

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ ΤΟΜΕΑΣ ΑΝΟΡΓΑΝΗΣ ΚΑΙ ΑΝΑΛΥΤΙΚΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΑΝΑΛΥΤΙΚΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ

ΦΩΤΟΓΡΑΦΙΚΗ ΦΩΤΟΜΕΤΡΙΑ: ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΚΑΙΝΟΤΟΜΑΣ ΤΕΧΝΙΚΗΣ ΦΩΤΟΜΕΤΡΙΚΩΝ ΑΝΑΛΥΣΕΩΝ ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΦΩΤΟΓΡΑΦΙΚΩΝ ΤΕΧΝΙΚΩΝ ΚΥΑΝΟΤΥΠΙΑΣ

ΜΑΡΙΑ Δ. ΤΑΡΑΡΑ ΧΗΜΙΚΟΣ

Μεταπτυχιακή Διατριβή

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2019

© 2019 Mapia Tapapà

Η έγκριση της διπλωματικής εργασίας από το Τμήμα Χημείας της Σχολής Θετικών Επιστημών του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων δεν υποδηλώνει αποδοχή των απόψεων του συγγραφέα (Ν. 5343/32 αρ. 202 παρ. 2). Ημερομηνία αίτησης της κ. Μαρίας Ταραρά: 02-04-2019

Επιβλέπων μέλος ΔΕΠ: Επίκουρος Καθηγητής, Δημοσθένης Λ. Γκιώκας

Θέμα: «ΦΩΤΟΓΡΑΦΙΚΗ ΦΩΤΟΜΕΤΡΙΑ: ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΚΑΙΝΟΤΟΜΑΣ ΤΕΧΝΙΚΗΣ ΦΩΤΟΜΕΤΡΙΚΩΝ ΑΝΑΛΥΣΕΩΝ ME ΧΡΗΣΗ ΦΩΤΟΓΡΑΦΙΚΩΝ ΤΕΧΝΙΚΩΝ ΚΥΑΝΟΤΥΠΙΑΣ»

ΟΡΙΣΜΟΣ ΤΡΙΜΕΛΟΥΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ από τη Γ.Σ.Ε.Σ.: 997/12-04-2019

- **1.** Επίκουρος Καθηγητής, Δημοσθένης Λ. Γκιώκας
- 2. Καθηγητής, Αθανάσιος Γ. Βλεσσίδης
- 3. Αναπληρωτής Καθηγητής Γεράσιμος Μαλανδρίνος

Έγκριση Μεταπτυχιακής Διατριβής στις

Η Πρόεδρος του Τμήματος Χημείας Η Γραμματέας του Τμήματος

Καθηγήτρια, Μαρία Λουλούδη

Ξανθή Τουτουνζόγλου

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα εργασία για την απόκτηση του Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης (Μ.Δ.Ε.) με κατεύθυνση: «Σύγχρονες Τεχνολογίες Αναλυτικής και Περιβαλλοντικής Χημείας» εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Αναλυτικής Χημείας στα πλαίσια του Π.Μ.Σ. του Τμήματος Χημείας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.

Σκοπός της εργασίας ήταν η ανάπτυξη μιας απλής, φορητής και οικονομικής μη ενόργανης φωτομετρικής τεχνικής για τον προσδιορισμό της απορρόφησης της υπεριώδους ακτινοβολίας καθώς μέχρι σήμερα τέτοιου είδους τεχνικές περιορίζονταν μόνο σε μετρήσεις στο ορατό φως. Στη μέθοδο ονομάστηκε φωτογραφική αυτή, φωτομετρία, ΠΟυ η ανίχνευση πραγματοποιείται με τη χρήση μιας δημοφιλούς φωτογραφικής τεχνικής, της κυανοτυπίας, η οποία βασίζεται στην εκτύπωση εξ επαφής, μιας απλής διαδικασίας όπου ένα αντικείμενο τοποθετείται επάνω στο χαρτί και έπειτα εκτίθεται στο φως. Κατασκευάζεται λοιπόν μια απλή συσκευή που περιλαμβάνει μια πηγή ακτινοβολίας UV, ένα μικροπλακίδιο το οποίο περιέχει το δείγμα και ένα χαρτί κυανοτυπίας που τοποθετείται στο κάτω μέρος του Με την έκθεση στην υπεριώδη ακτινοβολία, μικροπλακιδίου. то φωτοευαίσθητο χαρτί κυανοτυπίας φωτοανάγεται παράγοντας ένα «θετικό» είδωλο του δείγματος. Η ένταση του χρώματος σε αυτή την περιοχή ποσοτικοποιείται στο χρωματικό σύστημα RGB με τη βοήθεια διαθέσιμων ηλεκτρονικών συσκευών όπως είναι ο επίπεδος σαρωτής και συσχετίζεται με τη συγκέντρωση του δείγματος.

Στην εκπόνηση της εργασίας αυτής συνέβαλαν σε σημαντικό βαθμό τα μέλη της Τριμελούς Εξεταστικής Επιτροπής, τους οποίους θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερα τον επιβλέποντα μου Επίκουρο Καθηγητή Δρ. Δημοσθένη Γκίωκα για την καθοδήγηση και τις ανεκτίμητες συμβουλές του σε θεωρητικό και πειραματικό επίπεδο κατά τη διάρκεια της συμμετοχής μου στην ερευνητική του ομάδα. Θερμές ευχαριστίες οφείλω στον Καθηγητή Δρ Αθανάσιο Βλεσσίδη, στον Δρ Γεώργιο Τσόγκα, στην υποψήφια διδάκτορα Τατιάνα Χολέβα και στους μεταπτυχιακούς φοιτητές Στεφανία Τζώκα και Χαρίκλεια Τζιάσιου για την αμέριστη βοήθεια και συμπαράσταση και την άριστη συνεργασία που μου προσέφεραν.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένειά μου για την πολύπλευρη συμπαράσταση κατά την διάρκεια της εκπόνησης της εργασίας αυτής.

> Μαρία Δ. Ταραρά Ιωάννινα, Ιούνιος 2019

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΠΡΩΤΟ

ΧΡΩΜΑΤΟΜΕΤΡΙΑ	1
1.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ	3
1.1.1 Ορισμός χρώματος	3
1.1.2 Περιγραφή χρώματος	4
1.2 ΕΓΧΡΩΜΗ ΟΡΑΣΗ	5
1.2.1 Έλλειψη χρώματος στην όραση	7
1.3 ΧΡΩΜΑΤΟΜΕΤΡΙΑ ΚΑΙ ΧΡΩΜΑΤΙΚΑ ΜΟΝΤΕΛΑ	7
1.3.1 Το χρωματικό μοντέλο RGB	8
1.3.2 Το χρωματικό μοντέλο CMYK	9
1.3.3 Το χρωματικό μοντέλο HSV	11
1.4 ΨΗΦΙΑΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΕΙΚΟΝΩΝ	11
1.4.1 Χρωματομετρία ψηφιακής εικόνας	12
1.4.2 Η τεχνολογία του χρώματος στην χημική ανάλυση	14

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΔΕΥΤΕΡΟ

ΚΥΑΝΟΤΥΠΙΑ	17
2.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ	19
2.2 ΕΙΔΗ ΙΣΤΟΡΙΚΩΝ ΔΙΕΡΓΑΣΙΩΝ ΦΩΤΟΓΡΑΦΙΚΗΣ	
ΕΚΤΥΠΩΣΗΣ	20
2.2.1 Διαδικασίες που βασίζονται στην φωτοευαισθησία των	
αλάτων αργύρου	20
2.2.2 Διαδικασίες που βασίζονται στην φωτοευαισθησία των	
αλάτων σιδήρου	21
2.2.3 Διαδικασίες που βασίζονται στην φωτοευαισθησία της	
διχρωματικής ζελατίνης ή του αραβικού κόμμεος (εκτυπώσεις	
υψηλής ποιότητας)	21
2.3 ΙΣΤΟΡΙΚΟ ΥΠΟΒΑΘΡΟ ΚΥΑΝΟΤΥΠΙΑΣ	22
2.4 Η ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΤΗΣ ΚΥΑΝΟΤΥΠΙΑΣ	23
2.4.1 Ήλιος και υπεριώδης ακτινοβολία	25
2.4.2 Χαμηλή και υψηλή αντίθεση	25

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΡΙΤΟ

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ	27
ΜΕΡΟΣ	
3.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ	29
3.1.1 Μοριακή φασματοσκοπία απορρόφησης υπεριώδους	
ορατού	29
3.1.2 Μη-ενόργανες τεχνικές φασματοφωτομετρικής ανάλυσης	31
3.2 ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ	36
3.3 ΟΡΓΑΝΟΛΟΓΙΑ	36
3.4 ΠΡΑΓΜΑΤΙΚΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ	37
3.5 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΠΟΡΕΙΑ	38
3.5.1 Διαδικασία κυανοτυπίας	38
3.5.2 Μελέτη Αναλυτών	38
3.5.2.1 Εργαστηριακό χαρτί κυανοτυπίας	40
3.5.2.2 Εμπορικό χαρτί κυανοτυπίας	42

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΕΤΑΡΤΟ

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ	45
4.1 Η ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΥΠΕΡΙΩΔΟΥΣ ΦΩΤΟΓΡΑΦΙΚΗΣ	
ΦΩΤΟΜΕΤΡΙΑΣ	47
4.2 ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΗΣ ΔΙΑΤΑΞΗΣ ΤΗΣ ΣΥΣΚΕΥΗΣ	48
4.3 ΦΑΣΜΑΤΙΚΗ ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ ΤΩΝ ΕΠΙΚΑΛΥΨΕΩΝ ΤΟΥ	
ΦΩΤΟΓΡΑΦΙΚΟΥ ΧΑΡΤΙΟΥ	50
4.4 ΒΕΛΤΙΣΤΟΠΟΙΗΣΗ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΩΝ ΣΥΝΘΗΚΩΝ	52
4.4.1 Διαδικασία κυανοτυπίας	52
4.4.2 Αναλύτες	53
4.5 ΕΠΙΔΕΙΞΗ ΤΗΣ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ ΤΗΣ ΦΩΤΟΓΡΑΦΙΚΗΣ	
ΦΩΤΟΜΕΤΡΙΑΣ	56
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	62
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	65

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ	73
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	83
ABSTRACT	85

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΠΡΩΤΟ

ΧΡΩΜΑΤΟΜΕΤΡΙΑ



1.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1.1 Ορισμός χρώματος

Χρώμα είναι η ιδιότητα που καθορίζεται από τις συνδυασμένες εντάσεις των μηκών κύματος που υπάρχουν σε δέσμη ορατού φωτός η οποία ανακλάται από την επιφάνεια ενός αντικειμένου. Το ορατό φως είναι μια μορφή ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας που μπορεί να ανιχνευθεί από το ανθρώπινο μάτι. Στην εικόνα 1.1 απεικονίζεται το φάσμα του ορατού φωτός που εκτείνεται σε ακτινοβολίες με μήκος κύματος από 400 nm μέχρι 700 nm. Τα μεγαλύτερα μήκη κύματος αντιστοιχούν στο κόκκινο ενώ τα μικρότερα στο ιώδες. Για αυτό και οι περιοχές έξω από τα όρια του ορατού φάσματος ονομάζονται υπέρυθρες και υπεριώδεις αντίστοιχα.

Ένα αντικείμενο πρέπει είτε να εκπέμπει φως είτε να αντανακλά ή να μεταδίδει φως που προέρχεται από μια εξωτερική πηγή για να είναι ορατό. Η αντίληψη του χρώματος είναι ουσιαστικά το αποτέλεσμα μιας φυσιολογικής απόκρισης σε ένα φυσικό ερέθισμα. Τα χρωματόμετρα και τα φασματοφωτόμετρα είναι όργανα που επεξεργάζονται το ανακλώμενο φως από την επιφάνεια ενός αντικειμένου. Επίσης, μετατρέπουν τα δεδομένα της ροής φωτός σε παραμέτρους χρώματος που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τον προσδιορισμό της απόχρωσης και τον υπολογισμό των διαφορών μεταξύ των χρωμάτων (Ragain J., 2016). Άλλες συσκευές που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την μέτρηση του χρώματος είναι ο σαρωτής, η βιντεοκάμερα και το πυκνόμετρο σάρωσης (https://repository.kallipos.gr/



Εικόνα 1.1 Φάσμα του ορατού φωτός (https://el.wikipedia.org/wiki/ %CE%A6%CF%89%CF%82)

1.1.2 Περιγραφή χρώματος

Υπάρχουν τρία χαρακτηριστικά που συνήθως χρησιμοποιούνται για να περιγράψουν ένα συγκεκριμένο χρώμα. Το πρώτο είναι η απόχρωση και προσδιορίζει ένα από τα χρώματα της φασματικής ακολουθίας ή ένα από τα μη-φασματικά χρώματα όπως πορφυρό, ματζέντα ή ροζ. Ένα δεύτερο χαρακτηριστικό του χρώματος είναι ο κορεσμός ή η ένταση και δίνει ένα μέτρο της απουσίας του λευκού, του γκρι ή του μαύρου. Για παράδειγμα, η προσθήκη λευκού, γκρίζου ή μαύρου χρώματος σε κορεσμένο κόκκινο δίνει ένα ακόρεστο κόκκινο ή ροζ χρώμα το οποίο τελικά μετατρέπεται σε καθαρό λευκό, γκρίζο ή μαύρο αντίστοιχα καθώς συνεχίζεται η προσθήκη. Για ένα χρώμα που έχει μια δεδομένη απόχρωση και κορεσμό, μπορούν να υπάρχουν διαφορετικά επίπεδα που ορίζονται ως φωτεινότητα. Έτσι, συμπληρώνονται οι τρεις διαστάσεις που συνήθως απαιτούνται για να περιγράψουν ένα συγκεκριμένο χρώμα (εικόνα 1.2). Ωστόσο, στην καθομιλουμένη, το χρώμα μπορεί μερικές φορές να υποδηλώνει απλώς τη μια διάσταση των διάφορων αποχρώσεων του φάσματος (κόκκινο έως ιώδες) που συνδέονται με μερικές μη φασματικές αποχρώσεις. Κατά την τεχνική έννοια όμως, το χρώμα απαιτεί έναν πολυδιάστατο χώρο οριζόμενο από τις τρεις παραπάνω παραμέτρους ως ελάχιστες διαστάσεις (Nassau K., 1998).



Εικόνα 1.2 Τρισδιάστατη αναπαράσταση χρωμάτων με βάση τα χαρακτηριστικά τους (www.mathworks.com/help/images/convert-from-hsv-to-rgb-color-space. html)

1.2 ΕΓΧΡΩΜΗ ΟΡΑΣΗ

Η οπτική αντίληψη του ανθρώπου επηρεάζεται έντονα από την ανατομία του ματιού. Ο κερατοειδής χιτώνας και ο φακός του ματιού λειτουργούν μαζί όπως ο φωτογραφικός φακός μιας κάμερας για να εστιάσουν σε μια εικόνα του οπτικού κόσμου πάνω στον αμφιβληστροειδή στο πίσω μέρος του ματιού. Αυτός λειτουργεί όπως το φιλμ ή κάποιον αισθητήρα εικόνας μιας φωτογραφικής μηχανής. Ο αμφιβληστροειδής είναι ένα λεπτό στρώμα κυττάρων και ενσωματώνει τα φωτοευαίσθητα κύτταρα του οπτικού συστήματος και το αρχικό κύκλωμα επεξεργασίας και μετάδοσης σήματος. Τα κύτταρα αυτά είναι τα ραβδία και τα κωνία και χρησιμεύουν στη μετατροπή των πληροφοριών που υπάρχουν στην οπτική εικόνα σε χημικά και ηλεκτρικά σήματα που μπορούν να μεταδοθούν στα μεταγενέστερα στάδια του οπτικού συστήματος. Αυτά τα σήματα, στη συνέχεια, επεξεργάζονται από ένα δίκτυο κυττάρων και μεταδίδονται στον εγκέφαλο μέσω του οπτικού νεύρου.

Η πιο σημαντική διάκριση μεταξύ ραβδίων και κωνίων αφορά την οπτική λειτουργία. Τα ραβδία εξυπηρετούν την όραση σε χαμηλά επίπεδα φωτεινότητας αλλά δεν μπορούν να ανιχνεύσουν χρώματα ενώ τα κωνία εξυπηρετούν την όραση σε υψηλότερα επίπεδα φωτεινότητας και είναι υπεύθυνα για την αντίληψη χρώματος (Fairchild M., 2005). Υπάρχουν τρεις τύποι κωνίων και αναφέρονται ως S, M και L κωνία. Τα διαφορετικά χρώματα διακρίνονται με βάση την ανταπόκριση των τριών αυτών τύπων, προκαλώντας τρισδιάστατο όραμα. Οι τρεις τύποι των κωνίων, διακρίνονται από τις χρωστικές τους ουσίες οι οποίες απορροφούν κατά κύριο λόγο ένα από τα τρία χρώματα: κόκκινο (μεγάλα μήκη κύματος), πράσινο (μεσαία μήκη κύματος) και μπλε (μικρά μήκη κύματος). Η απόκριση φωτισμού των κωνικών κυττάρων φαίνεται στο σχήμα 1.3. Τα νευρικά ερεθίσματα από τα κωνία αποστέλλονται στον εγκέφαλο, και έτσι διακρίνονται περίπου 10 εκατομμύρια χρώματα (Hunt R., 2004, Fairchild M., 2005).



Εικόνα 1.3 Φασματικές αποκρίσεις των κωνίων S, M και L (https:// en.wikipedia.org/wiki/Cone_cell, Gonzalez R. C. and Woods R. E., 1992)

1.2.1 Ἐλλειψη χρώματος στην ὀραση

Η ελαττωματική έγχρωμη όραση είναι ένα θέμα που παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον, κυρίως για τους άντρες καθώς περίπου το 10% εμφανίζει μειωμένη χρωματική όραση ενώ στις γυναίκες εμφανίζεται σε ποσοστό 1%. Αυτό συμβαίνει γιατί τα γονίδια που σχετίζονται με τις διαταραχές στην αντίληψη των χρωμάτων βρίσκονται στο χρωμόσωμα X και είναι υπολειπόμενα.

Ορισμένες ελλείψεις χρωμάτων στην όραση προκαλούνται από την απώλεια συγκεκριμένου τύπου των κωνίων. Οι άνθρωποι δηλαδή, που έχουν έναν τύπο κωνίων εμφανίζουν μονοχρωματική όραση, άτομα με δύο τύπους κωνίων εμφανίζουν διχρωματική ενώ με τρεις τύπους κωνίων τριχρωματική όραση. Τα άτομα που θεωρούνται ότι έχουν φυσιολογική όραση είναι τα τριχρωματικά επειδή έχουν τρία λειτουργικά σύνολα υποδοχέων χρώματος (Nassau K., 1998).

1.3 ΧΡΩΜΑΤΟΜΕΤΡΙΑ ΚΑΙ ΧΡΩΜΑΤΙΚΑ ΜΟΝΤΕΛΑ

Η αντίληψη του χρώματος από κάθε άνθρωπο είναι υποκειμενική και πολλές φορές χρησιμοποιούνται ίδιες λέξεις για την περιγραφή διαφορετικών χρωμάτων, με αποτέλεσμα να δημιουργείται μία σύγχυση στην επικοινωνία. Ωστόσο, επειδή η ακριβής περιγραφή των χρωμάτων είναι πολύ σημαντική σε διάφορους τομείς, θα πρέπει να εκφράζονται επίσημα και αριθμητικά με μαθηματικό τρόπο ώστε να μπορούν να προβάλλονται σε συσκευές, υπολογιστές εφαρμογές (Ibraheem Ν. Α. каі et al., 2012, https://en.wikipedia.org/ wiki/Color_model). Η χρωματομετρία λοιπόν, είναι η επιστήμη και η τεχνολογία που ασχολείται με την ποσοτική και τη ανθρώπινης φυσική περιγραφή της αντίληψης των χρωμάτων (https://en.wikipedia.org/wiki/Colorimetry) και χρησιμοποιεί χρωματικά μοντέλα για το σκοπό αυτό. Το χρωματικό μοντέλο είναι ουσιαστικά ένας μαθηματικός τύπος και περιγράφει τον τρόπο με τον οποίο τα χρώματα μπορούν να αναπαρασταθούν ως πλειάδες αριθμών. Για παράδειγμα, στο χρωματικό μοντέλο RGB (Red, Green, Blue), κάθε χρώμα μπορεί να

προσδιοριστεί από μία τριάδα αριθμών (Ibraheem N. A. et al., 2012, https://en.wikipedia.org/wiki/Color_model). Ουσιαστικά, είναι ένα σύστημα που χρησιμοποιείται για τη δημιουργία μιας πλήρους σειράς χρωμάτων από ένα μικρό σύνολο προκαθορισμένων χρωμάτων. (Rhyne T. M., 2017). Τυπικά, τα χρωματικά μοντέλα έχουν τρία ή τέσσερα έγχρωμα στοιχεία. Υπάρχουν διάφοροι χρωματικοί χώροι για διαφορετικές εφαρμογές. Μερικά παραδείγματα χρωματικών μοντέλων, εκτός από το RGB, είναι το σύστημα CIE, το σύστημα Munsell, το HLS, το CMYK, και το HSV (ή αλλιώς HSB) και από αυτά θα αναπτυχθούν παρακάτω τα τρία τελευταία (Kelda H. K. and Kaur P., 2014, Ibraheem N. A. et al., 2012).

1.3.1 Το χρωματικό μοντέλο RGB

Όπως φαίνεται στο σχήμα 1.4, το χρωματικό μοντέλο RGB (Red,Green,Blue) συγκεντρώνει τα βασικά χρώματα του κόκκινου, του πράσινου και του μπλε σε διάφορους συνδυασμούς για να παράγει ένα ευρύ φάσμα χρωμάτων. Για παράδειγμα το κόκκινο και το πράσινο συνδυάζονται για να παράγουν κίτρινο. Το χρωματικό μοντέλο RGB ονομάζεται χρωματικό μοντέλο προσθήκης στο οποίο ο συνδυασμός του κόκκινου, πράσινου και μπλε χρώματος παράγει το λευκό. Χρησιμοποιείται σε διάφορες τεχνολογίες που παράγουν έγχρωμες εικόνες, όπως συμβατική φωτογραφία και απεικόνιση εικόνων σε ηλεκτρονικά συστήματα. Μερικά παραδείγματα συσκευών εισόδου RGB είναι οι σαρωτές εικόνας, τα βιντεοπαιχνίδια, ψηφιακές φωτογραφικές μηχανές καθώς και τηλεοράσεις και βιντεοποροβολής και οθόνες υπολογιστών και κινητών τηλεφώνων (Rhyne T. M., 2017).



Εικόνα 1.4 Εικονογράφηση του χρωματικού μοντέλου RGB (https:// en.wikipedia.org/wiki/RGB_color_model)

1.3.2 Το χρωματικό μοντέλο CMYK

Το χρωματικό μοντέλο CMYK (Cyan, Magenta, Yellow, black(K)) χρησιμοποιεί τα τρία βασικά χρώματα κυανό, ματζέντα και κίτρινο (CMY) της αφαιρετικής μίξης και επιπλέον το μαύρο (Κ) το οποίο προκύπτει από των συνδυασμό των CMY. Για το λόγο αυτό, το μοντέλο ονομάζεται αφαιρετικό Μ., (Rhyne Τ. 2017, https://el.wikipedia.org/wiki/%CE% A7%CF%81%CF%89%CE%BC%CE%B1%CF%84%CE%B9%CE%BA%CE %AC_%CE%BC%CE%BF%CE%BD%CF%84%CE%AD%CE%BB%CE%B1). Το μοντέλο CMYK έχει σχεδιαστεί για να υποστηρίζει την έγχρωμη εκτύπωση σε λευκό χαρτί το οποίο ανακλά όλα τα χρώματα (μήκη κύματος). Κάθε βασικό χρώμα που προστίθεται με ένα μελάνι απορροφά ορισμένα χρώματα και αποδίδει τα υπόλοιπα. Για παράδειγμα, το κίτρινο μελάνι απορροφά το μπλε χρώμα και αφήνει το πράσινο και το κόκκινο να ανακλαστεί. (https://el.wikipedia.org/wiki/%CE%A7%CF%81%CF%89%CE%BC%CE% B1%CF%84%CE%B9%CE%BA%CE%AC_%CE%BC%CE%BF%CE%BD%C F%84%CE%AD%CE%BB%CE%B1). Οι τυπικές συσκευές εξόδου για το μοντέλο χρωμάτων CMYK περιλαμβάνουν έγχρωμους εκτυπωτές inkjet, λέιζερ και εκτυπωτές χρώματος-εξάχνωσης. Κάθε συσκευή έχει τη δική της τεχνολογία για την αναπαραγωγή έγχρωμων εικόνων. Στην εικόνα 1.5 απεικονίζεται το χρωματικό μοντέλο CMYK.



Εικόνα 1.5 Εικονογράφηση του χρωματικού μοντέλου CMYK (https:// en.wikipedia.org/ wiki/CMYK_color_model)

Σήμερα, όταν τυπώνεται μια ψηφιακή εικόνα, οι αριθμητικές τιμές RGB της εικόνας μετατρέπονται στις αριθμητικές τιμές CMYK ενός εκτυπωτή. Θεωρητικά, τα μοντέλα χρώματος RGB και CMYK είναι συμπληρωματικά μεταξύ τους. Διάφοροι συνδυασμοί των βασικών χρωμάτων κόκκινου, πράσινου και μπλε του RGB παράγουν CMY. Το αντίστροφο ισχύει για τα βασικά χρώματα CMY όπου οι συνδυασμοί τους παράγουν κόκκινο, πράσινο και μπλε. Στην πράξη, αυτοί οι συνδυασμοί δεν είναι καθαρά συμπληρωματικοί, δεδομένου ότι το χρωματικό μοντέλο RGB αναφέρεται σε φως ενώ το μοντέλο CMYK σε χρωστικές ουσίες. Τα χρώματα που επιλέγονται και αντιστοιχίζονται σε ένα κινητό τηλέφωνο RGB μπορούν να εμφανιστούν με διαφορετική ένταση, ίσως και πιο μειωμένα σε ένταση (subdued), από ότι όταν αναπαράγονται στο λευκό χαρτί μέσω εκτυπωτή μελάνης CMYK (Rhyne T. M., 2017).

1.3.3 Το χρωματικό μοντέλο HSV

Το μοντέλο HSV (Hue, Saturation, Value) ή αλλιώς HSB (Hue, Saturation, Brightness) αποτελεί εναλλακτική αναπαράσταση του έγχρωμου μοντέλου RGB. Σχεδιάστηκε στη δεκαετία του 1970 από τους ερευνητές γραφικών υπολογιστών για να συμβαδίσουν περισσότερο με τον τρόπο που η ανθρώπινη οπτική αντιλαμβάνεται τις ιδιότητες χρωματισμού. Στο HSV τα χρώματα κάθε απόχρωσης είναι οργανωμένα σε μια ακτινική φέτα, γύρω από έναν κεντρικό άξονα ουδέτερων χρωμάτων που κυμαίνεται από το μαύρο στο κάτω μέρος έως το λευκό στην κορυφή όπως φαίνεται και στην εικόνα 1.2. Η αναπαράσταση του HSV διαμορφώνει τον τρόπο με τον οποίο συνδυάζονται τα διαφορετικά χρώματα, με την διάσταση κορεσμού να μοιάζει με διάφορες αποχρώσεις φωτεινών χρωμάτων και τη διάσταση της φωτεινότητας να μοιάζει με το μείγμα αυτών των χρωμάτων με διάφορες ποσότητες μαύρου ή λευκού χρώματος (https://en.wikipedia.org/ wiki/HSL_and_HSV).

1.4 ΨΗΦΙΑΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΕΙΚΟΝΩΝ

Το πεδίο της ψηφιακής επεξεργασίας εικόνας αναφέρεται στην επεξεργασία ψηφιακών εικόνων με τη βοήθεια ενός υπολογιστή. Μια ψηφιακή εικόνα αποτελείται από ένα πεπερασμένο πλήθος στοιχείων, κάθε ένα από τα οποία χαρακτηρίζεται από μια συγκεκριμένη θέση και τιμή. Αυτά τα στοιχεία ονομάζονται εικονοστοιχεία (pixels).

Επειδή η όραση είναι η πιο εξελιγμένη από τις ανθρώπινες αισθήσεις, οι εικόνες παίζουν το πιο απλό αλλά και τον πιο σημαντικό ρόλο στην ανθρώπινη αντίληψη. Ωστόσο, σε αντίθεση με τους ανθρώπους, οι οποίοι περιορίζονται μόνο στην περιοχή του ορατού, οι μηχανές που επεξεργάζονται εικόνες καλύπτουν σχεδόν ολόκληρο το φάσμα, από τις ακτίνες γ μέχρι τα ραδιοκύματα. Μπορούν να επεξεργάζονται εικόνες οι οποίες δημιουργούνται από πηγές που οι άνθρωποι δεν έχουν συνηθίσει να συσχετίζουν με εικόνες όπως εικόνες υπερήχων, ηλεκτρονικής μικροσκοπίας ή εικόνες που

δημιουργούνται από ηλεκτρονικούς υπολογιστές. Επομένως, η ψηφιακή επεξεργασία εικόνας περιλαμβάνει ένα αρκετά εκτεταμένο και συνεχώς μεταβαλλόμενο πεδίο εφαρμογών (Gonzalez R. C. And Woods R. E., 1977).

1.4.1 Χρωματομετρία ψηφιακής εικόνας

Η χρήση ψηφιακών εικόνων αποτελεί σήμερα μια ευκαιρία για την ανάπτυξη γρήγορων και άμεσων ποσοτικών προσδιορισμών στην αναλυτική χημεία (Earle C.W. et al., 1993, Byrne J. et al., 2000, Lopez-Molinero A. et al., 2010) ειδικά σε συνδυασμό με χρωματομετρικές μεθόδους που μπορούν να χρησιμοποιήσουν δεδομένα RGB (Red, Green, Blue). Αυτά τα δεδομένα είναι απλά και μπορούν να διαβαστούν απευθείας από ανιχνευτές CCD (Charge Couple Detectors) που υπάρχουν στις προσβάσιμες για όλους ψηφιακές φωτογραφικές μηχανές, στους σαρωτές χεριών (hand-scanners) ή σε κάμερες υπολογιστών (Tohda K. and Gratzl M., 2006, Lopez-Molinero A. et al., 2010, Lopez-Molinero A. et al., 2013). Гіа тоис окопойс тас δείγματος ποσοτικοποίησης тои каі της μεταφοράς δεδομένων χρησιμοποιούνται προγράμματα όπως το Adope Photoshop και το Image J τα οποία επιτρέπουν την άμεση μετατροπή ψηφιακών εικόνων από κάμερες ή σαρωτές σε RGB ή και σε άλλες κλίμακες χρώματος (Grudpan K. et al., 2015). Το χρωματικό μοντέλο RGB αναγνωρίζεται ως το πιο εκτεταμένο και αποδεκτό σύστημα χρωμάτων καθώς έχει ένα ορισμένο αριθμό μοναδικών πλεονεκτημάτων όπως μια χρήσιμη αναπαράσταση εικόνων και μεμονωμένα δεδομένα που μπορούν εύκολα να μετρηθούν σε φιλική μορφή. Όλοι αυτοί οι παράγοντες την κάνουν μια τεχνική με μεγάλη προοπτική για την ανάπτυξη εύχρηστων και γρήγορων μεθόδων επεξεργασίας σήματος στην χημική ανάλυση (Tohda K. and Gratzl M., 2006, Lopez-Molinero A. et al., 2010).

Δύο βασικές δυνατότητες θα μπορούσαν να αναγνωριστούν στην χρωματομετρία ψηφιακής εικόνας (DIC). Από τη μια πλευρά, η μέθοδος αυτή μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε αντιδράσεις και διαδικασίες που βασίζονται σε εγγενή χρώματα δηλαδή όταν χρησιμοποιούνται τα ίδια αντιδραστήρια ή

προϊόντα για να δοκιμαστεί μια αλλαγή χρώματος. Ένα σχετικό παράδειγμα είναι η περίπτωση του χαρακτηρισμού του οίνου κατά την όξινη / βασική τιτλοδότηση (Torres A. R. Et al., 2011, Lopez-Molinero A. et al., 2013). Επιπλέον, η χρωματομετρία ψηφιακής εικόνας χρησιμοποιείται στην αντίδραση των αναλυτών με χρωμοφόρες ενώσεις από την οποία (αντίδραση) προκαλείται αλλαγή χρώματος. Είναι λοιπόν, μια χρήσιμη εναλλακτική λύση που επέτρεψε να αναπτυχθούν διαδικασίες γρήγορης ανίχνευσης και μέτρησης με εφαρμογή σε πολλά πεδία και για πολλούς αναλύτες όπως για ιόντα και μεταβολίτες σε βιολογικά υγρά (Tohda K. and Gratzl M., 2006, Martinez A. W. et al., 2008, Lopez-Molinero A. et al., 2013), ενώσεις αντισηπτικού τύπου (Kompany-Zareh M. and Mirzaei S. et al., 2004, Lopez-Molinero A. et al., 2013), σίδηρο και χλώριο στο νερό της βρύσης (Suzuki Y. et al., 2006, Lopez-Molinero A. et al., 2013), τιτάνιο σε πλαστικά (Lopez-Molinero A. et al., 2010, Lopez-Molinero A. et al., 2013), ημιποσοτικές δοκιμές πεδίου για παράνομες ενώσεις οπιούχων φαρμάκων (Choodum A. and Daeid N. N., 2011, Lopez-Molinero A. et al., 2013) ή για οργανικούς ρύπους σε νερό (Zhang C. and Suslick S., 2005, Lopez-Molinero A. et al., 2013).

Η αρχή του ποσοτικού προσδιορισμού με απεικόνιση ψηφιακής avάλυσης (imaging digital analysis) που βασίζεται σε δεδομένα RGB (Byrne J. et al., 2000, Lopez-Molinero A. et al., 2010), μπορεί να ερμηνευτεί ως χρωματομετρία με την ανάκλαση φωτός. Δηλαδή, είναι μια μέθοδος όπου το φως που φτάνει σε ένα ανιχνευτή CCD, είναι το φως που ανακλάται από τα αντικείμενα. Αυτό περνάει από τρία διαφορετικά φίλτρα, τα κόκκινα, πράσινα και μπλε και έπειτα διαβάζεται. Τα δεδομένα κλιμακώνονται και προσαρμόζονται προκειμένου να αντισταθμιστούν διακυμάνσεις στην κατάσταση απαθανάτισης, δηλαδή στο επίπεδο έκθεσης (φωτεινότητα) και στην ισορροπία λευκού. Τα αποτελέσματα λαμβάνονται ως μεμονωμένες τιμές RGB, που κυμαίνονται από 0 έως 255 μονάδες. Τέλος, τα χρώματα συντίθενται ως πρόσθετα δεδομένα των τριών φίλτρων RGB.

Καθώς οι τιμές RGB λαμβάνονται με αυτόν τον τρόπο, εξαρτώνται από πολλούς παράγοντες, όπως το φως της πηγής φωτισμού, το συντελεστή ανάκλασης του αντικειμένου και τα αποτελέσματα της ερμηνείας και της διόρθωσης της εικόνας. Αυτό το πολύπλοκο μοντέλο εισάγει κάποιο βαθμό σφάλματος και διαφοράς όταν το ίδιο χρώμα συγκρίνεται σε διαφορετικές εικόνες. Σε πολύπλοκα δείγματα, πολλοί ερευνητές για να διαχειριστούν και να εξισορροπήσουν το χρωματικό σφάλμα σε ποσοτικούς προσδιορισμούς, εφαρμόζουν ένα γενικό αλγόριθμο που βασίζεται σε Τεχνητά Νευρωνικά Δίκτυα (ANN), ή στην μέθοδο των μερικών ελαχίστων τετραγώνων (Partial lease squares-PLS) ή στην μέθοδο πολλαπλής γραμμικής παλινδρόμησης (Multiple linear regression-MLR) ώστε να επιλέξουν βέλτιστες συνθήκες επεξεργασίας του σήματος (Suzuki Y. et al., 2006, Lopez-Molinero A. et al., 2010).

1.4.2 Η τεχνολογία του χρώματος στη χημική ανάλυση

εύκολη διαθεσιμότητα της τεχνολογίας πληροφοριών Н каі επικοινωνίας (κινητά τηλέφωνα, ψηφιακές κάμερες, ηλεκτρονικοί υπολογιστές κ.α.) προσφέρει στην αναλυτική χημεία πολύ μεγάλες δυνατότητες. Η ευελιξία του μοντέρνου εξοπλισμού και η διαθεσιμότητα εργαλείων για απεικόνιση και ερμηνεία δεδομένων μπορεί να κάνει περισσότερο προσιτές τις αναλύσεις χαμηλού κόστους σε όλη την κοινωνία. Έρευνες της τελευταίας δεκαετίας έχουν δείξει την εμφάνιση μιας ποικιλίας μικρορευστονικών διατάξεων, χαρτιών και άλλων συσκευών που σε συνδυασμό με εξοπλισμό πληροφορικής καθιστούν δυνατή την ανάπτυξη απλών, γρήγορων και οικονομικών χημικών αναλύσεων και εργαλείων ελέγχου (π.χ. ελέγχου ποιότητας, διαγνωστικών εργαλείων, κλπ). Αυτές οι εξελίξεις βοηθούν στη βελτίωση της κλινικής και παρακλίνιας διάγνωσης (Point-Of-Care, POC) και στο μέλλον αναμένεται να διευκολύνουν την συχνότερη παρακολούθηση της υγείας, του περιβάλλοντος, της γεωργίας και της παραγωγής τροφίμων. Άλλο ένα παράδειγμα συμβολής της εξέλιξης της τεχνολογίας είναι η ταχεία πρόοδος στη μικροηλεκτρονική την τελευταία

δεκαετία η οποία έχει οδηγήσει στην εύκολη διαθεσιμότητα ψηφιακών καμερών και βιντεοκαμερών, κινητών τηλεφώνων και σαρωτών με συνεχώς βελτιωμένες προδιαγραφές και λειτουργίες με πολύ μικρό κόστος. Έτσι καθίσταται εύκολη η πρόσβαση σε χαμηλού κόστους απεικόνιση στις χρωματομετρικές συσκευές ανάλυσης.

Εξαιτίας της χρήσης της τεχνολογίας και της πληροφορικής παγκοσμίως, οι εξελίξεις αυτές δεν περιορίζονται μόνο στις αναπτυγμένες χώρες αλλά είναι το ίδιο επωφελείς και στις αναπτυσσόμενες χώρες (Grudpan et al, 2015).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΔΕΥΤΕΡΟ

ΚΥΑΝΟΤΥΠΙΑ



2.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Χάρη στις εξελίξεις στην τεχνολογία της φωτογραφίας τα τελευταία χρόνια, η δημιουργία τεχνικά τέλειων φωτογραφιών είναι ένα απλό θέμα, ακόμη και για εκείνους που δεν έχουν εξειδικευμένες γνώσεις. Η ψηφιακή φωτογραφία μπορεί τώρα να χρησιμοποιηθεί πολύ εύκολα για λόγους πληροφόρησης και τεκμηρίωσης ενώ η παραδοσιακή φωτογραφία δύσκολα μπορεί να την ανταγωνιστεί σε αυτόν τον τομέα. Ένας από τους λόγους είναι παραδοσιακή φωτογραφία, ο φωτογράφος ότι στην ποέπει va πραγματοποιήσει ο ίδιος πολλές από τις διαδικασίες εκτύπωσης με λίγες δυνατότητες παρέμβασης στην τελική φωτογραφία. Η τελική φωτογραφία μπορεί να πάρει πολλές διαφορετικές μορφές, όμως κάθε εικόνα είναι ένα μοναδικό πρωτότυπο. Ο απόλυτα ατομικός χαρακτήρας του αποτελέσματος και το γεγονός ότι πάντα δημιουργείται ένα πρωτότυπο έργο, επιτρέπουν, ακόμα και σήμερα, τη διατήρηση της παραδοσιακής φωτογραφίας αλλά πλέον ως καλλιτεχνική τεχνική. Στο εξωτερικό ωστόσο, οι εναλλακτικές φωτογραφικές τεχνικές κερδίζουν σταθερά δημοτικότητα. Αυτές είναι στην πραγματικότητα ανανεωμένες ιστορικές τεχνικές που χρονολογούνται από τις αρχές της φωτογραφίας. Στις ΗΠΑ, παρατηρήθηκε αυξημένο ενδιαφέρον στη δεκαετία του 1980, το οποίο αυξήθηκε περαιτέρω τα τελευταία χρόνια.

Εκείνοι που ενδιαφέρονται για την ατομική δημιουργία βρίσκουν περισσότερες δυνατότητες στις ιστορικές φωτογραφικές διεργασίες απ' ό, τι στην ψηφιακή φωτογραφία. Όχι μόνο υπάρχει ένα εύρος διαδικασιών εμφάνισης φωτογραφιών (άλατα αργύρου, κυανοτυπία, πλατινότυπια, εκτύπωση πετρελαίου κλπ.), αλλά υπάρχει και επιλογή μεθόδων για την επίτευξη του τελικού αποτελέσματος (χρήση διαλυμάτων ευαισθητοποιητών, τύπος χαρτιού, μέθοδος επεξεργασίας κ.λπ.). Στις σημερινές συνθήκες, οι παραδοσιακές διεργασίες που χρησιμοποιούνται ευρύτερα είναι εκείνες που περιλαμβάνουν την εκτύπωση της εικόνας (θετικό είδωλο) μέσω αντιγραφής ενός αρνητικού ειδώλου (αρχική εικόνα). Αντίθετα, η παρασκευή φωτοευαίσθητων γυάλινων πλακών για τη την αποτύπωση των (αρχικών)

τούτου, το πρώτο μέρος της διαδικασίας, δηλαδή η αποτύπωση (σύλληψη) του αρνητικού ειδώλου επιτυγχάνεται σήμερα με πιο σύγχρονα μέσα (ψηφιακή φωτογραφία και εκτύπωση του αρνητικού ειδώλου σε διαφάνεια). Ένα επιπλέον πλεονέκτημα της χρήσης ψηφιακών μέσων για την αποτύπωση του αρνητικού ειδώλου είναι ότι η τελική φωτογραφία δεν είναι του ίδιου μεγέθους με το αρνητικό είδωλο. Αυτό ήταν ένας περιορισμός της παραδοσιακής φωτογραφίας που οφείλονταν στο γεγονός ότι οι παλιές φωτογραφικές τεχνικές πραγματοποιούνταν με εκτύπωση εξ επαφής (φωτογραφική εικόνα που δημιουργείται από την εκτύπωση εξ επαφής ενός φιλμ κατευθείαν σε μια φωτοευαίσθητη επιφάνεια) οπότε χρειαζόταν αρνητικό ίδιου μεγέθους με την τελική φωτογραφία.

Επιπροσθέτως, εφόσον το αρνητικό είδωλο κατασκευάζεται εύκολα δεν απαιτείται η χρήση εντός σκοτεινού θαλάμου. Η έκθεση του αρνητικού ειδώλου πάνω στην φωτοευαίσθητη επιφάνεια (συνήθως φωτοευαίσθητο χαρτί) γίνεται εύκολα με χρήση απλών λαμπτήρων βολφραμίου (ή και υπεριώδους) ακόμα και σε εξωτερικούς χώρους. Το μόνο λοιπόν που χρειάζεται είναι η εκτύπωση του αρνητικού σε διάφανη μεμβράνη, η επικάλυψη του κατάλληλου χαρτιού με το επιλεγμένο ευαίσθητο υλικό (sensitive solution) και η επεξεργασία της εικόνας σε τεχνητό φως χαμηλής έντασης.

2.2 ΕΙΔΗ ΙΣΤΟΡΙΚΩΝ ΔΙΕΡΓΑΣΙΩΝ ΦΩΤΟΓΡΑΦΙΚΗΣ ΕΚΤΥΠΩΣΗΣ

2.2.1 Διαδικασίες που βασίζονται στην φωτοευαισθησία των αλάτων αργύρου

Το ευαίσθητο υλικό είναι ο χλωριούχος ἀργυρος και η εικόνα που προκύπτει σχηματίζεται από (vavo)σωματίδια αργύρου. Οι διεργασίες που βασίζονται σε αυτή την αρχή είναι: η διαδικασία αλατιού (salted paper prints), η διαδικασία ασπραδιού (the albumen process), χαρτιά κυτταρίνης (collodion papers) και χαρτιά ζελατίνης (gelatine papers).

2.2.2 Διαδικασίες που βασίζονται στην φωτοευαισθησία των αλάτων σιδήρου

Αυτές οι διεργασίες χρησιμοποιούν άλατα σιδήρου οργανικών οξέων τα οποία, κάτω από τη δράση του φωτός (το υπεριώδες τους συστατικό), ανάγονται σε άλατα σιδήρου (ΙΙ). Για παράδειγμα, ο οξαλικός σίδηρος (ΙΙΙ) ανάγεται σε οξαλικό σίδηρο(ΙΙ). Ο οξαλικός σίδηρος (ΙΙ) διατηρείται ως αναγωγικός παράγοντας, ο οποίος ανάγει τα ιόντα των ευγενών μετάλλων όπως ο άργυρος, η πλατίνα ή το παλλάδιο σε μια στερεή μεταλλική κατάσταση, δημιουργώντας την εικόνα. Το διάλυμα φωτοευαισθητοποίησης εφαρμόζεται απευθείας στο χαρτί, έτσι ώστε η εικόνα να αποτυπώνεται απευθείας στο χαρτί χωρίς την χρήση σταθεροποιητικών αντιδραστηρίων.

Η διαδικασία της κυανοτυπίας χρησιμοποιεί πιο συχνά σιδηρικυανιούχο κάλιο, το οποίο με ένα άλας δισθενούς σιδήρου δημιουργεί μια κυανή χρωστική ουσία.

Παρόμοιες διαδικασίες με αυτή της κυανοτυπίας (the cyanotype process), είναι η καλότυπια (callitype), η πλατινοτυπία (platinotype) και το αποτύπωμα Van Dyke (Van Dyke brownprint).

2.2.3 Διαδικασἱες που βασἰζονται στην φωτοευαισθησία της διχρωματικής ζελατίνης ή του αραβικού κόμμεος (εκτυπώσεις υψηλής ποιότητας)

Αυτές οι διεργασίες βασίζονται στο γεγονός ότι η διχρωματική ζελατίνη και το αραβικό κόμμι (γνωστό ως "απόθεμα κόλλας") σκληραίνουν στο φως, έτσι ώστε να μην διογκώνονται στο νερό και να μην είναι διαλυτά σε αυτό. Τα τμήματα της εικόνας που δεν έχουν εκτεθεί στο φως παραμένουν υδατοδιαλυτά και ξεπλένονται κατά την εμφάνιση σε νερό.

Παρόμοιες διαδικασίες είναι οι: εκτυπώσεις χρωστικών (pigment prints), οι εκτυπώσεις αραβικού κόμμεος (gum prints), οι εκτυπώσεις ελαίου (Oil printing), οι λαδοτυπία (bromoil prints) (www.ntm.cz/projekty/fototechniky/en/index.php? text=seven).

2.3 ΙΣΤΟΡΙΚΟ ΥΠΟΒΑΘΡΟ ΚΥΑΝΟΤΥΠΙΑΣ

Η κυανοτυπία (Ferro-Prussiate) αναπτύχθηκε το 1842 από τον Άγγλο φυσικό και αστρονόμο Sir John Frederick Herschel (1792-1871), μόλις τρία χρόνια μετά την επίσημη ανακοίνωση της ανακάλυψης της φωτογραφίας. Ο Herschel είναι ο ίδιος που δημιούργησε τις σημερινές φωτογραφικές εκφράσεις «θετικό», «αρνητικό», «φωτογραφία» και «στιγμιότυπο» (www.chemistryandlight.eu/ theory/cyanotype_process, James C., 2016). Η κυανοτυπία είναι συχνά η πρώτη διαδικασία που συναντάται στις εναλλακτικές φωτογραφικές τεχνικές. Ο λόγος έγκειται στην απόλυτη απλότητα και σχεδόν σίγουρη επιτυχία της τεχνικής και της χημείας και στην μεγάλη πιθανότητα να πραγματοποιηθεί μια επιτυχημένη εκτύπωση μέσα σε σύντομο χρονικό διάστημα (James C., 2016). Η ονομασία κυανοτυπία προέρχεται από την ελληνική λέξη κυανό, που σημαίνει "σκούρο μπλε" (Stulik D. and Kaplan A., 2013, www.chemistryandlight.eu/theory/ cyanotype_process).

Με την τεχνική αυτή ο Herschel δημιούργησε εντυπωσιακά φωτογράμματα (φωτογραφικά αποτυπώματα) φτερών από πουλιά ενώ το 1843 η βρετανίδα φωτογράφος Anna Atkins χρησιμοποίησε κυανότυπο για να απεικονίσει το βιβλίο της για τα φύκια (εικόνα 2.1). Ήταν το πρώτο βιβλίο με φωτογραφικές απεικονίσεις όπου τόσο οι εικόνες (φωτογράμματα φυκών) όσο και το κείμενο έγιναν με κυανότυπο (www.ntm.cz/ projekty/fototechniky/en/index.php?text=seven).

Η κυανοτυπία ήταν η τρίτη τεχνική με την οποία μπορούσαν να ληφθούν σταθερές φωτογραφικές εικόνες. (www.chemistryandlight.eu /theory/cyanotype_process, James C., 2016). Σε αντίθεση με τις προηγούμενες τεχνικές με βάση τον άργυρο, αυτή βασίζεται στην φωτοευαισθησία των συμπλεγμάτων σιδήρου(III), γεγονός που την καθιστά συγκριτικά φθηνή διαδικασία (www.chemistryandlight.eu/theory/ cyanotype_process).





Εικόνα 2.1 Παραδείγματα φωτογραφικών αποτυπωμάτων (http://www.ntm.cz/ projekty/fototechniky/en/index.php?text=seven, https://www.sciencefriday.com /articles/botanicals-blue-victorian-womans-take-algae/)

Η κυανοτυπία ωστόσο, δεν ήταν κατάλληλη για απεικονίσεις πορτρέτων και τοπίων λόγω του έντονου κυανού χρώματος. Αντίθετα, χρησιμοποιήθηκε περισσότερο για σκοπούς αντιγραφής των σχεδίων των κατασκευών και των μηχανών όπου το μπλε χρώμα δεν παρεμποδίζει. Το πλεονέκτημα της κυανοτυπίας είναι η απλή επεξεργασία των αντιγράφων μετά την έκθεση καθώς η εμφάνιση, η στερέωση και η πλύση γίνονται σε ένα στάδιο, με έκπλυση στο νερό. Λόγω του χρώματος τα σχέδια αυτά ήταν γνωστά και ως μπλε εκτυπώσεις (blueprints) (www.chemistryandlight.eu /theory/cyanotype_process).

2.4 Η ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΤΗΣ ΚΥΑΝΟΤΥΠΙΑΣ

Η κυανοτυπία είναι μια διαδικασία εκτύπωσης εξ επαφής ευαίσθητη στην υπεριώδη ακτινοβολία που απαιτεί, όπως σχεδόν όλες οι διεργασίες που δεν βασίζονται στον άργυρο, ένα αρνητικό ίδιου μεγέθους με την τελική εκτύπωση. Μπορούν να χρησιμοποιηθούν διαφανή, ημιδιαφανή ή αδιαφανή αντικείμενα για φωτογραφικά αποτυπώματα όπως έκανε η Atkins.

Το χαρτί λοιπόν, σε αυτή την τεχνική επικαλύπτεται από ένα διάλυμα που είναι μίγμα δυο χημικών ουσιών , του εναμμώνιου κιτρικού σιδήρου (ferric ammonium citrate) και του σιδηρικυανιούχου καλίου (potassium ferricyanide). Έπειτα, εφόσον έχει στεγνώσει, καλύπτεται με αρνητικό πρωτότυπο ή διάφορα αντικείμενα και εκτίθεται σε υπεριώδη ακτινοβολία είτε από λάμπα UV (εικόνα 2.2) είτε από το ηλιακό φως.

Το μπλε χρώμα της εκτύπωσης στην κυανοτυπία είναι το αποτέλεσμα της φωτοαναγωγής των ιόντων σιδήρου (avaγωγή σιδήρου (III) σε σίδηρο(II)) του εναμμώνιου κιτρικού σιδήρου (ferric ammonium citrate) που αντιδρούν με το σιδηρικυανιούχο κάλιο (potassium ferricyanide) (James C., 2016) όπως φαίνεται και στην παρακάτω αντίδραση.

 $Fe^{2+} + K_3[Fe^{III}(CN)_6] \longrightarrow K[Fe^{II}Fe^{III}(CN)_6] + 2K^+$

Οι αρχικές χημικές ουσίες παραμένουν αμετάβλητες σε μέρη που δεν έχουν εκτεθεί στο φως. Το πλύσιμο των περιοχών αυτών υπό τρεχούμενο νερό αφαιρεί όλες τις εύκολα διαλυτές χημικές ουσίες και αφήνει μόνο την μπλε εικόνα που είναι ενσωματωμένη στη δομή των ινών του χαρτιού.

Αξίζει να σημειωθεί ότι η διαδικασία της κυανοτυπίας δεν περιορίζεται μόνο στις επιφάνειες του χαρτιού, αλλά οι εικόνες μπορούν επίσης να εκτυπωθούν και σε άλλες επιφάνειες, όπως σε ξύλο, βαμβάκι ή δέρμα, δημιουργώντας έτσι ενδιαφέροντα αντικείμενα (www.chemistryandlight.eu /theory/ cyanotype_process).



Εικόνα 2.2 Μονάδα έκθεσης υπεριώδους ακτινοβολίας (Bilici S., 2013)

2.4.1 Ήλιος και υπεριώδης ακτινοβολία

Ο ήλιος θεωρείται η καλύτερη πηγή φωτός που μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την εκτύπωση εξ επαφής καθώς παρέχει τα πιο αποδοτικά και λιγότερο δαπανηρά μέσα για την έκθεση των αρνητικών στα πλαίσια εκτύπωσης. Ωστόσο, υπάρχουν κάποιοι παράγοντες που θα πρέπει να λαμβάνονται υπόψιν όταν αξιοποιείται ο ήλιος σαν πηγή ακτινοβολίας. Η χρονική στιγμή του χρόνου, η ώρα της ημέρας, το επίπεδο υγρασίας και οι συνολικές ατμοσφαιρικές συνθήκες επηρεάζουν σημαντικά την έκθεση των αρνητικών. Εκτός από το ηλιακό φως, μπορούν επίσης να χρησιμοποιηθούν μονάδες έκθεσης υπεριώδους ακτινοβολίας καθώς αποτελούν σταθερή πηγή ακτινοβολίας και με ελεγχόμενη ένταση (εικόνα 2.2).

2.4.2 Χαμηλή και υψηλή αντίθεση

Είναι συνηθισμένο να παρατηρείται μια αρκετά σημαντική απώλεια τονικών διαβαθμίσεων κατά τη διάρκεια των σταδίων έκπλυσης, και ξήρανσης με αποτέλεσμα να παρουσιάζεται πρόβλημα υπερβολικά υψηλής ή χαμηλής αντίθεσης. Μια απλή λύση για τη μείωση της αντίθεσης είναι η αραίωση του πρότυπου διαλύματος ευαισθητοποίησης με ένα μικρό ποσοστό νερού. Όσο μεγαλύτερη είναι η αραίωση, τόσο πιο ήπια είναι η εικόνα. Μια εικόνα με χαμηλότερη αντίθεση μπορεί επίσης να δημιουργηθεί εμφανίζοντας την εικόνα σε λευκό ξίδι. Μια άλλη μέθοδος για τον έλεγχο της αντίθεσης είναι η επικάλυψη του χαρτιού με μια ποικιλία διαλυμάτων ασθενών οξέων όπως 1% οξαλικό οξύ ή 1% κρυσταλλικό οξικό οξύ. Στις περισσότερες περιπτώσεις, ανάλογα με το χαρτί που χρησιμοποιείται, την επικάλυψη και την ξήρανση, το πλύσιμο με οξύ θα ενισχύσει τις σκοτεινές αποχρώσεις και θα επεκτείνει την ορατή περιοχή. Μπορεί επίσης, να επιτευχθεί χαμηλότερη αντίθεση στην εικόνα χρησιμοποιώντας τον ήλιο ως πηγή UV. Το χαρτί κυανοτυπίας που εκτίθεται στο ηλιακό φως τείνει να παρέχει πιο έντονη φωτεινή περιοχή από ό, τι ένα τεχνητό υπεριώδες φως και έτσι δημιουργεί μια εικόνα χαμηλότερης αντίθεσης.

Η αντίθεση μπορεί επίσης να αντιμετωπιστεί και με άλλους τρόπους. Για παράδειγμα, αφού στεγνώσει καλά η πρώτη επίστρωση του διαλύματος ευαισθητοποίησης, στη συνέχεια πραγματοποιείται δεύτερη επίστρωση και παρατηρείται μια αξιοσημείωτη αύξηση της πυκνότητας των πιο σκούρων αποχρώσεων. Με τη συσχέτιση της σκοτεινότερης τιμής με τις φωτεινότερες, τόσο η αντίθεση όσο και η καθαρότητα της εικόνας φαίνεται να βελτιώνονται αρκετά. Βέβαια, πρέπει να σημειωθεί ότι η διπλή επικάλυψη απαιτεί κατά κανόνα μεγαλύτερο χρόνο έκθεσης στην ακτινοβολία (James C., 2016).
ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΡΙΤΟ

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ



3.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

3.1.1 Μοριακή φασματοσκοπία απορρόφησης υπεριώδους ορατού

Η μοριακή φασματοσκοπία απορρόφησης υπεριώδους-ορατού είναι μια τεχνική που χρησιμοποιείται ευρέως για ταυτοποίηση και προσδιορισμό χημικών ουσιών και βασίζεται στην επίδραση μονοχρωματικής ακτινοβολίας σε μια ουσία σε περιοχή μήκους κύματος που εκτείνεται από 190-400 nm (υπεριώδης περιοχή) και από 400-780 nm (ορατή περιοχή).

Σύμφωνα με τη θεωρία, τα μοριακά συστήματα μπορούν να αναγνωριστούν από την χαρακτηριστική τους ενεργειακή κατάσταση (δονητική, ηλεκτρονιακή, περιστροφική). Σε θερμοκρασία δωματίου τα μόρια βρίσκονται κυρίως στην ηλεκτρονιακή και δονητική βασική τους κατάσταση. Μετά από αλληλεπίδραση με τον κατάλληλο τύπο ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας μπορούν να προκληθούν χαρακτηριστικές ηλεκτρονιακές, δονητικές και περιστροφικές μεταβάσεις στο δείγμα. Στη συνέχεια, τα μόρια επιστρέφουν από αυτές τις διεγερμένες καταστάσεις στην βασική τους κατάσταση σε 10⁻⁸ δευτερόλεπτα εκπέμποντας την ποσότητα της ακτινοβολίας που απορρόφησαν.

Για να γίνει η μέτρηση της έντασης της ακτινοβολίας που απορροφάται από τον αναλύτη πρέπει να γίνει σύγκριση της αρχικής έντασης της ακτινοβολίας που προσπίπτει στο διάλυμα του αναλύτη και της έντασης της ακτινοβολίας που διέρχεται από αυτό. Αρχικά λοιπόν, μια φωτεινή δέσμη μονοχρωματικής ακτινοβολίας έντασης Ι₀ διέρχεται μέσα από μια κυψελίδα οπτικής διαδρομής b (cm) η οποία περιέχει το διάλυμα του αναλύτη που έχει συγκέντρωση C (mol/L). Η ένταση αυτή μειώνεται από Ι₀ σε Ι καθώς ο αναλύτης απορροφά μέρος της ακτινοβολίας που προσπίπτει. Η εξασθένιση μια δέσμης μπορεί να οφείλεται και σε απώλειες λόγω αντανάκλασης στις επιφάνειες της κυψελίδας, λόγω σκέδασης από τα μεγάλα μόρια και λόγω απορρόφησης από τα τοιχώματα της κυψελίδας. Για να αντισταθμιστούν τα φαινόμενα αυτά γίνεται σύγκριση με την ένταση της δέσμης που διαπερνά την κυψελίδα όταν αυτή περιέχει μόνο το διαλύτη.

Το κλάσμα της ακτινοβολίας που διέρχεται από το διάλυμα του αναλύτη που βρίσκεται στην κυψελίδα ονομάζεται διαπερατότητα (transmittance) Τ και υπολογίζεται χρησιμοποιώντας την εξίσωση:

 $T=I/I_0=10^{-\epsilon bc}$ кан Ig $T=Ig(I/I_0)=-\epsilon bc$

όπου ε είναι σταθερά αναλογίας και ονομάζεται μοριακή απορροφητικότητα (mol⁻¹ L cm⁻¹). Ωστόσο, ο πιο κατάλληλος όρος που συνδέεται με τον αριθμό των σωματιδίων που απορροφούν στην κυψελίδα είναι η απορρόφηση Α και υπολογίζεται από την εξίσωση A= -lgT= lg(1/T)= lg(I₀/I)= εbc. Η εξίσωση aυτή είναι γνωστή ως νόμος Lambert-Beer και σύμφωνα με αυτόν η απορρόφηση της προσπίπτουσας μονοχρωματικής ακτινοβολίας από το διάλυμα είναι ανάλογη με την συγκέντρωση του διαλύματος και με την απόσταση που διένυσε η δέσμη μέσα στο διάλυμα. Για ένα δεδομένο σύστημα, υπάρχει γραμμική σχέση μεταξύ απορρόφησης και συγκέντρωσης μικρότερης ή ίσης με 0,1 mol/L. Σε υψηλότερες συγκεντρώσεις μπορεί να εμφανιστούν μεταβολές στις τιμές του ε οι οποίες οδηγούν σε αποκλίσεις από μια γραμμική καμπύλη βαθμονόμησης.

Η καταγραφή της έντασης της απορρόφησης σε συνάρτηση με το μήκος κύματος αποτελεί το φάσμα απορρόφησης και τα όργανα που χρησιμοποιούνται για την μέτρηση της απορρόφησης ονομάζονται φασματοφωτόμετρα. Αποτελούνται κυρίως από πέντε τμήματα : 1) μια πηγή ακτινοβολίας 2) έναν επιλογέα μήκους κύματος που απομονώνει την επιθυμητή μονοχρωματική ακτινοβολία 3) μία κυψελίδα όπου τοποθετείται το δείγμα 4) έναν ανιχνευτή και 5) έναν επεξεργαστή σήματος (εικόνα 3.1) (Kellner R. et al., 2004, Θεμελής Δ.Γ. και Ζώτου Α.Σ., 2017).



Εικόνα 3.1 Σχηματική αναπαράσταση φασματοφωτομέτρου UV-Vis

3.1.2 Μη-ενόργανες τεχνικές φασματοφωτομετρικής ανάλυσης

Την τελευταία δεκαετία ένα σημαντικό μέρος της έρευνας έχει αφιερωθεί στην ανάπτυξη φορητών σε αναλύσεις πεδίου, οικονομικά αποδοτικών και ασύρματα συνδεδεμένων ανιχνευτών για τον ποσοτικό προσδιορισμό ευρέος φάσματος αναλυτών σε διαφορετικά δείγματα. Αυτοί οι ανιχνευτές όχι μόνο μειώνουν τα εμπόδια στην παροχή σύγχρονων αναλυτικών δοκιμών στην ανάλυση πεδίου και σε περιβάλλοντα με περιορισμένους πόρους (ὀπως χώρες χαμηλού εισοδήματος ή απομακρυσμένες τοποθεσίες όπου οι δυνατότητες εργαστηριακής υποδομής είναι περιορισμένες) αλλά μειώνουν και το κόστος ανάλυσης σε εγκαταστάσεις κεντρικών εργαστηρίων (Christodouleas D.C. et al., 2018).

Οι ευρέως διαθέσιμες καταναλωτικές ηλεκτρονικές συσκευές όπως τα κινητά τηλέφωνα, τα tablets και ο εξοπλισμός γραφείου (π.χ. σαρωτές και οθόνες LCD) αποτελούν την κύρια επιλογή για την ανάπτυξη συστημάτων χαμηλού κόστους ανίχνευσης λόγω της ευρέως διαδεδομένης χρήσης τους και της διαθεσιμότητάς τους (εικόνα 3.2)(Grudpan K. et al., 2015, Walker F.M. et al., 2014). Για παράδειγμα, τα κινητά τηλέφωνα έχουν χρησιμοποιηθεί για την ανάπτυξη ανιχνευτών χημειοφωταύγειας (Roda A. et al., 2014) και ηλεκτροχημειοφωταύγειας (Rasooly E. A. et al., 2015), ανιχνευτών φθορισμού (Zhu H. et al., 2011, Wargocki P. et al., 2015), ηλεκτροχημικών (Nemiroski A. et al., 2014, Delaney J. et al., 2013) και πιο συχνά φωτομετρικών ανιχνευτών (Rateni G. et al., 2017, Hernández-Neuta I. et al., 2019, Grudpan K. et al., 2015, Walker F.M. et al., 2014, Rasooly E. A. et al., 2015) χρησιμοποιώντας διαφορετικές διατάξεις σχεδιασμού ή εξωτερικά εξαρτήματα ανάλογα με τις ανάγκες της ανάλυσης. Η εφαρμογή αυτών των συστημάτων ανίχνευσης για τον προσδιορισμό ευρέος φάσματος αναλυτών (στον τομέα του περιβάλλοντος, της βιολογίας και των τροφίμων) έχει αποδειχθεί με πολύ ικανοποιητικά αποτελέσματα.



Εικόνα 3.2 Διάταξη φωτομετρίας ορατού με χρήση (α) επίπεδου σαρωτή γραφείου (αριστερά) και β) κάμερας κινητού τηλεφώνου (δεξιά) (Christodouleas D.C. et al., 2015) Η φασματοσκοπία απορρόφησης είναι η πιο συνηθισμένη αναλυτική τεχνική που χρησιμοποιείται για χημικές και βιοχημικές αναλύσεις και οι μετρήσεις απορρόφησης υπεριώδους ή ορατής ακτινοβολίας αξιοποιούνται για πολυάριθμες αναλυτικές δοκιμές. Από αυτή την άποψη, η χρήση ανιχνευτών χαμηλού κόστους που βασίζονται σε κοινές ηλεκτρονικές συσκευές έχει μεγάλο ενδιαφέρον από τη στιγμή που μπορούν να ληφθούν έγχρωμες εικόνες των δειγμάτων και έπειτα να προσδιοριστεί ποσοτικά η συγκέντρωση των αναλυτών μέσω καταγραφής της έντασης του χρώματος των διαλυμάτων στο σύστημα χρωμάτων RGB (Red-Green-Blue). Αυτή η προσέγγιση αναφέρεται επίσης ως χρωματομετρία ψηφιακής εικόνας και εφαρμόζεται με επιτυχία τόσο σε στερεές επιφάνειες (π.χ. συσκευές χαρτιού) όσο και σε υγρά δείγματα (Ellerbee A. K. et al., 2009, Sia S. K. et al., 2004, Cohen A. R. et al., 1988, Mieczkowska E. et al., 2011, Duk Han Y. et al., 2014, Albert D. R. et al., 2012, Quagliano J. M. et al., 2013, Rohit et al., 2010, Sumriddetchkajorn S. et al., 2014, Wei Q. et al.,2014).

Παρά το γεγονός ότι οι διάφορες εξελίξεις διευρύνουν την εφαρμογή φωτομετρικές των φωτομέτρων χαμηλού κόστους, 01 μετρήσεις πραγματοποιούνται μόνο στην περιοχή του ορατού. Ωστόσο, η μεγάλη πλειοψηφία των οργανικών και ανόργανων ενώσεων απορροφούν και στην περιοχή του UV και συνήθως πιο έντονα από ότι στο ορατό. Οι μετρήσεις που εκτελούνται σε περιοχή μήκους κύματος <280 nm (UVC) συνήθως δεν ενδείκνυνται για αναλυτικές εφαρμογές επειδή οι περισσότερες ενώσεις απορροφούν σε αυτή την περιοχή και συνεπώς οι περισσότερες μήτρες εμφανίζουν ισχυρή UV απορρόφηση υποβάθρου η οποία δρα παρεμποδιστικά στην ανάλυση. Ωστόσο, οι μετρήσεις που εκτελούνται στην περιοχή μήκους κύματος 280-315 nm (UVB) και 315-400 nm (UVA) κινδυνεύουν λιγότερο από τέτοιου είδους παρεμποδίσεις. Στην πραγματικότητα, πολλοί αναλύτες εμφανίζουν απορρόφηση μόνο στην περιοχή UVA ή UVB και για αυτό το λόγο πολλές αναλύσεις πραγματοποιούνται σε αυτό το εύρος. Τέτοιες είναι η ανάλυση NAD⁺/NADH (και τα δύο απορροφούν στα 260 nm αλλά το NADH απορροφά και στα 340 nm), η ανάλυση φαρμάκων και φαρμακευτικά δραστικών συστατικών, ο προσδιορισμός καρβονυλικών ενώσεων με DNPH

(στα 370 nm) και ο προσδιορισμός της καθαρότητας του DNA στα 260, 280 και 320 nm.

Μέχρι σήμερα, δεν έχουν αναφερθεί μη-ενόργανες φωτομετρικές τεχνικές που επιτρέπουν τον προσδιορισμό της απορρόφησης της υπεριώδους ακτινοβολίας με χαμηλό κόστος. Πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι είναι εφικτή η λήψη και καταγραφή της υπεριώδους ακτινοβολίας με συμβατικές κάμερες που χρησιμοποιούν αισθητήρες CMOS οπίσθιου φωτισμού, ενσωματώνοντας κατάλληλα εξαρτήματα όπως φακοί UV, ζωνοπερατά φίλτρα (bandpass filters) UV και φίλτρα ουδέτερης πυκνότητας (το τελευταίο φιλτράρει την προσπίπτουσα ακτινοβολία και προστατεύει τον αισθητήρα από το να φτάσει σε κορεσμό) (Wilkes T. C. et al., 2016, Igoe D. P. et al., 2013) Αυτές οι διατάξεις έχουν δείξει υποσχόμενα αποτελέσματα στη μέτρηση της απορρόφησης ακτινοβολίας UV αερίων (Wilkes T. C. et al., 2016) και αερολύματων (Igoe D. P. et al., 2013) αλλά η χρήση τους σε υγρά δείγματα δεν έχει αναφερθεί. Επιπλέον, οι κάμερες με αισθητήρες οπίσθιου φωτισμού μπορεί να δίνουν την δυνατότητα μέτρησης της υπεριώδους ακτινοβολίας από συμβατικές κάμερες αλλά α) παρουσιάζουν μείωση της ευκρίνειας και της ποιότητας της εικόνας, γεγονός που μπορεί να προκαλέσει σφάλμα στην ανάλυση και β) περιορίζονται στα 300-310 nm (Prutchi D., 2016, Wilkes T. C. et al., 2016) περιορίζοντας έτσι τη χρήση τους για αναλυτικές εφαρμογές πάνω από αυτό το μήκος κύματος δηλαδή μόνο στην περιοχή UVA (315-400 nm). Εκτός από τους τεχνικούς αυτούς περιορισμούς, η ενσωμάτωση όλων των απαραίτητων εξαρτημάτων σε μια κάμερα συνεπάγεται τελικά με ένα κόστος που δεν μπορεί να αγνοηθεί καθώς προσεγγίζει το κόστος των σύγχρονων εμπορικά διαθέσιμων φωτομέτρων UV χαμηλού κόστους.

Σε αυτή την διατριβή, περιγράφεται μια απλή και οικονομικά αποτελεσματική προσέγγιση για την εκτέλεση φωτομετρικών μετρήσεων στην περιοχή UV του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος χωρίς τη χρήση ενόργανων ανιχνευτών. Η μέθοδος βασίζεται στις αρχές της πρώιμης φωτογραφίας που αναπτύχθηκε τον 19° αιώνα και επιτρέπει την

πραγματοποίηση μετρήσεων απορρόφησης υπεριώδους ακτινοβολίας μέσω της χρήσης φωτοχημικά ευαίσθητου φωτογραφικού χαρτιού ως ανιχνευτή. Συγκεκριμένα, μια πηγή υπεριώδους ακτινοβολίας (UV φως) ακτινοβολεί τα δείγματα που βρίσκονται σε μικροπλακίδια. Η προσπίπτουσα υπεριώδης ακτινοβολία απορροφάται από το δείγμα ενώ η εκπεμπόμενη ακτινοβολία (που δεν απορροφάται) φτάνει στην επιφάνεια του φωτοχημικά ευαίσθητου χαρτιού που είναι τοποθετημένο στο κάτω μέρος του μικροπλακιδίου (μια διαδικασία που είναι ισοδύναμη με την εκτύπωση επαφής). Η φωτοευαίσθητη επικάλυψη του χαρτιού φωτοανάγεται παράγοντας ένα «θετικό» είδωλο του δείγματος. Η ένταση του χρώματος στην περιοχή που ορίζεται από αυτό το «θετικό» είδωλο στην επιφάνεια του χαρτιού καταγράφεται με τη χρήση ηλεκτρονικών συσκευών απεικόνισης (κάμερες ή σαρωτές) και συσχετίζεται με τη συγκέντρωση των αναλυτών στο δείγμα. Αυτή η προσέγγιση που την αποκαλούμε 'φωτογραφική φωτομετρία' μπορεί να πραγματοποιηθεί με ελάχιστη τεχνική κατάρτιση και απαιτήσεις πόρων, δεν απαιτεί ειδικά προσαρμοσμένο λογισμικό για την εξαγωγή των χρωματικών εντάσεων στο σύστημα RGB και είναι κατάλληλο για μετρήσεις σε μικροπλακίδια. Η αναλυτική χρησιμότητα της τεχνικής αποδεικνύεται μέσω της εφαρμογής της σε τέσσερις διαφορετικές μεθόδους που βασίζονται στην απορρόφηση της υπεριώδους ακτινοβολίας, δηλαδή στον προσδιορισμό της βανιλίνης, του υπεροξειδίου του υδρογόνου και των φαρμάκων παρακεταμόλη και ινδομεθακίνη και σε μια μέθοδο που βασίζεται στην θολωσιμετρία (προσδιορισμός πρωτεϊνών) και αξιολογείται σε σύγκριση με την τυπική φασματοφωτομετρία UV/Vis.

3.2 ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Όλα τα χημικά αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν ήταν αναλυτικού βαθμού καθαρότητας και χρησιμοποιήθηκαν χωρίς περαιτέρω κατεργασία. Ο εναμμώνιος κιτρικός σίδηρος, το σιδηρικυανιούχο κάλιο, η βανιλίνη, ο δείκτης Cresol Red, ο δείκτης Eriochrome black Τ, το καυστικό νάτριο, το βορικό οξύ και το υπεροξείδιο του υδρογόνου αγοράστηκαν από Merck (http://www.merck.de, Darmstadt, Germany). Η πρωτεΐνη Bovine Serum Albumin (BSA), το δισόξινο φωσφορικό κάλιο, το φωσφορικό νάτριο, η αιθανόλη και το θειικό αμμώνιο αγοράστηκαν από Sigma-Aldrich (www.sigma-aldrich.com, Steinheim, Germany). Η παρακεταμόλη και η ινδομεθακίνη αγοράστηκαν από εμπορικά καταστήματα. Το ιωδιούχο κάλιο Mallinckrodt каі κιτρικό οξύ αγοράστηκαν апо то (http://www.mallinckrodt.com , Dublin, Ireland).

3.3 ΟΡΓΑΝΟΛΟΓΙΑ

Για την διαδικασία της κυανοτυπίας χρησιμοποιήθηκε ακουαρέλα No 2, 20x30 cm και 220 gr της εταιρίας Paper King. Επίσης, αγοράστηκε εμπορικό χαρτί κυανοτυπίας (διπλής όψεως χαρτί με λεία επιφάνεια) από Cyanotype Store (WA,USA). Για τα πειράματα χρησιμοποιήθηκε μόνο η σκουρόχρωμη πλευρά του εμπορικού χαρτιού. Τα διαλύματα τοποθετήθηκαν σε greiner microplate. Η έκθεση τους σε ακτινοβολία UV πραγματοποιήθηκε σε θάλαμο ακτινοβολίας UV-Vis (Vilber Lourmat Bio-Link® BLX Crosslinker) προκειμένου να εξασφαλιστούν σταθερές συνθήκες έκθεσης των δειγμάτων στο υπεριώδες φως και να αποφευχθεί η ακτινοβολία του ηλιακού φωτός (εικόνα 3.3).



Εικόνα 3.3 θάλαμος ακτινοβολίας UV-Vis (αριστερά) και φασματοφωτόμετρο UV-Vis (δεξιά)

Στο θάλαμο μπορούν να τοποθετηθούν έως και 5 λάμπες (μήκους 211 mm και έντασης 8 Watt η κάθε μια). Αυτές που χρησιμοποιήθηκαν στη συγκεκριμένη εργασία ήταν 254 nm, 312 nm και 365 nm. Για την ψηφιοποίηση της έντασης του φωτός χρησιμοποιήθηκε επίπεδος σαρωτής Epson Perfection V370 Photo ενώ για την επεξεργασία της εικόνας και την εξαγωγή την χρωματικών τιμών RGB αξιοποιήθηκε το πρόγραμμα ImageJ για ηλεκτρονικό υπολογιστή. Οι μετρήσεις απορρόφησης UV-Vis έγιναν με διαδρομής κυψελίδες χαλαζία, uε μήκος οπτικής 1cm, σε φασματοφωτόμετρο του οίκου Jenway (μοντέλο 6405 UV/Vis) (Εικόνα 3.3).

3.4 ΠΡΑΓΜΑΤΙΚΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ

Για τα πραγματικά δείγματα αγοράστηκαν φαρμακευτικά σκευάσματα παρακεταμόλης και ινδομεθακίνης σε μορφή χαπιών και δείγματα εμπορικής βανιλίνης σε μορφή σκόνης από τοπικά καταστήματα. Η παρακεταμόλη διαλύθηκε σε 100 mL απεσταγμένου νερου, αναδεύτηκε σε μαγνητικό αναδευτήρα για δέκα λεπτά και πριν γίνουν οι κατάλληλες αραιώσεις αφέθηκε σε ηρεμία για πέντε λεπτά. Η βανιλίνη διαλύθηκε απευθείας σε απεσταγμένο νερό και στη συνέχεια έγιναν οι κατάλληλες αραιώσεις. Το υγρό καθαρισμού των φακών επαφής αγοράστηκε από τοπικά φαρμακεία. Τα διαλύματα του τεχνητού πλάσματος αίματος παρασκευάστηκαν ως εξής: έγινε ανάμιξη 137,5 mM χλωριούχου νατρίου, 4,2 mM όξινου ανθρακικού νατρίου, 3 mM χλωριούχου καλίου, 0,5 mM δισόξινου φωσφορικού νατρίου, 0,5 mM χλωριούχου μαγνησίου, 2,64 mM χλωριούχου ασβεστίου και 0,5 mM θειικού νατρίου σε απεσταγμένο νερό και ρυθμίστηκε η τιμή του pH στα 7,4.

3.5 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΠΟΡΕΙΑ

3.5.1 Διαδικασία κυανοτυπίας

Για την διαδικασία την κυανοτυπίας παρασκευάστηκαν δυο διαλύματα. Για το πρώτο διάλυμα ζυγίστηκαν σε ένα ποτήρι ζέσεως 6,25 g εναμμώνιου κιτρικού σιδήρου και διαλυτοποιήθηκαν σε 25 mL απεσταγμένου νερού (0,952 M). Για το δεύτερο διάλυμα ζυγίστηκαν 2,5 g σιδηρικυανιούχου καλίου σε ποτήρι ζέσεως και διαλυτοποιήθηκαν σε 25 mL απεσταγμένου νερού (0,3 M). Έπειτα, αναμίχθηκαν 20 mL από κάθε ένα από τα παραπάνω διαλύματα σε ένα πλαστικό δοχείο. Τα διαλύματα που δεν χρησιμοποιούνται μπορούν να αποθηκευτούν σε σκουρόχρωμες φιάλες στο σκοτάδι, ενώ το μίγμα πρέπει να χρησιμοποιηθεί άμεσα. Στη συνέχεια, το χαρτί ακουαρέλας διαμορφώθηκε στο κατάλληλο μέγεθος (σύμφωνα με το μέγεθος του μικροπλακιδίου) και εμβαπτίστηκε στο διάλυμα που βρίσκεται στο πλαστικό δοχείο. Τέλος, αφέθηκε να στεγνώσει στο σκοτάδι προτού χρησιμοποιηθεί. Να σημειωθεί ότι όλη η διαδικασία της κυανοτυπίας γίνεται με τη χρήση γαντιών.

3.5.2 Μελέτη Αναλυτών

Για να γίνει βαθμονόμηση της προτεινόμενης τεχνικής, μελετήθηκαν πέντε διαφορετικοί αναλύτες, η παρακεταμόλη, η ινδομεθακίνη, η βανιλίνη, το υπεροξείδιο του υδρογόνου και μια πρωτεΐνη (θολωσιμετρία). Παρασκευάστηκαν διαλύματα διάφορων συγκεντρώσεων και προστέθηκε συγκεκριμένη ποσότητα αυτών των διαλυμάτων στο μικροπλακίδιο. Το χαρτί κυανοτυπίας τοποθετήθηκε στο κάτω μέρος του μικροπλακιδίου και έπειτα έγινε ακτινοβόληση των διαλυμάτων μέσα σε θάλαμο ακτινοβολίας UV με τις κατάλληλες λάμπες για κάθε αναλύτη και σε συγκεκριμένη απόσταση από αυτές (εικόνα 3.4).



Εικόνα 3.4 Σχηματική απεικόνιση της πειραματικής πορείας

Στη συνέχεια, το χαρτί κυανοτυπίας σαρώθηκε σε επίπεδο σαρωτή, έγινε επεξεργασία της εικόνας σε ηλεκτρονικό υπολογιστή με το πρόγραμμα ImageJ και υπολογίστηκαν οι χρωματικές τιμές RGB (εικόνα 3.4). Τέλος, οι τιμές αυτές χρησιμοποιήθηκαν για тην σχεδίαση της καμπύλης βαθμονόμησης σε συνάρτηση με την συγκέντρωση των διαλυμάτων. Η διαδικασία αυτή πραγματοποιήθηκε και με εργαστηριακό και με εμπορικό χαρτί κυανοτυπίας. Στη μελέτη των αναλυτών με το εμπορικό χαρτί κυανοτυπίας, πριν τη σάρωση προηγήθηκε η έκπλυση του χαρτιού σε νερό με την οποία αφαιρούνται όλες οι εύκολα διαλυτές χημικές ουσίες και μένει μόνο η μπλε εικόνα που είναι ενσωματωμένη στη δομή των ινών του χαρτιού (τα εμπορικά χαρτιά ήταν αδρανή χωρίς την έκπλυση, ίσως γιατί έχουν κάποια πρόσθετα τα οποία δεν υπάρχουν στα εργαστηριακά χαρτιά). Έπειτα το χαρτί αφέθηκε να στεγνώσει ενώ η διαδικασία αυτή επιταχύνθηκε με τη χρήση θερμού ρεύματος αέρα. Να σημειωθεί ότι αρχικά οι δοκιμές για την μελέτη της μεθόδου έγιναν με τη βοήθεια του δείκτη Cresol Red και του δείκτη Eriochrome Black T που απορροφούν σε συγκεκριμένο μήκος κύματος.

3.5.2.1 Εργαστηριακό χαρτί κυανοτυπίας

Για την μελέτη της παρακεταμόλης παρασκευάστηκε διάλυμα παρακαταθήκης με συγκέντρωση 100 mg L⁻¹ σε απεσταγμένο νερό από το οποίο με κατάλληλες αραιώσεις παρασκευάστηκαν τα διαλύματα εργασίας των οποίων οι συγκεντρώσεις κυμαίνονταν από 0 έως 50 mg L⁻¹. Από κάθε διάλυμα εργασίας τοποθετήθηκαν 250 μL στο μικροπλακίδιο με τη βοήθεια αυτόματης πιπέτας. Στη συνέχεια, το μικροπλακίδιο, μαζί με το χαρτί κυανοτυπίας στο κάτω μέρος του, τοποθετήθηκε στον θάλαμο ακτινοβολίας με 5 λάμπες των 254 nm, σε απόσταση 15 cm από αυτές και με χρόνο ακτινοβόλησης 6 min.

Για τη μελέτη της ινδομεθακίνης παρασκευάστηκε διάλυμα παρακαταθήκης με συγκέντρωση 500 mg L⁻¹ σε αιθανόλη από το οποίο με κατάλληλες αραιώσεις παρασκευάστηκαν τα διαλύματα εργασίας των οποίων οι συγκεντρώσεις κυμαίνονταν από 0 εως 160 mg L⁻¹. Από κάθε διάλυμα εργασίας τοποθετήθηκαν 250 μL στο μικροπλακίδιο με τη βοήθεια αυτόματης πιπέτας. Στη συνέχεια, το μικροπλακίδιο, μαζί με το χαρτί κυανοτυπίας στο κάτω μέρος του, τοποθετήθηκαν στον θάλαμο ακτινοβολίας με 4 λάμπες των 312 nm, σε απόσταση 15 cm από αυτές και με χρόνο ακτινοβόλησης 2 min.

Για τη μελέτη της βανιλίνης παρασκευάστηκε διάλυμα παρακαταθήκης με συγκέντρωση 200 mg L⁻¹ σε απεσταγμένο νερό από το οποίο με κατάλληλες αραιώσεις παρασκευάστηκαν τα διαλύματα εργασίας των οποίων οι συγκεντρώσεις κυμαίνονταν από 0 εως 60 mg L⁻¹. Από κάθε διάλυμα εργασίας τοποθετήθηκαν 250 μL στο μικροπλακίδιο με τη βοήθεια αυτόματης πιπέτας. Στη συνέχεια, το μικροπλακίδιο, μαζί με το χαρτί κυανοτυπίας στο

κάτω μέρος του, τοποθετήθηκαν στον θάλαμο ακτινοβολίας με 3 λάμπες των 312 nm, σε απόσταση 15 cm από αυτές και με χρόνο ακτινοβόλησης 2 min.

Гіа тην θολωσιμετρική οδοθάμ παρασκευάστηκε διάλυμα παρακαταθήκης της πρωτεΐνης BSA (σε σκουρόχρωμη φιάλη) με συγκέντρωση 0,12 mM σε απεσταγμένο νερό από το οποίο με κατάλληλες αραιώσεις παρασκευάστηκαν τα διαλύματα εργασίας σε συγκεντρώσεις από 0 εως 0,03 mM. Η καταβύθιση των πρωτεϊνών έγινε με τη χρήση υδατικού διαλύματος θειικού αμμωνίου 4 Μ. Από κάθε διάλυμα ερνασίας τοποθετήθηκαν 150 μL στο μικροπλακίδιο με τη βοήθεια αυτόματης πιπέτας. Στη συνέχεια, το μικροπλακίδιο, μαζί με το χαρτί κυανοτυπίας στο κάτω μέρος του, τοποθετήθηκαν στον θάλαμο ακτινοβολίας με 5 λάμπες των 254 nm, σε απόσταση 15 cm από αυτές και με χρόνο ακτινοβόλησης 2 min.

Για την μελέτη του υπεροξειδίου του υδρογόνου παρασκευάστηκε διάλυμα παρακαταθήκης με συγκέντρωση 2 mM σε απεσταγμένο νερό από το οποίο με κατάλληλες αραιώσεις παρασκευάστηκαν τα διαλύματα εργασίας σε τελικές συγκεντρώσεις από 0 έως 0,5 mM ενώ προστέθηκε ιωδιούχο κάλιο 1 M και παράλληλα έγινε ρύθμιση του pH στην τιμή του 7,18. Η ρύθμιση αυτή πραγματοποιήθηκε με ρυθμιστικό διάλυμα δισόξινου φωσφορικού καλίου 0,1 M και καυστικού νατρίου 0,1 M. Από κάθε διάλυμα εργασίας τοποθετήθηκαν 250 μL στο μικροπλακίδιο με τη βοήθεια αυτόματης πιπέτας. Στη συνέχεια, το μικροπλακίδιο, μαζί με το χαρτί κυανοτυπίας στο κάτω μέρος του, τοποθετήθηκαν στον θάλαμο ακτινοβολίας με 5 λάμπες των 365 nm, σε απόσταση 15 cm από αυτές και με χρόνο ακτινοβόλησης 2 min.

Στον πίνακα 3.1 φαίνονται συγκεντρωτικά το μήκος κύματος στο οποίο εμφανίζει μέγιστη απορρόφηση ο κάθε αναλύτης (nm), ο αριθμός των λαμπών που τοποθετήθηκαν στο θάλαμο ακτινοβολίας, η απόσταση κάθε αναλύτη από την πηγή φωτός (cm), η ποσότητα (μL) των διαλυμάτων που τοποθετήθηκαν στο μικροπλακίδιο και ο χρόνος ακτινοβόλησης για κάθε αναλύτη (min).

Εργαστηριακό χαρτί κυανοτυπίας							
Αναλύτες	Μήκος κύματος (nm)	Λἀμπες	Όγκος (μL)	Απόσταση (cm)	Χρόνος ακτινοβόλησης (min)		
Παρακεταμόλη	254	5 (40 Watt)	250	15	6		
Ινδομεθακίνη	312	4 (32 Watt)	250	15	2		
Βανιλίνη	312	3 (24 Watt)	250	15	2		
Υπεροξείδιο του υδρογόνου	365	5 (40 Watt)	250	15	2		
Θολωσιμετρία (BSA)	254	5 (40 Watt)	150 ή 250	15	2		

Πίνακας 3.1 Πειραματικές συνθήκες με εργαστηριακό χαρτί κυανοτυπίας

3.5.2.2 Εμπορικό χαρτί κυανοτυπίας

Για την μελέτη της παρακεταμόλης παρασκευάστηκε διάλυμα παρακαταθήκης με συγκέντρωση 100 mg L⁻¹ σε απεσταγμένο νερό από το οποίο με κατάλληλες αραιώσεις παρασκευάστηκαν τα διαλύματα εργασίας των οποίων οι συγκεντρώσεις κυμαίνονταν από 0 έως 15 mg L⁻¹. Από κάθε διάλυμα εργασίας τοποθετήθηκαν 250 μL στο μικροπλακίδιο με τη βοήθεια αυτόματης πιπέτας. Στη συνέχεια, το μικροπλακίδιο, μαζί με το χαρτί κυανοτυπίας στο κάτω μέρος του, τοποθετήθηκαν στον θάλαμο ακτινοβολίας με 5 λάμπες των 254 nm, σε απόσταση 15 cm από αυτές και με χρόνο ακτινοβόλησης 6 min.

Για τη μελέτη της ινδομεθακίνης παρασκευάστηκε διάλυμα παρακαταθήκης με συγκέντρωση 50 mg L⁻¹ σε αιθανόλη από το οποίο με κατάλληλες αραιώσεις παρασκευάστηκαν τα διαλύματα εργασίας των οποίων οι συγκεντρώσεις κυμαίνονταν από 0 εως 20 mg L⁻¹. Από κάθε διάλυμα εργασίας τοποθετήθηκαν 250 μL στο μικροπλακίδιο με τη βοήθεια αυτόματης πιπέτας. Στη συνέχεια, το μικροπλακίδιο μαζί με το χαρτί κυανοτυπίας στο

κάτω μέρος του τοποθετήθηκαν στον θάλαμο ακτινοβολίας με 5 λάμπες των 312 nm, σε απόσταση 15 cm από αυτές και με χρόνο ακτινοβόλησης 6 min.

Για τη μελέτη της βανιλίνης παρασκευάστηκε διάλυμα παρακαταθήκης με συγκέντρωση 25 mg L⁻¹ σε απεσταγμένο νερό από το οποίο με κατάλληλες αραιώσεις παρασκευάστηκαν τα διαλύματα εργασίας σε συγκεντρώσεις από 0 εως 20 mg L⁻¹. Από κάθε διάλυμα εργασίας τοποθετήθηκαν 250 μL στο μικροπλακίδιο με τη βοήθεια αυτόματης πιπέτας. Στη συνέχεια, το μικροπλακίδιο μαζί με το χαρτί κυανοτυπίας στο κάτω μέρος του τοποθετήθηκαν στον θάλαμο ακτινοβολίας με 5 λάμπες των 312 nm, σε απόσταση 15 cm από αυτές και με χρόνο ακτινοβόλησης 6 min.

Гіа θολωσιμετρική μέθοδο παρασκευάστηκε διάλυμα тην παρακαταθήκης της πρωτεΐνης BSA (σε σκουρόχρωμη φιάλη) με 0,12 απεσταγμένο συγκέντρωση mΜ σε νερό апо опоіо то παρασκευάστηκαν τα διαλύματα εργασίας σε συγκεντρώσεις από 0 εως 0,018 mM. Η καταβύθιση των πρωτεϊνών έγινε με τη χρήση υδατικού διαλύματος θειικού αμμωνίου 4 Μ. Από κάθε διάλυμα τοποθετήθηκαν 150 μL στο μικροπλακίδιο με τη βοήθεια αυτόματης πιπέτας. Στη συνέχεια, το μικροπλακίδιο, μαζί με το χαρτί κυανοτυπίας στο κάτω μέρος του, τοποθετήθηκαν στον θάλαμο ακτινοβολίας με 5 λάμπες των 254 nm, σε απόσταση 15 cm από αυτές και με χρόνο ακτινοβόλησης 6 min.

Για την μελέτη του υπεροξειδίου του υδρογόνου παρασκευάστηκε διάλυμα παρακαταθήκης με συγκέντρωση 2 mM σε απεσταγμένο νερό από το οποίο με κατάλληλες αραιώσεις παρασκευάστηκαν τα διαλύματα εργασίας σε τελικές συγκεντρώσεις από 0 έως 0,25 mM ενώ προστέθηκε ιωδιούχο κάλιο 1 M και παράλληλα έγινε ρύθμιση του pH στην τιμή 7,18. Η ρύθμιση αυτή πραγματοποιήθηκε με ρυθμιστικό διάλυμα δισόξινου φωσφορικού καλίου 0,1 M και καυστικού νατρίου 0,1 M. Από κάθε διάλυμα εργασίας τοποθετήθηκαν 250 μL στο μικροπλακίδιο με τη βοήθεια αυτόματης πιπέτας. Στη συνέχεια, το μικροπλακίδιο, μαζί με το χαρτί κυανοτυπίας στο κάτω μέρος του, τοποθετήθηκαν στον θάλαμο ακτινοβολίας με 5 λάμπες των 365 nm, σε απόσταση 15 cm από αυτές και με χρόνο ακτινοβόλησης 6 min.

Στον πίνακα 3.2 φαίνονται συγκεντρωτικά οι πειραματικές συνθήκες για το εμπορικό χαρτί κυανοτυπίας.

Εμπορικό χαρτί κυανοτυπίας							
Αναλύτες	Μἠκος κὑματος (nm)	Λάμπες	Όγκος (μL)	Απόσταση (cm)	Χρόνος ακτινοβόλησης (min)		
Παρακεταμόλη	254	5 (40 Watt)	250	15	6		
Ινδομεθακίνη	312	5 (40 Watt)	250	15	6		
Βανιλίνη	312	5 (40 Watt)	250	15	6		
Υπεροξείδιο του υδρογόνου	365	5 (40 Watt)	250	15	6		
Θολωσιμετρία (BSA)	254	5 (40 Watt)	150 ή 250	15	6		

Πίνακας 3.2 Πειραματικές συνθήκες με εμπορικό χαρτί κυανοτυπίας

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΕΤΑΡΤΟ

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ



4.1 Η ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΥΠΕΡΙΩΔΟΥΣ ΦΩΤΟΓΡΑΦΙΚΗΣ ΦΩΤΟΜΕΤΡΙΑΣ

Η αρχή της υπεριώδους φωτογραφικής φωτομετρίας βασίζεται στις γενικές αρχές της φωτογραφικής διαδικασίας εκτύπωσης εξ επαφής όπως αυτή είχε χρησιμοποιηθεί μέχρι τις αρχές του 21^{ου} αιώνα. Στη διαδικασία αυτή, με τη έκθεση ενός φωτοευαίσθητου χαρτιού στο φως, λαμβάνεται μια αρνητική εικόνα. Καθώς το φως του περιβάλλοντος ανακλάται (ή σκεδάζεται) με διαφορετικό τρόπο από τις επιφάνειες που βρίσκονται μπροστά από το χαρτί, η ένταση του φωτός που φτάνει στο φωτοευαίσθητο χαρτί είναι διαφορετική σε κάθε τμήμα της περιοχής που εκτίθεται στο φως, επηρεάζοντας με διαφορετικό τρόπο την φωτοευαίσθητη επιφάνεια του χαρτιού. Τα πιο φωτεινά αντικείμενα τα οποία ανακλούν ή σκεδάζουν περισσότερο φως εμφανίζονται πιο σκούρα στο χαρτί (καθώς περισσότερο φως φτάνει στην φωτοευαίσθητη επιφάνεια του χαρτιού) ενώ τα σκουρόχρωμα αντικείμενα εμφανίζονται πιο φωτεινά (καθώς περισσότερο φως απορροφάται από την επιφάνειά τους). Όταν η αρνητική εικόνα εκτίθεται σε τεχνητό φως σε ένα φωτοευαίσθητο φύλλο χαρτιού, λειτουργεί σαν μάσκα του προσπίπτοντος φωτός. Οι σκουρόχρωμες περιοχές απορροφούν περισσότερο φως και έτσι λειτουργούν ως προστατευτικό στρώμα έναντι της αναγωγής του φωτοευαίσθητου χαρτιού που βρίσκεται από κάτω. Οι ανοιχτόχρωμες περιοχές αφήνουν περισσότερο φως να περάσει. Με αυτό τον τρόπο δημιουργείται μια θετική εικόνα που εμφανίζεται ως αντιστροφή της αρνητικής εικόνας.

Στη προσέγγιση που παρουσιάζεται σε αυτή την εργασία, οι κυψελίδες (wells) των μικροπλακιδίων λειτουργούν όπως η αρνητική εικόνα ενώ το φωτογραφικό χαρτί όπως η θετική εικόνα. Αν οι κυψελίδες περιέχουν καθαρό νερό (ή είναι άδειες) τότε το φως περνάει μέσα από τις κυψελίδες και φτάνει στην επιφάνεια του φωτογραφικού χαρτιού φωτοανάγωντας την ευαίσθητη στο φως επικάλυψη του χαρτιού. Όταν στην κυψελίδα τοποθετείται δείγμα που περιέχει ενώσεις που απορροφούν στο UV, ένα μέρος της προσπίπτουσας ακτινοβολίας απορροφάται από τα μόρια της ένωσης. Έτσι, η ποσότητα του φωτός που φθάνει στην επιφάνεια του

χαρτιού μειώνεται ανάλογα με την ποσότητα που απορροφάται από τις ενώσεις που βρίσκονται στο δείγμα η οποία είναι ευθέως ανάλογη με τη συγκέντρωση του αναλύτη στο δείγμα. Η γραφική απεικόνιση αυτής της προσέγγισης παρουσιάζεται στην εικόνα 4.1.



Εικόνα 4.1: Α) η αρχή και η βασική διάταξη της συσκευής της φωτογραφικής φωτομετρίας και Β) η απλοποιημένη αναπαράσταση της φωτογραφικής διαδικασίας εκτύπωσης εξ επαφής

4.2 ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΗΣ ΔΙΑΤΑΞΗΣ ΤΗΣ ΣΥΣΚΕΥΗΣ

Το πρώτο βήμα στην κατασκευή μιας διάταξης φωτογραφικής φωτομετρίας είναι η επιλογή της πηγής του φωτός. Οι λυχνίες UV Xenon, υδρογόνου και υδραργύρου δεν είναι κατάλληλες για τη συγκεκριμένη συσκευή και λόγω του υψηλού κόστους αλλά και λόγω της ευρείας εκπομπής ακτινοβολίας τους γεγονός που τους καθιστά ακατάλληλους για τους εξής λόγους: a) τα φωτογραφικά χαρτιά, που χρησιμοποιούνται σε αυτή την εργασία ως ανιχνευτές, είναι ευαίσθητα σε ένα ευρύ φάσμα υπεριώδους ακτινοβολίας εμφανίζοντας μικρή ή καθόλου επιλεκτικότητα στο υπεριώδες φως. Όταν χρησιμοποιείται μια πηγή φωτός ευρείας ζώνης εκπομπής ακτινοβολίας το εύρος των μηκών κύματος που δεν απορροφούνται από το δείγμα θα προκαλέσει επίσης φωτοαναγωγή στην φωτοευαίσθητη επικάλυψη του χαρτιού και θα μειώσει την ακρίβεια και την ευαισθησία της ανάλυσης β) η μέγιστη ευαισθησία επιτυγχάνεται στο μέγιστο μήκος κύματος κάθε ένωσης αλλά οι περισσότερες ενώσεις απορροφούν σε ένα εύρος μήκους κύματος με διαφορετικό συντελεστή απορρόφησης σε κάθε μήκος κύματος και γ) τα πραγματικά δείγματα περιέχουν και άλλες ενώσεις που απορροφούν στο UV οι οποίες μπορεί να απορροφήσουν μέρος της προσπίπτουσας ακτινοβολίας και να προκαλέσουν θετική παρεμπόδιση στην ανάλυση. Για αυτούς τους λόγους είναι προτιμότερες οι πηγές φωτός UV που εκπέμπουν σε ένα συγκεκριμένο μήκος κύματος και είναι εμπορικά διαθέσιμες και οικονομικές. Μια μεγάλη ποικιλία πηγών υπεριώδους φωτός όπως λάμπες, λυχνίες LEDs, δίοδοι κ.λπ., που εκπέμπουν σε ένα ευρύ φάσμα μηκών κύματος (από 200-395 nm), διατίθεται στο εμπόριο τόσο από επιστημονικούς όσο και από βιομηχανικούς κατασκευαστές σε χαμηλό κόστος. Στη συγκεκριμένη εργασία, χρησιμοποιήθηκαν λάμπες UV (tubes) που εκπέμπουν στα 254, 312 каі 365 nm.

Όσον αφορά την ανίχνευση, επιλέχθηκε μια δημοφιλή φωτογραφική τεχνική, η κυανοτυπία, η οποία έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως στην πρώιμη φωτογραφία. Η τεχνική αυτή επιλέχθηκε ανάμεσα σε διάφορες τεχνικές που χρησιμοποιήθηκαν καθ' όλη τη διάρκεια των ετών γιατί: α) βασίζεται σε εκτύπωση εξ επαφής που είναι εύκολο να πραγματοποιηθεί απλά τοποθετώντας το αντικείμενο επάνω στο χαρτί και εκθέτοντας το στο φως και β) συνεχίζει να χρησιμοποιείται για καλλιτεχνικούς σκοπούς και επομένως φωτογραφικά χαρτιά κυανοτυπίας είναι εμπορικά διαθέσιμα. Στην κυανοτυπία οι φωτογραφικές επικαλύψεις αποτελούνται από ένα υδατικό μίγμα ενναμώνιου κιτρικού σιδήρου και σιδηρικυανιούχου καλίου. Μετά από

έκθεση σε υπεριώδες φως, τα άλατα του Fe(III) ανάγονται σε Fe(II) το οποίο με τη σειρά του σχηματίζει σύμπλοκο με το ιόν σιδηρικυανιούχου για να σχηματίσουν το αδιάλυτο εξακυανοσιδηρικό (II,III) κάλιο ή αλλιώς μπλε της Πρωσίας (Lawrence G. D. and Fishelson S., 1999). Με την έκπλυση του στερεού υποστρώματος που περιέχει τα άλατα σιδήρου, τα διαλυτά άλατα απομακρύνονται ενώ το αδιάλυτο μπλε της Πρωσίας παραμένει ανεπηρέαστο με αποτέλεσμα την εμφάνιση της εικόνας (Blacklow, 2007). Σε αντίθεση με άλλες τεχνικές, η έκπλυση του χαρτιού της κυανοτυπίας με νερό είναι μια απλή διαδικασία που μπορεί να πραγματοποιηθεί σε ένα υδατόλουτρο (μέσα σε λίγα λεπτά) χωρίς να απαιτεί ειδικές συνθήκες (όπως σκοτεινός θάλαμος) ενώ τα απόβλητα δεν είναι τοξικά και δεν απαιτούν ιδιαίτερο χειρισμό.

4.3 ΦΑΣΜΑΤΙΚΗ ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ ΤΩΝ ΕΠΙΚΑΛΥΨΕΩΝ ΤΟΥ ΦΩΤΟΓΡΑΦΙΚΟΥ ΧΑΡΤΙΟΥ

Όπως τα παραδοσιακά φωτόμετρα, η φωτογραφική φωτομετρία μετρά την απορρόφηση κατά προτίμηση στο μέγιστο μήκος κύματος. Στο σχήμα 4.1 φαίνεται η χρωματική απόκριση του χρώματος χαρτιών κυανοτυπίας πριν και μετά από έκθεση σε ακτινοβολία ορατού και UV διαφορετικού μήκους κύματος ενώ στο διάγραμμα 4.1 φαίνεται η ένταση του σήματος.



Σχήμα 4.1: Ευαισθησία του χαρτιού κυανοτυπίας στο ορατό φως και στην υπεριώδη ακτινοβολία



Διάγραμμα 4.1: Διάγραμμα έντασης του σήματος σε συνάρτηση με το μήκος κύματος της ακτινοβολίας για χαρτιά κυανοτυπίας πριν και μετά την έκθεσή τους σε ακτινοβολία UV και ορατό φως

Το χαρτί κυανοτυπίας εμφανίζει μέγιστη ευαισθησία στα 312 nm (va σημειωθεί ότι η ένταση του χρώματος αναστρέφεται σε εμφανισμένο και μη εμφανισμένο χαρτί κυανοτυπίας) αλλά σχεδόν καθόλου ευαισθησία στο ορατό φως. Η παρατήρηση αυτή συμπίπτει με τα ευρήματα του Turner και των συνεργατών του που παρατήρησαν ότι η μέγιστη ευαισθησία διάφορων εμπορικών χαρτιών κυανοτυπίας κυμαίνεται από 300 έως 330 nm (Turner J. et al., 2014). Αυτά τα αποτελέσματα υποδεικνύουν ότι το χαρτί κυανοτυπίας είναι ιδιαίτερα χρήσιμο για μετρήσεις περιοχή UV στην тои ηλεκτρομαγνητικού φάσματος.

4.4 ΒΕΛΤΙΣΤΟΠΟΙΗΣΗ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΩΝ ΣΥΝΘΗΚΩΝ

4.4.1 Διαδικασία κυανοτυπίας

Στη διαδικασία της κυανοτυπίας πραγματοποιήθηκε βελτιστοποίηση όσον αφορά τις αρχικές συγκεντρώσεις των αλάτων σιδήρου και πιο συγκεκριμένα έγιναν αραιώσεις 1:2, 1:4, 1:8, 1:10 πριν γίνει η μίξη των δυο αλάτων ενώ παράλληλα δοκιμάστηκαν δυο τρόποι επικάλυψης του χαρτιού. Ο ένας τρόπος επικάλυψης είναι το εμβάπτισμα του χαρτιού στο μίγμα των αλάτων σιδήρου. Σε αυτή την περίπτωση, όπως φαίνεται και στο διάγραμμα 1 (παράρτημα), η συγκέντρωση που επιλέχθηκε είναι η αρχική καθώς η εικόνα που αποτυπώνεται στο χαρτί είναι περισσότερο ευδιάκριτη, η ένταση του σήματος είναι μεγαλύτερη (όσο μικρότερες είναι οι τιμές του σήματος τόσο μεγαλύτερη είναι η ένταση), το R² είναι μεγαλύτερο ενώ παρατηρήθηκε και μεγαλύτερο εύρος τιμών της έντασης του σήματος κατά τον προσδιορισμό του αναλύτη. Ο δεύτερος τρόπος επικάλυψης του χαρτιού που μελετήθηκε είναι η επικάλυψη με τη χρήση πινέλου. Και σε αυτή την περίπτωση, όπως φαίνεται στο διάγραμμα 2 (παράρτημα), η συγκέντρωση που επιλέχθηκε είναι η αρχική για τους ίδιους λόγους που αναφέρθηκαν και στην επικάλυψη με εμβάπτισμα. Εκτός από τις μικρότερες συγκεντρώσεις, έγιναν και κάποιες δοκιμές με μεγαλύτερη συγκέντρωση των αλάτων από την αρχική, όπου εφαρμόστηκαν και οι δυο τρόποι επικάλυψης. Ωστόσο, η ευκρίνεια της εικόνας που προέκυψε ήταν πολύ κακή για να μελετηθεί. Σχετικά με τον τρόπο επικάλυψης του χαρτιού, ο καλύτερος είναι το εμβάπτισμα γιατί η ευκρίνεια της εικόνας ήταν πολύ καλύτερη σε σχέση με την εικόνα που προέκυψε όταν η επικάλυψη έγινε με πινέλο. Επιπλέον, στην επικάλυψη του χαρτιού με πινέλο παρατηρήθηκε ότι οι πυκνότερες συγκεντρώσεις δεν αποτυπωνόταν καθόλου πάνω στο χαρτί. Н βελτιστοποίηση όλης της διαδικασίας της κυανοτυπίας πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια του δείκτη Cresol Red σε διαφορετικές συγκεντρώσεις.

4.4.2 Αναλύτες

κάθε αναλύτη μελετήθηκε ο όγκος του δείγματος στο Гіа μικροπλακίδιο, ο χρόνος έκθεσης των δειγμάτων στην ακτινοβολία UV, η ένταση της έκθεσης και η απόσταση των δειγμάτων από την πηγή φωτός UV. Οι βέλτιστες συνθήκες αποφασίστηκαν σύμφωνα με τα εξής κριτήρια: τον συντελεστή γραμμικότητας (R²) της καμπύλης δόσης-απόκρισης, την κλίση της, την ένταση του σήματος, το γραμμικό εύρος και την ευκρίνεια της εικόνας που αποτυπώνεται στο χαρτί της κυανοτυπίας. Αξίζει βέβαια να αναφερθεί ότι γενικά σε όλες τις αναλύσεις οι βέλτιστες πειραματικές συνθήκες δεν εξαρτώνται μονομερώς από έναν παράγοντα και τα βέλτιστα αποτελέσματα θα μπορούσαν να επιτευχθούν μεταβάλλοντας μία παράμετρο ως συνάρτηση μιας άλλης. Για παράδειγμα, η μείωση της έντασης του φωτός με αύξηση του χρόνου έκθεσης ή μείωση της απόστασης των δειγμάτων από την πηγή φωτός μπορεί να οδηγήσει σε παρόμοια ή ισοδύναμα αποτελέσματα. Επομένως, θα μπορούσε κάποιος να επιλέξει και ένα γενικό σύνολο βέλτιστων τιμών για όλες τις αναλύσεις, πιθανώς σε βάρος κάποιας απώλειας ευαισθησίας ή γραμμικότητας σε σύγκριση με τις πραγματικές βέλτιστες τιμές για κάθε αναλύτη, αλλά χωρίς να υποβαθμίζεται η συνολική ποιότητα των αναλυτικών δεδομένων. Μια τέτοια προσέγγιση εφαρμόζεται ευκολότερα από ανθρώπους που δεν είναι ειδικοί στο σημείο ανάγκης (pointof-need).

Η βελτιστοποίηση πραγματοποιήθηκε σε εργαστηριακό χαρτί κυανοτυπίας και όλες οι μετρήσεις έγιναν στην περιοχή Red του χρωματικού συστήματος RGB. Στα διαγράμματα 3 έως 17 (παράρτημα) απεικονίζονται οι καμπύλες βαθμονόμησης για κάθε βελτιστοποίηση και για κάθε αναλύτη.

Λαμβάνοντας λοιπόν υπόψιν τα κριτήρια που αναφέρθηκαν παραπάνω, ο κατάλληλος όγκος του δείγματος για την παρακεταμόλη ήταν τα 250 μL καθώς η ευκρίνεια της εικόνας του χαρτιού της κυανοτυπίας είναι καλύτερη σε σχέση με αυτή που προκύπτει με όγκο διαλύματος 150 μL. Όσον αφορά την ένταση της έκθεσης των δειγμάτων στο θάλαμο ακτινοβολίας, επιλέχθηκαν τα 40 Watt (5 λάμπες) γιατί ο συντελεστής γραμμικότητας (R²)

είναι μεγαλύτερος, η ευκρίνεια της εικόνας είναι καλύτερη και η κλίση της ευθείας είναι μεγαλύτερη, πράγμα που σημαίνει ότι είναι μεγαλύτερη και η ευαισθησία της μεθόδου. Επίσης, η βέλτιστη απόσταση των διαλυμάτων από την πηγή φωτός είναι 15 cm γιατί η κλίση της καμπύλης είναι μεγαλύτερη, το R² είναι μεγαλύτερο, η ευκρίνεια είναι καλύτερη και υπάρχει μεγαλύτερη ένταση σήματος. Τέλος, ο καλύτερος χρόνος έκθεσης των διαλυμάτων στην ακτινοβολία UV είναι 6 min γιατί η ευκρίνεια της εικόνας είναι καλύτερη και η ένταση του σήματος μεγαλύτερη (διαγράμματα 3-6 στο παράρτημα).

Για την ινδομεθακίνη ο όγκος που επιλέχθηκε ήταν τα 250 μL γιατί η κλίση της ευθείας είναι μεγαλύτερη συνεπώς είναι μεγαλύτερη και η ευαισθησία της μεθόδου. Επίσης, επιλέχθηκαν τα 32 Watt (4 λάμπες) γιατί το R² είναι μεγαλύτερο, η ευκρίνεια της εικόνας είναι καλύτερη και η κλίση της ευθείας είναι μεγάλη. Όσον αφορά την απόσταση των δειγμάτων από την πηγή φωτός επιλέχθηκαν τα 15 cm γιατί έχουμε την μεγαλύτερη κλίση ευθείας και καλύτερη ευκρίνεια εικόνας. Τέλος, ο καλύτερος χρόνος έκθεσης των διαλυμάτων ινδομεθακίνης στην υπεριώδη ακτινοβολία ήταν τα 2 min καθώς έχουμε την μεγαλύτερη κλίση της ευθείας και συνεπώς μεγαλύτερη ευαισθησία (διαγράμματα 7-10 στο παράρτημα)

Για την βανιλίνη, ο βέλτιστος όγκος δείγματος που τοποθετείται στο μικροπλακίδιο ήταν τα 250 μL καθώς η κλίση της ευθείας είναι μεγαλύτερη. Επιπλέον, στα 150 μL προκύπτουν αρνητικές τιμές για τις τρεις μικρότερες συγκεντρώσεις, γεγονός που δεν είναι αποδεκτό. Όσο για την ένταση της έκθεσης, επιλέχθηκαν τα 24 Watt (3 λάμπες) γιατί η ευκρίνεια της εικόνας είναι καλύτερη και το R² και η κλίση της ευθείας είναι μεγαλύτερα. Η βέλτιστη απόσταση των δειγμάτων από την πηγή ακτινοβολίας ήταν τα 15 cm λόγω καλύτερης ευκρίνειας και μεγαλύτερου συντελεστή γραμμικότητας. Τέλος, ο καταλληλότερος χρόνος έκθεσης των διαλυμάτων βανιλίνης στο θάλαμο ακτινοβολίας ήταν τα 2 min γιατί η κλίση της ευθείας είναι μεγαλύτερη σε σχέση με τις ευθείες που αντιπροσωπεύουν διαφορετικούς χρόνους και το εύρος είναι μεγαλύτερο (διαγράμματα 11-14 στο παράρτημα).

Για την θολωσιμετρία και τη μελέτη της πρωτεΐνης BSA επιλέχθηκαν τα 150 μL λόγω καλύτερης ευκρίνειας και μεγαλύτερου συντελεστή γραμμικότητας. Επίσης, η βέλτιστη απόσταση των δειγμάτων από την πηγή φωτός ήταν τα 15 cm γιατί το R² είναι μεγαλύτερο, η ευκρίνεια της εικόνας για αυτή την απόσταση είναι καλύτερη και η κλίση της ευθείας είναι μεγαλύτερη. Ο βέλτιστος χρόνος έκθεσης των διαλυμάτων στο θάλαμο ακτινοβολίας ήταν τα 2 min γιατί η κλίση της ευθείας είναι μεγαλύτερη, η ευκρίνεια της εικόνας είναι καλύτερη και η ένταση του σήματος μεγαλύτερη. Όσον αφορά τον ένταση της έκθεσης των δειγμάτων στην ακτινοβολία UV, δεν έγινε κάποια βελτιστοποίηση καθώς στην θολωσιμετρία χρειάζεται η μέγιστη ενέργεια. Τοποθετήθηκαν λοιπόν, 5 λάμπες (40 Watt) των 254 nm καθώς όσο μικρότερο είναι το μήκος κύματος τόσο μεγαλύτερη είναι η ενέργεια και έτσι θα έχουμε τη μέγιστη δυνατή ακτινοβόληση. Ο λόγος που χρειάζεται η μέγιστη δυνατή ακτινοβόληση είναι ότι ένα μεγάλο μέρος της σκεδάζεται ή διαθλάται από το στερεό που υπάρχει στο διάλυμα (διαγράμματα 15-17 στο παράρτημα).

Για το υπεροξείδιο του υδρογόνου επιλέχθηκαν παρόμοιες συνθήκες και πιο συγκεκριμένα ο όγκος του δείγματος που τοποθετήθηκε στο μικροπλακίδιο ήταν τα 250 μL, η ένταση της έκθεσης των δειγμάτων στο θάλαμο ακτινοβολίας ήταν 40 Watt, η απόσταση των δειγμάτων από την πηγή φωτός ήταν τα 15 cm και ο πιο κατάλληλος χρόνος έκθεσής τους ήταν τα 2 min.

Για τις αναλύσεις με το εμπορικό χαρτί κυανοτυπίας εφαρμόστηκαν οι ίδιες πειραματικές συνθήκες που επιλέχθηκαν και για το εργαστηριακό χαρτί με δυο διαφορές. Οι διαφορές αυτές προέκυψαν έπειτα από δοκιμές που πραγματοποιήθηκαν και οι οποίες έδειξαν ότι η ευκρίνεια της εικόνας στο εμπορικό χαρτί ήταν καλύτερη για όλους τους αναλύτες όταν η ένταση έκθεσής τους ήταν τα 40 Watt (5 λάμπες) και ο χρόνος έκθεσης τα 6 min. Αυτό μπορεί να οφείλεται σε κάποιες λογικές διαφορές που ίσως έχουν τα δύο χαρτιά καθώς το ένα φτιάχνεται στο εργαστήριο και το άλλο αγοράζεται έτοιμο. Επίσης, παρατηρήθηκε ότι οι πειραματικές συνθήκες για τις

αναλύσεις με εμπορικό χαρτί κυανοτυπίας είναι τελικά περισσότερο ομοιόμορφες σε σχέση με το εργαστηριακό χαρτί γεγονός που είναι ευνοϊκό καθώς δεν χρειάζεται να αλλάζουν οι συνθήκες για κάθε αναλύτη. Για αυτό το λόγο, η ανάλυση των πραγματικών δειγμάτων πραγματοποιήθηκε με τη χρήση εμπορικού χαρτιού κυανοτυπίας.

4.5 ΕΠΙΔΕΙΞΗ ΤΗΣ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ ΤΗΣ ΦΩΤΟΓΡΑΦΙΚΗΣ ΦΩΤΟΜΕΤΡΙΑΣ

αποτελέσματα που πρόεκυψαν από την Та εφαρμογή της φωτογραφικής φωτομετρίας, συγκρίθηκαν με αυτά που ελήφθησαν με ένα φασματοφωτόμετρο για τον προσδιορισμό: α) φαρμακευτικά δραστικών συστατικών σε συνταγογραφούμενα φάρμακα (ένα παυσίπονο και ένα μη στεροειδές αντιφλεγμονώδες φάρμακο), β) βανιλίνης σε εμπορικά προσθετικά τροφίμων για τη γεύση γ) πρωτεΐνης σε πλάσμα αίματος και δ) υπεροξειδίου του υδρογόνου σε διάλυμα καθαρισμού φακών επαφής. Για κάθε ανάλυση χρησιμοποιήθηκαν οι κατάλληλες λυχνίες που εκπέμπουν όσο το δυνατό πιο κοντά στο μέγιστο μήκος κύματος του αναλύτη στόχου και έγινε βελτιστοποίηση των πειραματικών συνθηκών όπως αναφέρθηκε παραπάνω. Το σχήμα 4.2 παρουσιάζει τα διαγράμματα βαθμονόμησης των πέντε αναλυτών με φωτογραφική φωτομετρία και με την τυπική φασματοφωτομετρία ενώ στους πίνακες 4.1, 4.2 και 4.3 παρουσιάζονται τα χαρακτηριστικά των καμπυλών βαθμονόμησης. Σε όλες τις αναλύσεις, το κυανοτυπίας (εμπορικό) παρήγαγε γραμμικές καμπύλες χαρτί каі χαμηλότερα όρια ανίχνευσης σε σύγκριση με την κοινή φασματοφωτομετρία. Τα αποτελέσματα αυτά δείχνουν ότι η φωτογραφική φωτομετρία μπορεί να είναι χρήσιμη για μετρήσεις απορρόφησης στην περιοχή UV και μπορεί να προσφέρει μια βελτιωμένη ευαισθησία συγκριτικά με την κοινή φασματοφωτομετρική ανάλυση.



Σχήμα 4.2: Διαγράμματα βαθμονόμησης της έντασης του σήματος σε συνάρτηση με την συγκέντρωση α) της παρακεταμόλης, β) της ινδομεθακίνης, γ) της βανιλίνης, δ) της πρωτεΐνης BSA και ε) του υπεροξειδίου του υδρογόνου. Κάθε σημείο δεδομένων αντιστοιχεί στη μέση τιμή πέντε μετρήσεων (σε ορισμένες περιπτώσεις οι γραμμές που χρησιμοποιούνται για τις τυπικές αποκλίσεις είναι μικρότερες από τα σύμβολα). Οι ενσωματωμένες φωτογραφίες δείχνουν τις μεταβολές χρώματος

με αυξανόμενη συγκέντρωση του αναλύτη. Σε όλες αυτές τις φωτογραφίες η πρώτη εικόνα (από τα αριστερά προς τα δεξιά) είναι το τυφλό δείγμα.

Πίνακας 4.1: Αναλυτικά χαρακτηριστικά των καμπυλών βαθμονόμησης με τη φωτογραφική φωτομετρία και χρήση εμπορικού χαρτιού κυανοτυπίας στο μέγιστο (ή κοντά στο μέγιστο) μήκος κύματος του κάθε αναλύτη

Αναλύτης	λ _{max}	Κανάλι	Φωτογραφική φωτομετρία				
	(nm)	χρώματος	(εμπορικό χαρτί κυανοτυπίας)				
		RGB					
			Εξίσωση	Συντελεστής	Γραμμικό	Όριο	
			καμπύλης	Γραμμικότητας	Εύρος	ανίχνευσης	
			ρασμονομησης	(R ²)		LOD	
Παρακεταμόλη	254	Grey	y=4,14x+9,95	0,995	0,5-15 mg L ⁻¹	0,16 mg L ⁻¹	
Ινδομεθακίνη	312	Red	y=3,7x+2,0	0,98	2,5-20 mg L ⁻¹	2,50 mg L ⁻¹	
Βανιλίνη	312	Red	y=6,92x+9,93	0,99	0,5-10 mg L ⁻¹	0,76 mg L ⁻¹	
		or Grey					
Θολωσιμετρία	254	Red	y=915x-1,13	0,98	0,006-0,03	0,004 mM	
(BSA)					mM		
Υπεροξείδιο του	365	Red	y=29,8x-33,65	0,99	0,05-0,25 mM	0,03 mM	
υδρογόνου							
Η επαναληψιμότητα για 5 μετρήσεις είναι από 0,9 έως 3,9 % (Grey Area) και από 1,6 έως 6,6 % (Red							
Area)							

Πίνακας 4.2: Αναλυτικά χαρακτηριστικά των καμπυλών βαθμονόμησης με τη φωτογραφική φωτομετρία και χρήση εργαστηριακού χαρτιού κυανοτυπίας στο μέγιστο (ή κοντά στο μέγιστο) μήκος κύματος του κάθε αναλύτη

Αναλύτης	λ _{max}	Κανάλι	Φωτογραφική φωτομετρία				
	(nm)	χρώματος	(εργαστηριακό χαρτί κυανοτυπίας)				
		RGB					
			Εξίσωση	Συντελεστής	Εύρος	Όριο	
			καμπύλης	Γραμμικότητας		ανίχνευσης	
			βαθμονομησης	(R ²)		LOD	
Παρακεταμόλη	254	Red	y=0,4127x-	0,9781	5-50 mg L ⁻¹	5 mg L ⁻¹	
			0,4448				
Ινδομεθακίνη	312	Red	y=17,718ln(x)-	0,9881	20-160 mg L ⁻¹	20 mg L ⁻¹	
			44,777				
Βανιλίνη	312	Red	y=13,681ln(x)-	0,9803	2,5-60 mg L ⁻¹	2,5 mg L ⁻¹	
			1,2187				
Θολωσιμετρία	254	Red	y=915,47x-	0,9829	0,006-0,03	0,006 mM	
(BSA)			1,135		mM		
Υπεροξείδιο του	365	Red	y=22,466ln(x)+	0,9949	0,1-0,5 mM	0,1 mM	
υδρογόνου			63,567				

Πίνακας 4.3: Αναλυτικά χαρακτηριστικά των καμπυλών βαθμονόμησης με τη φασματοφωτομετρία (κοντά) στο μέγιστο μήκος κύματος του κάθε αναλύτη

Αναλύτης	λ _{max}	Φασματοφωτομετρία					
	(nm)						
		Εξίσωση	Συντελεστής	Γραμμικό	Όριο		
		καμπύλης	Γραμμικότητας (R²)	Εύρος	ανίχνευσης		
		βαθμονόμησης			LOD		
Παρακεταμόλη	254	y=0,047x+0,016	0,9995	5-50 mg L ⁻¹	1,55 mg L ⁻¹		
Ινδομεθακίνη	312	y=0,02x-0,078	0,996	20-100 mg L ⁻¹	7,0 mg L ⁻¹		
Βανιλίνη	312	y=0,058x+0,055	0,99	10-50 mg L ⁻¹	4,65 mg L ⁻¹		
Θολωσιμετρία	254	y=22,3x+0,066	0,999	0,006-0,12	0,003 mM		
(BSA)				mМ			
Υπεροξείδιο του	365	y=0,83x-0,67	0,98	0,15-0,67 mM	0,1 mM		
υδρογόνου							

Τέλος, έγινε σύγκριση της απόδοσης της φωτογραφικής φωτομετρίας έναντι της κοινής φασματοφωτομετρίας ως ανιχνευτές στην ανάλυση πραγματικών δειγμάτων. Το σχήμα 4.3 δείχνει ότι τα αποτελέσματα που ελήφθησαν με τη φωτογραφική φωτομετρία δεν διαφέρουν από αυτά με το κοινό φασματοφωτόμετρο και συμφωνούν με τις πραγματικές τιμές. Η παρατήρηση αυτή επιβεβαιώθηκε με τη βοήθεια της δοκιμασίας t-test σε επίπεδο σημαντικότητας 95%. Σύμφωνα με αυτά τα δεδομένα, το συμπέρασμα που προκύπτει είναι ότι η φωτογραφική φωτομετρία θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ως μια απλή και οικονομικά προσιτή εναλλακτική λύση σε σχέση με την κοινή ενόργανη φασματοφωτομετρία, για αναλύσεις που πραγματοποιούνται στην περιοχή UV.



Σχήμα 4.3: Ιστογράμματα των αποτελεσμάτων της ανάλυσης (α) της ινδομεθακίνης σε κάψουλες ζελατίνης, (β) της παρακεταμόλης σε αναβράζοντα δισκία (γ) της πρωτείνης σε (τεχνητό) πλάσμα αίματος, (δ) της βανιλίνης σε αρωματικά τροφίμων και (ε) του υπεροξειδίου του υδρογόνου σε διάλυμα καθαρισμού φακών επαφής. Στις αναλύσεις που πραγματοποιήθηκαν με φασματοφωτόμετρο, χρησιμοποιήθηκαν κυψελίδες χαλαζία 1 cm. Οι ράβδοι σφάλματος αντιστοιχούν στην τυπική απόκλιση τριών επαναληπτικών μετρήσεων.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η εργασία αυτή περιγράφει μια απλή μέθοδο για την εκτέλεση φωτομετρικών στην περιοχή της υπεριώδους ακτινοβολίας μετρήσεων TOU ηλεκτρομαγνητικού φάσματος η οποία είναι εύκολο να χρησιμοποιηθεί, έχει χαμηλό κόστος κατασκευής και λειτουργίας και είναι φορητή. Για τις μετρήσεις χρησιμοποιείται μια απλή συσκευή που βασίζεται στις αρχές της πρώιμης φωτογραφίας και συναρμολογείται από οικονομικά και διαθέσιμα εξαρτήματα. Συγκεκριμένα, αποτελείται από μια πηγή φωτός UV στενής ζώνης (όπως σωλήνες, LEDs κ.λπ.), ένα διαπερατό από την υπεριώδη ακτινοβολία μικροπλακίδιο που λειτουργεί σαν υποδοχέας του δείγματος και ένα φωτογραφικό χαρτί που χρησιμοποιείται σαν ανιχνευτής. Όλα τα εξαρτήματα τοποθετούνται σε ένα φωτοστεγανό κουτί προκειμένου να διασφαλιστούν σταθερές συνθήκες φωτισμού κατά τη διάρκεια της ανάλυσης. Επίσης, με τον τρόπο αυτό δεν θα υπάρχουν παρεμποδίσεις από το φως του ηλίου που αποτελεί πηγή ακτινοβολίας UV ευρείας ζώνης και ποικίλει με την πάροδο του χρόνου και τη γεωγραφική θέση. Κατά τη διάρκεια της λειτουργίας, η συσκευή ακτινοβολεί από τη μία μεριά τα δείγματα που είναι τοποθετημένα στο μικροπλακίδιο και χρησιμοποιεί ένα φωτοευαίσθητο χαρτί από την άλλη μεριά για να συλλάβει το φως που εκπέμπεται από τα δείγματα. Ανάλογα με την ένταση του φωτός εκπομπής, η φωτοχημικώς ευαίσθητη επικάλυψη του χαρτιού ανάγεται έχοντας ως αποτέλεσμα την εμφάνιση μιας εικόνας στην επιφάνεια του χαρτιού στο σχήμα της κυψελίδας του μικροπλακιδίου που περιέχει το δείγμα. Στη συνέχεια, καταγράφεται μια ψηφιακή φωτογραφία αυτής της εικόνας με φωτογραφική μηχανή ή με επίπεδο σαρωτή και η ένταση του φωτός που ανακλάται από την επιφάνεια της ποσοτικοποιείται στο χρωματικό σύστημα RGB. Η προσέγγιση αυτή επιτρέπει για πρώτη φορά τη διεξαγωγή φωτομετρικών αναλύσεων υψηλής απόδοσης πολλών δειγμάτων ταυτοχρόνως στην περιοχή UV (από 36 εώς 192 δείγματα, ανάλογα με τη διαμόρφωση του μικροπλακιδίου) με μη ενόργανους οπτικούς ανιχνευτές σαν εναλλακτική λύση στα ογκώδη και ακριβά συμβατικά φωτόμετρα μικροπλακών. Αυτή η σχετικά εύκολη και οικονομική προσέγγιση μπορεί να
είναι χρήσιμη για αναλύσεις που εκτελούνται υπό συνθήκες περιορισμένων πόρων, ακόμα και από μη εξειδικευμένο προσωπικό στο σημείο ανάγκης (point-of-need), σε μικρές και αποκεντρωμένες μονάδες υγειονομικής περίθαλψης ή ακόμα και σε κοινά εργαστήρια για μετρήσεις ρουτίνας και εκπαιδευτικούς σκοπούς. Τέλος, με βάση τα αποτελέσματα που προέκυψαν από τη απόδειξη της χρησιμότητας της τεχνικής μέσω της εφαρμογής της σε πέντε διαφορετικές μεθόδους φαρμακευτικού, βιοχημικού και διατροφικού ενδιαφέροντος, προκύπτει το συμπέρασμα ότι η μέθοδος προσφέρει υψηλή ευαισθησία, ακρίβεια και τη δυνατότητα χρήσης σε ολόκληρη την περιοχή της υπεριώδους ακτινοβολίας.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Albert D. R., Todt M. A., Davis H. F., A low-cost quantitative absorption spectrophotometer, Journal of Chemical Education, 89, 2012, 1432–1435

Bilici S., Alternative photography in the digital age: perfect photographs in an imperfect way, Department of Graphic Design, Ihsan Dogramaci Bilkent University Ankara, 2013

Blacklow L., New Dimensions in Photo Processes. A step-by-step manual in alternative photography, 4th Edition, Elsevier, 2007, 151-166

Botanicals In Blue: A Victorian Woman's Take On Algae (Πηγή: Science friday) https://www.sciencefriday.com/articles/botanicals-blue-victorian-womans-take-algae/

Byrne L., Barker J., Pennarun-Thomas G., Diamond D., Digital imaging as a detector for generic analytical measurements, Trends in Analytical Chemistry, 19, 2000, 517–522

Choodum A., Daeid N. N., Rapid and semi-quantitative presumptive tests for opiate drugs, Talanta, 86, 2011, 284

Christodouleas D.C., Kaur B., Chorti P., From point-of-care testing to eHealth diagnostic devices (eDiagnostics), ACS Central Science, 4, 2018, 1600-1616

Christodouleas D.C., Nemiroski A., Kumar A. A., Whitesides G. M., Broadly available imaging devices enable high-quality low-cost photometry, Analytical Chemistry, 87, 2015, 9170-9178

Christopher James, The book of alternative photographic process, third edition, Cengage Learning, Boston USA, 2016, 162-171

CMYK color model (Πηγή: Wikipedia) https://en.wikipedia.org/wiki/ CMYK_color_model

Cohen A. R., Seidl-Friedman J., HemoCue® system for hemoglobin measurement: Evaluation in anemic and nonanemic children, American Journal of Clinical Pathology, 90, 1988, 302–305

Color model (Πηγή: Wikipedia) https://en.wikipedia.org/wiki/Color_model

Colorimetry (Πηγή: Wikipedia) https://en.wikipedia.org/wiki/Colorimetry

Cone cell (Πηγή: Wikipedia) https://en.wikipedia.org/wiki/Cone_cell

Convert from HSV to RGB Color Space (Πηγή: MathWorks) www.mathworks.com/help/images/convert-from-hsv-to-rgb-colorspace.html

Cyanotype process (Πηγή: Chemistry and light) www.chemistryandlight.eu /theory/cyanotype_process

Delaney J. L., Doeven E. H., Harsant A. J., Hogan C. F., Use of a mobile phone for potentiostatic control with low cost paper-based microfluidic sensors, Analytica Chimica Acta, 790, 2013, 56-60

Duk Han Y., Chun H. J., Yoon H. C., The transformation of common office supplies into a low-cost optical biosensing platform, Biosensors and Bioelectronics, 59, 2014, 259–268

Earle C. W., Baker M. E., Denton M. B., Pomeroy R. S., Imaging applications for chemical analysis utilizing charge coupled device array detectors, Trends in Analytical Chemistry, 12, 1993, 395–403

Ellerbee A. K., Phillips S. T., Siegel A. C., Mirica K. A., Martinez A. W., Striehl P., Jain N., Prentiss M., Whitesides G. M., Quantifying colorimetric assays in paper-based microfluidic devices by measuring the transmission of light through paper, Analytical Chemistry, 81, 2009, 8447–8452

Fairchild M. D., Color appearance models, 2nd edition, John Wiley & Sons Ltd, The Atrium, Southern Gate, Chichester, West Sussex PO19 8SQ, England, 2005

Gonzalez R. F., Woods R. E., Digital image processing, Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey, 1977 and 1992

Grudpan K., Kolev S. D., Lapanantnopakhun S., McKelvie I. D., Wongwilai W., Applications of everyday IT and communications devices in modern analytical chemistry: A review, Talanta, 136, 2015, 84-94

Hernández-Neuta I., Neumann F., Brightmeyer J., Ba Tis T., Madaboosi N., Wei Q., Ozcan A., Nilsson M., Smartphone-based clinical diagnostics: towards democratization of evidence-based health care, Journal of Internal Medicine, 285, 2019, 19–39

Historical photographic techniques (Πηγή: National Technical Museum) www.ntm.cz/projekty/fototechniky/en/index.php?text=seven

HSL and HSV (Πηγή: Wikipedia) https://en.wikipedia.org/wiki/ HSL_and_HSV

Hunt R. W. G., The reproduction of color, 6th edition, John Wiley & Sons, Ltd, The Atrium, Southern Gate, Chichester, West Sussex PO19 8SQ, England, 2004

Ibraheem N. A., Hasan M. M., Khan R. Z., Mishra P. K., Understanding color models: A review, ARPN Journal of Science and Technology, 2, 2012, 265-275

Igoe D. P., Parisi A. V., Carter B., Evaluating UVA aerosol optical depth using a smartphone camera, Photochemistry and Photobiology, 89, 2013, 1244–1248

Kelda H. K., Kaur P., A Review: Color models in image processing, Int.J. Computer Technology & Applications, 5, 2014, 319-322

Kellner R., Mermet J. M., Otto M., Valcarel M., Widmer H.M., Analytical Chemistry: A modern approach to analytical science, second edition, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA Weinheim, 2004, 737-746

Kompany-Zareh M., Mirzaei S., Genetic algorithm-based method for selecting conditions in multivariate determination of povidone-iodine using hand scanner, Analytica Chimica Acta, 521, 2004, 231

Lawrence G. D., Fishelson S., UV Catalysis, Cyanotype Photography, and Sunscreens, Journal of Chemical Education, 76, 1999, 1199-1200

Lopez-Molinero A., Cubero V. T., Irigoyen R. D., Piazuelo D. S., Feasibility of digital image colorimetry—Application for water calcium hardness determination, Talanta, 103, 2013, 236-244

Lopez-Molinero A., Liñan D., Sipiera D., Falcon R., Chemometric interpretation of digital image colorimetry. Application for titanium determination in plastics, Microchemical Journal, 96, 2010, 380-385

Martinez A. W., Phillips S. T., Carrilho E., Thomas S. W., Sindi H., Whitesides G, M., Simple telemedicine for developing regions: camera phones and paper-based microfluidic devices for real-time, off-site diagnosis, Analytical Chemistry, 80, 2008, 3699

Mieczkowska E., Koncki R., Tymecki Ł., Hemoglobin determination with paired emitter detector diode, Analytical and Bioanalytical Chemistry, 399, 2011, 3293–3297

Nassau K., Color for science, art and technology, Elsevier Science B.V., 1998

Nemiroski A., Christodouleas D. C., Hennek J. W., Kumar A. A., Maxwell E. J., Fernández-Abedul M. T., Whitesides G. M., Universal mobile electrochemical detectors designed for use in resource-limited applications, Proceedings of the National Academy of Sciences, 111, 2014, 11984-11989

Prutchi David, Exploring Ultraviolet Photography, Recorded Books, 2016

Quagliano J. M., Marks C. A., Demystifying spectroscopy with secondary students: Designing and using a custom-built spectrometer, Journal of Chemical Education, 90, 2013, 1409–1410

Ragain J. C., A review of color science in dentistry: Colorimetry and color space, Journal of Dentistry, Oral Disorders & Therapy, 2016

Rasooly E. A., Herold K. E., Mobile Health Technologies: Methods and Protocols, Humana Press, 2015, 511

Rateni G., Dario P., Cavallo F., Smartphone-based food diagnostic technologies: A Review, Sensors (Basel), 17, 2017, 1453

RGB color model (Πηγή: Wikipedia) https://en.wikipedia.org/wiki/ RGB_color_model

Rhyne T. M., Applying color theory to digital media and visualization, CRC Press, Taylor Francis Group, Boca Raton, 2017

Roda A., Michelini E., Cevenini L., Calabria D., Calabretta M. M., Simoni P., Integrating bio-chemiluminescence detection on smartphones: mobile chemistry platform for point-of-need analysis, Analytical Chemistry, 86, 2014, 7299–7304

Rohit, Kanwar L., Rao K. K., Development of a low-cost portable colorimeter for the estimation of fluoride in drinking water, Sensors and Actuators B: Chemical, 149, 2010, 245–251

Sia S. K., Linder V., Parviz B. A., Siegel A., Whitesides G. M., An integrated approach to a portable and low-cost immunoassay for resource-poor settings, Angewandte Chemie International Edition, 43, 2004, 498–502

Stulik D. C., Kaplan A., The atlas of analytical signatures of photographic processes, The Getty Conservation Institute, Los Angeles USA, 2013

Sumriddetchkajorn S., Chaitavon K., Intaravanne Y., Mobile-platform based colorimeter for monitoring chlorine concentration in water, Sensors and Actuators B: Chemical, 191, 2014, 561–566

Suzuki Y., Endo M., Jin J., Iwase K., Iwatsuki M., Tristimulus colorimetry using a digital still camera and its application to determination of iron and residual chlorine in water samples, Analytical Sciences, 22, 2006, 411

Tohda K., Gratzl M., Micro-miniature autonomous optical sensor array for monitoring ions and metabolites, Analytical Sciences, 22, 2006, 937

Torres A. R., Lyra W. S., Evangelista S. I., Andrade R. A. N., da Silva E. C., Araujo M. C. U., Gaiao E. N., A digital image-based method for determining of total acidity in red wines using acid-base titration without indicator, Talanta, 84, 2011, 601

Turner J., Parisi A. V., Downs N., Lynch M., From ultraviolet to Prussian blue: a spectral response for the cyanotype process and a safe educational activity to explain UV exposure for all ages, Photochemical and Photobiological Sciences, 13, 2014, 1753-1764

Walker F. M., Ahmad K. M., Eisenstein M., Soh H. T., Transformation of personal computers and mobile phones into genetic diagnostic systems, Analytical Chemistry, 86, 2014, 9236-9241

Wargocki P., Deng W., Anwer A. G., Goldys E. M., Medically relevant assays with a simple smartphone and tablet based fluorescence detection system, Sensors, 5, 2015, 11653-11664

Wei Q., Nagi R., Sadeghi K., Feng S., Yan E., Ki S. J., Caire R., Tseng D., Ozcan A., Detection and spatial mapping of mercury contamination in water samples using a smart-phone, ACS Nano, 8, 2014, 1121–1129

Wilkes T.C., McGonigle A.J.S, Pering T.D., Taggart A. J., White B. S., Bryant R. G., Willmott J. R., Ultraviolet imaging with low cost smartphone sensors: Development and application of a raspberry Pi-Based UV camera, Sensors, 16, 2016, 1649

Zhang C., Suslick S., A colorimetric sensor array for organics in water, Journal of the American Chemical Society, 127, 2005, 11548 **Zhu H., Yaglidere O., Su T. W., Tseng D., Ozcan A.**, Cost-effective and compact wide-field fluorescent imaging on a cell-phone, Lab on a Chip, 11, 2011, 315-322

Θεμελής Δ. Γ., Ζώτου Α. Σ., Αναλυτική Χημεία, εκδόσεις Ζήτη, 2017, 393-409

Μέτρηση του χρώματος (Πηγή: Αποθετήριο «Κάλλιπος») https://repository.kallipos.gr/bitstream/11419/834/1/02%20chapter%201 4.pdf

Φως (Πηγή: Wikipedia) https://el.wikipedia.org/wiki/%CE%A6%CF%89% CF%82

Χρωματικά μοντέλα (Πηγή: Wikipedia) https://el.wikipedia.org/wiki/%CE %A7%CF%81%CF%89%CE%BC%CE%B1%CF%84%CE%B9%CE%BA%C E%AC%CE%BC%CE%BF%CE%BD%CF%84%CE%AD%CE%BB%CE%B1

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ





Συγκεντρωση του δείκτη cresol red (% w/v)

Διάγραμμα 1





Διάγραμμα 2

Διάγραμμα 1-2: Αραιώσεις στις συγκεντρώσεις των αλάτων σιδήρου και επικάλυψη με εμβάπτισμα (διάγραμμα 1) και επικάλυψη με πινέλο (διάγραμμα 2)











Διάγραμμα 4

ΑΠΟΣΤΑΣΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΑΠΟ ΤΗΝ ΠΗΓΗ ΦΩΤΟΣ



Διάγραμμα 5



ΧΡΟΝΟΣ ΕΚΘΕΣΗΣ ΤΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΣΕ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑ UV

Διάγραμμα 6

Διαγράμματα 3-6: Βελτιστοποιήσεις των πειραματικών συνθηκών για την παρακεταμόλη (Red area)





Διάγραμμα 7



ΕΝΤΑΣΗ ΕΚΘΕΣΗΣ ΤΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΣΕ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑ UV

Διάγραμμα 8

ΑΠΟΣΤΑΣΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΑΠΟ ΤΗΝ ΠΗΓΗ ΦΩΤΟΣ



Διαγράμματα 7-10: Βελτιστοποιήσεις των πειραματικών συνθηκών για την ινδομεθακίνη (Red area)





Διάγραμμα 12

ΑΠΟΣΤΑΣΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΑΠΟ ΤΗΝ ΠΗΓΗ ΦΩΤΟΣ





0

10

Διάγραμμα 14

Διαγράμματα 11-14: Βελτιστοποιήσεις των πειραματικών συνθηκών για την βανιλίνη (Red area)

ΟΓΚΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΣΤΟ ΜΙΚΡΟΠΛΑΚΙΔΙΟ



Διάγραμμα 15



ΑΠΟΣΤΑΣΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΑΠΟ ΤΗΝ ΠΗΓΗ ΦΩΤΟΣ

Διάγραμμα 16

ΧΡΟΝΟΣ ΕΚΘΕΣΗΣ ΤΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΣΕ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑ UV



Διαγράμματα 15-17: Βελτιστοποιήσεις των πειραματικών συνθηκών για την πρωτεΐνη BSA (θολωσιμετρία)(Red area)

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Αυτή η μεταπτυχιακή διατριβή παρουσιάζει τον επαναπροσδιορισμό της ιστορικής φωτογραφίας για να καταστεί δυνατή η φωτομετρική ανάλυση υψηλής ποιότητας και απόδοσης στην περιοχή UV του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος, χρησιμοποιώντας φθηνά υλικά. Η τεχνική βασίζεται στην ευθυγράμμιση μιας πηγής υπεριώδους ακτινοβολίας, ενός μικροπλακιδίου που λειτουργεί ως υποδοχέας δείγματος και ενός φωτοευαίσθητου χαρτιού (φωτογραφικό χαρτί). Όταν το δείγμα φωτίζεται από την πηγή, απορροφά ένα μέρος της προσπίπτουσας ακτινοβολίας. Έπειτα, η εκπεμπόμενη ακτινοβολία φτάνει στην επιφάνεια του φωτογραφικού χαρτιού και προκαλεί αναγωγή της φωτοευαίσθητης επικάλυψής του με τρόπο ανάλογο της έντασης ακτινοβολίας αυτής. ποικιλία προσδιορισμών της Міа πραγματοποιήθηκε για να αποδειχθεί ότι η φωτογραφική φωτομετρία μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε ένα ευρύ φάσμα κλινικών, περιβαλλοντικών και χημικών αναλύσεων και είναι άμεσα συγκρίσιμη με την κοινή φωτομετρία. Η ικανότητα να εκτελούνται ακριβείς μετρήσεις απορρόφησης σε υγρά δείγματα στην περιοχή UV σε μικροπλακίδια, με χαμηλό κόστος και χωρίς τη χρήση ακριβών ενόργανων ανιχνευτών (όπως τα φωτόμετρα μικροπλακών) διεκολύνει τις αναλύσεις τόσο σε συνθήκες περιορισμένων πόρων όσο και σε καλά εξοπλισμένα εργαστήρια.

ABSTRACT

This work demonstrates that historical photography can be repurposed to enable high quality and high throughput photometric analysis in the ultraviolet region of the electromagnetic spectrum, using inexpensive and ubiquitous materials. The configuration is based on the alignment of a narrowband UV light source, a microtitter plate as sample holder and a photosensitive paper (photographic paper). When the sample are illuminated by the UV light source it absorbs part of the incident irradiation while the transmitted irradiation reaches the surface of the photographic paper and reduces its photosensitive coating in a manner analogous to the intensity of the transmitted irradiation. A variety of assays were used to demonstrate that photographic photometry can be used in a broad range of clinical, environmental, and chemical analyses that is directly comparable with standard photometry. The capability to perform accurate measurements of absorbance on liquid samples in the UV region in a high throughput format (i.e. microtitter plates), at low cost and without expensive instrumental detectors (such as microplate photometers) would expand analytical testing in resource-limited settings and point-of-need applications, which are typically in well-equipped laboratories.