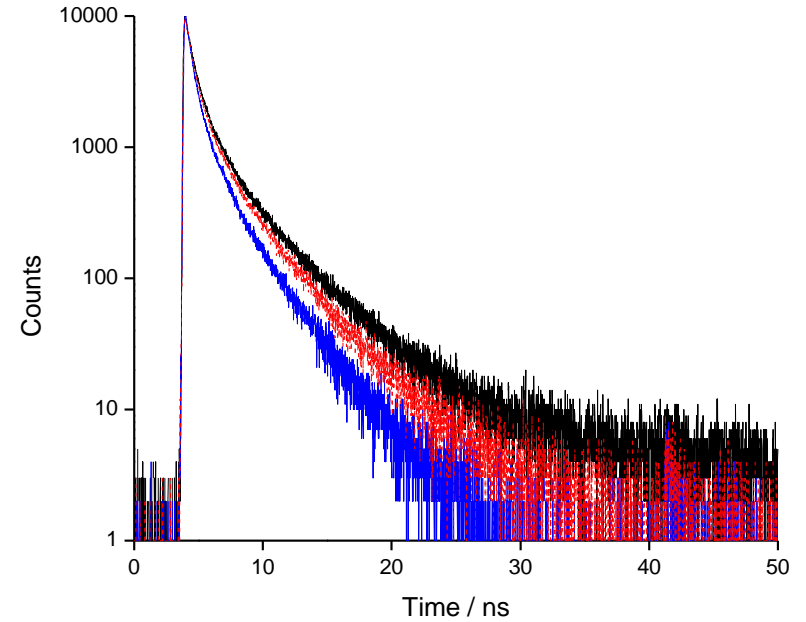
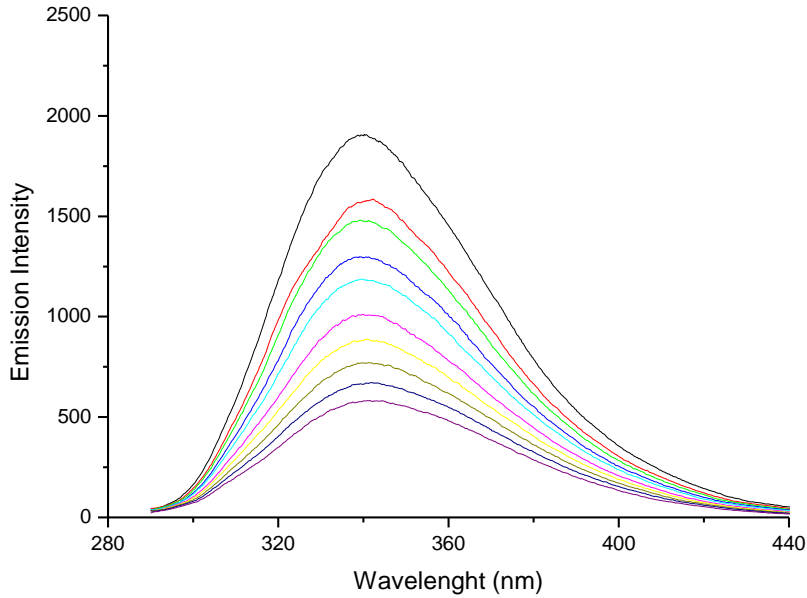
Tempo de vida:

$$\tau = 1 / (k_R + k_{NR} + k_q [Q])$$

Stern-Volmer

$$\frac{F_0}{F} = \frac{\tau_0}{\tau} = 1 + \frac{k_q}{k_R + k_{NR}} [Q]$$

Supressão Colisional

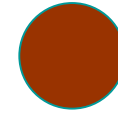
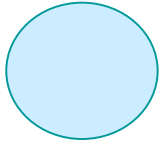


$$\frac{F_0}{F} = 1 + K_{SV}[Q]$$

$$\frac{\tau_0}{\tau} = 1 + K_d[Q]$$

$$K_{SV} = K_d = \frac{k_q}{k_R + k_{NR}} = k_q \tau_o$$

Supressão Colisional



Processo difusão
Taxa de colisões

$$k_o = \frac{4\pi N}{10^3} (R_f + R_q)(D_f + D_q)$$

$$\frac{\tau_o}{\tau} = 1 + K_d [Q]$$

$$K_d = \frac{k_q}{k_R + k_{NR}} = k_q \tau_o$$

$$k_o = k_q = \frac{K_d}{\tau_o}$$

Fluorescência

- Deslocamento espectral
- Anisotropia de fluorescência
- Intensidade de fluorescência
- Tempos de vida de fluorescência
- Tempos de correlação rotacional
- Efeitos de solventes
- Supressão de fluorescência
- Transferência de energia
- Excitação multi-fótons
- Microscopia de fluorescência
- Correlação de fluorescência
- Detecção de Molécula Única
- ...

Agradecimentos especiais:

Amando S. Ito

(FFCL-RP-USP)

Cássia Marquezin

(IF-UFG)

Cintia C. Vequi-Suplicy

(IFUSP)

Bibliografia

"Physics of Atoms and Molecules"

B.H. Bransden, C.J. Joachain

"Principles of Fluorescence Spectroscopy"

J.R. Lakowicz

"Molecular Fluorescence: Principles and Applications"

B. Valeur

- .

Série dos livros de "Topics in Fluorescence Spectroscopy"

Ed. J.R. Lakowicz