

Φασματομετρία Μοριακής Φωταύγειας

μοριακή φωταύγεια (molecular luminescence)

τα μόρια του αναλύτη διεγείρονται και όταν αποδιεγείρονται, παρέχουν φάσμα εκπομπής

Διέγερση με απορρόφηση φωτονίων

φωτοφωταύγεια (photoluminescence)

μοριακός φθορισμός

**ηλεκτρονιακή ενεργειακή μετάπτωση
χωρίς μεταβολή του ηλεκτρονιακού spin**

φωσφορισμός

**ηλεκτρονιακή ενεργειακή μετάπτωση
με μεταβολή του ηλεκτρονιακού spin**

Διέγερση ως αποτέλεσμα χημικής αντιδράσεως

χημειοφωταύγεια

εκπομπή από διεγερμένο σωματίδιο, που παράγεται κατά την πορεία μιας χημικής αντίδρασης

βιοφωταύγεια

εκπομπή από διεγερμένο σωματίδιο, που παράγεται κατά την πορεία μιας ενζυμικής αντίδρασης

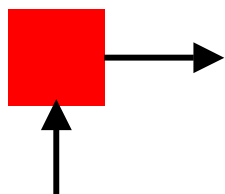
το διεγερμένο σωματίδιο είναι προϊόν μιας αντίδρασης μεταξύ αναλύτη και κατάλληλου αντιδραστήριου (συνήθως ενός ισχυρού οξειδωτικού μέσου π.χ. O_3 , H_2O_2)

Προκύπτει φάσμα εκπομπής του προϊόντος οξείδωσης του αναλύτη ή του αντιδραστήριου και όχι του ίδιου του αναλύτη

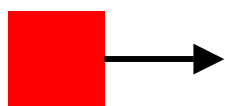
- παρεμποδιστική επίδραση
- καταλυτική επίδραση



Απορρόφηση ακτινοβολίας



Φθορισμομετρία



Εκπομπή ακτινοβολίας

Μόρια – άτομα

- **Μοριακή απορρόφηση – ατομική απορρόφηση**
- **Μοριακός φθορισμός – ατομικός φθορισμός**
- **Μοριακή εκπομπή – ατομική εκπομπή**

ΧΗΜΕΙΟΦΩΤΑΥΓΕΙΑ

φωταύγεια (luminescence)

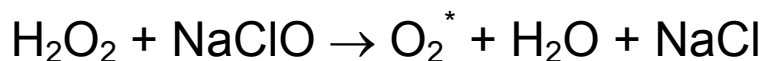
παραγωγή σωματιδίου σε διεγερμένη κατάσταση
με

- ♦ απορρόφηση ακτινοβολίας
- ♦ χημική αντίδραση

Χημειοφωταύγεια (chemiluminescence)

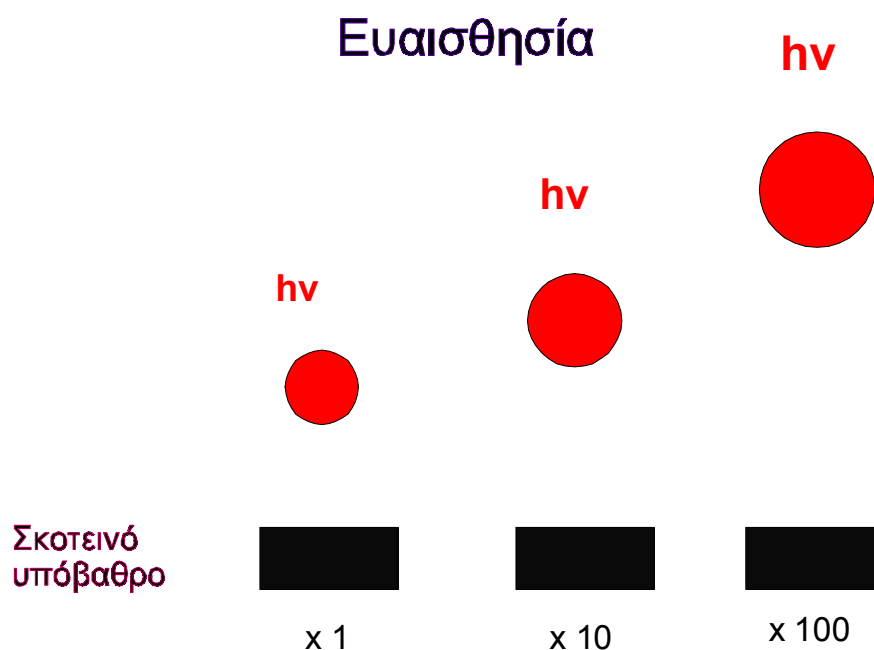
φαινόμενο φωταύγειας, το οποίο λαμβάνει χώρα
κατά τη διάρκεια ορισμένων χημικών αντιδράσεων.

Το διεγερμένο σωματίδιο είναι ενδιάμεσο
ή τελικό προϊόν της αντιδράσεως.



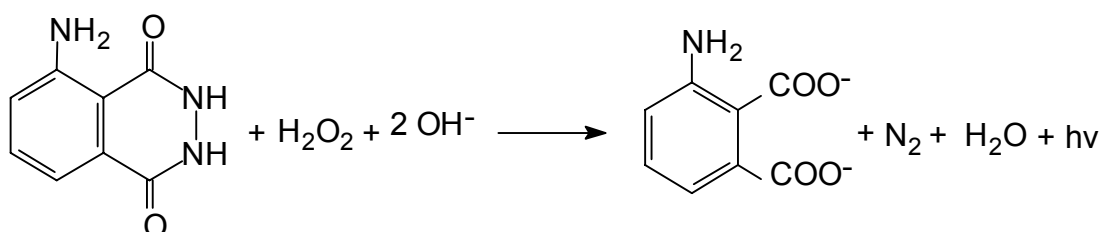
βιοφωταύγεια (bioluminescence)

Η αντίδραση είναι ενζυμική
ή λαμβάνει χώρα σε ζώντες οργανισμούς



Τεχνική Σκοτεινού Πεδίου

- Η χημειοφωταύγεια εξελίσσεται συγχρόνως με τη χημική αντίδραση
- Η ισχύς της ακτινοβολίας είναι ανάλογη της συγκεντρώσεως



- ↪ **Αέρια φάση**
- ↪ **Υγρή φάση – διαλύματα**
- ↪ **Στερεά φάση**

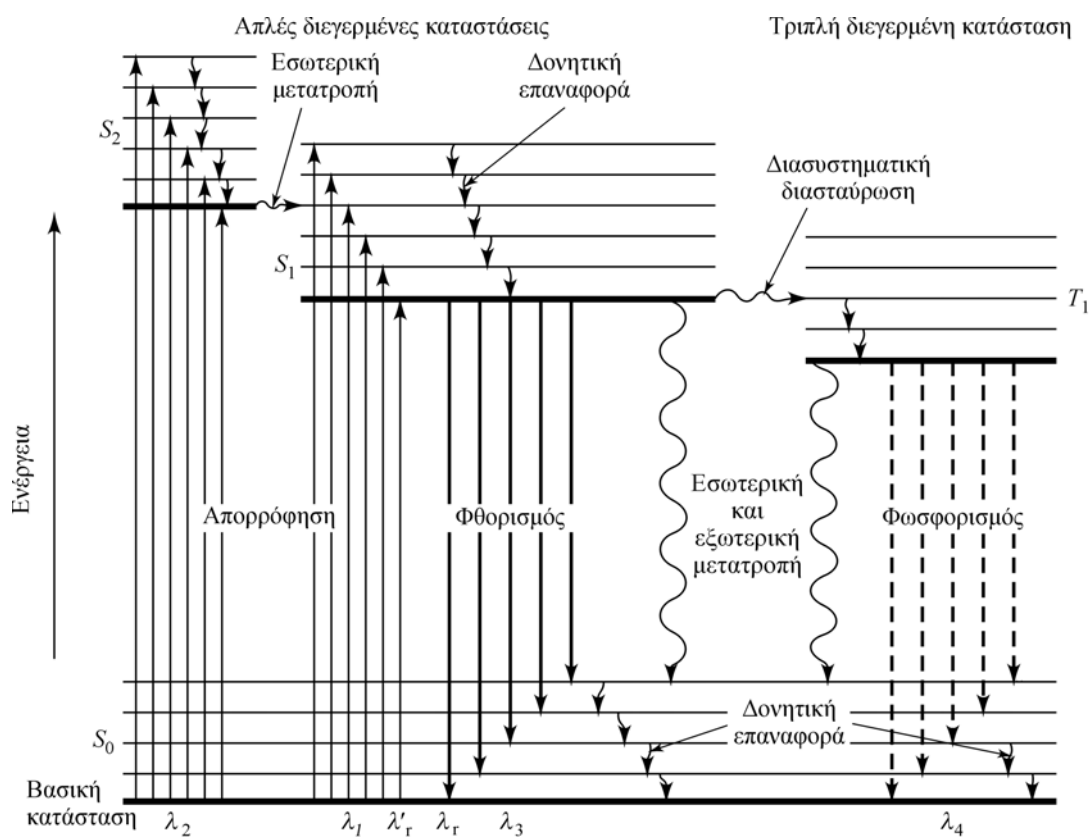
Ενεργειακά διαγράμματα

S_0 : βασική ενεργειακή κατάσταση του μορίου

S_1 : πρώτη ηλεκτρονιακή κατάσταση

S_2 : δεύτερη ηλεκτρονιακή κατάσταση

T_1 : πρώτη διεγερμένη τριπλή ηλεκτρονιακή κατάσταση



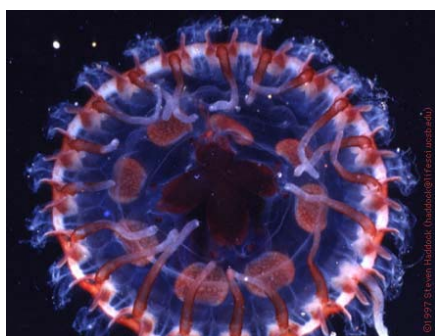
ενεργειακό διάγραμμα φωτοφωταυγάζοντος συστήματος*

* (ΑΡΧΕΣ ΕΝΟΡΓΑΝΗΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ, D. Skoog, F. J. Holler, T. A. Nieman, 5^η Έκδοση, Ελληνική Μετάφραση Καραγιάννη-Ευσταθίου-Χανιωτάκη, Εκδόσεις Κωσταράκη)

ΧΗΜΕΙΟΦΩΤΑΥΓΕΙΑ

παράγεται όταν μια χημική αντίδραση παράγει ένα ηλεκτρονικά διεγερμένο σωματίο, 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* (bioluminescence)



Μηχανισμοί και απόδοση χημειοφωταύγειας

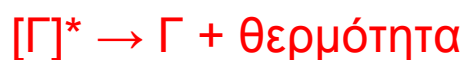
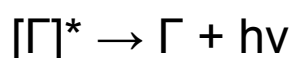
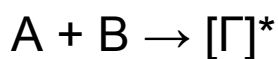
Άμεσος μηχανισμός

Το διεγερμένο σωματίδιο παράγεται κατά τη διάρκεια της αντίδρασης χημειοφωταύγειας

Έμμεσος μηχανισμός

Το διεγερμένο σωματίδιο προϋπάρχει στο χώρο της αντίδρασης και διεγείρεται από την ενέργεια που απελευθερώνεται

Άμεσος μηχανισμός



$[\Gamma]^*$: τελικό ή ενδιάμεσο προϊόν

συντελεστής απόδοσης αντιδράσεως, $\Phi_{\text{ΑΝΤΙΔΡΑΣΗΣ}}$

$$\Phi_{\text{ΑΝΤΙΔΡΑΣΗΣ}} = \frac{\text{Αριθμός μορίων A ή B που αντιδρούν}}{\text{Συνολικός αριθμός μορίων A ή B}}$$

συντελεστής απόδοσης διεγέρσεως, $\Phi_{\text{ΔΙΕΓΕΡΣΗΣ}}$

$$\Phi_{\text{ΔΙΕΓΕΡΣΗΣ}} = \frac{\text{Αριθμός σωματιδίων } [\Gamma]^* \text{ που σχηματίζονται}}{\text{Αριθμός μορίων A ή B που αντιδρούν}}$$

συντελεστής απόδοσης εκπομπής, $\Phi_{\text{ΕΚΠΟΜΠΗΣ}}$

$$\Phi_{\text{ΕΚΠΟΜΠΗΣ}} = \frac{\text{Αριθμός φωτονίων που εκπέμπονται}}{\text{Αριθμός σωματιδίων } [\Gamma]^* \text{ που σχηματίζονται}}$$

ολική απόδοση $\Phi_{\text{ΧΗΜΕΙΟΦΩΤΑΥΓΕΙΑΣ}}$

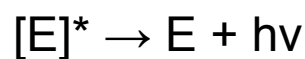
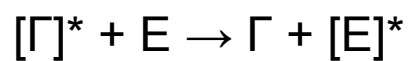
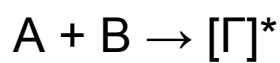
$$\Phi_{\text{ΧΗΜΕΙΟΦΩΤΑΥΓΕΙΑΣ}} = \Phi_{\text{ΑΝΤΙΔΡΑΣΗΣ}} \times \Phi_{\text{ΔΙΕΓΕΡΣΗΣ}} \times \Phi_{\text{ΕΚΠΟΜΠΗΣ}}$$

$$\Phi_{\text{ΧΗΜΕΙΟΦΩΤΑΥΓΕΙΑΣ}} = \frac{\text{Αριθμός φωτονίων που εκπέμπονται}}{\text{Συνολικός αριθμός μορίων A ή B}}$$

Έμμεσος μηχανισμός

**μεταφορά ενέργειας σε ένωση
με υψηλό συντελεστή εκπομπής**

αύξηση ολικής απόδοσης



**E : ευαισθητοποιητής (sensitizer)
ευαισθητοποίηση (sensitization)**



**απόσβεση (quenching): μείωση της εκπεμπόμενης
ακτινοβολίας**

συντελεστής απόδοσης μεταφοράς ενέργειας

$$\Phi_{\text{ΜΕΤΑΦΟΡΑΣ}} = \frac{\text{Αριθμός σωματιδίων [E]* που σχηματίζονται}}{\text{Αριθμός σωματιδίων [Γ]*}}$$

συντελεστής απόδοσης εκπομπής

$$\Phi_{\text{ΕΚΠΟΜΠΗΣ}} = \frac{\text{Αριθμός φωτονίων που εκπέμπονται}}{\text{Αριθμός σωματιδίων [E]* που σχηματίζονται}}$$

$$\Phi_{\text{ΧΗΜΕΙΟΦΩΤΑΥΓΕΙΑΣ}} = \Phi_{\text{ΑΝΤΙΔΡΑΣΗΣ}} \times \Phi_{\text{ΔΙΕΓΕΡΣΗΣ}} \times \Phi_{\text{ΜΕΤΑΦΟΡΑΣ}} \times \Phi_{\text{ΕΚΠΟΜΠΗΣ}}$$

$$\Phi_{\text{ΧΗΜΕΙΟΦΩΤΑΥΓΕΙΑΣ}} = \frac{\text{Αριθμός φωτονίων που εκπέμπονται}}{\text{Συνολικός αριθμός μορίων A ή B}}$$

Απόδοση αντιδράσεων

- χημειοφωταύγεια : 0,01 - 0,20 (1-20%)
- βιοφωταύγεια : ως 1,0 (100%)

Παρατηρήσεις

ορατή περιοχή (400-700 nm): απαιτείται από την αντίδραση απελευθέρωση ενέργειας στην περιοχή των 70 ως 40 kcal·mol⁻¹

1. απελευθέρωση αρκετής ενέργειας κατά τη διάρκεια μιας χημικής αντίδρασης
2. ρυθμός με τον οποίο απελευθερώνεται η ενέργεια αυτή

σχάση ή δημιουργία δεσμών:

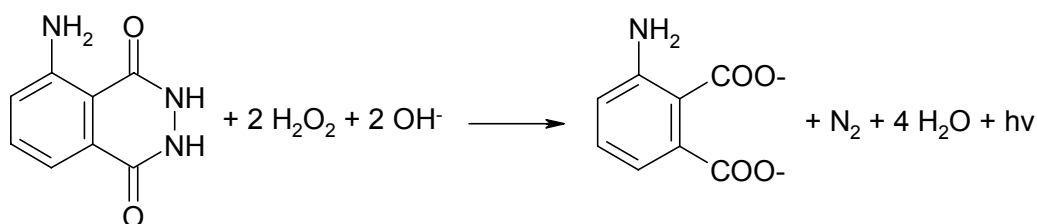
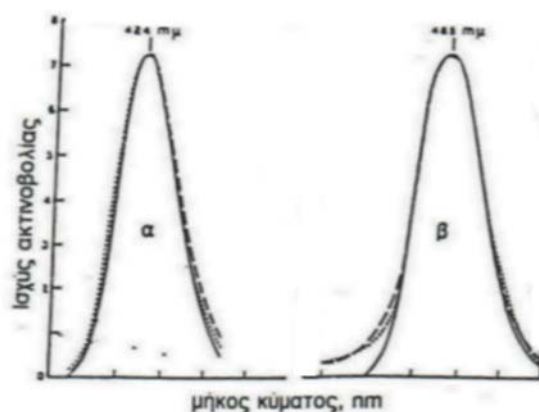
η ενέργεια αποβάλλεται αρκετά αργά και απορροφάται από μοριακές δονήσεις και συγκρούσεις

δημιουργία διεγερμένης κατάστασης:

- κάποια από τα στάδια της αντίδρασης πρέπει να απελευθερώνουν ενέργεια πολύ γρήγορα
- Τέτοιες αντιδράσεις είναι εκείνες οι οποίες περιλαμβάνουν διαδικασίες μεταφοράς ηλεκτρονίων χωρίς σχάση ή δημιουργία δεσμών
- σχηματισμός μικρών μορίων: ευνοεί το σχηματισμό της διεγερμένης κατάστασης επειδή μειώνεται η πιθανότητα απώλειας της ενέργειας λόγω μηχανικών αποσβέσεων

Χημειοφωταυγείς αντιδράσεις

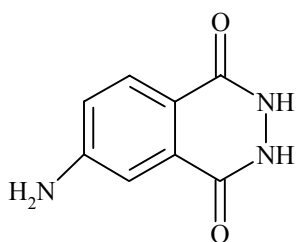
Αντιδράσεις που παράγουν φθορίζουσες ενώσεις



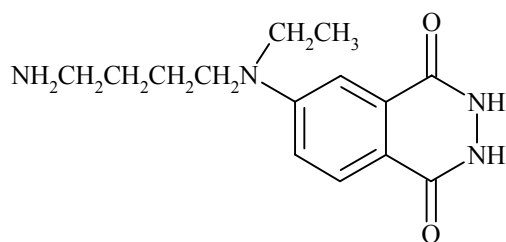
Χημειοφωταυγής αντίδραση της λουμινόλης

με υπεροξείδιο του υδρογόνου

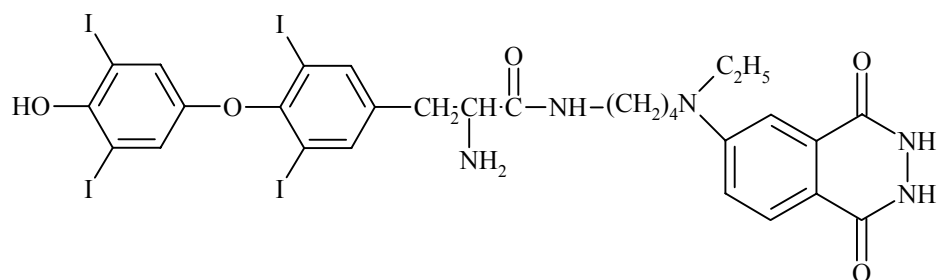
Παραγωγοποίηση



(A)

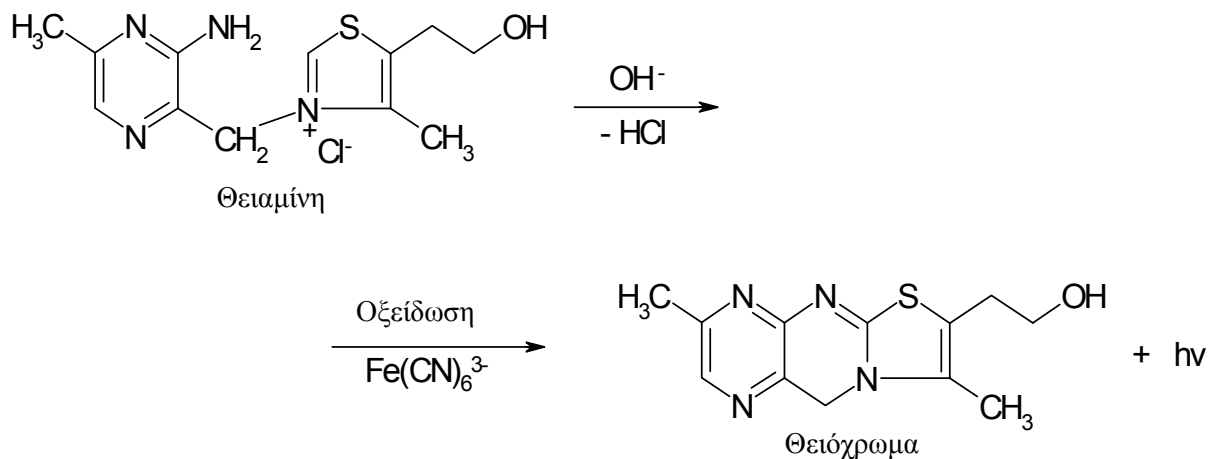


(B)



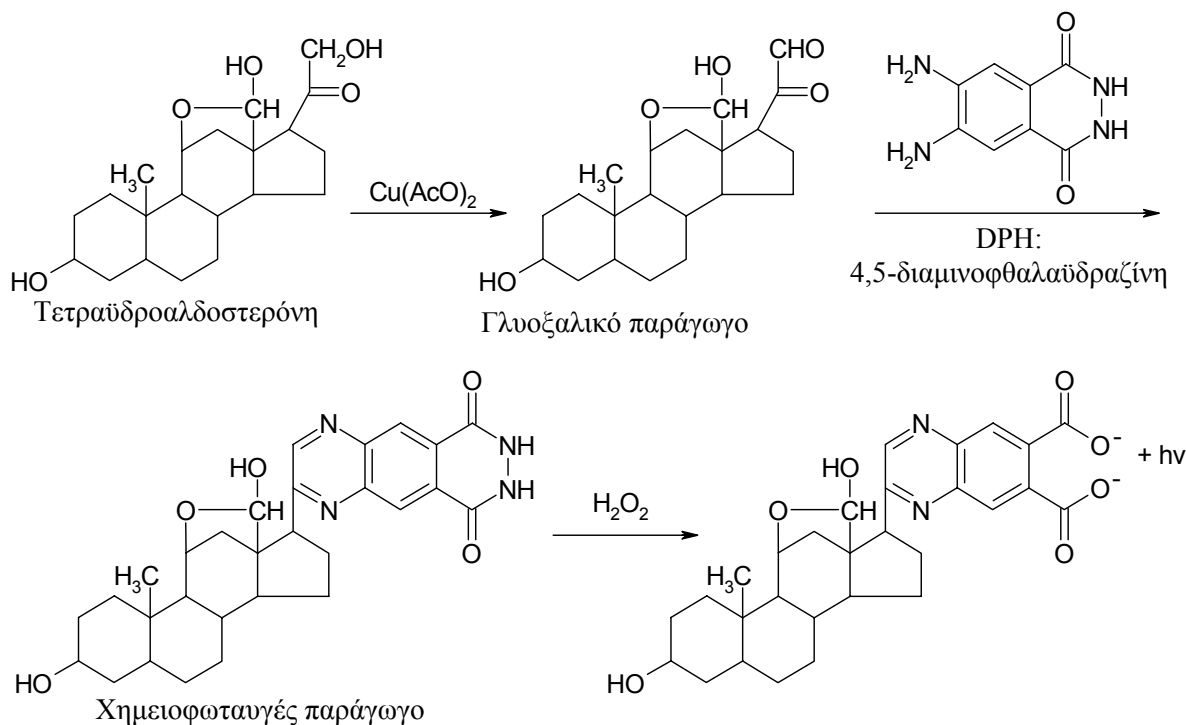
(Γ)

Η ισολουμινόλη (A), η υποκατεστημένη μορφή της (ABEI, B) και το προϊόν της ένωσης με τη θυροξίνη (Γ)

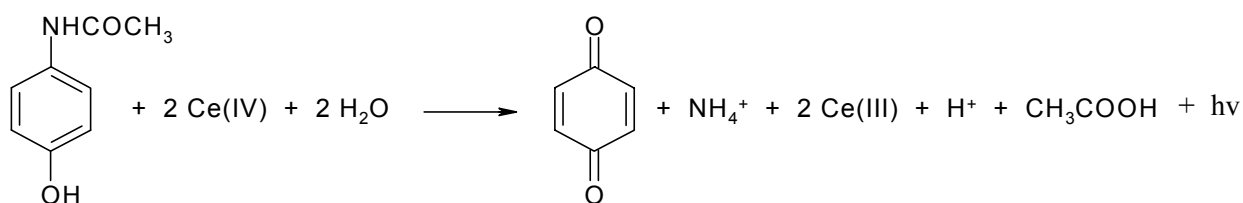


Χημειοφωταγής οξείδωση θειαμίνης από σιδηρικυανιούχο κάλιο προς σχηματισμό φθορίζοντος θειοχρώματος

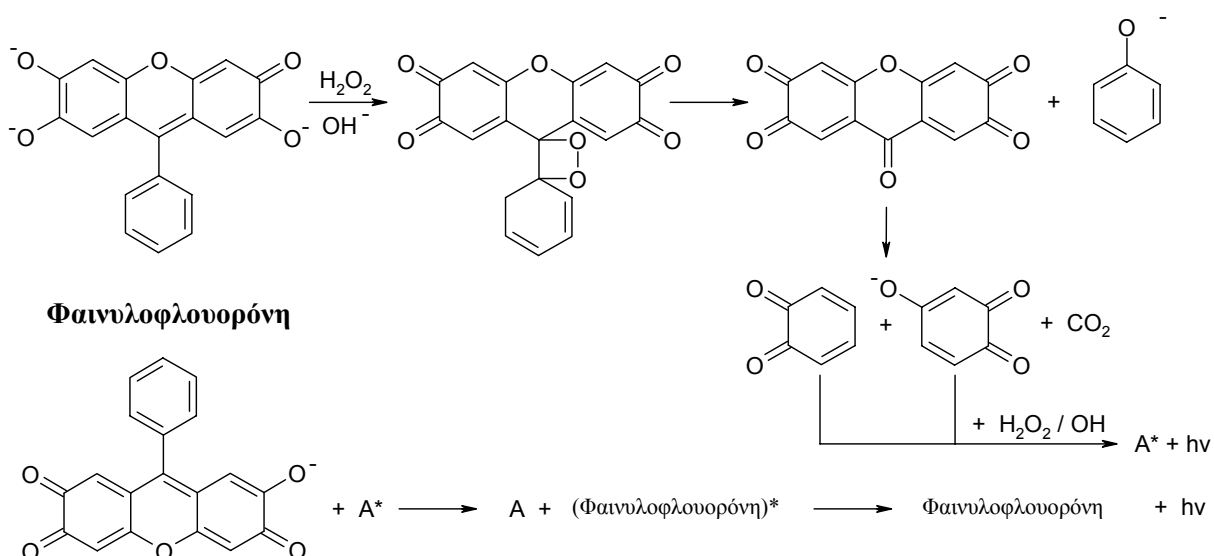
β) Αντιδράσεις που παράγουν λουμινόλη ή παρόμοιες ενώσεις



γ) Αντιδράσεις που παράγουν μικρά μόρια ή κετο-ενώσεις

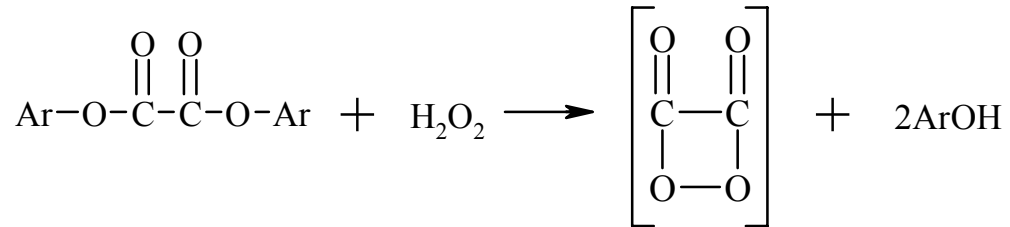


δ) Οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις φθοριζουσών ενώσεων και αντιδράσεις χημειοδιέγερσής τους



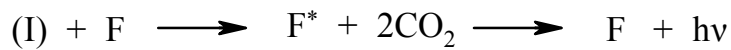
ε) Διάφορες αντιδράσεις

Η αντίδραση οξαλικών εστέρων με υπεροξείδιο του υδρογόνου



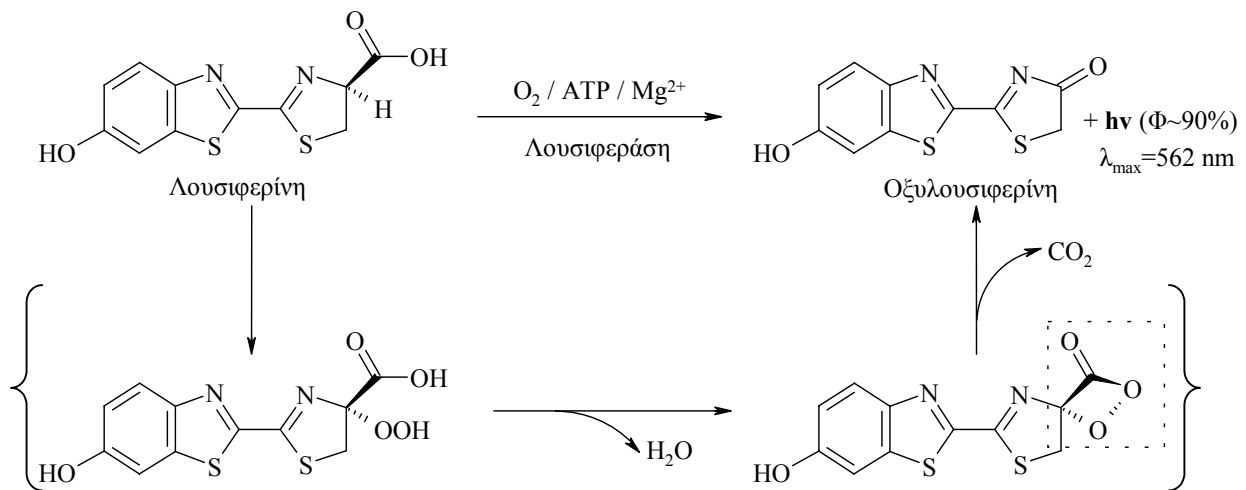
Οξαλικός αρυλεστέρας

1,2-Διοξετανο-διόνη (I)



(F = φθορισμοφόρο παράγωγο)

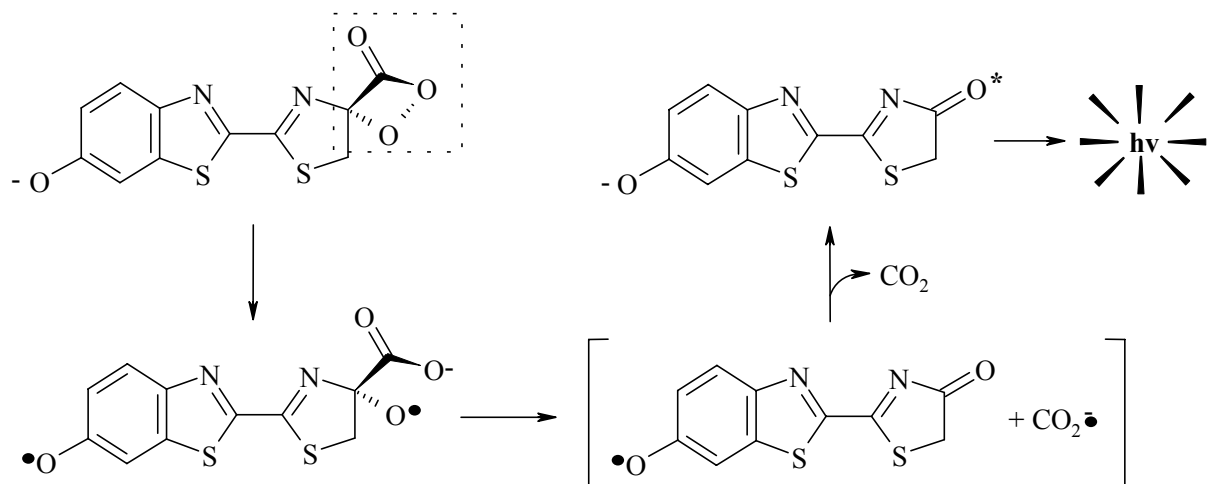
Το βιοφωταυγές σύστημα της πυγολαμπίδας



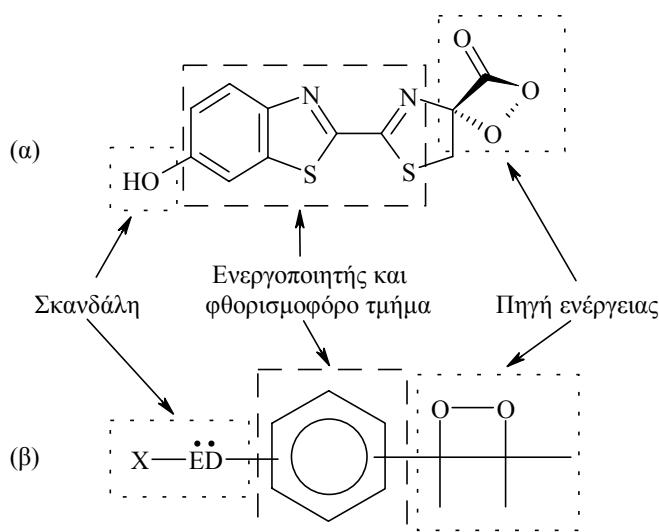
Λουσιφερίνη της πυγολαμπίδας και μηχανισμός της αντίδρασης βιοφωταύγειας

- σχάση του δεσμού O–O
- απόσπαση ρίζα διοξειδίου του άνθρακα
- μετακίνηση ηλεκτρονίου στη φαινολική ρίζα

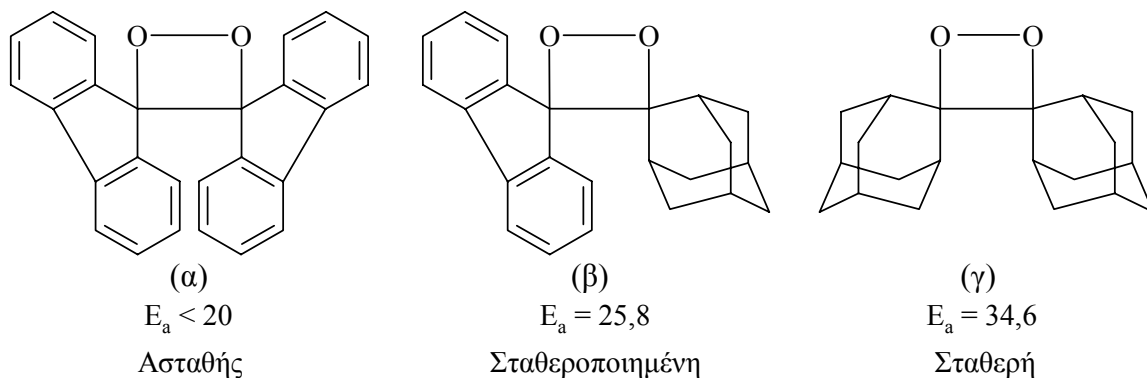
φθορισμός χημικώς απαρχόμενης μεταφοράς ηλεκτρονίων (chemical initiated electron exchange luminescence, CIEEL)



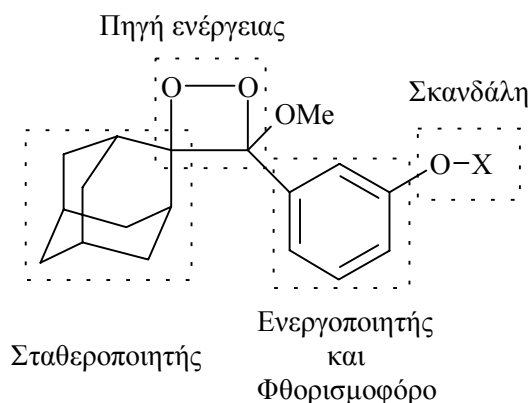
Σχηματισμός διεγερμένου ανιόντος της οξυλουσιφερίνης στην πυγολαμπίδα με μηχανισμό του φθορισμού εκ χημικώς απαρχόμενης μεταφοράς ηλεκτρονίων



(α) Τα τρία σημαντικά μοριακά συστατικά της λουσιφερίνης της πυγολαμπίδας που οδηγούν στην αποδοτική παραγωγή βιοφωταύγειας.
 (β) Υποθετικό χημικό ισοδύναμο του παραπάνω συστήματος (ED: δότης ηλεκτρονίων)



Σταθεροποίηση θερμικά ασταθών διοξετανών με
υποκατάστασή τους με το αδαμαντάνιο (E_a : ενέργεια
ενεργοποίησης σε $\text{kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$).

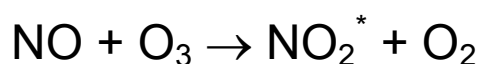
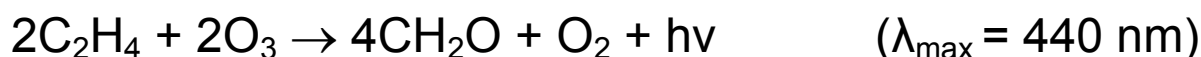


Συνθετικό μόριο που εκπληρώνει τις απαιτήσεις ενός χημικού
ισοδύναμου της λουσιφερίνης της πυγολαμπίδας ($X =$
υποκαταστάτης ο οποίος μπορεί να απομακρυνθεί εύκολα, είτε
χημικά, είτε ενζυματικά).

Χημειοφωταυγείς αντιδράσεις αερίων

Αντιδράσεις όζοντος

- Αντιδράσεις με ακόρεστες, κορεσμένες αλειφατικές ή ακόρεστες κυκλικές οργανικές ενώσεις
- Αντιδράσεις με μονοξείδιο του αζώτου
- Αντιδράσεις με ενώσεις του θείου
- Αντιδράσεις με νικέλιο
- Αντιδράσεις με υδρίδια

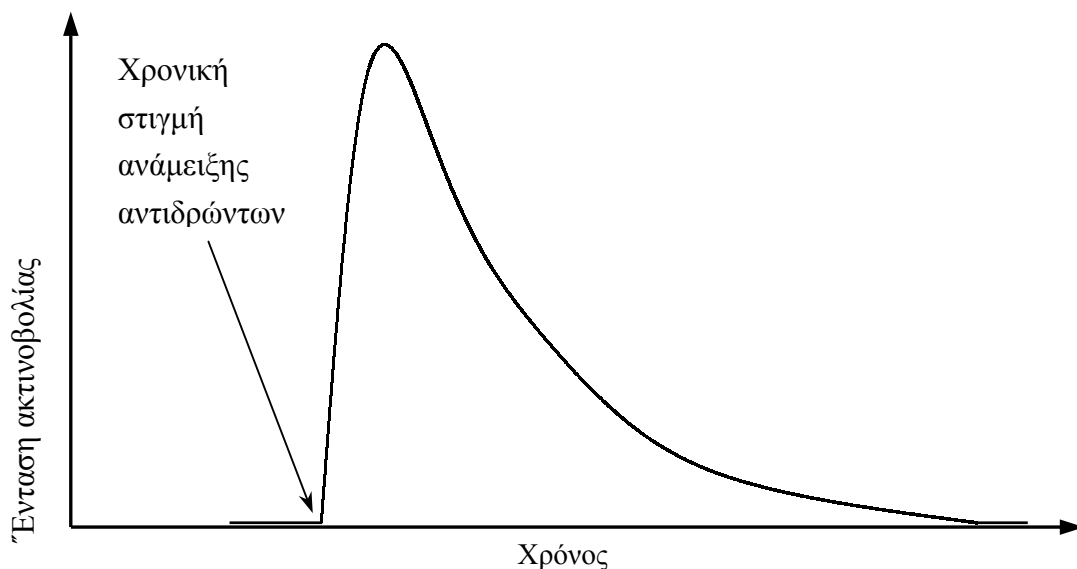


- αυξημένη ευαισθησία
- μεγάλη απόδοση χημειοφωταύγειας είναι πολύ μεγάλη
- κατασκευή φορητών διατάξεων (field analyzer)
- συνεχής προσδιορισμός NO (pptv)
- γραμμικότητα σε περιοχή έξι τάξεων μεγέθους
- εκλεκτικότητα : δεν παρεμποδίζεται από NO₂, CO₂, NH₃, SO₂ και H₂O
- Προσδιορισμός NO₂ : θερμική μετατροπή σε NO σε ανοξειδωτο σωλήνα στους 650-700 °C
- Παρεμπόδιση από αμμωνία : διαβίβαση του δείγματος από διάλυμα για κατακράτηση της αμμωνίας

Χημειοφωταυγείόμετρα

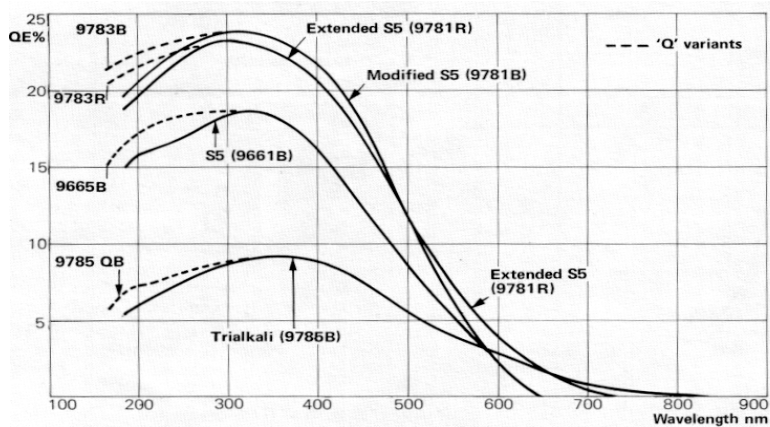
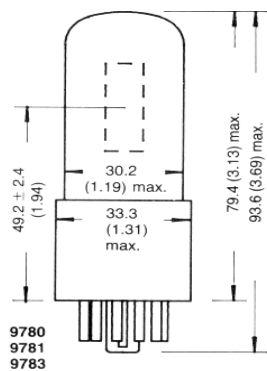
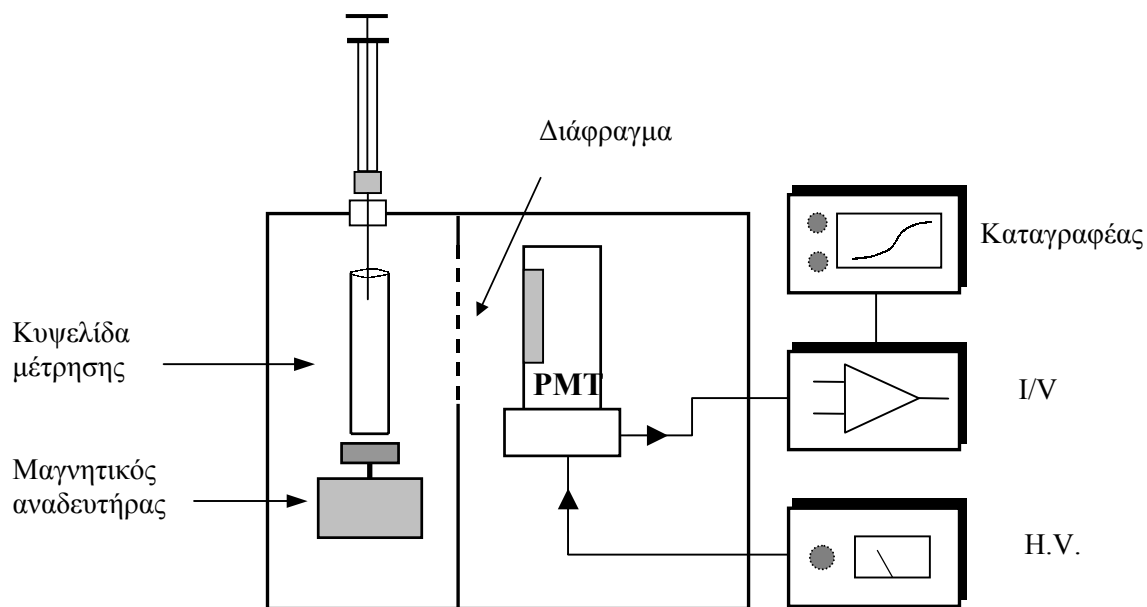
- ένταση ακτινοβολίας I_{CL} (φωτόνια εκπεμπόμενα στο δευτερόλεπτο)
- ταχύτητα της χημικής αντίδρασης (dC/dt)
- κβαντική απόδοση της χημειοφωταύγειας Φ_{CL} (φωτόνια που εκπέμπονται ανά αντιδρών μόριο)

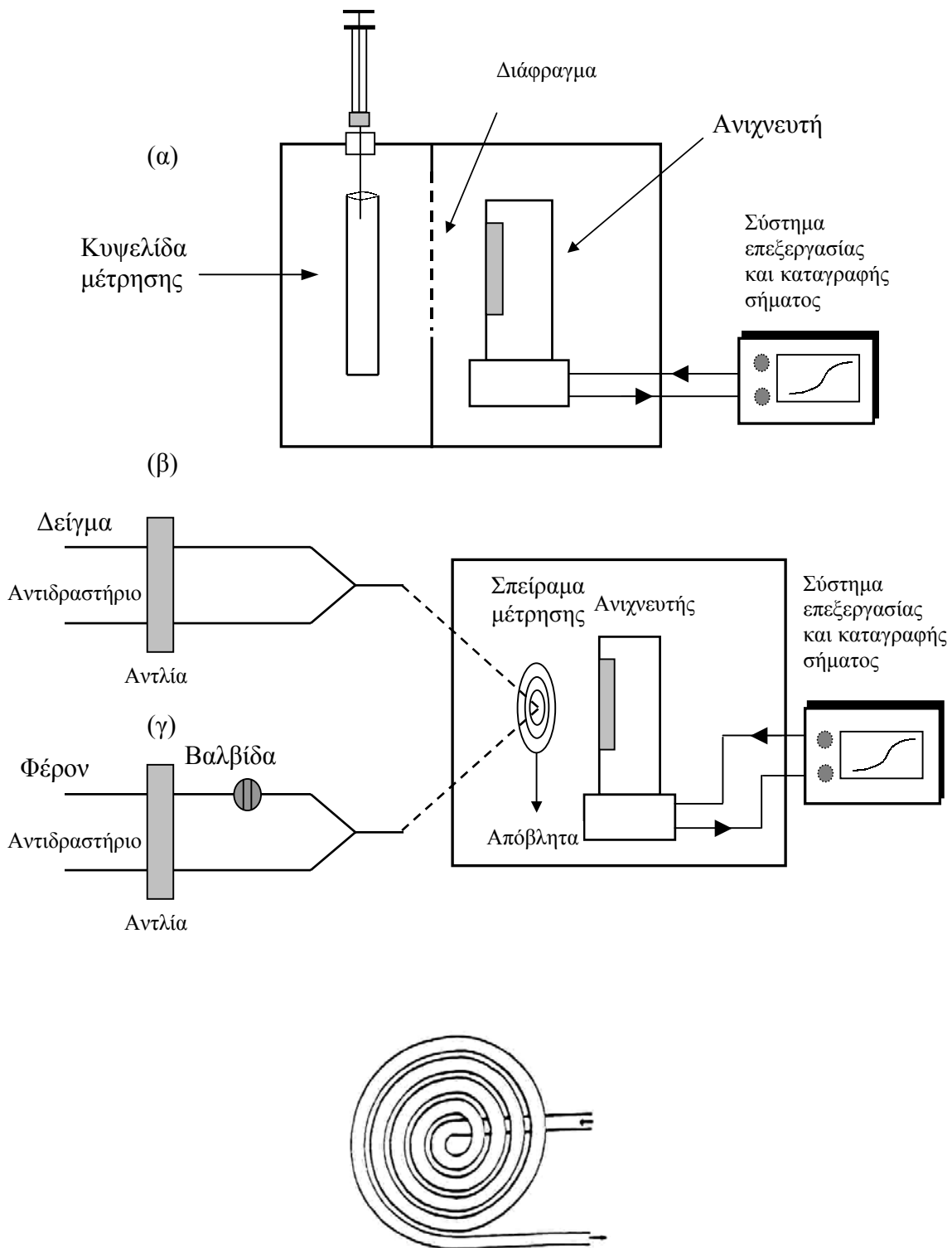
$$I_{\text{ΧΗΜΕΙΟΦ.}} = \Phi_{\text{ΧΗΜΕΙΟΦ.}} \frac{d\Gamma}{dt}$$

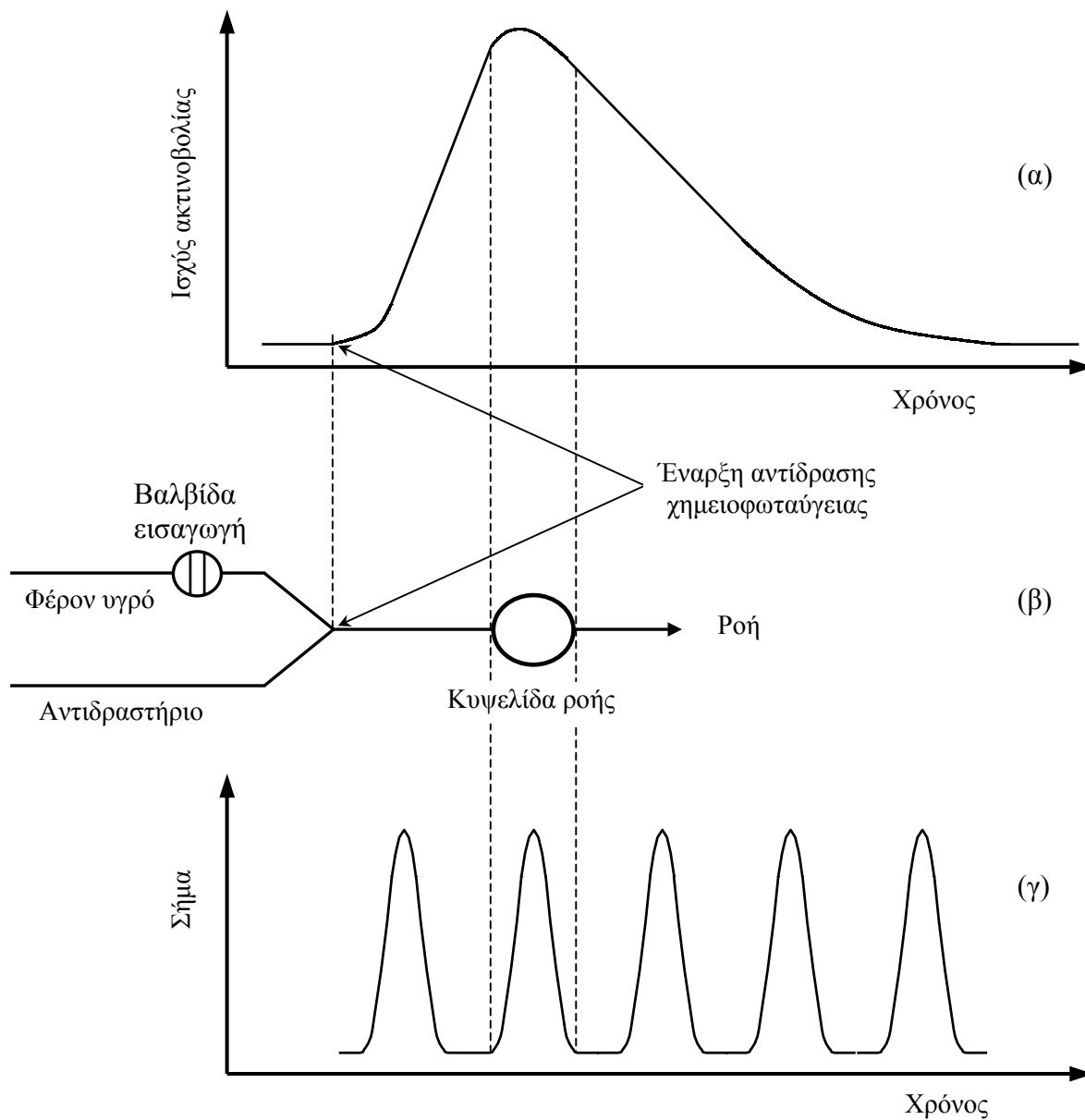


Ισχύς εκπεμπόμενης ακτινοβολίας ως συνάρτηση του χρόνου για μια αντίδραση χημειοφωταύγειας

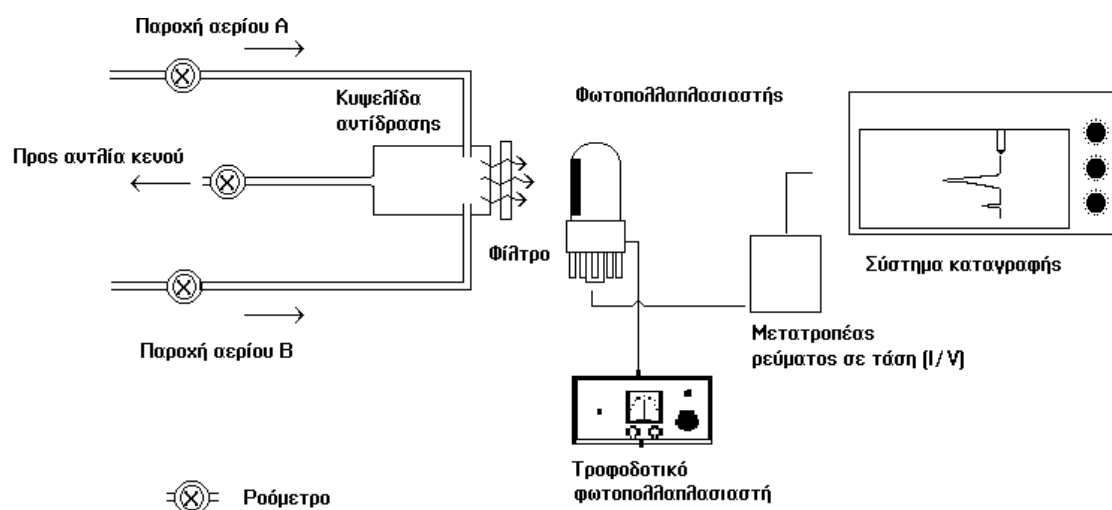
Στατικό χημειοφωταυγείομετρο



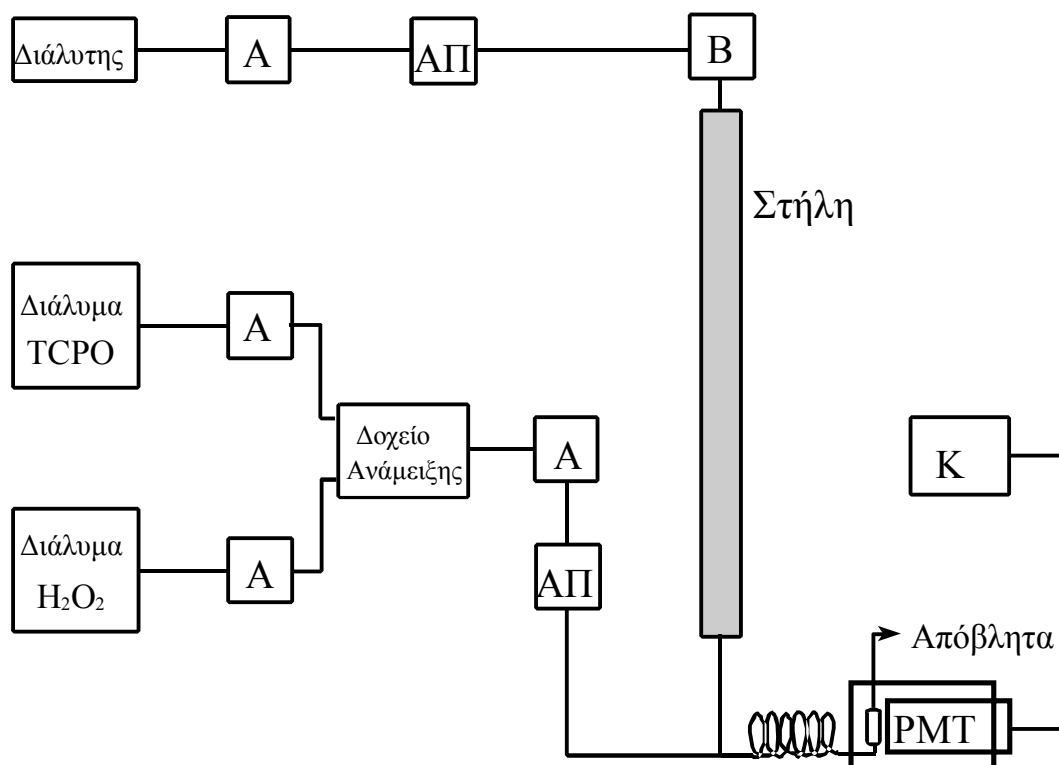




(α) Ισχύς χημειοφωταύγειας ως συνάρτηση του χρόνου μετά την ανάμειξη των αντιδρώντων, την έναρξη της αντίδρασης και την είσοδο και έξοδο του χημειοφωταυγούς διαλύματος στην κυψελίδα ροής (β). (γ) Τυπικό καταγράφημα που λαμβάνεται μετά τη διαδοχική εισαγωγή του ίδιου διαλύματος στη συσκευή.



Σχηματική διάταξη χημειοφωταυγειομέτρου αερίου-αερίου



Σχηματική παράσταση διάταξης HPLC με χημειοφωταυγειομετρικό ανιχνευτή.

A: αντλία, ΑΠ: αποσβεστήρας παλμών, Β: βαλβίδα, ΣΑ: σπείραμα αντίδρασης, Κ: καταγραφέας