



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ  
Εθνικόν και Καποδιστριακόν  
Πανεπιστήμιον Αθηνών

# Ενόργανη Ανάλυση II

Ενότητα 3: Φασματομετρία Μοριακής Φωταύγειας

Θωμαΐδης Νικόλαος  
Τμήμα Χημείας  
Εργαστήριο Αναλυτικής Χημείας

# ΦΑΣΜΑΤΟΜΕΤΡΙΑ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΦΩΤΑΥΓΕΙΑΣ

## 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)

## ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΩΝ ΜΕΘΟΔΩΝ ΦΩΤΑΥΓΕΙΑΣ:

- Εγγενής Ευαισθησία:** Τα όρια ανίχνευσης είναι της τάξης  $\mu\text{g}/\text{kg}$  (ppb) –  $\mu\text{g}/\text{L}$
- Μεγάλες γραμμικές περιοχές**
- Έντονες παρεμποδίσεις από τη μήτρα του δείγματος**
- Οι μετρήσεις φωταύγειας συνδυάζονται με χρωματογραφικές τεχνικές:** Συχνά προηγείται διαχωρισμός πριν τη μέτρηση, άρα έχουμε **ανιχνευτές στη χρωματογραφία** (κυρίως HPLC) που βασίζονται σε μετρήσεις φωταύγειας (κυρίως **ανιχνευτές φθορισμού**)



# ΘΕΩΡΙΑ ΤΟΥ ΦΘΟΡΙΣΜΟΥ ΚΑΙ ΤΟΥ ΦΩΣΦΟΡΙΣΜΟΥ

**Φθορισμός Συντονισμού:** Η ακτινοβολία απορροφείται και επανεκπέμπεται χωρίς μεταβολή της συχνότητας

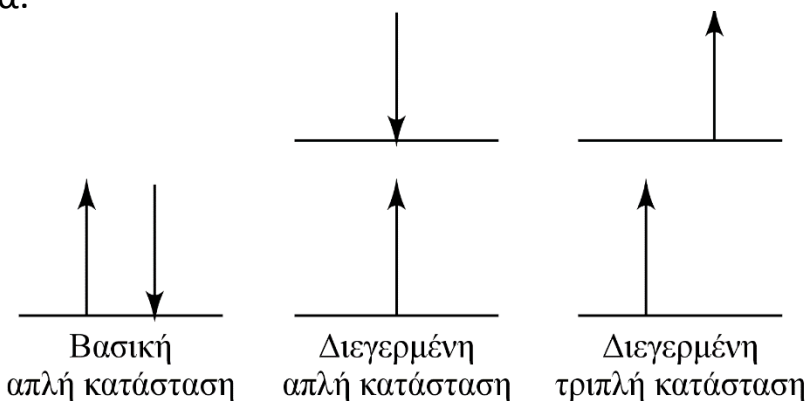
## ΔΙΕΓΕΡΜΕΝΕΣ ΚΑΤΑΣΤΑΣΕΙΣ ΠΟΥ ΠΑΡΑΓΟΥΝ ΦΘΟΡΙΣΜΟ ή ΦΩΣΦΟΡΙΣΜΟ:

Για την κατανόηση των διαφορών των δύο φαινομένων φωτοφωταύγειας απαιτείται η περιγραφή των όρων ηλεκτρονικό spin και διεγερμένες απλές ή τριπλές καταστάσεις.

➤ **Ηλεκτρονικό spin:** Ισχύει η απαγορευτική αρχή του Pauli, που δηλώνει ότι σε ένα άτομο δύο ηλεκτρόνια δεν μπορούν να έχουν και τους τέσσερις κβαντικούς αριθμούς ίδιους.

➤ **Διεγερμένες απλές ή τριπλές καταστάσεις:** Μια μοριακή ηλεκτρονική κατάσταση, στην οποία όλα τα spin είναι συζευγμένα, καλείται απλή. Αντίθετα, η βασική κατάσταση μιας ελεύθερης ρίζας είναι μια διπλή κατάσταση επειδή το μονό ηλεκτρόνιο μπορεί να αποκτήσει δύο προσανατολισμούς εντός μαγνητικού πεδίου.

Όταν ένα από τα συζευγμένα ηλεκτρόνια ενός μορίου διεγείρεται σε υψηλότερα ενεργειακά επίπεδα σχηματίζεται μια απλή ή μια τριπλή κατάσταση. Στην διεγερμένη απλή κατάσταση το ενεργειακά ανυψωμένο ηλεκτρόνιο εξακολουθεί να αποτελεί ζεύγος με το ηλεκτρόνιο της βασικής κατάστασης ως προς τα spin τους, ενώ στην τριπλή τα spin γίνονται παράλληλα.

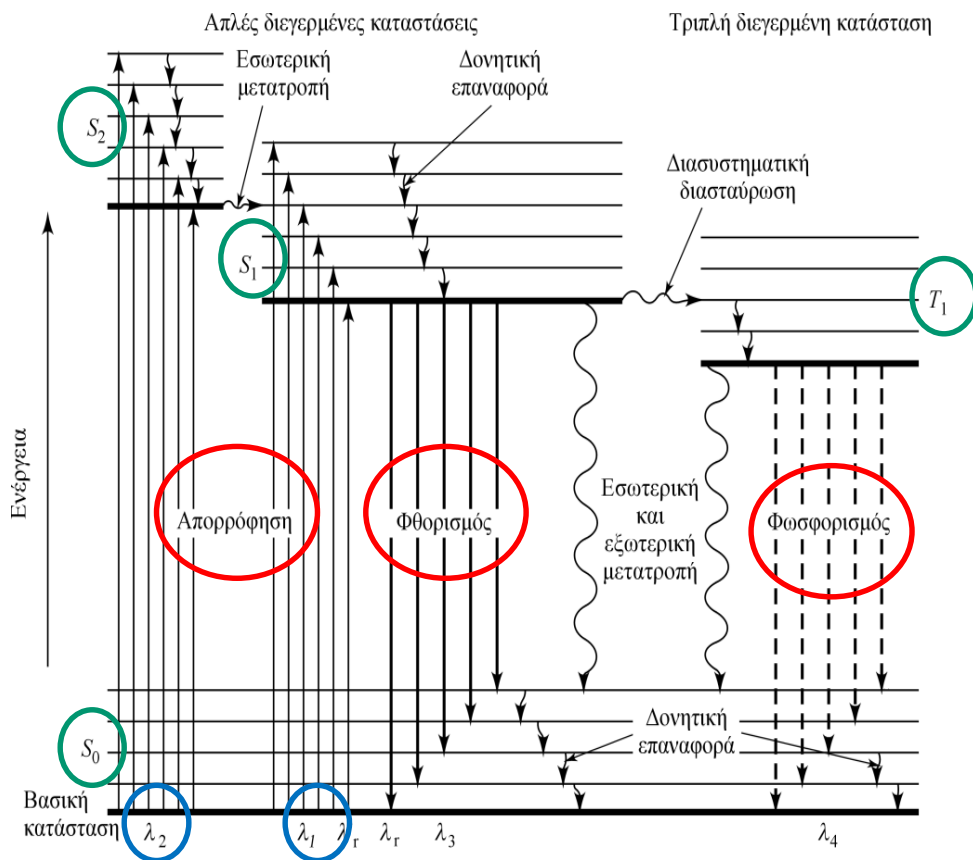


# ΕΝΕΡΓΕΙΑΚΑ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΑ ΜΟΡΙΩΝ ΠΟΥ ΕΜΦΑΝΙΖΟΥΝ ΦΩΤΟΦΩΤΑΥΓΕΙΑ

$S_0$  = η βασική ενεργειακή κατάσταση του μορίου

$S_1$  και  $S_2$  = η πρώτη και δεύτερη ηλεκτρονιακή κατάσταση

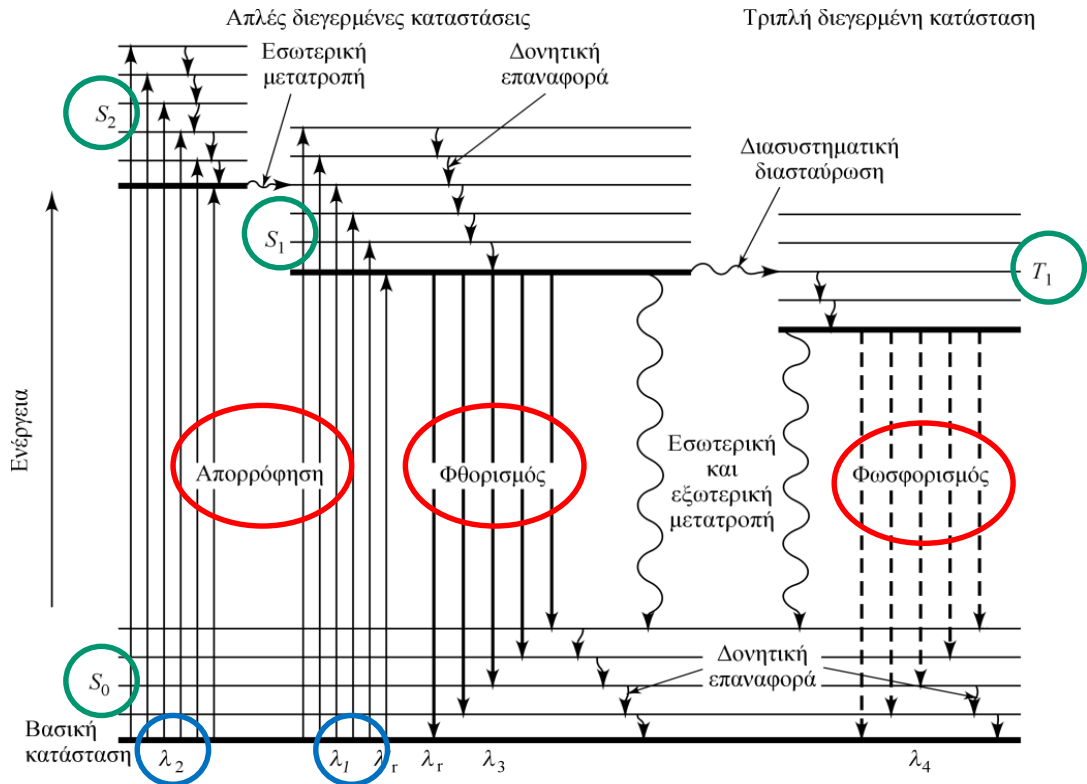
$T_1$  = η πρώτη διεγερμένη τριπλή ηλεκτρονιακή κατάσταση



Όπως φαίνεται στο σχήμα, η διέγερση του μορίου μπορεί να επιτευχθεί με απορρόφηση ακτινοβολίας γύρω από το μήκος κύματος  $\lambda_1$  ( $S_0 \rightarrow S_1$ ) και  $\lambda_2$  ( $S_0 \rightarrow S_2$ ). 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).



# ΕΝΕΡΓΕΙΑΚΑ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΑ ΜΟΡΙΩΝ ΠΟΥ ΕΜΦΑΝΙΖΟΥΝ ΦΩΤΟΦΩΤΑΥΓΕΙΑ



## Ρυθμοί απορρόφησης και εκπομπής:

$10^{-14}$  έως  $10^{-15}$  s για **απορρόφηση** φωτονίου,

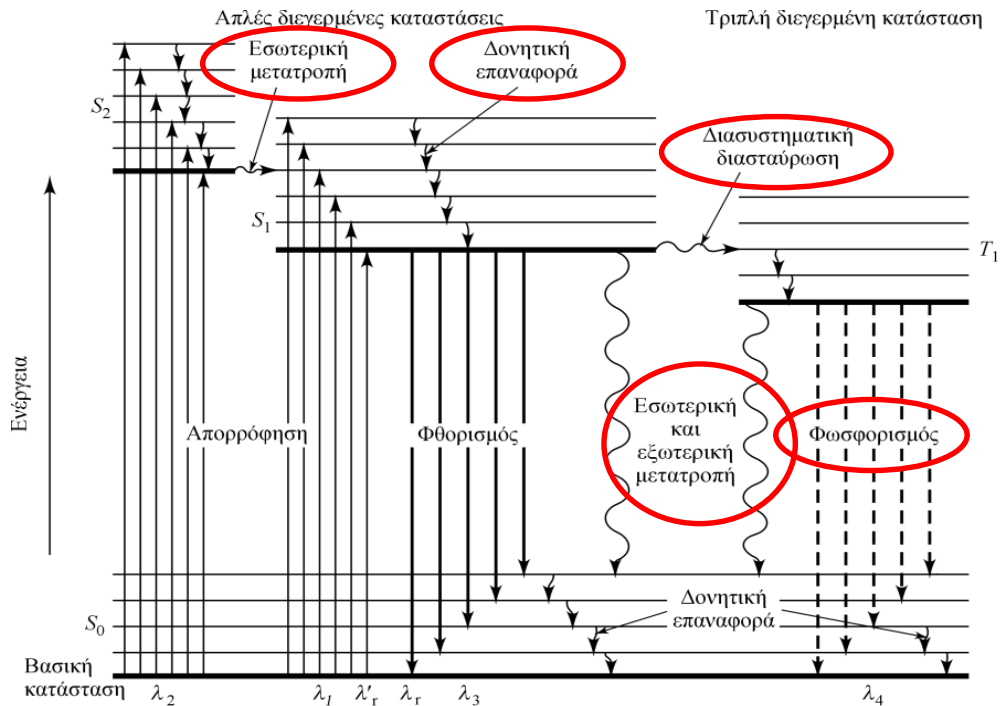
➤  $10^{-7}$  έως  $10^{-9}$  s για **εκπομπή φθορισμού** όταν  $\epsilon = 10^3 - 10^5$  και  $10^{-6}$  έως  $10^{-5}$  s όταν  $\epsilon$  πολύ μικρή.

➤  $10^{-4}$  έως  $10$  s για **εκπομπή φωσφορισμού**, λόγω του γεγονότος ότι ο μέσος ρυθμός μετάπτωσης από την τριπλή κατάσταση στην απλή είναι μικρός.

Η προτιμώμενη πορεία προς τη βασική κατάσταση είναι αυτή που ελαχιστοποιεί τον χρόνο ζωής της διεγερμένης κατάστασης



# ΕΝΕΡΓΕΙΑΚΑ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΑ ΜΟΡΙΩΝ ΠΟΥ ΕΜΦΑΝΙΖΟΥΝ ΦΩΤΟΦΩΤΑΥΓΕΙΑ



## Μηχανισμοί αποδιέγερσης:

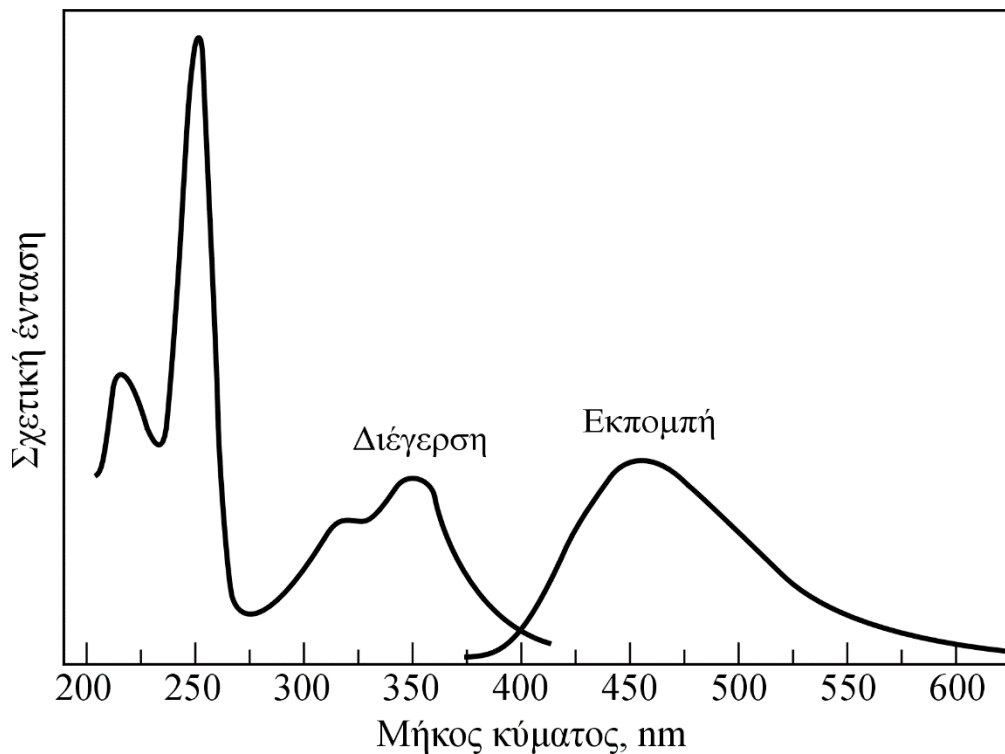
➤ **Δονητική επαναφορά:** ένα μόριο κατά την ηλεκτρονική διέγερση μπορεί να ανυψωθεί σε οποιοδήποτε δονητικό επίπεδο. Η περίσσεια της δονητικής ενέργειας χάνεται λόγω κρούσεων. Η εμφάνιση φθορισμού περιλαμβάνει πάντα μετάπτωση από το κατώτατο δονητικό επίπεδο σε μια διεγερμένη ηλεκτρονική κατάσταση.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

➤ **Εσωτερική μετατροπή:** Περιγράφει ενδομοριακούς μηχανισμούς με τους οποίους ένα μόριο καταλήγει σε ενεργειακά χαμηλότερη ηλεκτρονική κατάσταση χωρίς εκπομπή ακτινοβολίας. Ο ακριβής μηχανισμός δεν είναι γνωστός. Η εσωτερική μετατροπή είναι ιδιαίτερα αποδοτική όταν δύο ηλεκτρονικά επίπεδα βρίσκονται αρκετά κοντά, ώστε να επικαλυφθούν μέσω των δονητικών επιπέδων.

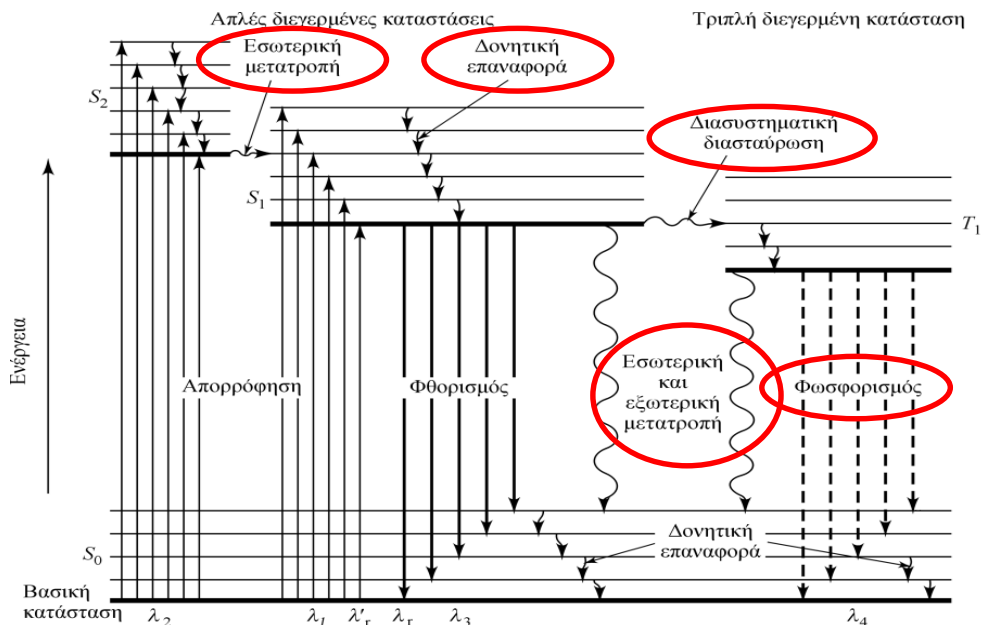


# Ο ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΑΠΟΔΙΕΓΕΡΣΗΣ ΤΗΣ ΚΙΝΙΝΗΣ

Ο μηχανισμός αποδιέγερσης της κινίνης 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.



# ΕΝΕΡΓΕΙΑΚΑ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΑ ΜΟΡΙΩΝ ΠΟΥ ΕΜΦΑΝΙΖΟΥΝ ΦΩΤΟΦΩΤΑΥΓΕΙΑ



## Μηχανισμοί αποδιέγερσης:

➤ **Εξωτερική μετατροπή ή κρουστική απόσβεση:** Η αποδιέγερση μπορεί να περιλαμβάνει αλληλεπίδραση με μεταφορά ενέργειας μεταξύ μορίου και μορίων διαλύτη ή άλλου συστατικού. **Οι συνθήκες που ευνοούν τη μείωση του αριθμού κρούσεων (χαμηλή  $\theta$  και υψηλό ιξώδες) οδηγούν σε ενίσχυση του φθορισμού.**

➤ **Διασυστηματική διασταύρωση:** Είναι ο μηχανισμός κατά τον οποίο το spin ενός διεγερμένου ηλεκτρονίου αναστρέφεται με αποτέλεσμα να αλλάζει η πολλαπλότητα του μορίου (**απλή  $\rightarrow$  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**.

➤ **Φωσφορισμός:** Μετά τη διασυστηματική διασταύρωση σε μια τριπλή κατάσταση μπορεί να ακολουθήσει αποδιέγερση με εσωτερική ή εξωτερική μετατροπή ή **φωσφορισμό**. Οι εσωτερικές και εξωτερικές μετατροπές ανταγωνίζονται αποτελεσματικά το φωσφορισμό, έτσι η **εκπομπή του φωσφορισμού παρατηρείται μόνο σε χαμηλές  $\theta$ , σε ιξώδη διαλύματα ή σε μόρια ακινητοποιημένα σε επιφάνειες στερεών.**





# ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΟΝ ΦΘΟΡΙΣΜΟ ΚΑΙ ΤΟΝ ΦΩΣΦΟΡΙΣΜΟ

## Κβαντική απόδοση

$$\Phi = \frac{\text{Αριθμός μορίων που φωταυγάζουν}}{\text{Συνολικός αριθμός των διεγερμένων μορίων}}$$

$$\Phi = \frac{K_f}{K_f + K_i + K_{ec} + K_{ic} + K_{pd} + K_d}$$

όπου:  $\Phi$  η απόδοση φθορισμού

και  $k_x$  οι σταθερές σχετικών ταχυτήτων των μηχανισμών που αναφέρθηκαν προηγουμένως.

Οι σταθερές  $k_f$ ,  $k_{pd}$ ,  $k_d$ , εξαρτώνται κυρίως από **χημική δομή**, ενώ οι υπόλοιπες επηρεάζονται ισχυρά από το **περιβάλλον** και λιγότερο από τη δομή.

$\Phi \rightarrow 1$  για μόρια με υψηλά επίπεδα φθορισμού

$\Phi \rightarrow 0$  για μόρια με χαμηλά επίπεδα φθορισμού

Φθορισμός κυρίως παρατηρείται σε μεταπτώσεις  $\pi^* \rightarrow \pi$  και  $\pi^* \rightarrow n$ , ενώ μεταπτώσεις  $\sigma^* \rightarrow \sigma$  σπάνια δίνουν φθορισμό.

Ισχυρότερος φθορισμός εμφανίζεται σε μεταπτώσεις διέγερσης  $\pi^* \rightarrow \pi$  επειδή η κβαντική απόδοση είναι μεγαλύτερη. Αυτό οφείλεται:

- Η  $\epsilon$  των μεταπτώσεων  $\pi \rightarrow \pi^*$  είναι μεγαλύτερη από αυτή των  $n \rightarrow \pi^*$ , έτσι ο χρόνος ζωής τους είναι μικρότερος (και η  $k_f$  μεγαλύτερη)

- Η σταθερά της διασυστηματικής διασταύρωσης  $k_i$  είναι μικρότερη στις μεταπτώσεις  $\pi \rightarrow \pi^*$

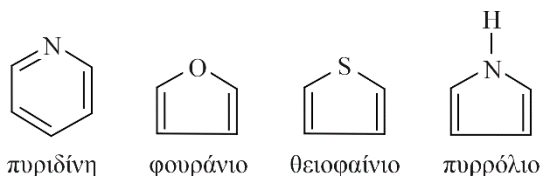


# ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΟΝ ΦΘΟΡΙΣΜΟ ΚΑΙ ΤΟΝ ΦΩΣΦΟΡΙΣΜΟ

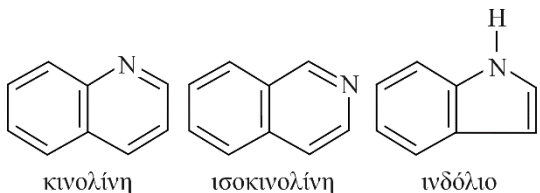
➤ **Επίδραση δομής στο φθορισμό:** Έντονο φθορισμό παρουσιάζουν

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  $\epsilon$  και κατά **συνέπεια του φθορισμού**



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
<b>Φθοροβενζόλιο</b>	<b><math>C_6H_5F</math></b>	<b>270-320</b>	<b>10</b>
<b>Χλωροβενζόλιο</b>	<b><math>C_6H_5Cl</math></b>	<b>275-345</b>	<b>7</b>
<b>Ιωδοβενζόλιο</b>	<b><math>C_6H_5I</math></b>	-	<b>0</b>
Βενζοϊκό οξύ	$C_6H_5COOH$	310-390	3

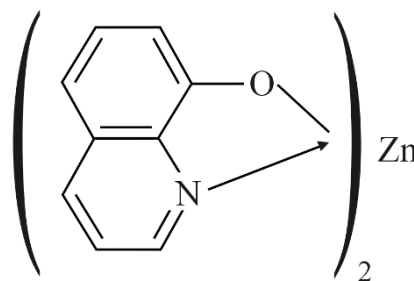
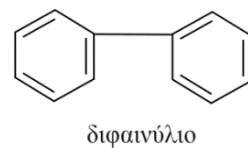
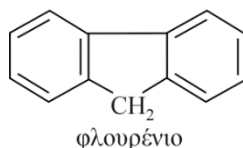


# ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΟΝ ΦΘΟΡΙΣΜΟ ΚΑΙ ΤΟΝ ΦΩΣΦΟΡΙΣΜΟ

➤ **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.

➤ **Επίδραση της θερμοκρασίας και του διαλύτη:**

1. **↑ Θερμοκρασία ⇒ ↓ Έντασης Φθορισμού**, λόγω αύξησης των κρούσεων και πιθανότητας αποδιέγερσης με **εξωτερική μετατροπή**.
2. **↑ Ιξώδους του διαλύτη ⇒ ↓ Έντασης Φθορισμού**, λόγω αύξησης της πιθανότητας αποδιέγερσης με **εξωτερική μετατροπή**.
3. **↓ Έντασης Φθορισμού**, σε διαλύτες με βαρέα άτομα (Br ή I).

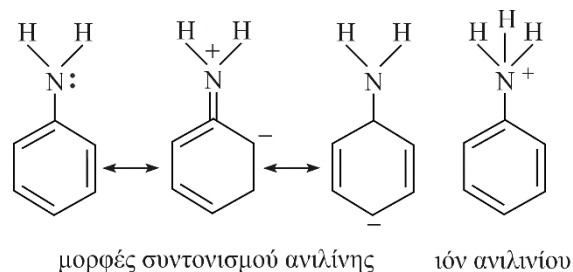


# ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΟΝ ΦΘΟΡΙΣΜΟ ΚΑΙ ΤΟΝ ΦΩΣΦΟΡΙΣΜΟ

## ➤ 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 ανιλινίου μόνο μία, δηλαδή οι επιπλέον μορφές συντονισμού οδηγούν σε σταθερότερη πρώτη διεγερμένη κατάσταση με αποτέλεσμα να φθορίζει η ένωση στην υπεριώδη περιοχή.



## ➤ Επίδραση του διαλυμένου οξυγόνου:

Η παρουσία του συνήθως μειώνει την ένταση φθορισμού, διότι διευκολύνει τη διασυστηματική διασταύρωση.



# ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΟΝ ΦΘΟΡΙΣΜΟ ΚΑΙ ΤΟΝ ΦΩΣΦΟΡΙΣΜΟ

➤ **Επίδραση της συγκέντρωσης:** Η ένταση φθορισμού  $F$  είναι ανάλογη προς την ισχύ της ακτινοβολίας της δέσμης διέγερσης, που απορροφάται από το σύστημα:

$$F = K'(P_0 - P) \quad (1)$$

όπου  $P_0$  η ισχύς της προσπίπτουσας ακτινοβολίας και  $P$  η ισχύς της εξερχόμενης ακτινοβολίας μετά από διαδρομή  $b$  μέσα στο υλικό. **Η σταθερά  $K'$  εξαρτάται από τη κβαντική απόδοση** του μηχανισμού φθορισμού. Η συσχέτιση της  $F$  με τη συγκέντρωση  $c$  της φθορίζουσας ουσίας με γραμμομοριακή απορροφητικότητα  $\varepsilon$ , γράφουμε το νόμο του Beer στη μορφή:

$$\frac{P}{P_0} = 10^{-\varepsilon bc} \quad (2)$$

$$F = K'P_0(1 - 10^{-\varepsilon bc}) \quad (3)$$

Ο εκθετικός όρος της σχέσης (3) μπορεί να αναπτυχθεί σε σειρά Maclaurin, οπότε έχουμε:

$$F = KP_0 \left( 2,303\varepsilon bc - \frac{(2,303\varepsilon bc)^2}{2!} + \frac{(2,303\varepsilon bc)^3}{3!} \dots \right) \quad (4)$$

**Εφόσον το  $2,303 \varepsilon bc = A < 0,05$** , όλοι οι όροι μετά τον πρώτο μπορούν να παραληφθούν. Επομένως προκύπτει η εξίσωση

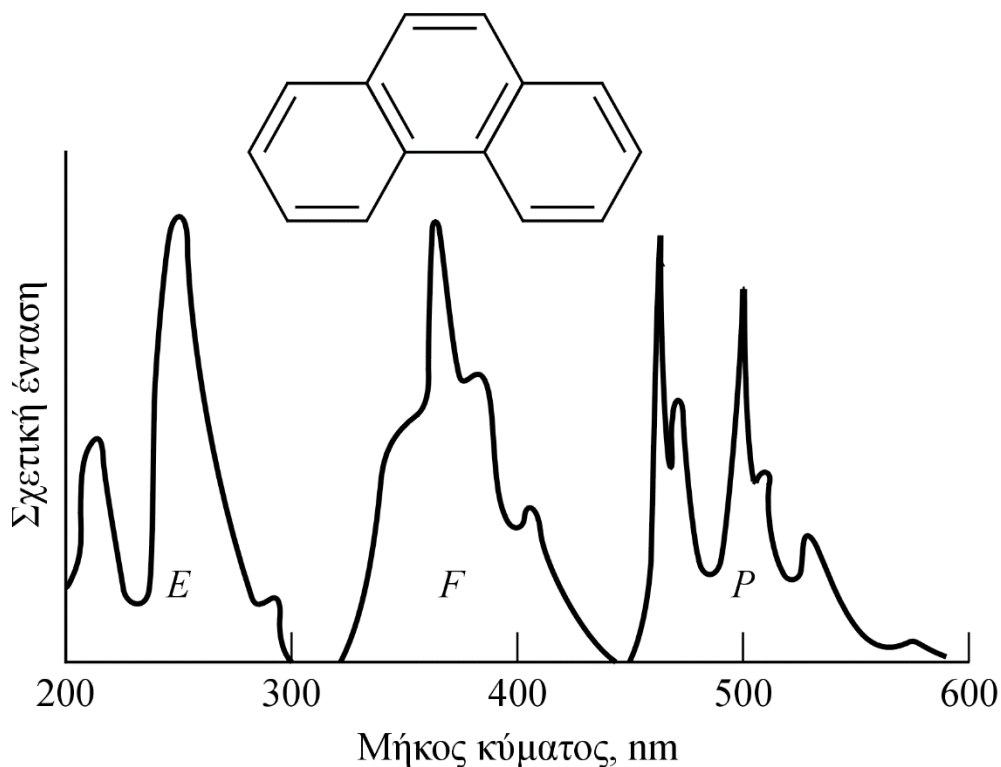
$$F = 2,303K'\varepsilon bcP_0 = K''c \quad (5)$$

- Επομένως **για  $A < 0,05$  η ισχύς του φθορισμού είναι ανάλογη της συγκέντρωσης.**
- Για την αρνητική απόκλιση της καμπύλης αναφοράς σε υψηλές συγκεντρώσεις υπεύθυνοι είναι δύο ακόμα παράγοντες:
- (α) **Οι συγκρούσεις μεταξύ διεγερμένων μορίων**, οπότε μεταφέρεται ενέργεια στα μόρια του διαλύτη χωρίς εκπομπή ακτινοβολίας (**αυτοαπόσβεση**), και
- (β) **Η επικάλυψη της κορυφής απορρόφησης από το μήκος κύματος εκπομπής (αυτοαπορρόφηση).**



# ΦΑΣΜΑΤΑ ΔΙΕΓΕΡΣΗΣ ΚΑΙ ΕΚΠΟΜΠΗΣ

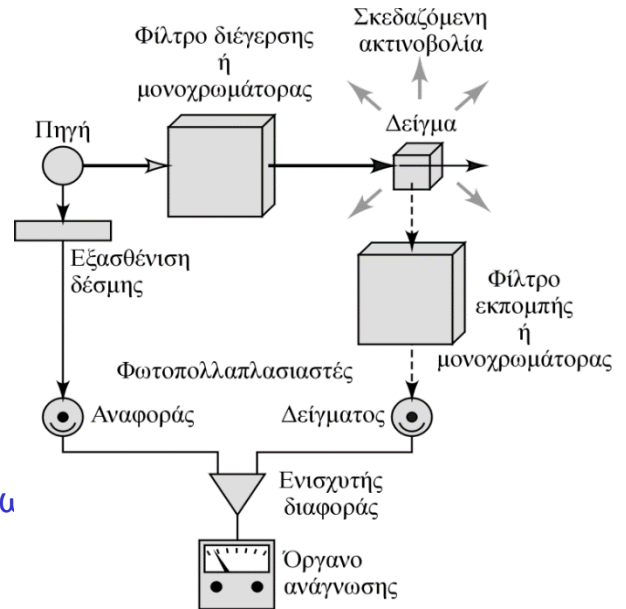
Στο σχήμα παρουσιάζονται τρεις τύποι φασμάτων φωταύγειας του φαιναθρενίου. Το **φάσμα διέγερσης** (E) λαμβάνεται με καταγραφή της έντασης φωταύγειας σε καθορισμένο μήκος κύματος, ενώ μεταβάλλεται το μήκος κύματος διέγερσης. Επειδή το πρώτο στάδιο, για παραγωγή φθορισμού, είναι η απορρόφηση της ακτινοβολίας, που παράγει τις διεγερμένες καταστάσεις, ένα φάσμα διέγερσης βασικά είναι παρόμοιο με ένα φάσμα απορρόφησης, που λαμβάνεται στις ίδιες συνθήκες. Αντίθετα τα **φάσματα φθορισμού** και **φωσφορισμού** (F και P αντίστοιχα), λαμβάνονται με διέγερση σε καθορισμένο μήκος κύματος και καταγραφή της έντασης εκπομπής σε συνάρτηση του μήκους κύματος.



# 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 κυψελίδου



## 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.



# ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΦΘΟΡΙΣΜΟΜΕΤΡΙΑΣ

Οι μέθοδοι φωταύγειας έχουν μεγαλύτερη ευαισθησία, χαμηλότερα όρια ανίχνευσης, αλλά χειρότερη ακρίβεια και επαναληψιμότητα, από τις μεθόδους απορρόφησης.

Η ευαισθησία μιας τέτοιας μεθόδου μπορεί να βελτιωθεί με αύξηση του  $P_0$  ή με περαιτέρω ενίσχυση του F.

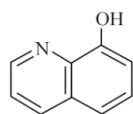
Αντίθετα στη φασματοφωτομετρία, αύξηση του  $P_0$  οδηγεί σε αύξηση του P, άρα η A δεν επηρεάζεται.

## ΦΘΟΡΙΣΜΟΜΕΤΡΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΑΝΟΡΓΑΝΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ

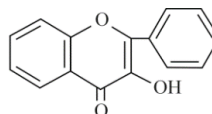
✓ **Δύο τύποι ανόργανων φθορισμομετρικών μεθόδων:** Οι άμεσες που περιλαμβάνουν το σχηματισμό μιας φθορίζουσας χηλικής ένωσης και τη μέτρηση της εκπομπής της και αυτές που βασίζονται στη μείωση φθορισμού οφειλόμενη στην απόσβεση που ασκεί η προσδιοριζόμενη ουσία. Η τελευταία εφαρμόζεται ευρέως στην ανάλυση ανιόντων.

○ Λίγα κατιόντα σχηματίζουν φθορίζουσες χηλικές ενώσεις λόγω της παραμαγνητικής τους ιδιότητας και λόγω του γεγονότος ότι τα σύμπλοκα των μετάλλων μετάπτωσης χαρακτηρίζονται από πολύ πυκνά ενεργειακά επίπεδα, που αυξάνουν την πιθανότητα αποδιέγερσης με εσωτερική μετατροπή.

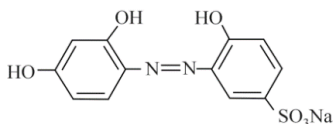
○ Τα καλύτερα φθορισμομετρικά αντιδραστήρια για αναλύσεις κατιόντων είναι εκείνα που έχουν αρωματική δομή με δύο ή περισσότερες δραστικές ομάδες δότες, που επιτρέπουν το σχηματισμό χηλικών ενώσεων με μεταλλικά ιόντα.



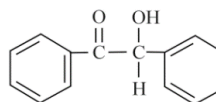
8-υδροξυκινολίνη  
(αντιδραστήριο για Al, Be  
και άλλα μεταλλικά ιόντα)



φλαβανόλη  
(αντιδραστήριο  
για Zr και Sn)



γρανάτης (garnet) αλιζαρίνης R  
(αντιδραστήριο για Al και F<sup>-</sup>)



βενζοΐνη  
(αντιδραστήριο για B, Zn, Ge και Si)

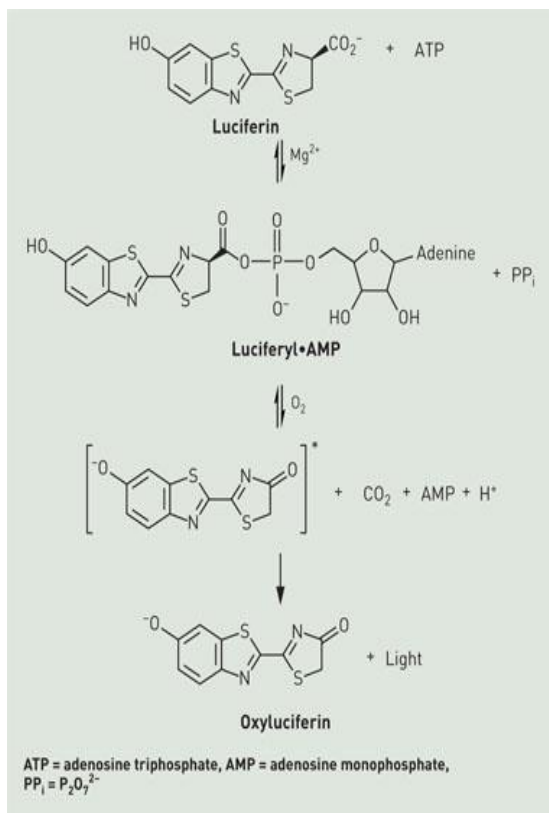
## ΦΘΟΡΙΣΜΟΜΕΤΡΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΟΡΓΑΝΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ

✓ **Μεγάλος αριθμός εφαρμογών:** Ευρεία χρήση στην ανάλυση τροφίμων, φαρμάκων, φυτικών και φυσικών προϊόντων. Η ευαισθησία και εκλεκτικότητα της τεχνικής την καθιστά πολύτιμο εργαλείο στα πεδία αυτά.



# ΧΗΜΕΙΟΦΩΤΑΥΓΕΙΑ

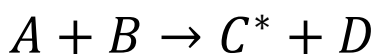
## ΤΟ ΦΑΙΝΟΜΕΝΟ ΤΗΣ ΧΗΜΕΙΟΦΩΤΑΥΓΕΙΑΣ



**Χημειοφωταύγεια** παράγεται όταν μια χημική αντίδραση παράγει ένα ηλεκτρονικά διεγερμένο σωματίδιο, το οποίο εκπέμπει φως κατά την επιστροφή του στη βασική κατάσταση ή όταν μεταφέρει την ενέργειά του σε ένα άλλο σωματίο, το οποίο παράγει εκπομπή φωτός.

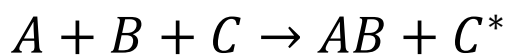
Αντιδράσεις φωταύγειας συναντώνται σε μεγάλο αριθμό βιολογικών συστημάτων, όπου το φαινόμενο καλείται **βιοφωταύγεια**. Παραδείγματα οργανισμών που παρουσιάζουν βιοφωταύγεια είναι η πυγολαμπίδα, ο θαλάσσιος πανσές, ορισμένες μέδουσες, βακτήρια, πρωτόζωα και οστρακόδερμα.

Ο απλούστερος τύπος αντιδράσεων για παραγωγή χημειοφωταύγειας είναι ο εξής:



Άμεση

χημειοφωταύγεια



Έμμεση

χημειοφωταύγεια



# ΧΗΜΕΙΟΦΩΤΑΥΓΕΙΑ

## ΕΝΤΑΣΗ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑΣ ΧΗΜΕΙΟΦΩΤΑΥΓΕΙΑΣ

$$I_{CL} = \Phi_{CL} \frac{dC}{dt} = \Phi_E \times \Phi_{EM} \frac{dC}{dt}$$

Από την εξίσωση γίνεται φανερό πως η ένταση ακτινοβολίας  $I_{CL}$  (φωτόνια εκπεμπόμενα ανά sec) εξαρτάται από την ταχύτητα της αντίδρασης ( $dC/dt$ ) και την κβαντική απόδοση της χημειοφωταύγειας  $\Phi_{CL}$ , που ισούται με το γινόμενο της κβαντικής απόδοσης διέγερσης  $\Phi_{EX}$  (διεγερμένες καταστάσεις ανά αντιδρών μόριο) και της κβαντικής απόδοσης εκπομπής  $\Phi_{EM}$  (φωτόνια εκπεμπόμενα ανά μόριο σε διεγερμένη κατάσταση).

Συστήματα χημειοφωταύγειας που μπορούν να χρησιμοποιηθούν στην ανάλυση έχουν τιμές  $\Phi_{CL}$  στην περιοχή 0,01 έως 0,2.

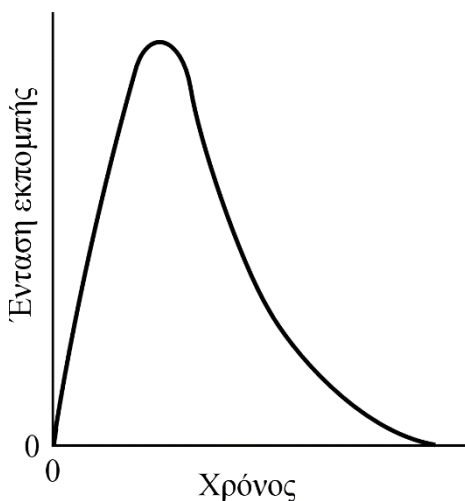


# ΜΕΤΡΗΣΗ ΤΗΣ ΧΗΜΕΙΟΦΩΤΑΥΓΕΙΑΣ

## ΟΡΓΑΝΟΛΟΓΙΑ

Η χρησιμοποιούμενη οργανολογία είναι απλή. Αποτελείται από ένα κατάλληλο δοχείο αντίδρασης και έναν φωτοπολλαπλασιαστή. Δεν απαιτείται σύστημα επιλογής μήκους κύματος επειδή η μόνη πηγή ακτινοβολίας είναι η χημική αντίδραση μεταξύ του αναλύτη και του αντιδραστηρίου.

Στο σχήμα παρουσιάζεται ένα τυπικό αναλυτικό σήμα ενός πειράματος χημειοφωταύγειας σε συνάρτηση με το χρόνο. Για ποσοτικές αναλύσεις, το σήμα ολοκληρώνεται εντός ορισμένων χρονικών ορίων και συγκρίνεται με το αντίστοιχο που λαμβάνεται από σειρά προτύπων διαλυμάτων.



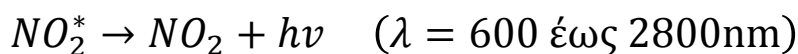
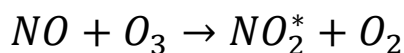
Όπως φαίνεται στο σχήμα, το σήμα στην αρχή αυξάνεται ταχύτατα και φθάνει σε ένα μέγιστο, ενώ συμπληρώνεται η ανάμειξη του αντιδραστηρίου με τον αναλύτη. Στη συνέχεια ακολουθεί εκθετική απόσβεση του σήματος του αναλύτη.



# ΑΝΑΛΥΤΙΚΕΣ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΤΗΣ ΧΗΜΕΙΟΦΩΤΑΥΓΕΙΑΣ

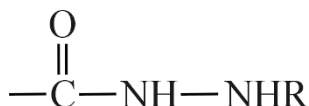
## ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΙ ΑΕΡΙΩΝ

Οι μέθοδοι χημειοφωταύγειας για τον προσδιορισμό αερίων ξεκίνησε από την ανάγκη ανάπτυξης ευαίσθητων μεθόδων για τον προσδιορισμό αέριων ρύπων, όπως το **όζον**, **NO<sub>x</sub>** και το **SO<sub>2</sub>**. Μία από τις συχνότερες χρησιμοποιούμενες μεθόδους είναι αυτή του προσδιορισμού του **μονοξειδίου του αζώτου**, σύμφωνα με την αντίδραση:

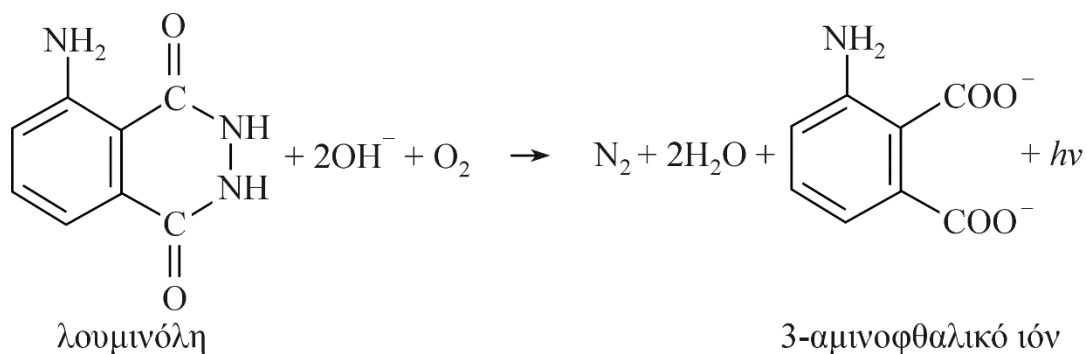


## ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΙ ΑΝΟΡΓΑΝΩΝ ΟΥΣΙΩΝ ΣΤΗΝ ΥΓΡΗ ΦΑΣΗ

Χρησιμοποιούνται οργανικές χημειοφωταυγάζουσες ουσίες που περιέχουν τη δραστική ομάδα



Τα αντιδραστήρια αυτά αντιδρούν με οξυγόνο, με υπεροξείδιο του υδρογόνου και παράγουν χημειοφωταυγάζοντα προϊόντα οξείδωσης. Η λουμινόλη είναι το συνηθέστερο παράδειγμα.



Για να προχωρήσει η αντίδραση απαιτείται συχνά καταλύτης. Η παραγόμενη εκπομπή οφείλεται στο 3-αμινο-φθαλικό οξύ με κεντρική κορυφή στα 425 nm. Κάτω από ορισμένες συνθήκες η ένταση της χημειοφωταύγειας είναι ανάλογη προς τη συγκέντρωση του **οξειδωτικού, του καταλύτη (μέταλλα)** ή της λουμινόλης.

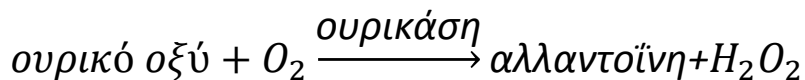


# ΑΝΑΛΥΤΙΚΕΣ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΤΗΣ ΧΗΜΕΙΟΦΩΤΑΥΓΕΙΑΣ

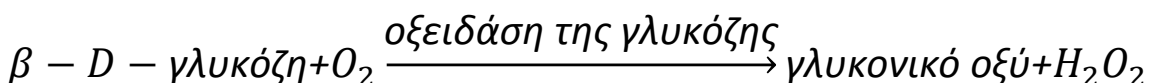
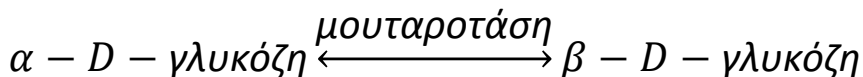
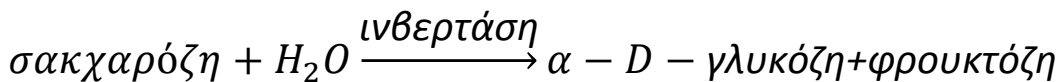
## ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΙ ΟΡΓΑΝΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ

Για να αυξηθεί η εκλεκτικότητα της αντίδρασης χημειοφωταύγειας και να επεκταθεί η εφαρμογή της τεχνικής σε αναλύτες που δεν εμπλέκονται άμεσα σε αντιδράσεις χημειοφωταύγειας, προηγείται μια ενζυμική αντίδραση, στην οποία συμμετέχει ο αναλύτης και ένα από τα προϊόντα της είναι ανιχνεύσιμο με χημειοφωταύγεια. Αυτό επιτυγχάνεται συνήθως με συστήματα ροής με στήλες που φέρουν ακινητοποιημένο το ένζυμο.

Στο αρχικό στάδιο χρησιμοποιούνται οξειδάσες που παράγουν  $H_2O_2$ . Το υπεροξειδίο του υδρογόνου μπορεί να προσδιορισθεί με διάφορα χημειοφωταυγάζοντα συστήματα και επιπλέον στα διαλύματα του είναι παρόν και το απαιτούμενο οξειδωτικό. Στα υποστρώματα που έχουν προσδιορισθεί περιλαμβάνονται η γλυκόζη, η χοληστερόλη, η χολίνη, το ουρικό οξύ, αμινοξέα, αλδεΐδες και το γαλακτικό οξύ. Για παράδειγμα:



Η μέθοδος μπορεί να επεκταθεί με χρήση ενζυμικών σταδίων για την τελική μετατροπή του αναλύτη σε μια ισοδύναμη ποσότητα χημειοφωταυγάζοντος προϊόντος. Με αυτό τον τρόπο έχουν προσδιορισθεί εκτός από τη γλυκόζη και άλλες ενώσεις. Για παράδειγμα:



Η λουμινόλη με μια υπεροξειδάση φαίνεται να είναι το κατάλληλο σύστημα για τον προσδιορισμό του υπεροξειδίου του υδρογόνου.



# Τέλος



# Χρηματοδότηση

- Το παρόν εκπαιδευτικό υλικό έχει αναπτυχθεί στο πλαίσιο του εκπαιδευτικού έργου του διδάσκοντα.
- Το έργο «**Ανοικτά Ακαδημαϊκά Μαθήματα στο Πανεπιστήμιο Αθηνών**» έχει χρηματοδοτήσει μόνο την αναδιαμόρφωση του εκπαιδευτικού υλικού.
- Το έργο υλοποιείται στο πλαίσιο του Επιχειρησιακού Προγράμματος «Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση» και συγχρηματοδοτείται από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο) και από εθνικούς πόρους.



# Σημειώματα





# Σημείωμα Ιστορικού Εκδόσεων Έργου

Το παρόν έργο αποτελεί την έκδοση 1.0.

Έχουν προηγηθεί οι κάτωθι εκδόσεις:

- Έκδοση διαθέσιμη [εδώ](#).



# Σημείωμα Αναφοράς

Copyright Εθνικών και Καποδιστριακών Πανεπιστημίων Αθηνών, Νικόλαος Θωμαΐδης 2015. Νικόλαος Θωμαΐδης. «Ενόργανη Ανάλυση II». Έκδοση: 1.0. Αθήνα 2015.

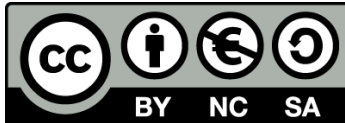
Διαθέσιμο από τη δικτυακή διεύθυνση:

<http://opencourses.uoa.gr/courses/CHEM104>.



# Σημείωμα Αδειοδότησης

Το παρόν υλικό διατίθεται με τους όρους της άδειας χρήσης Creative Commons Αναφορά, Μη Εμπορική Χρήση Παρόμοια Διανομή 4.0 [1] ή μεταγενέστερη, Διεθνής Έκδοση. Εξαιρούνται τα αυτοτελή έργα τρίτων π.χ. φωτογραφίες, διαγράμματα κ.λ.π., τα οποία εμπεριέχονται σε αυτό και τα οποία αναφέρονται μαζί με τους όρους χρήσης τους στο «Σημείωμα Χρήσης Έργων Τρίτων».



- [1] <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>
- Ως **Μη Εμπορική** ορίζεται η χρήση:
  - που δεν περιλαμβάνει άμεσο ή έμμεσο οικονομικό όφελος από την χρήση του έργου, για το διανομέα του έργου και αδειοδόχο
  - που δεν περιλαμβάνει οικονομική συναλλαγή ως προϋπόθεση για τη χρήση ή πρόσβαση στο έργο
  - που δεν προσπορίζει στο διανομέα του έργου και αδειοδόχο έμμεσο οικονομικό όφελος (π.χ. διαφημίσεις) από την προβολή του έργου σε διαδικτυακό τόπο
- Ο δικαιούχος μπορεί να παρέχει στον αδειοδόχο ξεχωριστή άδεια να χρησιμοποιεί το έργο για εμπορική χρήση, εφόσον αυτό του ζητηθεί.



# Διατήρηση Σημειωμάτων

Οποιαδήποτε αναπαραγωγή ή διασκευή του υλικού θα πρέπει να συμπεριλαμβάνει:

- το Σημείωμα Αναφοράς
- το Σημείωμα Αδειοδότησης
- τη δήλωση Διατήρησης Σημειωμάτων
- το Σημείωμα Χρήσης Έργων Τρίτων (εφόσον υπάρχει)

μαζί με τους συνοδευόμενους υπερσυνδέσμους.

