

Μοριακή Φωταύγεια Φθορισμομετρία

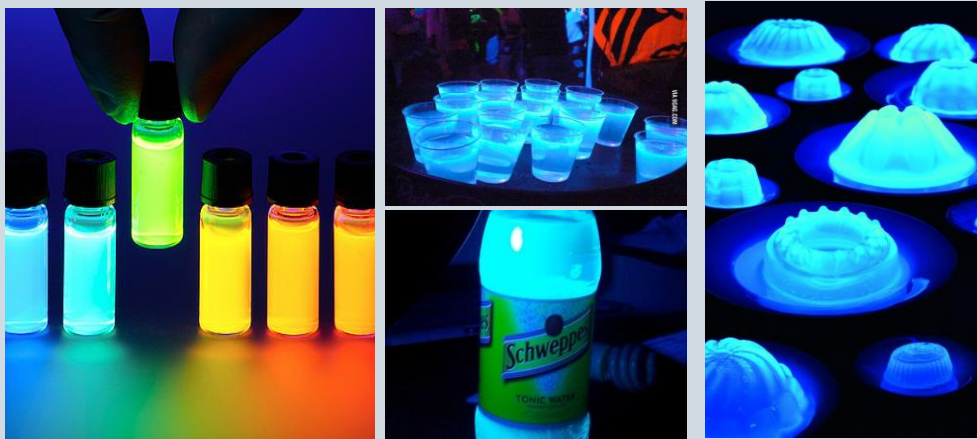
ΔΡ. ΜΑΡΙΟΣ ΚΩΣΤΑΚΗΣ

1

Τι γνωρίζετε για τη
Φθορισμομετρία;

2

Τι γνωρίζετε για τη Φθορισμομετρία;



3

Φωταύγεια (Luminescence)

ΠΗΓΗ ΔΙΕΓΕΡΣΗΣ

Ηλεκτρικό Ρεύμα
 Ενέργεια Ραδιενεργών Σωματιδίων
 Ενέργεια Χημικής Αντίδρασης
 Ενέργεια Χημικής Αντίδρασης σε ζωντανούς οργανισμούς
 Θερμότητα
 Ενέργεια Τριβής
 Ενέργεια Φωτονίων

ΕΙΔΟΣ ΦΩΤΑΥΓΕΙΑΣ

Ηλεκτροφωταύγεια (Electroluminescence)
 Ραδιοφωταύγεια (Radioluminescence)
 Χημιοφωταύγεια (Chemiluminescence)
 Βιοφωταύγεια (Bioluminescence)
 Θερμοφωταύγεια (Thermoluminescence)
 Τριβοφωταύγεια (Triboluminescence)
 Φωτοφωταύγεια (Photoluminescence)

4

Αρχές Φθορισμομετρίας

Ενέργεια προσλαμβανομένη με φωτοδιέγερση αποβάλλεται:

- Συνήθως υπό μορφή θερμότητας
- Με εκπομπή δευτερεύουσας ακτινοβολίας (**φωταύγεια**)
 - **Φθορισμός** (εκπομπή σε χρόνο 10^{-9} - 10^{-6} s μετά τη διέγερση)
 - **Φωσφορισμός** (εκπομπή μετά από καθυστέρηση 10^{-4} – 10 s)

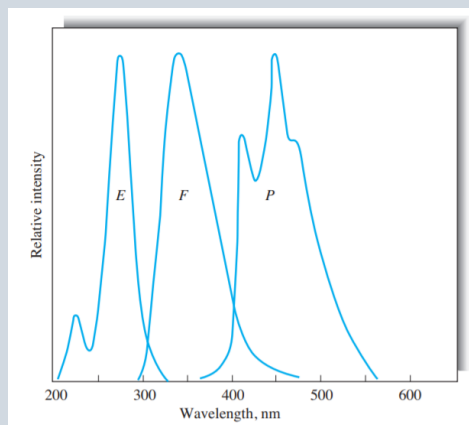
Φθορισμός μικρής διάρκειας

- Μέτρηση έντασης κατά τη διάρκεια της διέγερσης και όχι μετά τον τερματισμό της

Αναλυτικές εφαρμογές κυρίως του φθορισμού (φθορισμομετρίας)

5

Αρχές Φθορισμομετρίας



Φάσμα Θρυπτοφάνης

E: Excitation (Διέγερσης)

F: Fluorescence (Φθορισμός)

P: Phosphorescence (Φωσφορισμός)

Τι παρατηρείτε;

6

Μηχανισμός Φθορισμού

Απλή (Singlet, S) στάθμη ενέργειας ενός μορίου

- συνολικό spin είναι μηδέν (αντιπαράλληλα spin σε όλα τα ζεύγη ηλεκτρονίων)

Τριπλή (triplet, T) στάθμη

- Συνολικό spin διαφορετικό από μηδέν

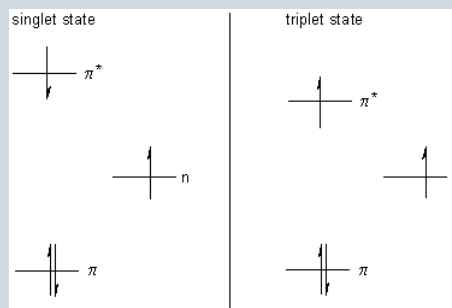
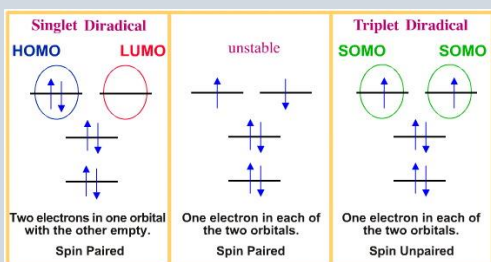
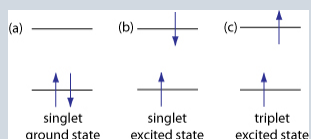
$$E_S > E_T$$

Απορρόφηση UV ή Vis από ένα μόριο

- Ηλεκτρονική διέγερση από δεσμικά (n) τροχιακά σε αντιδεσμικά (π^*)
- Μετάβαση από θεμελιώδη απλή κατάσταση S_0 σε διεγερμένες καταστάσεις S_1, S_2, \dots , συνιστάμενες από αριθμό δονητικών υποσταθμών.

7

Μηχανισμός Φθορισμού



8

Μηχανισμός Φθορισμού

Διέγερση μορίου

Μετάπτωση $S_0 \rightarrow S_1$ επιτρεπτή

Μετάπτωση $S_0 \rightarrow T_1$ απαγορευμένη

- Μικρή πιθανότητα αναστροφής του σπιν διεγερμένου ηλεκτρονίου

Αποδιέγερση μορίου

- Όλες οι δονητικές υποστάθμες των διεγερμένων απλών καταστάσεων καταλήγουν στη χαμηλότερη δονητική στάθμη της ηλεκτρονικής στάθμης τους (**Δονητική ή Θερμική Επαναφορά**) με μεταφορά θερμότητας στα μόρια του διαλύτη
- Εσωτερική μετατροπή**: λόγω της μερικής αλληλεπικάλυψης των ανώτερων διεγερμένων ηλεκτρονικών καταστάσεων
 - Μετάπτωση από τη χαμηλότερη δονητική στάθμη ανώτερης ηλεκτρονικής κατάστασης στην υψηλότερη δονητική στάθμη της χαμηλότερης ηλεκτρονικής κατάστασης με ίδια ενέργεια

Τελικό αποτέλεσμα κατάληξη όλων των απλών διεγερμένων καταστάσεων στη χαμηλότερη στάθμη δονήσεως της διεγερμένης κατάστασης S_1 με έκλυση θερμότητας

9

Μηχανισμός Φθορισμού

Αποδιέγερση $S_1 \rightarrow S_0$

- Εσωτερική μετατροπή** χωρίς εκπομπή ακτινοβολίας (έκλυση θερμότητας)
Παρατηρείται σε μόρια με υψηλό βαθμό δονητικής ελευθερίας, π.χ. αλειφατικά μόρια
- Εκπομπή φθορισμού** με συχνότητα μικρότερη από συχνότητα διέγερσης, λόγω απώλειας ενέργειας με μορφή θερμότητας κατά τη δονητική επαναφορά και εσωτερική μετατροπή

$$S_1 \rightarrow S_0 + h\nu_\phi$$

$$V_\phi < V_\delta$$

Παρατηρείται σε μόρια με περιορισμένο βαθμό δονητικής ελευθερίας (μεγάλης ακαμψίας), π.χ. αρωματικά μόρια, μόρια με πολλαπλούς συζυγιακούς διπλούς δεσμούς, με αμελητέα εσωτερική μετατροπή.

- Διασυστηματική διασταύρωση**: $S_1 \rightarrow T_1$ **Παραγωγή φωσφορισμού**
 $T_1 \rightarrow S_0 + h\nu_{\text{φωσ}}$
 $V_\phi > V_{\text{φωσ}}$, επειδή $E_{T_1} < E_{S_1}$
- Απόσβεση (quenching)**

Με σύγκρουση με άλλα μόρια, προκαλείται εξασθένιση ή πλήρης εξαφάνιση φθορισμού

10

Μηχανισμός Φθορισμού

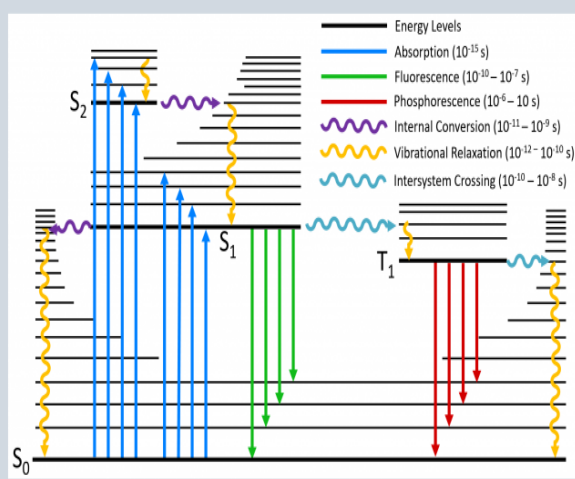
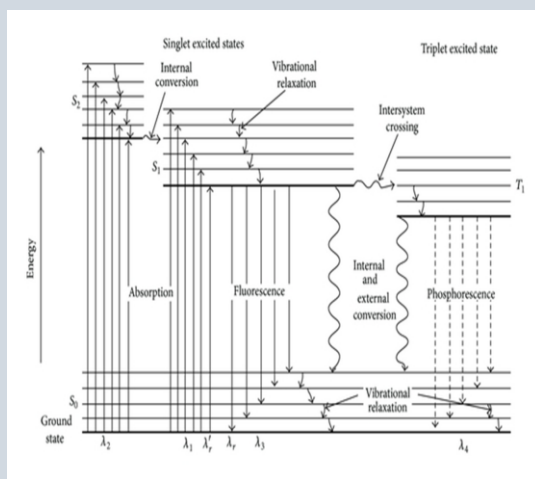
Αποδιέγερση $S_1 \rightarrow S_0$

Αποδιεγείρομένο μόριο καταλήγει σε οποιαδήποτε από υποστάθμες δονήσεως (ταλαντώσεως) της S_0

- Το φάσμα φθορισμού συνίσταται από πλήθος γραμμών στην περιοχή του ορατού.
- Παρουσία διαλυτή οι γραμμές διευρύνονται και αλληλεπικαλύπτονται.
- Φάσματα μοριακού φθορισμού είναι ταινιωτά, παρόμοια με φάσματα απορρόφησης
- Επειδή εμφάνιση φθορισμού μόνο από $S_1 \rightarrow S_0$, εμφανίζεται μόνο μία ζώνη φθορισμού, έστω και εάν το μόριο εμφανίζει περισσότερες ζώνες απορρόφησης

11

Μηχανισμός Φθορισμομετρίας – Διάγραμμα Jablonski



12

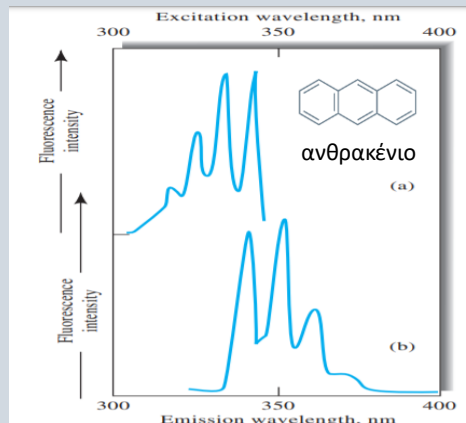
Φάσματα Φθορισμού

- Κατά φθορισμομετρική μελέτη ενός μορίου λαμβάνονται δύο είδη φασμάτων:
 - **Φάσμα διέγερσης (excitation spectrum)**
 - Ένταση φθορισμού F (για σταθερό λ φθορισμού) ως προς λ ακτινοβολίας διέγερσης
 - **Φάσμα εκπομπής (φθορισμού) (emission ή fluorescence spectrum)**
 - Ένταση φθορισμού F (για σταθερό λ ακτινοβολίας διέγερσης) ως προς λ ακτινοβολίας φθορισμού
- Λήψη φασμάτων διέγερσης και φθορισμού με φασματοφθορισμόμετρα που διαθέτουν **δύο** μονοχρωμάτορες

13

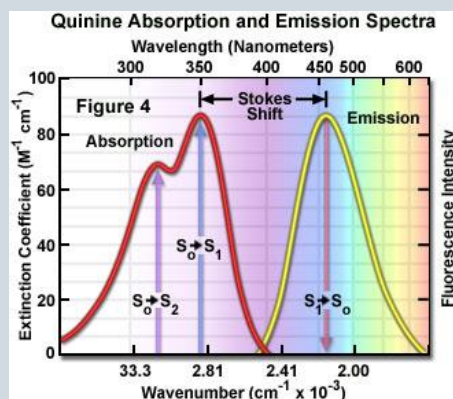
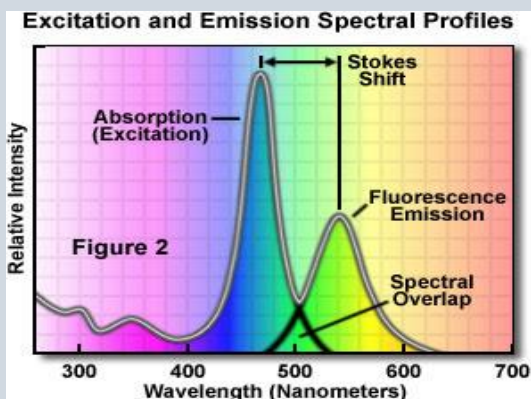
Φάσματα Φθορισμού

1. Σχέση ειδώλου-αντικειμένου μεταξύ των δύο φασμάτων
2. Μετατόπιση φάσματος φθορισμού σε μεγαλύτερα μήκη κύματος
3. Εμφάνιση μίας μόνο ζώνης στο φάσμα φθορισμού (με τρεις κορυφές) έναντι δύο ζωνών στο φάσμα διέγερσης (απορρόφησης)
4. Σύμπτωση των δύο φασμάτων (μετάπτωση από χαμηλότερη δονητική υποστάθμη της S_1 στη χαμηλότερη δονητική υποστάθμη της S_0 (μετάπτωση $O-O'$)
5. Δυνατότητα λήψης φάσματος φθορισμού σε πολύ χαμηλή συγκέντρωση (10^{-7} M)



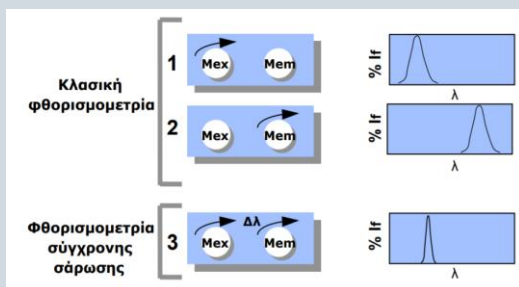
14

Φάσματα Φθορισμού

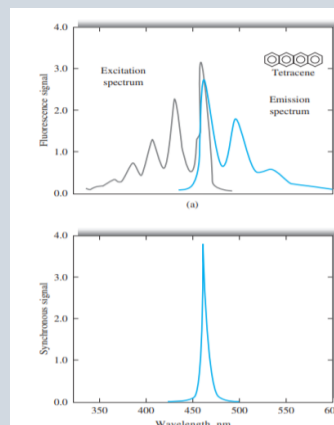


15

Φθορισμομετρία Σύγχρονης Σάρωσης



Ελάττωση ημιέυρους κορυφής
Απλοποίηση φάσματος
Ελάττωση φασματικής περιοχής αναλυτικού ενδιαφέροντος



16

Παράγοντες που επιδρούν στον Φθορισμό

1. Χημική Δομή
2. pH
3. Θερμοκρασία
4. Διαλύτες-Ξένα Σώματα
5. Συγκέντρωση

17

Φθορισμός & Χημική Δομή

Φθορίζουν ενώσεις με δομή που απορροφούν στο UV ή Vis

Τα φθορίζοντα μόρια πρέπει να εμφανίζουν **μεγάλη ακαμψία μορίου**, έτσι ώστε η διαφορά μεταξύ των ενεργειακών καταστάσεων S_1 και S_0 να είναι τέτοια που να αποτρέπεται η εσωτερική μετατροπή

Ένταση φθορισμού ανάλογη της ολοκληρωμένης έντασης της ζώνης με το μεγαλύτερο μήκος κύματος στο φάσμα απορρόφησης

Κυρίως ενώσεις με αρωματικούς πυρήνες ή πολλαπλούς συζυγιακούς διπλούς δεσμούς

Φθορισμός αρωματικών ενώσεων αυξάνει με την επιπεδότητα (καθορίζεται από τη μοριακή ακαμψία)

18

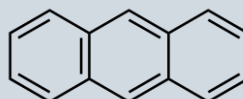
Φθορισμός & Χημική Δομή

Ύπαρξη π-ηλεκτρονιακού συστήματος ($\lambda_{ex} > 200 \text{ nm}$)

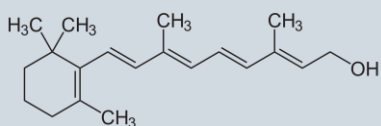
Εκτεταμένο π-ηλεκτρονιακό σύστημα συνεπάγεται μεγάλα μήκη κύματος (φθορισμός, φωσφορισμός)



$\lambda_{ex} = 263 \text{ nm}$
 $\lambda_{em} = 340 \text{ nm}$



$\lambda_{ex} = 263 \text{ nm}$
 $\lambda_{em} = 340 \text{ nm}$



$\lambda_{ex} = 333 \text{ nm}$
 $\lambda_{em} = 500 \text{ nm}$

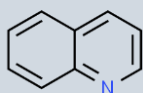
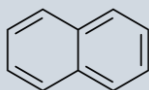
• Χαμηλότερη διεγερμένη απλή κατάσταση
(αντιδεσμικά) π*-π (δεσμικά) Ισχυρός φθορισμός

(αντιδεσμικά) π*-π (μη δεσμικά) ασθενής
φθορισμός, ισχυρός φωσφορισμός,

19

Φθορισμός & Χημική Δομή

Υποκαταστάτες & Φθορισμός



20

Φθορισμός & Χημική Δομή

Υποκαταστάτες & Φθορισμός

Οι υποκαταστάτες επηρεάζουν το βαθμό φθορισμού

Ηλεκτρονιοδότες ομάδες (-NH₂, -OH) αυξάνουν το φθορισμό,

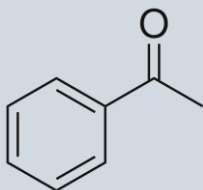
Διευκολύνουν τη μετάπτωση $S_1 \rightarrow S_0$

Ηλεκτρονιόφιλες ομάδες (-COOH, -NO₂, αλογονοιόντα) μειώνουν ή εξαλείφουν φθορισμό

ο - p - υποκαταστάτες αυξάνουν το φθορισμό

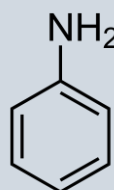
m - υποκαταστάτες μειώνουν το φθορισμό

Μείωση Φθορισμού



-NO₂
-COOH
-CH₂COOH
-Cl, -Br, -I
-O-
-NH₃⁺

Αύξηση Φθορισμού

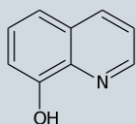


-OH
-O-CH₃
-NH₂
-NHCH₃
-F

21

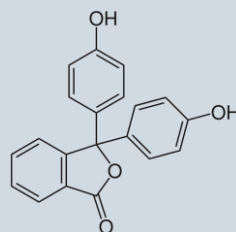
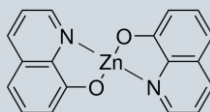
Φθορισμός & Χημική Δομή

Δομική Ακαμψία

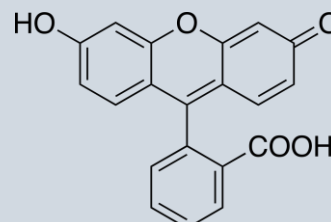


8-υδροξυκινολίνη

Σχηματισμός χηλικών ενώσεων με μεταλλοιόντα ενισχύουν το φθορισμό => Αύξηση ακαμψίας



Φαινολφθαλεΐνη
(Δεν φθορίζει)



Φλουροεσκεΐνη
(φθορίζει)

Αύξηση μοριακής ακαμψίας => Αύξηση φθορισμού

22

Φθορισμός & Ξένα μόρια

Αλλοιώνουν την ένταση φθορισμού:

- Απορροφούν την ακτινοβολία διέγερσης ή φθορισμού (φαινόμενο εσωτερικού φίλτρου)
- Αλληλεπιδρούν με το φθορίζον μόριο προκαλώντας απόσβεση
- Φθορίζουν τα ίδια τα ξένα μόρια

Η παρεμποδιστική δράση μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον έμμεσο φθορισμομετρικό προσδιορισμό



Απόσβεση φθορισμού κίνησης λόγω της παρουσίας χλωριούχων στο αριστερό ποτήρι

23

Φθορισμός & Διαλύτης

Σημαντικό ρόλο στα χαρακτηριστικά του φάσματος και στην ένταση φθορισμού

Αυξάνει ο φθορισμός όταν αυξάνεται:

- Η πολικότητα του διαλύτη
- Το ιξώδες του διαλύτη

Ο διαλύτης δεν πρέπει να απορροφά την ακτινοβολία διέγερσης ή φθορισμού

Μη φθορίζουσες ουσίες από μόνες τους μπορεί να φθορίζουν σε ιξώδεις διαλύτες ή υαλώδη μήτρα

Η ύπαρξη βαρέων ατόμων στο διάλυτη π.χ. τετραβρωμιούχος άνθρακας ή ιωδιούχο αιθύλιο, μειώνει το φθορισμό. Ενισχύει τη δημιουργία τριπλής κατάστασης, με αποτέλεσμα σε κάποιες περιπτώσεις να ενισχύεται ο φωσφορισμός.

24

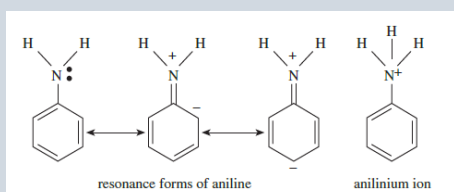
Φθορισμός & pH

Επιδρά στο φορτίο του χρωμοφόρου και φθορίζει η μία από τις δύο μορφές

Π.χ. η ανιλίνη φθορίζει σε pH 7-12 (μη φορτισμένο μόριο) δεν φθορίζει σε pH 2 (κατιοντικό μόριο)

Π.χ. η κινίνη φθορίζει σε ισχυρά όξινα διαλύματα

Η επίδραση αυτή αξιοποιείται στους φθορισμομετρικούς δείκτες για ογκομετρήσεις εξουδετερώσεως και για τον προσδιορισμό pKa



(φθορίζει)

(Δεν φθορίζει)

25

Φθορισμός & Θερμοκρασία

Αύξηση θερμοκρασίας συνεπάγεται μείωση φθορισμού

- Αυξανόμενη τυχαία κίνηση αυξάνει συγκρούσεις και προκαλεί αποδιέγερση με έκλυση θερμότητας

Ουσίες που δεν φθορίζουν σε θερμοκρασία δωματίου μπορεί να φθορίζουν σε χαμηλή θερμοκρασία

Απαιτείται εξισορρόπηση θερμοκρασίας αγνώστων και προτύπων

Απαιτείται ταχεία ανάγνωση ένδειξης φθορισμού για αποφυγή θέρμανσης δείγματος

Η μείωση του ιξώδους του διαλύτη, προκαλεί τα ίδια αποτελέσματα.

26

Φθορισμός & Οξυγόνο

Παρεμποδίζει με:

- Άμεση οξείδωση φθορίζουσας ουσίας προς μη φθορίζον προϊόν
- Απόσβεση του φθορισμού

Απαιτείται απαέρωση διαλύματος δείγματος με διαβίβαση αζώτου, ιδιαίτερα κατά την εργασία με οργανικούς διαλύτες.

Οι παραμαγνητικές ιδιότητες του Οξυγόνου, ενισχύουν την αποδιέγερση μέσω τριπλής κατάστασης, αποσβένοντας τον φθορισμό.

27

Φθορισμός & Συγκέντρωση

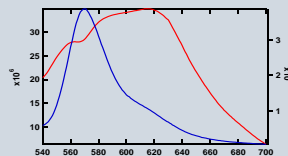
Για αραιά διαλύματα ($\epsilon bc < 0,05$), ισχύει

$$F = k \Phi P_0 \epsilon bc = k' c$$

Αρχίζει καμπύλωση μετά $c_{\text{μεγ}} = 0,05/\epsilon b$ (φαινόμενο αναστροφής λόγω συγκέντρωσης)

Η καμπύλη αναφοράς είναι μεγάλου εύρους $\sim 10^3$ έως $\sim 10^5$ (**Πρωτογενής Απορρόφηση**)

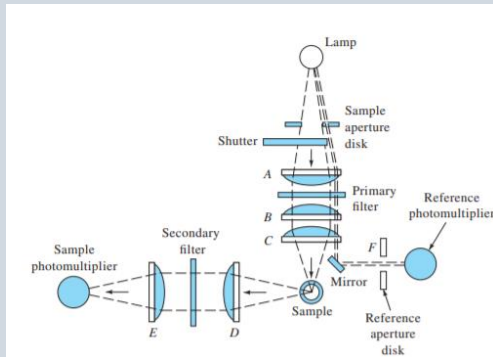
Δευτερογενής απορρόφηση: Σε υψηλές συγκεντρώσεις όπου το μήκος κύματος της εκπομπής καλύπτει την ταινία της απορρόφησης, ο φθορισμός μειώνεται καθώς η εκπομπή διασχίζει το διάλυμα επαναπορροφάται από τα υπόλοιπα μόρια. Τα φαινόμενα αυτά ονομάζονται και φαινόμενα εσωτερικού φίλτρου (*inner effect*)



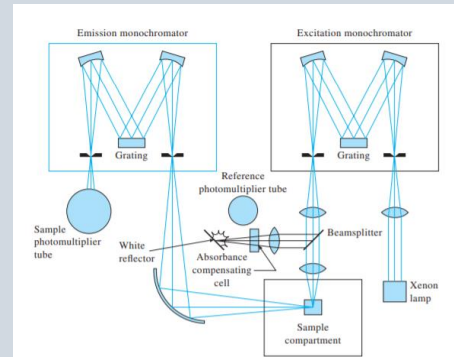
28

Οργανολογία

ΦΘΟΡΙΣΜΟΜΕΤΡΟ



ΦΑΣΜΑΤΟΦΘΟΡΙΣΜΟΜΕΤΡΟ



29

Οργανολογία

- Μέτρηση έντασης φθορισμού υπό γωνία 90° ως προς την ακτινοβολία διέγερσης
- Ελαχιστοποίηση ανίχνευσης ακτινοβολίας διέγερσης και παράσιτης ακτινοβολίας*
- Διαφορές από τα φασματοφωτόμετρα
- Δύο επιλογείς μήκους κύματος
- Μέτρηση ακτινοβολίας υπό γωνία 90°

30

Οργανολογία-Πηγές Ακτινοβολίας

- Οι πηγές ακτινοβολίας διέγερσης είναι πολύ ισχυρότερες από των φασματομέτρων:
 - Λυχνία τόξου υδραργύρου υψηλής πίεσης (γραμμικό φάσμα με εντονότερη γραμμή στα 366 nm)
 - Λυχνία τόξου υδραργύρου χαμηλής πίεσης (εντονότερη γραμμή στα 254 nm)
 - Λυχνία τόξου υδραργύρου χαμηλής πίεσης με επικάλυψη φωσφόρου (ταινιωτό φάσμα 300-400 nm)
 - Λυχνία τόξου αερίου ξένου (συνεχές φάσμα 250-600 nm, μέγιστο στα 470 nm)
 - Λέιζερ (ισχυρή μονοχρωματική ακτινοβολία)
- Χαρακτηριστικά ποιότητας πηγής ακτινοβολίας διέγερσης:
 - Σταθερότητα (χρησιμοποιείται σταθεροποιητής τάσεως και σύστημα ψύξης)
 - Υψηλή ένταση (χρησιμοποιείται μεγάλο P_0)

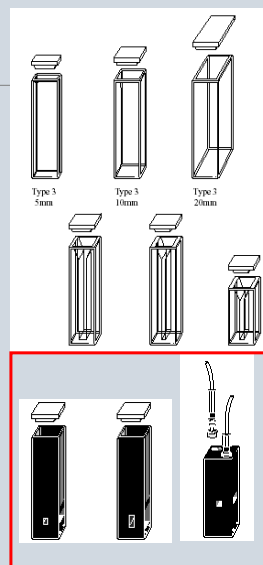
31

Οργανολογία-Κυψελίδες

Κυψελίδες

- Ορθογώνιες ή κυλινδρικές
- Υάλινες ή από χαλαζία ή πλαστικές (μιας χρήσης)
- Μικροκυψελίδες (ιδιαίτερα με λέιζερ)
- Κυψελίδες ροής για αυτοματοποιημένα συστήματα ή HPLC

Ο θάλαμος κυψελίδων μαυρισμένος για την απορρόφηση σκεδαζόμενης ακτινοβολίας



32

Εφαρμογές Φθορισμομετρίας

33

Εφαρμογές Φθορισμομετρίας

Ποσοτική ανάλυση ενώσεων σε πολύ αραιά διαλύματα ($10^{-4} - 10^{-9} \text{ M}$)

Ιδιαίτερη σπουδαιότητα εφαρμογές:

- Φαρμακευτική ανάλυση
- Τοξικολογία
- Κλινική χημεία
- Εγκληματολογία
- Βιοχημεία
- Ιατρική
- Χημεία τροφίμων
- Χημεία φυσικών προϊόντων
- Περιβαλλοντική χημεία (μελέτη μόλυνσης ατμόσφαιρας)

Φθορισμομετρική ανάλυση:

- **Άμεση:** η προσδιοριζόμενη ουσία φθορίζει σημαντικά
- **Έμμεση:** η ουσία φθορίζει ελάχιστα ή καθόλου
 - Μετατρέπεται σε έντονα φθορίζον προϊόν με χημική αντίδραση
 - Προκαλεί ενίσχυση φθορισμού άλλης ουσίας
 - Προκαλεί απόσβεση φθορισμού άλλης ουσίας

34

Εφαρμογές Φθορισμομετρίας

ΑΜΕΣΗ (ΕΝΔΟΓΕΝΗΣ ΦΘΟΡΙΣΜΟΣ)

- ΒΙΤΑΜΙΝΕΣ
- ΦΑΡΜΑΚΑ
- ΑΜΙΝΟΞΕΑ
- ΑΛΚΑΛΟΕΙΔΗ
- ΠΟΛΥΑΡΩΜΑΤΙΚΟΙ ΥΔΡΟΓΟΝΑΝΘΡΑΚΕΣ

ΕΜΜΕΣΗ (ΜΕΤΑΤΡΟΠΗ ΣΕ ΦΘΟΡΙΖΟΝ ΠΡΟΪΟΝ)

1. Σχηματισμός φθορίζοντος παραγώγου με σύνδεση με φθορίζουσες ουσίες (δανσυλο-χλωρίδιο για αμινοξέα και φαινόλες, ο-φθαλαλδεΐδη για πρωτοταγείς αρυλαμίνες, αρυλυδραζίνες)
2. Μετατροπή του αναλύτη σε φθορίζον προϊόν μέσω χημικών αντιδράσεων
3. Σχηματισμός φθορίζοντος συμπλόκου για τον προσδιορισμό μεταλλοιδόντων ή οργανικών μορίων.
4. Με απόσβεση ή ενίσχυση φθορισμού.

35

Εφαρμογές Φθορισμομετρίας

1. Σχηματισμός ισχυρά φθορίζοντος παραγώγου με σύνδεση προσδιοριζόμενης ουσίας με φθορίζουσα ουσία-ετικέτα (label). Παραδείγματα:
 - δανσυλοχλωρίδιο για αμινοξέα
 - Ο-φθαλαλδεΐδη για πρωταγείς αρυλαμίνες και αρυλυδραζίνες
2. Μετατροπή σε φθορίζον προϊόν με οξείδωση. Παραδείγματα:
 - Αλκαλικό διάλυμα $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3+}$ για θειαμίνη (βιταμίνη Β₁)
 - KMnO_4 , H_2O_2 , $\text{Ce}(\text{IV})$, θέρμανση με π. H_2SO_4 (για ηρωίνη)
 - NaOH
 - Φωτοχημική οξείδωση με ισχυρή ακτινοβολία UV

36

Εφαρμογές Φθορισμομετρίας

3. Σχηματισμός ισχυρά φθορίζοντος συμπλόκου για τον προσδιορισμό μεταλλοϊόντων ή οργανικών ουσιών. Παραδείγματα προσδιορισμών:

- Ca σε ορό αίματος με συμπλοκοποίηση με καλσεΐνη
- Se με συμπλοκοποίηση με 2,3-διαμινοναφθαλίνιο (όριο ανίχνευσης 0,002 μg)
- Τετρακυκλίνη με σχηματισμό μεικτού συμπλόκου με ασβέστιο και βαρβιτουρικά

Σχηματισμός ζευγών ιόντων (οργανικών ιόντων με ιόντα φθορίζουσών ουσιών) που μπορούν να εκχυλισθούν με οργανικό διαλύτη

- Προσδιορισμός ατροπίνης με εοσίνη Υ και εκχύλιση με χλωροφόρμιο

4. Με βάση απόσβεση φθορισμού φθορίζουσας ουσίας. Παραδείγματα:

- Προσδιορισμός F⁻, CN⁻ με βάση απόσβεση φθορισμού χηλικών ενώσεων

Με βάση ενίσχυση φθορισμού

37

Εφαρμογές Φθορισμομετρίας

Βιολογικά Υγρά για Διαγνωστικούς Σκοπούς

Ανόργανα ιόντα (Mg²⁺, Ca²⁺, Cu²⁺, Zn²⁺, Be²⁺)

Αμινοξέα και συγγενείς ουσίες

- Προσδιορισμός φαιουλαανίνης σε ορό αίματος για διαπίστευση φαιυλοκετονουρίας

Νουκλεοτίδια (ATP, ADP, NADH, NADPH)

Διάφορα ένζυμα

Χρήση φθορίζοντος συνενζύμου NADH για την παρακολούθηση κινητικής πολλών ενζύμων

38

Εφαρμογές Φθορισμομετρίας

Χρήση φθορισμομετρίας στις χρωματογραφικές τεχνικές ως μέσο ανίχνευσης των διαχωριζόμενων ουσιών:

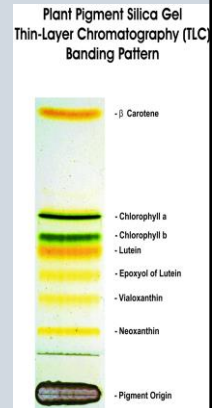
- Υγροχρωματογραφία (HPLC) για την ανίχνευση εκλούμενων ουσιών από στήλη
- Χρωματογραφία χάρτη και λεπτής στοιβάδας για τον εντοπισμό άχρωμων κηλίδων
- Ποσοτική χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας με χρήση πυκνομετρίας

Χρήση στην τεχνική αναλύσεως με αποξηραμένα αντιδραστήρια

Χρήση φθοριζουσών ουσιών στους φθορισμοανοδοσχημικούς προσδιορισμούς (FIA)

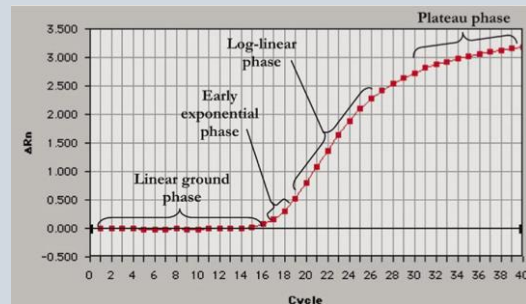
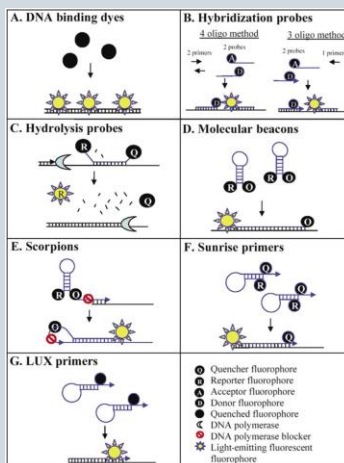
Χρήση σε αυτοματοποιημένους αναλυτές ροής

Χρήση φθοριζουσών ουσιών για την παρακολούθηση υπόγειας συγκοινωνίας υδατοπηγών και τη μελέτη ροής υδάτων και της μόλυνσής τους



39

Φθορισμομετρία και RT-qPCR



Πηγή: Marisa L. Wong & Juan F. Medrano, *Biotechniques*, Vol 39, 2018.

40

Βιβλιογραφία

Skoog, Holler, Crouch, Principles of Instrumental Analysis, ed7.

Σημειώσεις Φθορισμομετρίας Μ. Κουπάρης.

Σημειώσεις Φασματομετρία Μοριακής Φωτεύγιας, Π. Ιωάννου-Αμαραντίδου.