




Μοριακή Φωταύγεια Φθορισμομετρία

Αθηνά Μάρκου,
Επικ.Καθηγήτρια Αναλυτικής Χημείας,
Τμήμα Χημείας, ΕΚΠΑ

fopt.com

1



κινίνη

ορυκτά

πυρανίνη

βήτα-καρβολίνες

fopt.com

2

Φωταύγεια (Luminescence)

- ☐ **Φωταύγεια** χαρακτηρίζεται οποιαδήποτε εκπομπή **φωτός** χωρίς θέρμανση
- ☐ Η ενέργεια που προσλαμβάνεται κατά την διέγερση ενός μορίου με απορρόφηση ενός φωτονίου αποβάλλεται με διάφορους τρόπους, συνήθως με μορφή θερμότητας, αλλά και με την μορφή δευτερεύουσας ακτινοβολίας η οποία χαρακτηρίζεται με τον όρο φωταύγεια.

Η φωταύγεια ανάλογα στο χώρο που παρατηρείται αλλά και του τρόπου με τον οποίο συμβαίνει διακρίνεται ανάλογα σε:

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)

fppt.com

3

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΩΝ ΜΕΘΟΔΩΝ ΦΩΤΑΥΓΕΙΑΣ:

- ✓ **Εγγενής Ευαισθησία:** Τα όρια ανίχνευσης είναι της τάξης $\mu\text{g}/\text{kg}$ (ppb) – $\mu\text{g}/\text{L}$ (μια έως τρεις τάξης μεγέθους χαμηλότερα από της φασματομετρίας απορρόφησης)
- ✓ **Μεγάλες γραμμικές περιοχές συγκεντρώσεων**

- ☒ **Έντονες παρεμποδίσεις από τη μήτρα του δείγματος: οι διεγερμένες καταστάσεις τείνουν να αποδιεγείρονται με συγκρούσεις ή και άλλες διεργασίες πολλά μόρια δεν φθορίζουν ή φωσφορίζουν.**

➤ **Οι μετρήσεις φωταύγειας συνδυάζονται με τεχνικές διαχωρισμού όπως χρωματογραφικές τεχνικές:** Συχνά προηγείται διαχωρισμός πριν τη μέτρηση, άρα έχουμε **ανιχνευτές στη χρωματογραφία** (κυρίως HPLC) που βασίζονται σε μετρήσεις φωταύγειας (κυρίως **ανιχνευτές φθορισμού**)

fppt.com

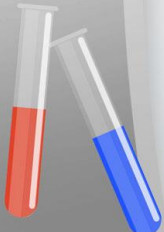
4

ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΦΩΤΑΥΓΕΙΑΣ:

- Μοριακός Φθορισμός
- Φωσφορισμός
- Χημειοφωταύγεια

ΦΩΤΟΦΩΤΑΥΓΕΙΑ: η διέγερση προκαλείται από απορρόφηση φωτονίων (φθορισμός – φωσφορισμός)

ΧΗΜΕΙΟΦΩΤΑΥΓΕΙΑ: η εκπομπή προέρχεται από διεγερμένο σωματίδιο που παράγεται από μια χημική αντίδραση (συχνά του αναλύτη και ενός ισχυρού οξειδωτικού).

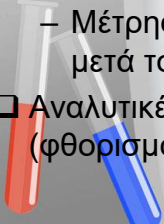


fppt.com

5

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)

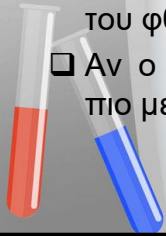


fppt.com

6

Φθορισμός και φωσφορισμός

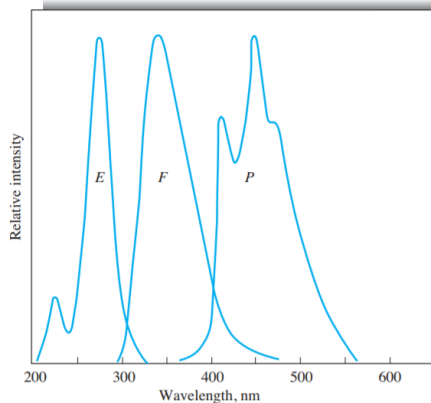
- ❑ Ο **φθορισμός και ο φωσφορισμός** βασίζονται στην ίδια αρχή. Μετατρέπουν ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία στην περιοχή του υπεριώδους (μη ορατή) σε ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία στην περιοχή του ορατού φωτός. Η διάφορα τους είναι στο χρόνο που χρειάζεται για να εξελιχτεί το φαινόμενο.
- ❑ Αν ο χρόνος στον οποίο εκτελείται το φαινόμενο είναι πολύ πολύ μικρός, δηλαδή λιγότερο από 1/100.000 του δευτερολέπτου, τότε λέμε ότι έχουμε το φαινόμενο του φθορισμού.
- ❑ Αν ο χρόνος στον οποίο εκτελείται το φαινόμενο είναι πιο μεγάλος τότε μιλάμε για φωσφορισμό.



fppt.com

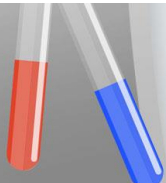
7

Αρχές Φθορισμομετρίας



Φάσμα Θρυπτοφάνης

- ❑ E: Excitation (Διέγερσης)
- ❑ F: Fluorescence (Φθορισμός)
- ❑ P: Phosphorescence (Φωσφορισμός)
- ❑ Τι παρατηρείτε;



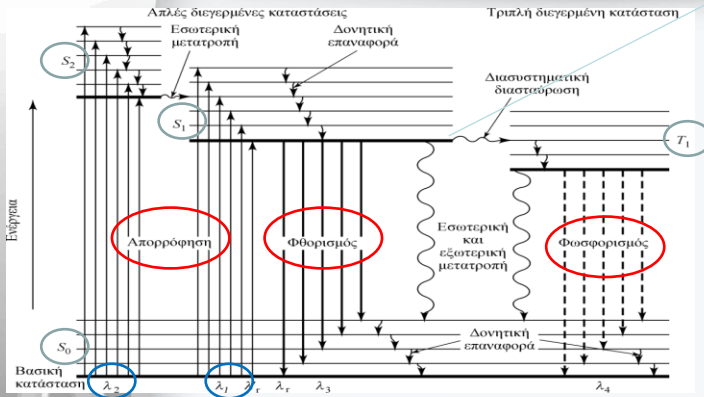
fppt.com

8

ΕΝΕΡΓΕΙΑΚΑ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΑ ΜΟΡΙΩΝ ΠΟΥ ΕΜΦΑΝΙΖΟΥΝ ΦΩΤΟΦΩΤΑΥΓΕΙΑ

- S_0 = η βασική ενεργειακή κατάσταση του μορίου
- S_1 και S_2 = η πρώτη και δεύτερη ηλεκτρονιακή κατάσταση
- T_1 = η πρώτη διεγερμένη τριπλή ηλεκτρονιακή κατάσταση

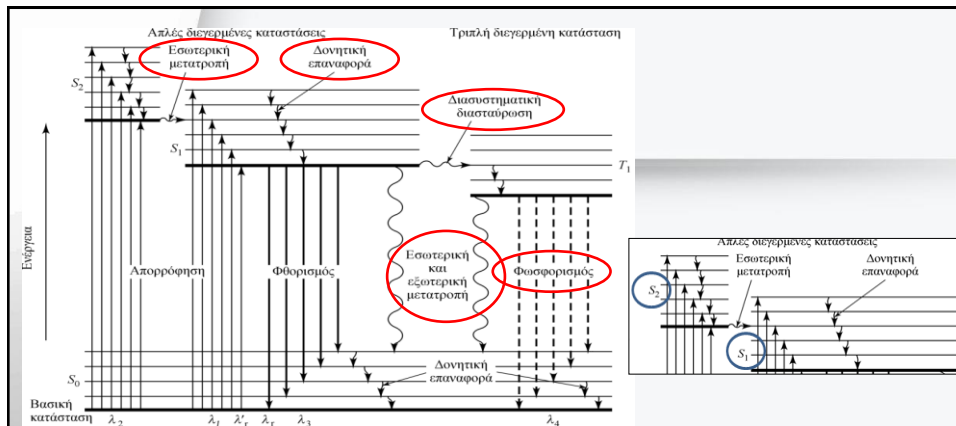
Βασικά
δονητικά
ενεργειακά
επίπεδα



Όπως φαίνεται στο σχήμα, η διέγερση του μορίου του μπορεί να επιτευχθεί με απορρόφηση ακτινοβολίας γύρω από το μήκος κύματος λ_1 ($S_0 \rightarrow S_1$) και λ_2 ($S_0 \rightarrow S_2$). Η διαδικασία διέγερσης μπορεί να προκαλέσει τη μετάβαση σε οποιαδήποτε από τις διάφορες διεγερμένες δονητικές καταστάσεις. Η απευθείας μετάβαση στην τριπλή κατάσταση έχει μικρή πιθανότητα να συμβεί (απαγορευμένη μετάπτωση).

fppt.com

11



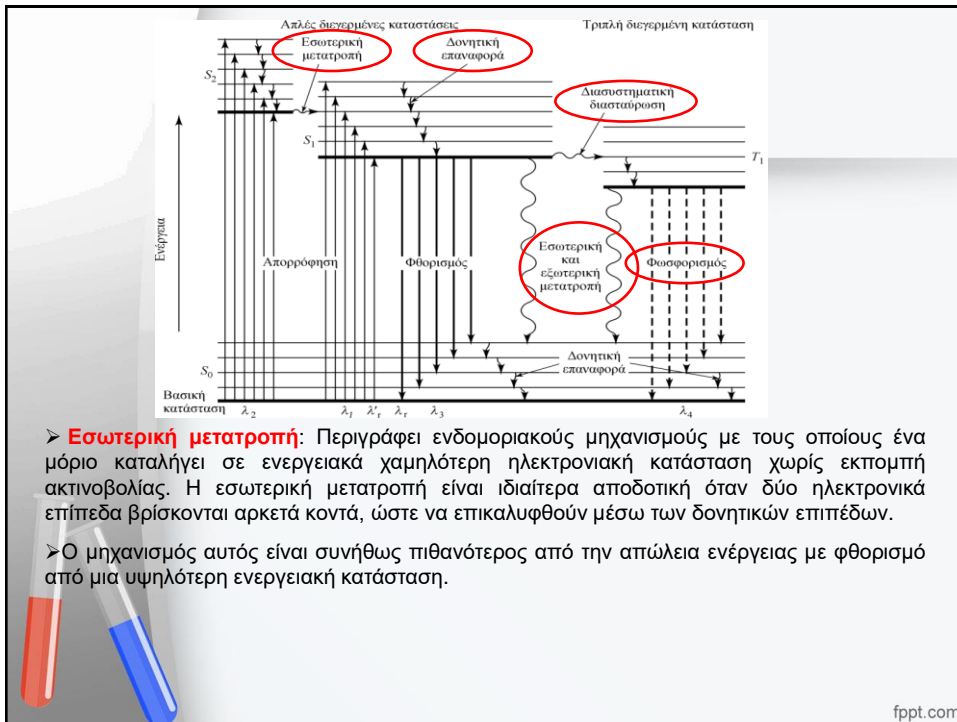
Μηχανισμοί αποδιέγερσης:

> **Δονητική επαναφορά:** ένα μόριο κατά την ηλεκτρονιακή διέγερση μπορεί να ανυψωθεί σε οποιοδήποτε δονητικό επίπεδο. Η περίσσεια της δονητικής ενέργειας χάνεται λόγω κρούσεων. Η εμφάνιση φθορισμού περιλαμβάνει πάντα μετάπτωση από το κατώτατο δονητικό επίπεδο σε μια διεγερμένη ηλεκτρονιακή κατάσταση. Ωστόσο πάντα το ηλεκτρόνιο μπορεί να επιστρέψει σε οποιοδήποτε δονητικό επίπεδο της βασικής κατάστασης, από όπου μεταπίπτει προς το χαμηλότερο δονητικό επίπεδο της βασικής ηλεκτρονιακής κατάστασης.

Μόρια διεγερμένα στις ηλεκτρονιακές καταστάσεις S_1 και S_2 χάνουν ταχύτατα κάθε ενεργειακό περίσσειμα και μεταπίπτουν στο βασικό ενεργειακό δονητικό επίπεδο της ηλεκτρονιακής κατάστασης. Η διαδικασία αυτή γίνεται χωρίς εκπομπή ακτινοβολίας και λέγεται δονητική επαναφορά.

fppt.com

12



13

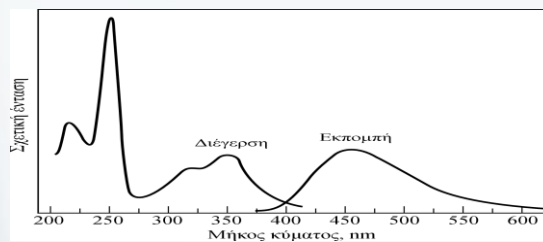
Εκπομπή φθορισμού με συχνότητα μικρότερη από συχνότητα διέγερσης, λόγω απώλειας ενέργειας με μορφή θερμότητας κατά τη δονητική επαναφορά και εσωτερική μετατροπή



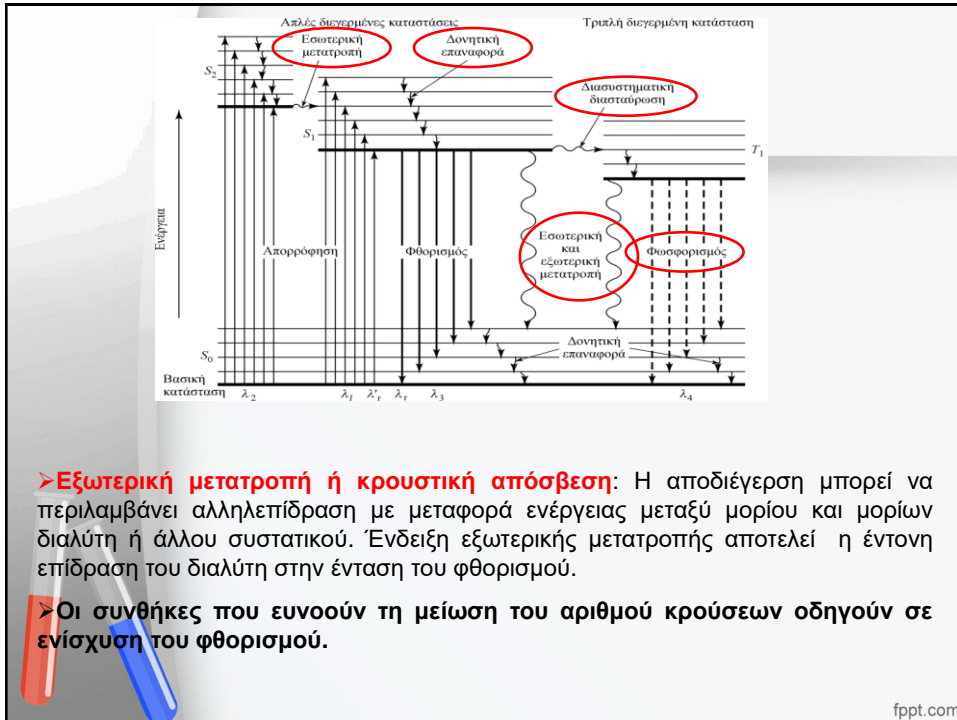
Παρατηρείται σε μόρια με περιορισμένο βαθμό δονητικής ελευθερίας (μεγάλης ακαμψίας), π.χ. αρωματικά μόρια, μόρια με πολλαπλούς συζυγιακούς διπλούς δεσμούς, με αμελητέα εσωτερική μετατροπή.

Ο ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΑΠΟΔΙΕΓΕΡΣΗΣ ΤΗΣ ΚΙΝΗΣ

Ο μηχανισμός αποδιέγερσης της κίνησης αποτελεί χαρακτηριστικό παράδειγμα εσωτερικής μετατροπής. Η φυσική αυτή ουσία εμφανίζει δύο αναλυτικά χρήσιμες ζώνες διέγερσης, μία με μέγιστο στα 250 nm και μία στα 350 nm. Ανεξάρτητα από ποιο μήκος κύματος χρησιμοποιείται για τη διέγερση του μορίου το μέγιστο της εκπομπής παρουσιάζεται στα 450 nm.



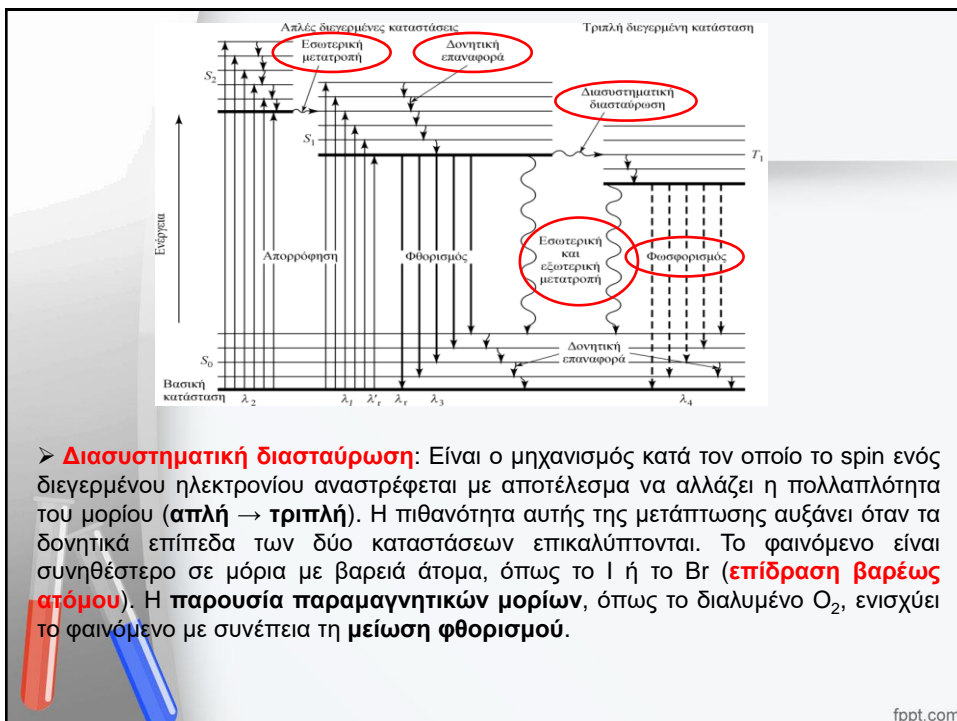
14



➤ **Εξωτερική μετατροπή ή κρουστική απόσβεση:** Η αποδιέγερση μπορεί να περιλαμβάνει αλληλεπίδραση με μεταφορά ενέργειας μεταξύ μορίου και μορίων διαλύτη ή άλλου συστατικού. Ένδειξη εξωτερικής μετατροπής αποτελεί η έντονη επίδραση του διαλύτη στην ένταση του φθορισμού.

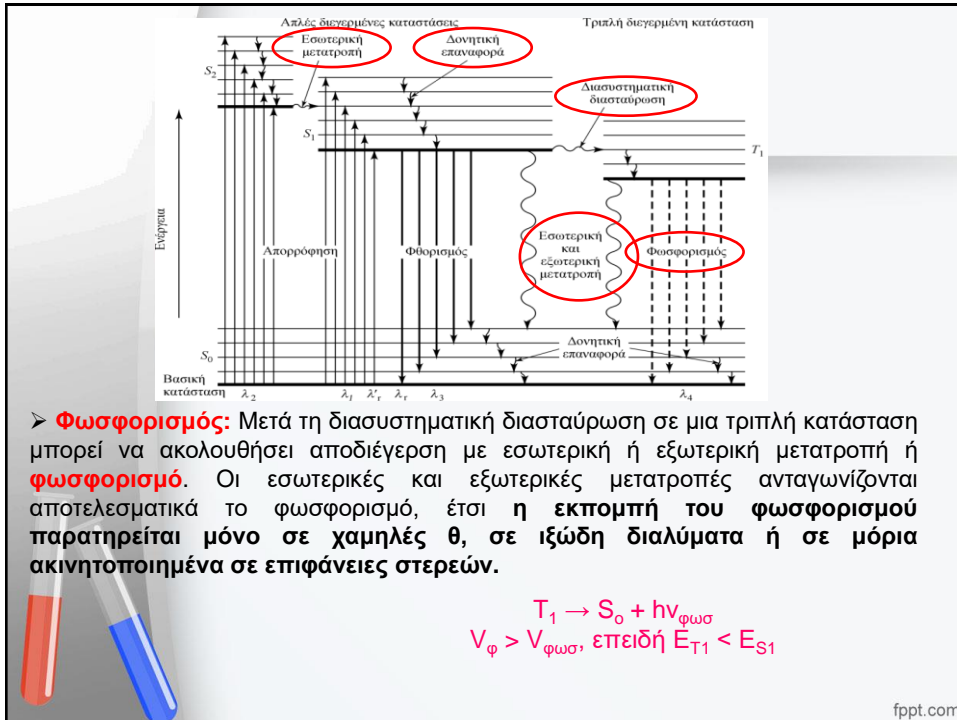
➤ **Οι συνθήκες που ευνοούν τη μείωση του αριθμού κρούσεων οδηγούν σε ενίσχυση του φθορισμού.**

15

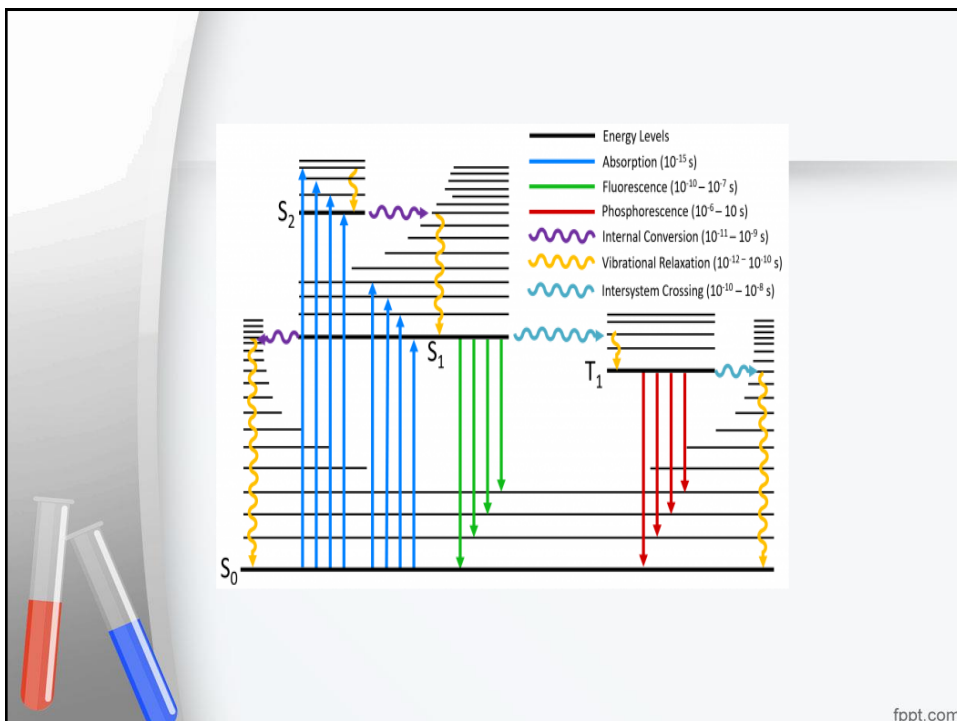


➤ **Διασυστηματική διασταύρωση:** Είναι ο μηχανισμός κατά τον οποίο το spin ενός διεγερμένου ηλεκτρονίου αναστρέφεται με αποτέλεσμα να αλλάζει η πολλαπλότητα του μορίου (**απλή** → **τριπλή**). Η πιθανότητα αυτής της μετάπτωσης αυξάνει όταν τα δονητικά επίπεδα των δύο καταστάσεων επικαλύπτονται. Το φαινόμενο είναι συνηθέστερο σε μόρια με βαριά άτομα, όπως το I ή το Br (**επίδραση βαρέως ατόμου**). Η **παρουσία παραμαγνητικών μορίων**, όπως το διαλυμένο O_2 , ενισχύει το φαινόμενο με συνέπεια τη **μείωση φθορισμού**.

16



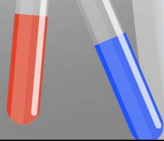
17



18

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

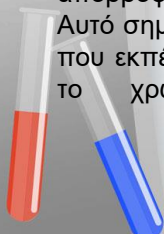
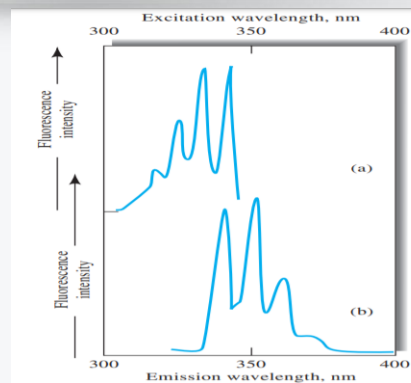


fppt.com

19

Φάσματα Φθορισμού

1. Σχέση ειδώλου-αντικειμένου μεταξύ των δύο φασμάτων
2. Μετατόπιση φάσματος φθορισμού σε μεγαλύτερα μήκη κύματος
3. Δυνατότητα λήψης φάσματος φθορισμού σε πολύ χαμηλή συγκέντρωση (10^{-7} M)
4. Το εκπεμπόμενο φως είναι χαμηλότερης ενέργειας και μεγαλύτερου μήκους κύματος από το απορροφούμενο φως. Αυτό σημαίνει ότι το χρώμα του φωτός που εκπέμπεται είναι διαφορετικό από το χρώμα του φωτός που απορροφήθηκε.



fppt.com

20

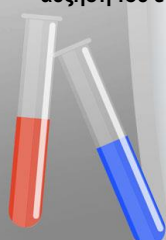
ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΟΝ ΦΘΟΡΙΣΜΟ ΚΑΙ ΤΟΝ ΦΩΣΦΟΡΙΣΜΟ

➤ **Επίδραση δομής στο φθορισμό:** Έντονο φθορισμό παρουσιάζουν

1. Οι ενώσεις που περιέχουν αρωματικές ομάδες με χαμηλά ενεργειακά επίπεδα μεταπτώσεων $\pi \rightarrow \pi^*$,
2. Ενώσεις με αλειφατικές δομές υψηλής συζυγίας,
3. Οι περισσότεροι μη υποκατεστημένοι αρωματικοί δακτύλιοι,
4. Οι ενώσεις με μεγάλο αριθμό αρωματικών δακτυλίων και υψηλό βαθμό συμπύκνωσης.

Οι απλές ετεροκυκλικές ενώσεις δεν φθορίζουν

Οι συμπυκνωμένες δομές βενζολίου με ετεροκυκλικό πυρήνα προκαλούν αύξηση του ϵ και κατά συνέπεια του φθορισμού



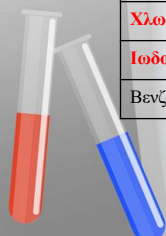
fppt.com

21

ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΟΝ ΦΘΟΡΙΣΜΟ ΚΑΙ ΤΟΝ ΦΩΣΦΟΡΙΣΜΟ

Η υποκατάσταση στον βενζολικό δακτύλιο προκαλεί μετατοπίσεις στο μήκος κύματος των κορυφών απορρόφησης και αντίστοιχες αλλαγές στις κορυφές φθορισμού. **Η υποκατάσταση επηρεάζει την απόδοση φθορισμού.**

Ένωση	Χημικός τύπος	Μήκος κύματος φθορισμού, nm	Σχετική ένταση φθορισμού
Βενζόλιο	C_6H_6	270-310	10
Τολουόλιο	$C_6H_5CH_3$	270-320	17
Προπυλοβενζόλιο	$C_6H_5C_3H_7$	270-320	17
Φθοροβενζόλιο	C_6H_5F	270-320	10
Χλωροβενζόλιο	C_6H_5Cl	275-345	7
Ιωδοβενζόλιο	C_6H_5I	-	0
Βενζοϊκό οξύ	C_6H_5COOH	310-390	3



fppt.com

22

Φθορισμός & Χημική Δομή

Υποκαταστάτες & Φθορισμός

Οι υποκαταστάτες επηρεάζουν το βαθμό φθορισμού

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

Διευκολύνουν τη μετάπτωση S₁ → S₀

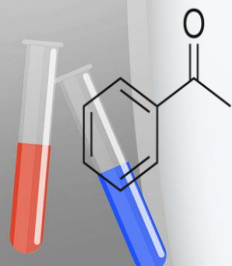
Ηλεκτρονιόφιλες ομάδες (-COOH, -NO₂, αλογονοϊόντα)

μειώνουν ή εξαλείφουν φθορισμό

ο - ρ - υποκαταστάτες αυξάνουν το φθορισμό

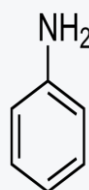
m - υποκαταστάτες μειώνουν το φθορισμό

Μείωση Φθορισμού



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

Αύξηση Φθορισμού



-OH
-O-CH₃
-NH₂
-NHCH₃
-F

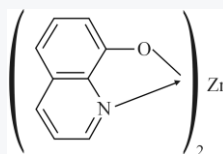
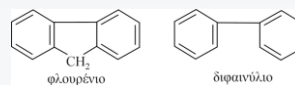
fppt.com

23

ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΟΝ ΦΘΟΡΙΣΜΟ ΚΑΙ ΤΟΝ ΦΩΣΦΟΡΙΣΜΟ

- **Επίδραση δομικής ακαμψίας:** έχει αποδειχτεί εμπειρικά ότι ο φθορισμός ευνοείται σε μόρια με άκαμπτη δομή.

Για παράδειγμα, οι κβαντικές αποδόσεις του φλουορενίου και του διφαινυλίου στις ίδιες συνθήκες είναι περίπου 1,0 και 0,2, αντίστοιχα. Η επίδραση της ακαμψίας θεωρείται υπεύθυνη και για την αύξηση φθορισμού ορισμένων οργανικών συμπλεκτικών αντιδραστηρίων, όταν αυτά συνδέονται με μεταλλικό ιόν.



Η ευκαμψία σε ένα μόριο προκαλεί ενίσχυση της εσωτερικής μετατροπής και συνεπώς αύξηση της πιθανότητας για μη ακτινοβόλο αποδιέγερση. Ένα τμήμα ενός εύκαμπτου μορίου μπορεί να εμφανίσει δονήσεις χαμηλής συχνότητας σε σχέση με άλλα τμήματα και να προκαλέσει μερική απώλεια ενέργειας.

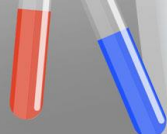
fppt.com

24

ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΟΝ ΦΘΟΡΙΣΜΟ ΚΑΙ ΤΟΝ ΦΩΣΦΟΡΙΣΜΟ

> Επίδραση του διαλύτη

- 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.



↑ Ιξώδους του διαλύτη ⇒ ↓ Έντασης Φθορισμού,
λόγω αύξησης της πιθανότητας αποδιέγερσης με εξωτερική μετατροπή.

fppt.com

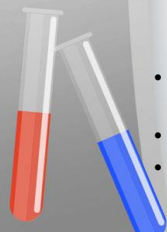
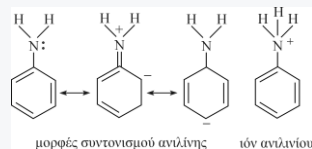
25

ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΟΝ ΦΘΟΡΙΣΜΟ ΚΑΙ ΤΟΝ ΦΩΣΦΟΡΙΣΜΟ

> Επίδραση pH:

Ο φθορισμός σε ενώσεις με όξινους ή βασικούς υποκαταστάτες συνήθως εξαρτάται από το pH. Τόσο το μήκος κύματος, όσο και η ένταση της εκπομπής μπορεί να είναι διαφορετικά για τον ιοντισμένο και μη ιοντισμένο τύπο της ένωσης. Επομένως συχνά σε φθορισμομετρικές μεθόδους απαιτείται αυστηρός έλεγχος του pH.

Για παράδειγμα, η ανιλίνη παρουσιάζει διάφορες μορφές συντονισμού, ενώ το κατιόν ανιλίνιου μόνο μία, δηλαδή οι επιπλέον μορφές συντονισμού οδηγούν σε σταθερότερη πρώτη διεγερμένη κατάσταση με αποτέλεσμα να φθορίζει η ένωση στην υπεριώδη περιοχή.



- 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

fppt.com

26

ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΟΝ ΦΘΟΡΙΣΜΟ ΚΑΙ ΤΟΝ ΦΩΣΦΟΡΙΣΜΟ

➤ Επίδραση της θερμοκρασίας:

- 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

↑ **Θερμοκρασία** ⇒ ↓ **Έντασης Φθορισμού**,
λόγω αύξησης των κρούσεων και πιθανότητας αποδιέγερσης με **εξωτερική μετατροπή**.

27

ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΟΝ ΦΘΟΡΙΣΜΟ ΚΑΙ ΤΟΝ ΦΩΣΦΟΡΙΣΜΟ

➤ Επίδραση του διαλυμένου οξυγόνου:

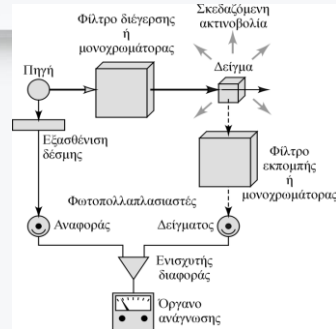
- Παρεμποδίζει με:
 - Άμεση οξειδωση φθορίζουσας ουσίας προς μη φθορίζον προϊόν
 - Απόσβεση του φθορισμού
- Απαιτείται απαέρωση διαλύματος δείγματος με διαβίβαση αζώτου, ιδιαίτερα κατά την εργασία με οργανικούς διαλύτες.
- Οι παραμαγνητικές ιδιότητες του Οξυγόνου, ενισχύουν την αποδιέγερση μέσω τριπλής κατάστασης, αποσβένοντας τον φθορισμό.

28

ΟΡΓΑΝΟΛΟΓΙΑ

Στο σχήμα παρουσιάζονται τα βασικά τμήματα ενός φθορισμόμετρου ή ενός φασματοφθορισμόμετρου. Αναλυτικά ένα φθορισμόμετρο ή ένα φασματοφθορισμόμετρο αποτελείται από τα εξής μέρη:

- Πηγές ακτινοβολίας
- Φίλτρα και μονοχρωμάτορες
- Κυψελίδες και διαμερίσματα κυψελίδων



29

ΔΙΑΦΟΡΕΣ ΦΘΟΡΙΣΜΟΜΕΤΡΟΥ – ΦΑΣΜΑΤΟΦΘΟΡΙΣΜΟΜΕΤΡΟΥ

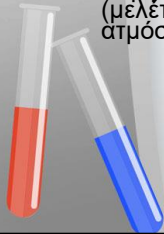
✓ Τα **φθορισμόμετρα φίλτρου** είναι **σχετικά απλά και φθηνά** και μπορούν να χρησιμοποιηθούν για ποσοτικές φθορισμομετρικές αναλύσεις. Για την επιλογή του μήκους κύματος της ακτινοβολίας διέγερσης και εκπομπής χρησιμοποιούνται **φίλτρα απορρόφησης ή φίλτρα συμβολής**. Γενικά τα φθορισμόμετρα είναι συμπαγή, ανθεκτικά και εύχρηστα όργανα.

✓ Τα **φασματοφθορισμόμετρα** είναι ικανά να παράγουν τόσο φάσματα διέγερσης όσο και φάσματα εκπομπής. Στα όργανα αυτά χρησιμοποιούνται **δύο μονοχρωμάτορες φράγματος**. Η ακτινοβολία από τον πρώτο μονοχρωμάτορα τεμαχίζεται, μέρος αυτής φτάνει στον φωτοπολλαπλασιαστή αναφοράς και μέρος οδηγείται προς το δείγμα. Η προκύπτουσα ακτινοβολία, μετά την ανάλυση της ανιχνεύεται και μετρείται από δεύτερο φωτοπολλαπλασιαστή. Τα λαμβανόμενα φάσματα δεν είναι εντελώς συγκρίσιμα με αυτά που λαμβάνονται με άλλα όργανα, επειδή το αποτέλεσμα δεν εξαρτάται μόνο από την ένταση φθορισμού, αλλά και από τα χαρακτηριστικά της λυχνίας, του μεταλλάκτη και των μονοχρωματόρων. Για το λόγο αυτό είναι απαραίτητη η λήψη διορθωμένων φασμάτων.

30

ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΦΘΟΡΙΣΜΟΜΕΤΡΙΑΣ

- Ποσοτική ανάλυση ενώσεων σε πολύ αραιά διαλύματα (10^{-4} – 10^{-9} 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



fppt.com

31

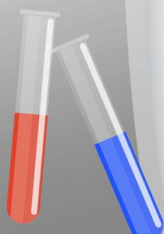
ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΦΘΟΡΙΣΜΟΜΕΤΡΙΑΣ

ΑΜΕΣΗ (ΕΝΔΟΓΕΝΗΣ ΦΘΟΡΙΣΜΟΣ)

- ΒΙΤΑΜΙΝΕΣ
- ΦΑΡΜΑΚΑ
- ΑΜΙΝΟΞΕΑ
- ΑΛΚΑΛΟΕΙΔΗ
- ΠΟΛΥΑΡΩΜΑΤΙΚΟΙ ΥΔΡΟΓΟΝΑΝΘΡΑΚΕΣ

ΕΜΜΕΣΗ (ΜΕΤΑΤΡΟΠΗ ΣΕ ΦΘΟΡΙΖΟΝ ΠΡΟΪΟΝ)

1. Σχηματισμός φθορίζοντος παραγώγου με σύνδεση με φθορίζουσες ουσίες (δανσυλοχλωρίδιο 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 μεταλλοϊόντων ή οργανικών μορίων.
4. Με απόσβεση ή ενίσχυση φθορισμού.

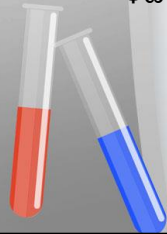


fppt.com

32

ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΦΘΟΡΙΣΜΟΜΕΤΡΙΑΣ

1. Σχηματισμός ισχυρά φθορίζοντος παραγώγου με σύνδεση προσδιοριζόμενης ουσίας με φθορίζουσα ουσία-ετικέτα (label). Παραδείγματα:
 - δανσυλοχλωρίδιο για αμινοξέα
 - Ο-φθαλαδεύδη για πρωταγείς αρυλαμίνες και αρυλυδραζίνες
2. Μετατροπή σε φθορίζον προϊόν με οξείδωση. Παραδείγματα:
 - Αλκαλικό διάλυμα $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3+}$ για θειαμίνη (βιταμίνη B₁)
 - KMnO_4 , H_2O_2 , $\text{Ce}(\text{IV})$, θέρμανση με π. H_2SO_4 (για ηρωίνη)
 - NaOH
 - Φωτοχημική οξείδωση με ισχυρή ακτινοβολία UV

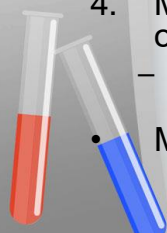


fppt.com

33

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-διαμινοναφθαλίνη (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



fppt.com

34

ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΦΘΟΡΙΣΜΟΜΕΤΡΙΑΣ

Βιολογικά Υγρά για Διαγνωστικούς Σκοπούς

- Ανόργανα ιόντα (Mg^{2+} , Ca^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Be^{2+})
- Αμινοξέα και συγγενείς ουσίες
 - Προσδιορισμός φαινυλαλάνης σε ορό αίματος για διαπίστευση φαινυλοκετονουρίας
- Νουκλεοτίδια (ATP, ADP, NADH, NADPH)
- Διάφορα ένζυμα
- Χρήση φθορίζοντος συνενζύμου NADH για την παρακολούθηση κινητικής πολλών ενζύμων

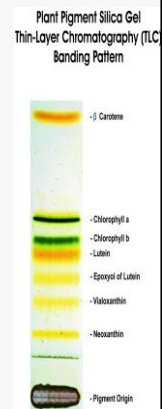


fppt.com

35

ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΦΘΟΡΙΣΜΟΜΕΤΡΙΑΣ

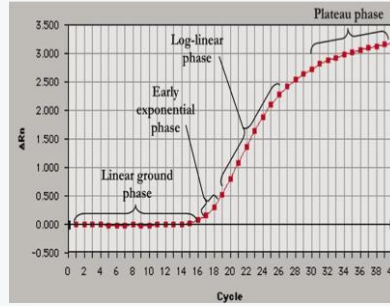
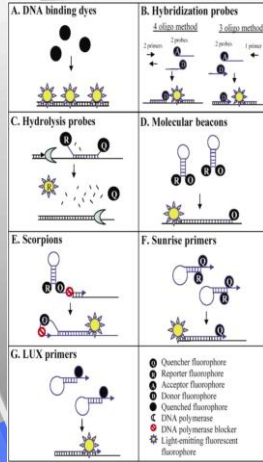
- Χρήση φθορισμομετρίας στις χρωματογραφικές τεχνικές ως μέσο ανίχνευσης των διαχωριζόμενων ουσιών:
 - Υγροχρωματογραφία (HPLC) για την ανίχνευση εκλυόμενων ουσιών από σήλη
 - Χρωματογραφία χάρτη και λεπτής στοιβάδας για τον εντοπισμό άχρωμων κηλίδων
 - Ποσοτική χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας με χρήση πυκνομετρίας
- Χρήση στην τεχνική ανάλυσεως με αποξηραμένα αντιδραστήρια
- Χρήση φθορίζουσών ουσιών στους φθορισμοανοδοχημικούς προσδιορισμούς (FIA)
- Χρήση σε αυτοματοποιημένους αναλυτές ροής
- Χρήση φθορίζουσών ουσιών για την παρακολούθηση υπόγειας συγκοινωνίας υδατοπηγών και τη μελέτη ροής υδάτων και της μόλυνσής τους



fppt.com

36

ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΦΘΟΡΙΣΜΟΜΕΤΡΙΑΣ



fppt.com