



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ

ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ

ΤΟΜΕΑΣ ΑΝΟΡΓΑΝΗΣ ΚΑΙ ΑΝΑΛΥΤΙΚΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΑΝΑΛΥΤΙΚΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ

**"ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΜΗ ΕΝΟΡΓΑΝΗΣ ΤΕΧΝΙΚΗΣ ΦΩΤΟΜΕΤΡΙΚΩΝ ΑΝΑΛΥΣΕΩΝ
ΣΤΗΝ ΠΕΡΙΟΧΗ ΤΟΥ ΥΠΕΡΙΩΔΟΥΣ ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΦΩΤΟΓΡΑΦΙΚΩΝ
ΤΕΧΝΙΚΩΝ ΑΠΟΤΥΠΩΣΗΣ"**

ΤΖΩΚΑ Ι. ΣΤΕΦΑΝΙΑ

ΧΗΜΙΚΟΣ

Μεταπτυχιακή Διατριβή

Ιωάννινα

Ιούνιος, 2019

© 2019 Τζώκα Στεφανία

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 κας. Τζώκα Στεφανίας : 31-05-2019

Επιβλέπων μέλος ΔΕΠ: Καθηγητής, Αθανάσιος Γ. Βλεσσίδης

**Θέμα: "ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΜΗ ΕΝΟΡΓΑΝΗΣ ΤΕΧΝΙΚΗΣ ΦΩΤΟΜΕΤΡΙΚΩΝ ΑΝΑΛΥΣΕΩΝ
ΣΤΗΝ ΠΕΡΙΟΧΗ ΤΟΥ ΥΠΕΡΙΩΔΟΥΣ ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΦΩΤΟΓΡΑΦΙΚΩΝ ΤΕΧΝΙΚΩΝ
ΑΠΟΤΥΠΩΣΗΣ"**

ΟΡΙΣΜΟΣ ΤΡΙΜΕΛΟΥΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ από τη Γ.Σ.Ε.Σ.: 1001/21-06-2019

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

Έγκριση Μεταπτυχιακής Διατριβής στις

Η Πρόεδρος του Τμήματος Χημείας

Η Γραμματέας του Τμήματος

Καθηγήτρια, Μαρία Λουλούδη

Ξανθή Τουτουνζόγλου

Αφιερώνεται στην οικογένειά μου...

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα εργασία για την απόκτηση του Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης (Μ.Δ.Ε.) στην εξειδίκευση: «ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗ ΣΤΙΣ ΧΗΜΙΚΕΣ ΚΑΙ ΒΙΟΧΗΜΙΚΕΣ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΕΣ ΣΤΗΝ ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗ ΑΝΑΛΥΤΙΚΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΧΗΜΕΙΑΣ ΚΑΙ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ» εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Αναλυτικής Χημείας στα πλαίσια του αναμορφωμένου Π.Μ.Σ. του Τμήματος Χημείας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.

Σκοπός της εργασίας είναι η περιγραφή μιας απλής και οικονομικά αποδοτικής μεθόδου για την εκτέλεση φωτομετρικών μετρήσεων στην περιοχή UV και ορατού, του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος χωρίς ενόργανους ανιχνευτές. Η μέθοδός μας βασίζεται στον επαναπροσδιορισμό των αρχών της πρώτης φωτογραφίας για την εφαρμογή των μετρήσεων απορρόφησης UV μέσω της προσαρμοστικής χρήσης φωτοχημικώς ευαίσθητου (φωτογραφικού) χαρτιού ως ανιχνευτή. Η εφαρμογή αυτής της προσέγγισης, αξιολογήθηκε σε διαφορετικές μεθόδους για τον προσδιορισμό μεγάλου φάσματος αναλυτών περιβαλλοντικού, βιολογικού και τροφικού ενδιαφέροντος.

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

Θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερα τον επιβλέποντα μου Καθηγητή Δρ. Βλεσσίδη Αθανάσιο, για την καθοδήγηση και τις ανεκτίμητες συμβουλές του σε θεωρητικό και πειραματικό επίπεδο κατά τη διάρκεια της συμμετοχής μου στην ερευνητική του ομάδα.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερα τον Επίκουρο Δρ. Δημοσθένη Γκιώκα για την πολύτιμη βοήθεια και τις συμβουλές του στην επίλυση διάφορων προβλημάτων κατά την πειραματική διαδικασία, καθώς και για τις εύστοχες παρατηρήσεις του στο κείμενο της παρούσας εργασίας όπως επίσης και τον Αναπληρωτή Δρ. Γεράσιμο Μαλανδρίνο ως μέλος της τριμελούς επιτροπής και για την ηθική συμπαράσταση που μου προσέφερε.

Θερμές ευχαριστίες οφείλω στον Δρ. Γεώργιο Τσόγκα, στη διδακτορική φοιτήτρια Χολέβα Τατιάνα και στους μεταπτυχιακούς φοιτητές Γιαννούλα Γεώργιο,

Βοτάνη Αλεξία και Κωσταρά Αναστασία για την αμέριστη βοήθεια και συμπαράσταση καθώς και την άριστη συνεργασία που μου προσέφεραν.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω τους γονείς μου Γιάννη και Δήμητρα, που με υπομονή και κουράγιο πρόσφεραν την απαραίτητη συμπαράσταση για την ολοκλήρωση της μεταπτυχιακής μου εργασίας.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΠΡΩΤΟ: ΤΟ ΧΡΩΜΑ-ΧΡΩΜΑΤΟΜΕΤΡΙΑ

1.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	3
1.1.1 ΤΟ ΦΩΣ ΩΣ ΗΛΕΚΤΡΟΜΑΓΝΗΤΙΚΗ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑ.....	3
1.1.2 ΤΟ ΦΑΣΜΑ ΤΗΣ ΗΛΕΚΤΡΟΜΑΓΝΗΤΙΚΗΣ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑΣ.....	4
1.2 ΧΡΩΜΑ: ΙΣΤΟΡΙΑ-ΟΡΙΣΜΟΣ.....	5
1.2.1 ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ.....	5
1.2.2 ΟΡΙΣΜΟΣ.....	6
1.3 Η ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΦΩΤΟΣ ΜΕ ΤΗΝ ΥΛΗ.....	8
1.3.1.1 ΤΟ ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ.....	8
1.3.1.2 ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΧΡΩΜΑΤΟΣ.....	10
1.3.2 ΦΩΤΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΧΡΩΜΑ.....	12
1.3.3 ΠΑΡΑΤΗΡΗΤΗΣ.....	15
1.4 ΟΡΙΣΜΟΣ ΧΡΩΜΑΤΟΜΕΤΡΙΑΣ.....	16
1.4.1 ΤΟ ΠΡΟΤΥΠΟ ΧΡΩΜΑΤΟΜΕΤΡΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ RGB ΤΗΣ CIE, 1931.....	17
1.4.2 ΤΟ ΠΡΟΤΥΠΟ ΧΡΩΜΑΤΟΜΕΤΡΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ CMYK.....	18
1.4.3 ΤΟ ΠΡΟΤΥΠΟ ΧΡΩΜΑΤΟΜΕΤΡΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ X, Y, Z.....	18
1.4.4 ΔΙΣΔΙΑΣΤΑΤΟ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ ΧΡΩΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑΣ X, Y.....	19
1.4.5 ΧΡΩΜΑΤΙΚΟ ΜΟΝΤΕΛΟ CIELAB.....	20
1.4.6 ΤΟ ΧΡΩΜΑΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ MUNSELL.....	21

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΔΕΥΤΕΡΟ: ΦΩΤΟΓΡΑΦΙΑ ΚΑΙ ΕΝΟΡΓΑΝΗ ΜΕΤΡΗΣΗ ΧΡΩΜΑΤΟΣ

2.1 ΦΩΤΟΓΡΑΦΙΑ.....	25
2.1.1 ΚΑΜΕΡΑ OBSCURA.....	25
2.1.2 ΧΗΜΙΚΗ ΦΩΤΟΓΡΑΦΙΑ.....	27

2.1.3 Η ΧΗΜΕΙΑ ΤΗΣ ΦΩΤΟΓΡΑΦΙΑΣ.....	27
2.1.4 ΤΑ ΜΕΡΗ ΤΗΣ ΦΩΤΟΓΡΑΦΙΑΣ.....	28
2.1.5 ΦΩΤΟΕΥΑΙΣΘΗΤΑ ΑΛΑΤΑ ΑΡΓΥΡΟΥ.....	29
2.1.6 ΥΛΙΚΑ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ.....	29
2.1.7 ΣΤΕΡΕΩΤΙΚΑ.....	29
2.1.8 ΣΥΝΤΗΡΗΤΙΚΟ ΤΩΝ ΑΝΑΓΩΓΙΚΩΝ ΜΕΣΩΝ.....	30
2.2 ΕΝΟΡΓΑΝΗ ΜΕΤΡΗΣΗ ΧΡΩΜΑΤΟΣ.....	30
2.2.1 ΨΗΦΙΑΚΗ ΕΙΚΟΝΑ.....	30
2.2.2 ΣΥΛΛΗΨΗ ΨΗΦΙΑΚΗΣ ΕΙΚΟΝΑΣ.....	31
2.2.3 ΣΑΡΩΤΗΣ.....	32

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΡΙΤΟ: ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

3.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	35
3.1.1 ΑΝΑΓΚΗ ΧΡΗΣΗΣ ΑΝΙΧΝΕΥΤΩΝ ΧΑΜΗΛΟΥ ΚΟΣΤΟΥΣ.....	36
3.2 ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ.....	40
3.3 ΠΡΑΓΜΑΤΙΚΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ.....	41
3.4 ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ.....	41
3.5 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΠΟΡΕΙΑ.....	43

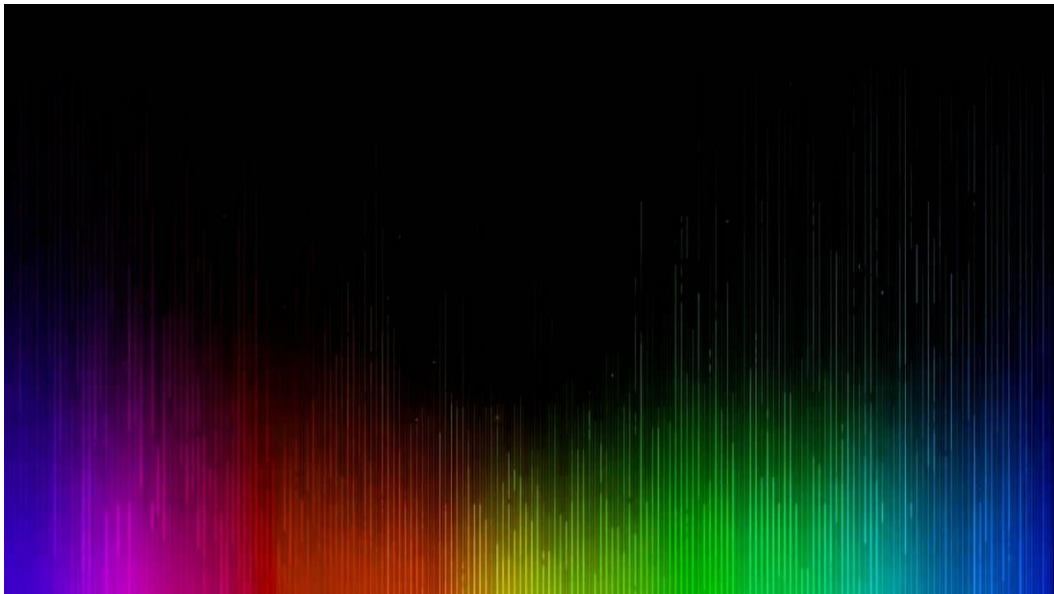
ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΕΤΑΡΤΟ: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

4.1 ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΥΠΕΡΙΩΔΟΥΣ ΦΩΤΟΜΕΤΡΙΚΗΣ ΦΩΤΟΓΡΑΦΙΑΣ.....	51
4.2 ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΩΝ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ ΤΩΝ ΣΥΣΚΕΥΩΝ.....	52
4.3 ΦΑΣΜΑΤΙΚΗ ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ ΤΩΝ ΕΠΙΚΑΛΥΨΕΩΝ ΦΩΤΟΓΡΑΦΙΚΟΥ ΧΑΡΤΙΟΥ.....	55
4.4 ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΜΕΤΡΗΣΕΩΝ ΜΕΤΑΞΥ ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗΣ ΚΑΙ ΦΩΤΟΓΡΑΦΙΚΗΣ ΦΩΤΟΜΕΤΡΙΑΣ.....	56

4.5 ΕΠΙΔΕΙΞΗ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ ΦΩΤΟΓΡΑΦΙΚΗΣ ΦΩΤΟΜΕΤΡΙΑΣ ΣΕ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗ, ΒΙΟΧΗΜΕΙΑ ΚΑΙ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΡΟΦΙΜΩΝ.....	58
4.6 ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΦΩΤΟΓΡΑΦΙΚΗΣ ΦΩΤΟΜΕΤΡΙΑΣ ΥΠΟ ΟΡΑΤΟ ΦΩΣ.....	67
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	69
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	70
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	79
ABSTRACT.....	81

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΠΡΩΤΟ

ΤΟ ΧΡΩΜΑ- ΧΡΩΜΑΤΟΜΕΤΡΙΑ



1.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1.1 ΤΟ ΦΩΣ ΩΣ ΗΛΕΚΤΡΟΜΑΓΝΗΤΙΚΗ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑ

Η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία είναι μορφή ενέργειας, η οποία έχει ιδιότητες σωματιδίου και κύματος. Τα φαινόμενα της διάθλασης, ανάκλασης και συμβολής αποτελούν παραδείγματα των κυματικών ιδιοτήτων της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας. Επιπρόσθετα η εξήγηση του φωτοηλεκτρικού φαινομένου από τον Einstein, στηρίζεται στη σωματιδιακή φύση της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας. Συνεπώς γίνεται φανερό ότι η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία έχει δυική φύση. (Rescok et.al., 1980)

Η φύση της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας

A) Η κυματική φύση της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας.

Το ηλεκτρομαγνητικό κύμα έχει μία ηλεκτρική και μία μαγνητική συνιστώσα (Σχήμα 1.1), οι οποίες ταλαντώνονται σε κάθετα επίπεδα μεταξύ τους, αλλά και κάθετα προς τη διεύθυνση διάδοσης της ακτινοβολίας.

Κύρια χαρακτηριστικά της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας είναι το μήκος κύματος λ και η συχνότητα της ακτινοβολίας ν η οποία είναι ίδια για κάθε μέσο. Τα δύο αυτά αριθμητικά μεγέθη συνδέονται με την ταχύτητα του φωτός c , με τη παρακάτω σχέση:

$$\lambda \nu = c/n$$

Όπου c η ταχύτητα του φωτός στο κενό (3×10^{10} cm/sec) και n ο δείκτης διάθλασης του μέσου διάδοσης της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας. η ταχύτητα και το μήκος κύματος της διαφέρουν από μέσο σε μέσο. (Ditchburn R.W., 1991)

B) Η σωματιδιακή φύση του φωτός

Μία δέσμη φωτός μπορεί επίσης να θεωρηθεί ως μία ροή φωτονίων. Η ενέργεια κάθε φωτονίου είναι ανάλογη με τη συχνότητα της ακτινοβολίας και δίνεται από τη σχέση:

$$E=h\nu$$

Όπου E η ενέργεια του φωτονίου,

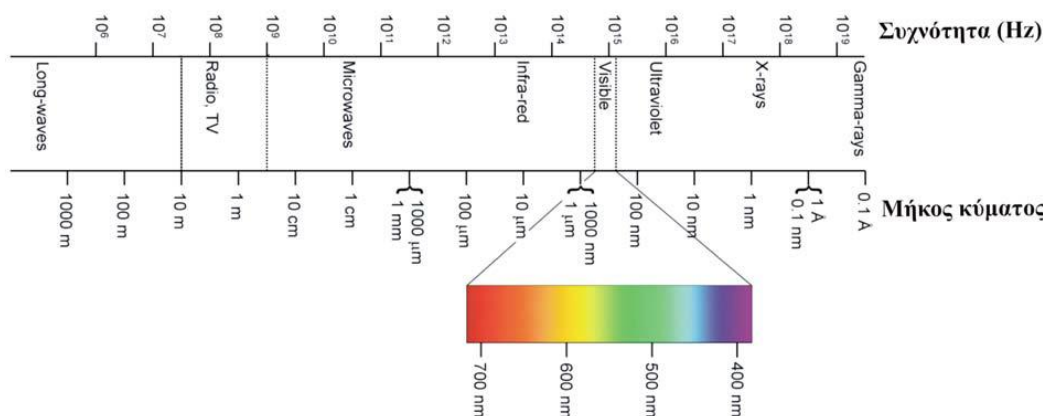
ν η συχνότητα του φωτονίου,

και h η σταθερά του Planck= 6.624×10^{-27} erg.sec

Σημειώνεται ότι η ένταση μιας φωτεινής δέσμης είναι ανάλογη του αριθμού και ανεξάρτητη της ενέργειας των φωτονίων.

1.1.2 ΤΟ ΦΑΣΜΑ ΤΗΣ ΗΛΕΚΤΡΟΜΑΓΝΗΤΙΚΗΣ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑΣ

Η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία ποικίλλει, από τις υψηλής ενέργειας ακτίνες γάμμα μέχρι τα χαμηλής ενέργειας ραδιοκύματα. Η έκταση αυτή της ακτινοβολίας ονομάζεται ηλεκτρομαγνητικό φάσμα. Ο ανθρώπινος οφθαλμός είναι ευαίσθητος σε ηλεκτρομαγνητικές ακτινοβολίες με μήκη κύματος από 380nm έως 780nm συγκεκριμένα. Γι' αυτό το λόγο η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία αυτής της περιοχής μηκών κύματος ονομάζεται ορατή ακτινοβολία ή φως. Η ορατή περιοχή του φάσματος διακρίνεται σε περιοχές οι οποίες εάν απομονωθούν κάθε μία ξεχωριστά, προκαλεί έναν ερεθισμό διαφορετικού χρώματος στον ανθρώπινο οφθαλμό. (Boni M. and Wolf E., 1991)

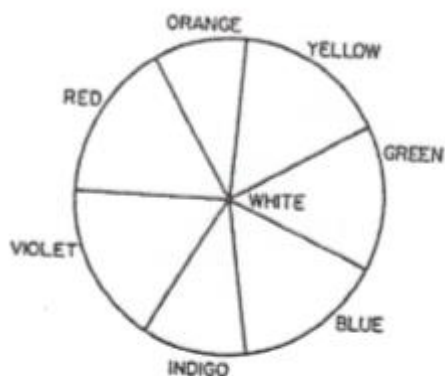


Σχήμα 1.1 Το ηλεκτρομαγνητικό φάσμα (Halliday and Resnick, 1961, Μερτίκας, 1999).

1.2 ΧΡΩΜΑ: ΙΣΤΟΡΙΑ- ΟΡΙΣΜΟΣ

1.2.1 ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ

Ο Πλάτωνας (428-348 π. Χ) υποστήριζε ότι ο άνθρωπος δεν θα είναι ποτέ σε θέση να εξηγήσει από τι είναι φτιαγμένο το χρώμα. Ο Αριστοτέλης (348-322 π.Χ.) είχε την άποψη ότι το φως καθώς αλληλεπιδρά με την ύλη γίνεται σκούρο ή ανοιχτό δηλαδή το χρώμα που βλέπουμε αποτελεί μίγμα του λευκού και του μαύρου. Ο Νεύτωνας (1642-1727) πρώτος απέδειξε ότι το φως αναλύεται σε επτά επιμέρους χρώματα, το γνωστό σε όλους φάσμα (spectrum). Επομένως κατά τον Νεύτωνα, «το φως είναι ένα ετερογενές μίγμα ακτινών που διαθλώνται με διαφορετικό τρόπο». Το φάσμα περιλαμβάνει επτά κύρια χρώματα: κόκκινο (red), πορτοκαλί (orange), κίτρινο (yellow), πράσινο (green), μπλε (blue), μοβ (indigo) και ιώδες (violet). Ο ίδιος εξέφρασε την άποψη ότι στο φάσμα υπάρχουν περισσότερα χρώματα από αυτά τα επτά τα οποία μπορεί να παράγονται από το συνδυασμό αυτών, του λευκού και του μαύρου. Ο Νεύτωνας παριστάνει τα χρώματα του φάσματος πάνω σε ένα κύκλο, όπου το κέντρο του κύκλου είναι το λευκό. (Εικόνα 1.1)



Εικόνα 1.1 : Ο κύκλος χρωμάτων του Νεύτωνα

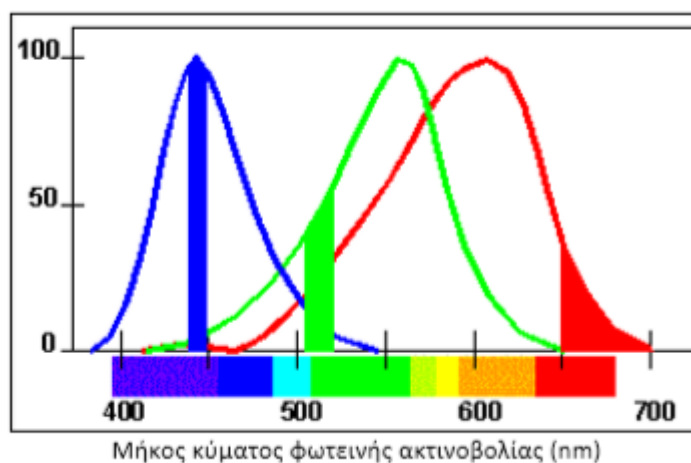
1.2.2 ΟΡΙΣΜΟΣ

Όπως αναφέρθηκε στα προηγούμενα, το φυσικό αίτιο που προκαλεί την αντίληψη του χρώματος είναι τα διαφορετικά μήκη κύματος της φωτεινής ακτινοβολίας που περιέχονται στο ορατό φάσμα. Τα μεγαλύτερα μήκη κύματος αντιστοιχούν στο κόκκινο και τα μικρότερα στο ιώδες. Για τον λόγο αυτό οι ακτινοβολίες αμέσως πάνω από τα όρια του ορατού φάσματος λέγονται υπέρυθρες, ενώ εκείνες που βρίσκονται κάτω από τα όρια του ορατού φάσματος υπεριώδεις.

Το χρώμα περιέχει μία έννοια για την οποία μέχρι και σήμερα είναι δύσκολο να δοθεί ακριβής ορισμός. Για μερικούς αποτελεί τον τρόπο με τον οποίο ο άνθρωπος αντιλαμβάνεται και διαχωρίζει για παράδειγμα το κόκκινο από το πράσινο. Μια άλλη εκδοχή της έννοιας του χρώματος σύμφωνα με τους Billmeyer and Saltzman (Billmeyer F.W. & Saltzman JrM., 1981), χρώμα είναι αυτό που βλέπουμε, δηλαδή το αποτέλεσμα της φυσικής μετατροπής του φωτός όπως παρατηρείται από το ανθρώπινο μάτι και μεταφράζεται από το μυαλό μας.

Η έννοια του χρώματος μπορεί να αναλυθεί σε τρία τουλάχιστον διακριτά σημεία. Πρώτον υποδηλώνει μία ιδιότητα ενός αντικειμένου. Δεύτερον, αναφέρεται σε μία χαρακτηριστική και συγκεκριμένη ακτινοβολία του φωτός, π.χ. το πράσινο χρώμα του γρασιδιού αποτελεί το τμήμα της ακτινοβολίας που ανακλάται από την επιφάνειά του. Τρίτον, προσδιορίζει τον τρόπο αντίληψης καθώς το ανθρώπινο μυαλό ερμηνεύει την ακτινοβολία, η οποία ανακλάται από μία επιφάνεια και λαμβάνεται από το ανθρώπινο μάτι.

Στον αμφιβληστροειδή του ανθρώπινου ματιού, υπάρχουν δύο ειδών κύτταρα ευαίσθητα στο φως, οι ράβδοι και οι κώνοι. Οι ράβδοι μετράνε την ποσότητα του φωτός που φτάνει στο μάτι, δεν έχουν όμως ευαισθησία στο χρώμα, οπότε μόνο με αυτά θα βλέπαμε σε άσπρο μαύρο. Από την άλλη, οι κώνοι δίνουν την αίσθηση των χρωμάτων μας, από τους οποίους άλλοι έχουν ευαισθησία στο κόκκινο (Red), άλλοι στο πράσινο (Green) και άλλοι στο μπλε (Blue), σύμφωνα με το παρακάτω διάγραμμα (Σχήμα 1.2). (Hutchings B.J., 1994, Cornelius L., 2001)



Σχήμα 1.2: Ευαισθησία κώνων ανάλογα με το μήκος κύματος της ακτινοβολίας

Στον πίνακα παρουσιάζεται η κατανομή του φάσματος της ορατής ακτινοβολίας με τις βασικές χρωματικές αποχρώσεις τις οποίες αντιλαμβάνεται το ανθρώπινο μάτι.

Πίνακας 1.1: Το χρώμα που αντιλαμβάνεται το ανθρώπινο μάτι σε αντιστοιχία με μήκη κύματος και συχνότητες φωτεινής ακτινοβολίας.

Χρώμα	Μήκος κύματος	Συχνότητα
Κόκκινο	~700-630~	430-480 THz
Πορτοκαλί	~630-590~	480-510 THz
Κίτρινο	~590-560~	510-540 THz
Πράσινο	~560-490~	540-610 THz
Μπλε	~490-450~	610-670 THz
Ιώδες	~450-400~	670-750 THz

Πηγή: Craig F. Bohren, 2006

1.3 Η ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΦΩΤΟΣ ΜΕ ΤΗΝ ΥΛΗ

Για να γίνει αντιληπτό το χρώμα χρειάζεται ταυτόχρονα να υπάρχουν οι τρεις παρακάτω παράγοντες (HunterLab, 2000, Cornelius, 2001):

- 1) Ένα αντικείμενο (Object)
- 2) Μια φωτεινή πηγή (Light) με την οποία παρατηρούμε το υλικό,
- 3) Ένας παρατηρητής (Observer)

ο οποίος καταγράφει το χρώμα υποκειμενικά, ή μια συσκευή μέτρησης του χρώματος που θεωρείται και αντικειμενικός παρατηρητής.

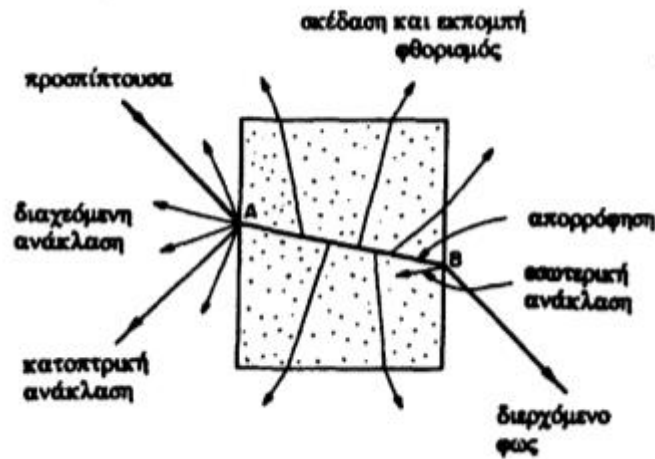
Επομένως χρώμα δεν μπορεί να υπάρξει χωρίς έναν από τους παραπάνω τρεις παράγοντες οι οποίοι θα αναλυθούν πιο κάτω.

1.3.1.1 ΤΟ ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ

Όταν το φως προσπίπτει στην επιφάνεια του υλικού, ένα μέρος αυτού ανακλάται και το υπόλοιπο διαχέεται στο υλικό. Εάν το προσπίπτον φως ανακλάται εξ ολοκλήρου στο υλικό, το χρώμα του υλικού θα είναι το ίδιο με αυτό του προσπίπτοντος φωτός. Εάν το υλικό απορροφά όλα τα μήκη κύματος του προσπίπτοντος φωτός, τότε αυτό θα φαίνεται μαύρο. Μεταξύ αυτών των δυο ακραίων καταστάσεων συγκαταλέγεται όλη η κλίμακα των χρωμάτων, η οποία εξαρτάται από την αναλογία των μηκών κύματος του φωτός που απορροφούνται από την ύλη.

Με τον όρο ανάκλαση εννοούμε τη διαχυτική και την κατοπτρική ανάκλαση ενώ σκέδαση του φωτός από την επιφάνεια ενός υλικού, τη διαχυτική ανάκλαση προς όλες τις κατευθύνσεις.

Όταν η επιφάνεια είναι ανώμαλη, τότε προκύπτει το φαινόμενο της διαχυτικής ανάκλασης (diffuse reflection). Όταν η επιφάνεια του υλικού είναι πολύ λεία, τότε προκύπτει το φαινόμενο της κατοπτρικής ανάκλασης (specular reflection). Σε μία συνήθη επιφάνεια της ύλης το φως ανακλάται και με τους δυο τρόπους. Εντούτοις όσο περισσότερο ανώμαλη είναι η επιφάνεια, τόσο μειώνεται η κατοπτρική ανάκλαση και αυξάνεται η διαχεόμενη ανάκλαση.



Εικόνα 1.2 : Διάφορες μορφές της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας όταν διαπερνά μία ημιπερατή χημική ουσία. (Kurt Nassau, 1983)

Τα αντικείμενα διαχωρίζονται σε *διαφανή*, *ημιδιαφανή* και *αδιαφανή* και επομένως το φως συμπεριφέρεται διαφορετικά σε κάθε περίπτωση. Όταν το φως διαπερνάται από ένα λευκό-άχρωμο αντικείμενο και ανακλάται προς το ανθρώπινο μάτι, δεν υπάρχει συνήθως αλλαγή στο χρώμα. Τα *διαφανή* υλικά απορροφούν ένα μέρος του φωτός και το υπόλοιπο περνάει διαμέσου αυτών. Τέτοια υλικά μπορεί να είναι για παράδειγμα έγχρωμα γυαλιά, πλαστικά, βερνίκια, και φίλτρα. Στα *διαφανή* κατατάσσονται και τα έγχρωμα υγρά και διαλύματα. Όταν έχουμε *ημιδιαφανές* υλικό, ένα μέρος του διαχεόμενου φωτός στην ύλη πιθανότατα μπορεί να προκαλέσει εσωτερική ανάκλαση (internal reflection) και να εξέλθει του υλικού (light transmitted). Κατά συνέπεια αποτελούν την πλέον «προβληματική» κατηγορία υλικών, όταν μετρούμε, συγκρίνουμε ή αναπαράγουμε μια απόχρωσή τους. Τα *αδιαφανή* υλικά απορροφούν ένα μέρος του φωτός και ανακλούν το υπόλοιπο. Για παράδειγμα ένα πορτοκαλί αντικείμενο στο οποίο διαχέεται φωτεινή πηγή λευκού φωτός, απορροφά όλα τα χρώματα του φάσματος εκτός από μία περιοχή γύρω στα 600 nm όπου η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία ανακλάται με αποτέλεσμα να γίνεται αντιληπτή ως «πορτοκαλί» χρώμα από τον άνθρωπο.

Τα αντικείμενα μπορούν να χαρακτηριστούν από την ποσότητα του φωτός το οποίο ανακλούν σε διαφορετικά μήκη κύματος του ορατού φάσματος. Η ανακλώμενη ακτινοβολία χαρακτηρίζεται με τον αριθμό 0 για την τέλεια

απορρόφηση (μηδενική ανάκλαση) και με τον αριθμό 1 για την τέλεια ανάκλαση (μηδενική απορρόφηση).

Διάφορα φαινόμενα είναι δυνατόν να συμβαίνουν κατά την αλληλεπίδραση της ύλης με το φως. Όταν ένα φωτόνιο απορροφάται, η ενέργεια που περιέχεται μπορεί να μεταδοθεί κάπου αλλού. Η ενέργεια που απορροφάται μπορεί να μετασχηματίζεται σε θερμότητα ή φθορισμό (fluorescence) που αποτελεί μία δευτερεύουσα εκπεμπόμενη ακτινοβολία σε μία χαμηλότερη στάθμη ενέργειας, π.χ. σε μεγαλύτερο μήκος κύματος. (Billmeyer F.W. & Saltzmann Jr.M., 1981).

Βεβαίως, υπάρχουν και δευτερεύοντες παράγοντες που διαφοροποιούν το παρατηρούμενο χρώμα, όπως η κατεύθυνση του φωτισμού και της παρατήρησης, η γυαλάδα της επιφάνειας και το φόντο που περιβάλλει το χρώμα.

1.3.1.2 ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΧΡΩΜΑΤΟΣ

Το πώς αντιλαμβανόμαστε το χρώμα εξαρτάται από το μήκος κύματος της ακτινοβολίας του ορατού φάσματος ή από τα μήκη κύματος διαφόρων ακτινοβολιών του ηλιακού φάσματος που φτάνουν στον οφθαλμό. Οπότε μια επιφάνεια παρουσιάζεται ως κόκκινη είτε όταν απορροφάται το συμπληρωματικό του χρώματος, στην προκειμένη περίπτωση πράσινο, και με την ανάκλαση των υπόλοιπων ακτινοβολιών του ορατού φάσματος δίνεται την αίσθηση του κόκκινου χρώματος (αφαιρετική μίξη) , είτε όταν απορροφούνται όλες οι ακτινοβολίες του φάσματος εκτός του κόκκινου, το οποίο ανακλώμενο δίνει στον οφθαλμό την αίσθηση του κόκκινου.

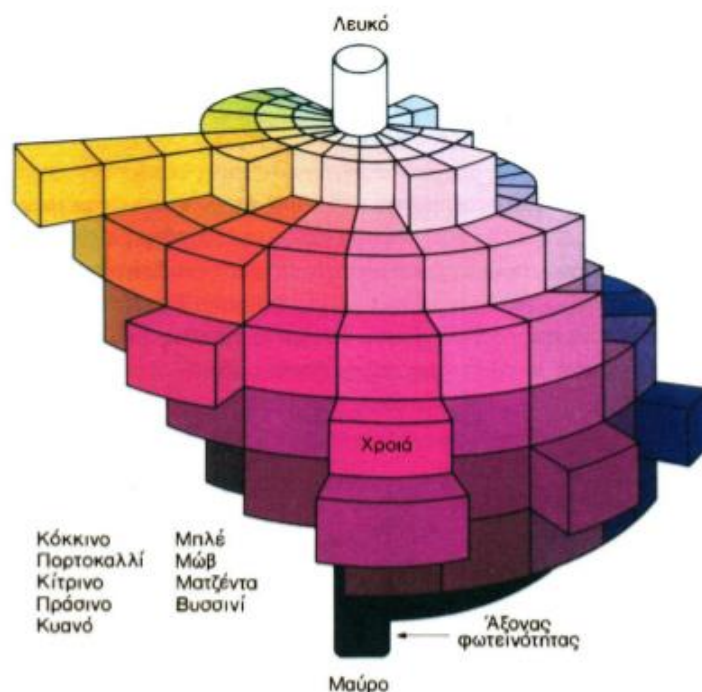
Με την βοήθεια των παρακάτω τριών ιδιοτήτων μπορεί να γίνει πιο σαφής χαρακτηρισμός του χρώματος:

α) τη φωτεινότητα (lightness) η οποία ξεχωρίζει το λευκό από το γκρι και μαύρο και επίσης δίνει την δυνατότητα να χαρακτηρίσουμε ένα χρώμα φωτεινό και σκούρο

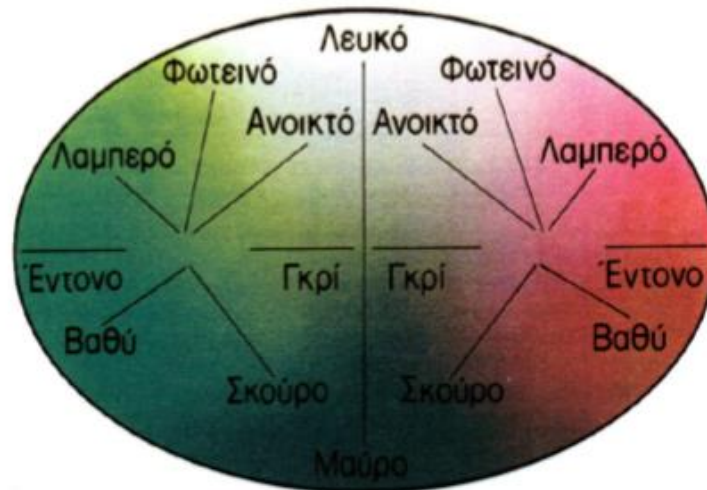
β) τη χροιά (hue) που αντιστοιχεί σε ένα συγκεκριμένο χρώμα για παράδειγμα πράσινο, κόκκινο κ.ά. και

γ) τον κορεσμό (chroma ή αλλιώς saturation) που δηλώνει τον τόνο (δύναμης) του χρώματος για παράδειγμα ανοικτό, ζωηρό, έντονο.

Κατά συνέπεια οι επιστήμονες μπόρεσαν να ταξινομήσουν, κατά προσέγγιση, τα χρώματα σε ένα σχήμα τρισδιάστατο. Στην εικόνα η χροιά και ο κορεσμός λαμβάνουν χώρα στον οριζόντιο άξονα ενώ η φωτεινότητα στον κάθετο. Επομένως για έναν ολοκληρωμένο χαρακτηρισμό ενός χρώματος απαιτούνται οι συντεταγμένες όλων των ιδιοτήτων, δηλαδή φωτεινότητας, κορεσμού αλλά και της χροιάς (Αντωνιάδης κ.ά., 2002).



Εικόνα 1.3: Τρισδιάστατη παρουσίαση των χρωμάτων με τη βοήθεια των τριών ιδιοτήτων τους, δηλαδή της χροιάς, της φωτεινότητας και του κορεσμού. (Αντωνιάδης κ.ά., 2002)



Εικόνα 1.4 : Σχέση φωτεινότητας και κορεσμού για την ίδια χροιά. (Αντωνιάδης κ.ά., 2002)

Όπως καταλαβαίνουμε ένα χρώμα μπορεί να χαρακτηριστεί με τα βασικά των χρωμάτων, με επίθετα αποχρώσεων όπως και επίθετα που μπορούν να δηλώσουν τον κορεσμό. Αυτό έχει ως συνέπεια να παρουσιάζεται κάποια δυσκολία στην περιγραφή ενός χρώματος και έτσι η περιγραφή αυτή να διαφέρει από άνθρωπο σε άνθρωπο. Η δυσκολία αυτή εξαιτίας της υποκειμενικής αντίληψης των χρωμάτων, κατέστησε αναγκαίο τον αντικειμενικό καθορισμό του χρώματος, ο οποίος πραγματοποιείται πλέον με την ενόργανη μέτρησή του.

1.3.2 ΦΩΤΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΧΡΩΜΑ

Η φωτεινή ακτινοβολία μπορεί να εκπέμπεται από διάφορες πηγές όπως τον ήλιο, τις λάμπες πυρακτώσεως ή τους λαμπτήρες φθορισμού. Τα μήκη κύματος της φωτεινής ακτινοβολίας που περιέχονται στο ορατό φάσμα αποτελούν ένα πολύ μικρό ποσοστό του εύρους του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος το οποίο περιλαμβάνει τις ακτίνες X (X-Rays), την υπεριώδη (ultraviolet) ακτινοβολία, την υπέρυθρη (infrared) ακτινοβολία και τα ραδιοκύματα (radio waves). (HunterLab, 2000).

Είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι ο τύπος του φωτισμού στον οποίο εκτίθεται οποιοδήποτε αντικείμενο αποτελεί πολύ σημαντικό παράγοντα για την εμφάνιση του. Στην περίπτωση που το φως μεταβάλλεται ενώ ο παρατηρητής και το αντικείμενο παραμένουν σταθερά, τότε το χρώμα που αντιλαμβανόμαστε αλλάζει.

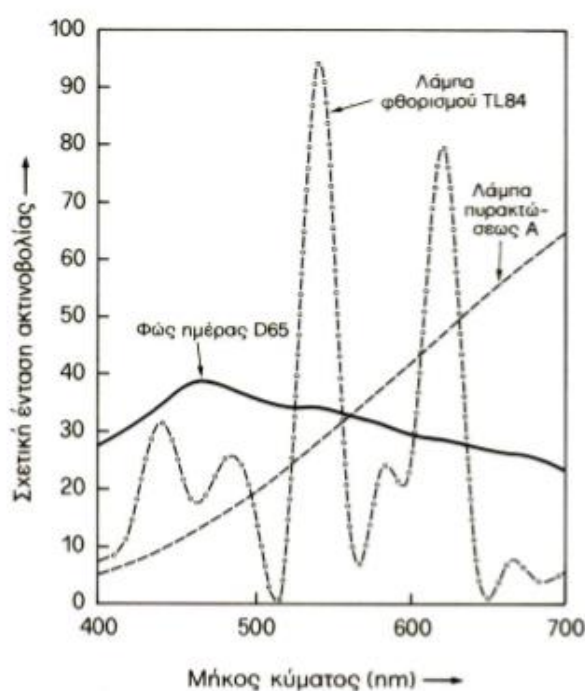
Γι' αυτό τον λόγο η αξιολόγηση των διαφόρων χρωμάτων θα πρέπει να γίνεται κάτω από σταθερές συνθήκες φωτισμού. Το ορατό φως ή ορατό φάσμα αποτελεί εκείνο το τμήμα της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας με μήκος κύματος από 380 nm έως 780 nm. Το φως με διαφορετικά μήκη κύματος γίνεται αντιληπτό από τα διαφορετικά χρώματα που παρατηρούμε. Αυτό σημαίνει ότι ο τύπος του φωτισμού υπό τον οποίο χαρακτηρίζεται ένα χρώμα είναι σημαντικός αφού ουσιαστικά επηρεάζει το πως αυτό θα γίνει αντιληπτό από τον παρατηρητή (Hutchings B.J., 1994, Gunasekaran S., 1999, HunterLab, 2000, Cornelius L., 2001).

Για τον ακριβή προσδιορισμό του χρώματος θα πρέπει πρώτα να έχει καθοριστεί η πηγή φωτισμού. Όλες οι φωτεινές πηγές, συμπεριλαμβανομένων και των προτύπων, έχουν ως μέτρο αναφοράς το «μέλαν σώμα». Το μέλαν σώμα είναι ένα υλικό το οποίο θερμαινόμενο ακτινοβολεί. Ένα κομμάτι άνθρακα, για παράδειγμα, λειτουργεί ως «μέλαν σώμα», ένα θεωρητικό υλικό δηλαδή το οποίο μεταβάλλει το χρώμα του με τη θερμοκρασία. Ο άνθρακας στους -273°C (0°K , απόλυτο μηδέν) φαίνεται μαύρος, ενώ όταν θερμανθεί στους 1000°K φαίνεται κόκκινος, στους 2500°K κίτρινος, στους 4500°K λευκός και στους 6500°K μπλε. Συσχετίζεται λοιπόν η θερμοκρασία και το φως, οπότε πλέον μιλάμε για θερμοκρασία χρώματος που μετράται σε βαθμούς Kelvin ($^{\circ}\text{K}$). Η θερμοκρασία χρώματος του φωτός της ημέρας μεταβάλλεται κατά τη διάρκεια της ημέρας η οποία είναι χαμηλότερη (κόκκινη) κατά την ανατολή και το ηλιοβασίλεμα και υψηλότερη κατά το μεσημέρι. Για πρακτικούς λόγους, στη χρωματομετρία, η μέση θερμοκρασία χρώματος του φωτός ημέρας (daylight) είναι περίπου 6500°K .

Η μέτρηση και ο υπολογισμός του χρώματος απαιτεί συσχέτιση με μαθηματικές εκφράσεις της κατανομής της ισχύος του φάσματος. Η CIE προτείνει τη χρήση πρότυπων φωτεινών πηγών με σκοπό την αποφυγή αποκλίσεων στις μετρήσεις. Αυτές ονομάζονται illuminants και περιγράφουν μία φωτεινή πηγή. Δεν θα πρέπει όμως να γίνεται σύγχυση μεταξύ φωτεινών πηγών και illuminants. Οι

τεχνητές φωτεινές πηγές που προσομοιάζουν τις πρότυπες και τις χρησιμοποιούμε όταν συγκρίνουμε χρώματα, έχουν αντίστοιχες ονομασίες με τις πρότυπες. (Berger – Schunn A., 1994)

Για παράδειγμα η D65 προσομοιάζει το μέσο φως ημέρας, η A τη λάμπα πυρακτώσεως, η TL84 τη λάμπα φθορισμού και η D50 προσομοιάζει το μεσημεριανό φως ημέρας. Όπως αναφέρθηκε νωρίτερα, οι τεχνητές φωτεινές πηγές καθορίζονται αφενός από την κατανομή της ισχύος τους και αφετέρου από τη θερμοκρασία χρώματος. Έτσι, η τεχνητή πηγή D65 (μέσο φως ημέρας) και η αντίστοιχη πρότυπη της αντιστοιχούν σε 6500 °K, η λάμπα πυρακτώσεως και η αντίστοιχη πρότυπη A σε 2856 °K και η λάμπα φθορισμού και μια αντίστοιχη πρότυπη TL84 σε 4100 °K. (Brockes A. et.al., 1986)

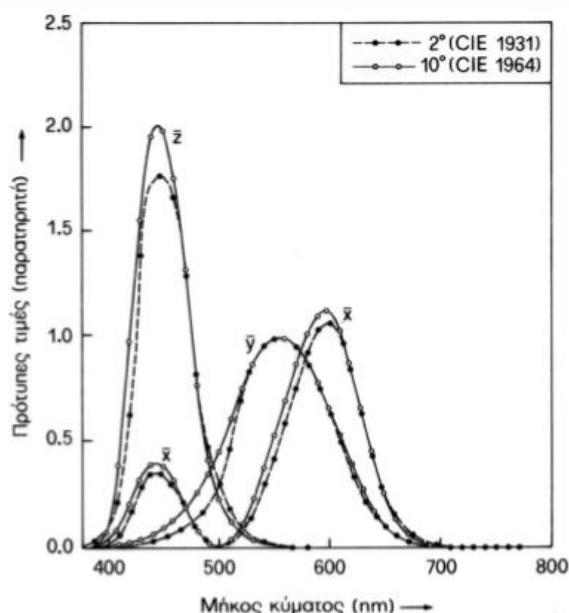


Σχήμα 1.3 : Φασματική κατανομή της ακτινοβολίας πρότυπων φωτεινών πηγών. (Αντωνιάδης κ.ά., 2002)

1.3.3 ΠΑΡΑΤΗΡΗΤΗΣ

Όσον αφορά την ευαισθησία του παρατηρητή, καθιερώθηκε από την CIE ο «πρότυπος παρατηρητής» (CIE Standard Observer), για τον οποίο χρειάστηκαν πολλά πειράματα, και αντιστοιχεί στο μέσο όρο της ευαισθησίας πολλών παρατηρητών κανονικής όρασης. Η ευαισθησία αυτή εκφράζεται με τις πρότυπες τιμές $\bar{x}$, $\bar{y}$, $\bar{z}$, που αντιστοιχούν στην ανταπόκριση του ματιού στα βασικά χρώματα κόκκινο, πράσινο και μπλε του ορατού φάσματος. Δηλαδή η ευαισθησία βασίζεται στην τριχρωματική θεωρία αντίληψης του χρώματος. Διάφορα πειράματα που έγιναν προσδιόρισαν τελικά τον πρώτο CIE Standard Observer (1931). Για το λόγο ότι κατά τη διάρκεια των διαφόρων πειραμάτων η παρατήρηση γινόταν υπό γωνία 2° , ο CIE 1931 Standard Observer κοινώς είναι γνωστός ως CIE 2° Standard Observer. Αργότερα (1964) δημιουργήθηκε και ο CIE 10° Standard Observer βασιζόμενος σε πειράματα όπου η παρατήρηση γινόταν υπό γωνία 10° . (ASTM, 1996)

Οι πρότυπες τιμές, που αφορούν την ευαισθησία του παρατηρητή, είναι συναρτήσεις που εξασφαλίζουν την αντικειμενικότητα της παρατήρησης σε όλο το ορατό φάσμα. Όπως είδαμε παραπάνω, υπάρχουν δύο γωνίες (πεδία) παρατήρησης 2° και 10° και, επομένως, και αντίστοιχες πρότυπες τιμές (συναρτήσεις). (Σχήμα 1.4)



Σχήμα 1.4 : Οι συναρτήσεις $\bar{x}$, $\bar{y}$, $\bar{z}$ του πρότυπου χρωματομετρικού συστήματος της CIE του 1931 και του συμπληρωματικού πρότυπου χρωματομετρικού συστήματος της CIE του 1964. (Billmeyer F.W. and Saltzman JrM., 1981)

1.4 ΟΡΙΣΜΟΣ ΧΡΩΜΑΤΟΜΕΤΡΙΑΣ - ΧΡΩΜΑΤΙΚΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ

Όπως αναφέρθηκε, το χρώμα είναι μια φυσική ιδιότητα των σωμάτων, η οποία γίνεται μεν κατανοητή με απόλυτη ακρίβεια από το ανθρώπινο μάτι, δεν είναι όμως δυνατό να μετρηθεί. Έτσι ένας παρατηρητής με σωστή και ακριβή όραση θα αντιλαμβάνεται κατά προσέγγιση το ποσοστό τυχόν αύξησης ή μείωσης της έντασης του φωτός, είναι σχεδόν αδύνατο όμως να γνωρίζει ακριβώς τις μεταβολές για τα R (red), G(green) και B (blue).

Χρωματομετρία (colorimetry) είναι η επιστήμη που ασχολείται με τον ποσοτικό προσδιορισμό και την φυσική περιγραφή της ανθρώπινης αντίληψης του χρώματος (Ohno, 2000). Η χρωματομετρία ως επιστήμη εμφανίστηκε το 1930 από τον CIE με τη διεξαγωγή πειραμάτων οπτικής (Hunterlab, 2000, Ohno, 2000, Schanda, 2000). Όλα τα διεθνή πρότυπα είναι βασισμένα στα χρωματομετρικά συστήματα της CIE όπου είναι τα μόνα παγκοσμίως αποδεκτά για τη μέτρηση του χρώματος (Ohno, 2000).

Το χρώμα εκφράζεται κυρίως από μαθηματικές εκφράσεις (Ohno, 2000, Cornelious, 2001). Η προσπάθεια να προσδιοριστεί επακριβώς το χρώμα ξεκίνησε στις αρχές του 19ου αιώνα με τη δημιουργία χρωματικών μοντέλων (Susstrunk et.al., 1999). Τελικά, περίπου το 1930, η CIE εισαγάγει το χρωματικό μοντέλο RGB με βάση την αρχή των τριών διεγέρσεων του ανθρώπινου οφθαλμού στο κόκκινο (Red) στο πράσινο (Green) και στο μπλε (Blue) (Ohno, 2000).

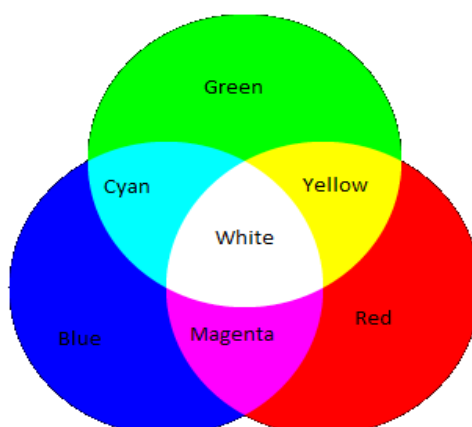
Η χρωματομετρία έχει πάρα πολλές εφαρμογές σε διάφορους τομείς κυρίως της Βιομηχανίας όπως για παράδειγμα πλαστικά, τρόφιμα, μέταλλα, κλωστοϋφαντουργία, καλλυντικά, βερνίκια και απόβλητα) όπως επίσης και σε ειδικότητες επαγγελματιών, όπως τεχνολόγοι γραφικών τεχνών, γραφίστες, βαφείς, ζωγράφους, συντηρητές έργων τέχνης κ.ά. Όλοι οι παραπάνω απαιτείται να γνωρίζουν να περιγράφουν με ακρίβεια και να προσδιορίζουν το χρώμα. (Brookes A. & Berger A., 1986)

Όπως αναφέρθηκε στα παραπάνω, η μεγάλη ποικιλία των χρωμάτων, που προσλαμβάνεται από το ανθρώπινο μάτι τόσο στη φύση όσο και στην τέχνη, στα έντυπα και σε βιομηχανικές εφαρμογές, δημιούργησε την ανάγκη κατάταξής τους

σε συστήματα ταξινόμησης. Τα συστήματα αυτά λειτουργούν ως μοντέλα που δίνουν τη δυνατότητα καθορισμού και αναπαραγωγής των χρωμάτων στο χώρο των γραφικών τεχνών, της τηλεόρασης, της φωτογραφίας, της κλωστοϋφαντουργίας, των αυτοκινήτων και των πλαστικών. Σε κάθε χρώμα αντιστοιχούν κωδικοί αριθμοί που διευκολύνουν την ταξινόμησή του σε ορισμένο σύστημα. Οι κωδικοί αριθμοί οποιουδήποτε χρώματος προκύπτουν από τη μέτρηση του έγχρωμου δείγματος με εξειδικευμένα ευαίσθητα όργανα, όπως σαρωτές (scanner), πυκνόμετρα σάρωσης (scanning densitometer), χρωματομέτρα, φασματοφωτόμετρα και βιντεοκάμερες. (Berger – Schunn, A. 1994).

1.4.1 ΤΟ ΠΡΟΤΥΠΟ ΧΡΩΜΑΤΟΜΕΤΡΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ RGB CIE, 1931

Το χρωματικό μοντέλο RGB βασίζεται στα τρία βασικά χρώματα: Κόκκινο (R), Πράσινο (G) και Μπλε (B) και συνδυάζοντας τα παραπάνω σε κατάλληλες αναλογίες μπορούμε να πάρουμε κάθε πιθανό συνδυασμό χρώματος που προκύπτει. Συγκεκριμένα αν τα συνδυάσουμε ανά δύο παίρνουμε τα τρία δευτερεύοντα χρώματα, Κόκκινο και Πράσινο που μας δίνει Κίτρινο (Y), Πράσινο και Μπλε, Κυανούν (C) και Μπλε και Κόκκινο, Ιώδες (M) όπως παρατηρείται και στην εικόνα 1.5 :



Εικόνα 1.5: Μετατροπές των βασικών χρωμάτων κόκκινο, πράσινο και μπλε.

Το χρωματικό μοντέλο RGB ονομάζεται χρωματικό μοντέλο προσθήκης στο οποίο ο συνδυασμός του κόκκινου, πράσινου και μπλε χρώματος παράγει το λευκό. Η απόχρωση, η φωτεινότητα και ο κορεσμός ενός χρώματος στο χρωματικό

μοντέλο RGB εξαρτώνται από τις τρεις συντεταγμένες. Αλλάζοντας οποιαδήποτε από αυτές αλλάζουν και τα τρία χαρακτηριστικά του χρώματος. Αυτό αποτελεί ένα σχετικό μειονέκτημα του μοντέλου ως προς την επεξεργασία απέναντι σε άλλα.

Το RGB είναι όμως πιο κοντά από κάθε άλλο μοντέλο στο επίπεδο της φυσικής λειτουργίας των μέσων απεικόνισης όπως οι τηλεοράσεις και οι οθόνες των υπολογιστών. Πιο συγκεκριμένα οι σαρωτές εικόνες, τα βιντεοπαιχνίδια, ψηφιακές φωτογραφικές μηχανές καθώς και τηλεοράσεις και βιντεοκάμερες αποτελούν παραδείγματα συσκευών εισόδου RGB ενώ αντίθετα οι συσκευές εξόδου RGB περιλαμβάνουν συστήματα βιντεοπροβολής και οθόνες υπολογιστών και κινητών τηλεφώνων.

Ένα άλλο μειονέκτημα του μοντέλου είναι ότι είναι "device dependent", έχει κατά συνέπεια μεγάλη εξάρτηση από τη συσκευή απεικόνισης με αποτέλεσμα ίδιες συντεταγμένες να δίνουν διαφορετικά χρώματα σε διαφορετικές ρυθμίσεις της ίδιας συσκευής ή διαφορετικά χρώματα σε διαφορετικές συσκευές. (Susstrunk, Buckley and Swen, 1999, Broadbent D. A., 2003). Γι' αυτόν τον λόγο είναι απαραίτητο να διατηρούνται σταθερές οι συνθήκες εξαγωγής των μετρήσεων κατά την διάρκεια μιας μελέτης- προσδιορισμού.

1.4.2 ΤΟ ΠΡΟΤΥΠΟ ΧΡΩΜΑΤΟΜΕΤΡΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ CMYK

Είναι ένα μοντέλο το οποίο χρησιμοποιεί τα τρία βασικά χρώματα κυανό, ματζέντα και κίτρινο (cyan, magenta, yellow) της αφαιρετικής μίξης καθώς και το μαύρο. Είναι ένα αφαιρετικό μοντέλο το οποίο βρίσκει χρήση σε βιομηχανικές εκτυπώσεις κάθε είδους και ψηφιακούς εκτυπωτές (laser και inkjet) και εφαρμόζεται στις βασικές χρωστικές των μελανών, στις εκτυπώσεις των γραφικών τεχνών σε χαρτί, πολυεστέρα αλλά και σε συνθετικά υφασμάτα.

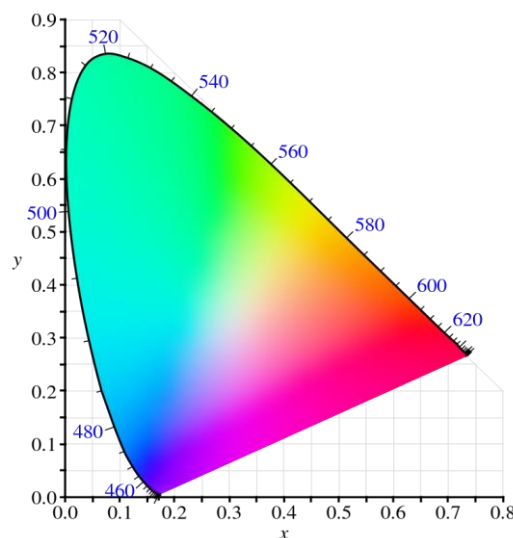
1.4.3 ΤΟ ΠΡΟΤΥΠΟ ΧΡΩΜΑΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ XYZ ΤΗΣ CIE, 1931

Η σύνθεση των χρωματικών ερεθισμών από τους πραγματικούς πρωταρχικούς ερεθισμούς R, G, B αποδεικνύεται πρακτικά ακατάλληλη καθώς απαιτούνται αρνητικές τριερεθισμικές τιμές για τη σύνθεση πολύ καθαρών (κορεσμένων) χρωμάτων. Γι' αυτό το λόγο η CIE όρισε ένα φανταστικό σύστημα, το

οποίο προκύπτει από κατάλληλο μετασχηματισμό του συστήματος RGB. Οι πρωταρχικοί ερεθισμοί X, Y, Z είναι φανταστικοί και δεν είναι δυνατό να παραχθούν από την ανάμειξη πραγματικών ερεθισμών.

1.4.4 ΔΙΣΔΙΑΣΤΑΤΟ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ ΧΡΩΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑΣ X, Y

Όπως είδαμε στα προηγούμενα οι τιμές X, Y, Z είναι το δακτυλικό αποτύπωμα κάθε χρώματος κάτω από τις ίδιες συνθήκες φωτισμού και παρατήρησης. Ο συσχετισμός όμως του χρώματος με τα άλλα χρώματα με την πάροδο του χρόνου κρίθηκε απαραίτητος. Αρχικά επινοήθηκε το σύστημα x, y της CIE, όπου οι δύο θεμελιώδεις ιδιότητες του χρώματος, απόχρωση και κορεσμός καθορίζονται πλέον από το δυσδιάστατο διάγραμμα x, y (chromaticity diagram) (Σχήμα 1.5) (Αντωνιάδης κ.ά., 2002, Thompson B., 2002, Ορφανάκος Β.Κ., 2004).

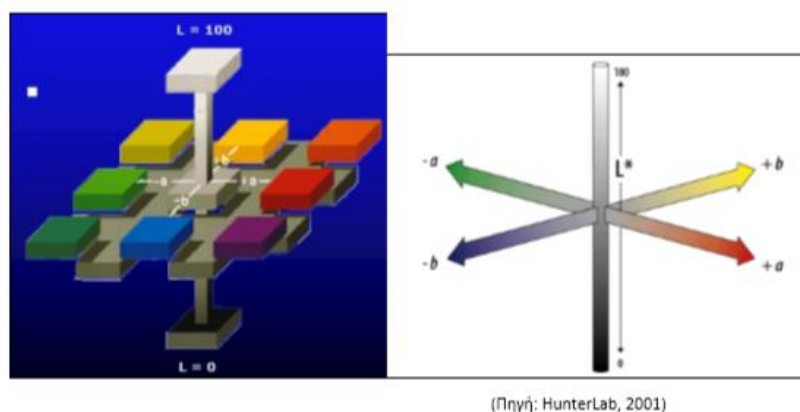


Σχήμα 1.5 : Διάγραμμα χρωματικότητας (x, y) κατά CIE (https://en.wikipedia.org/wiki/CIE_1931_color_space)

1.4.5 ΤΟ ΧΡΩΜΑΤΙΚΟ ΜΟΝΤΕΛΟ CIELAB

Πρόκειται για ένα ομοιόμορφο χρωματικό χώρο (uniform color space), ο οποίος προσομοιάζει τα χρώματα καλύτερα από όλα τα χρωματικά συστήματα (Abbott A. J., 1999). Το μοντέλο CIEL*a*b* είναι υπεрсύνολο του RGB και του CMYK καθώς και όλων των άλλων χρωματικών μοντέλων. Το κάθε χρώμα περιγράφεται από 3 συντεταγμένες όπως και στον χρωματικό χώρο RGB οι οποίες ονομάζονται L^* , a^* και b^* και απεικονίζονται σε τρισδιάστατο καρτεσιανό σύστημα συντεταγμένων. (HunterLab, 1996)

Το σημαντικότερο χαρακτηριστικό αυτού του χρωματικού μοντέλου είναι η ανεξαρτησία των πληροφοριών φωτεινότητας και χρώματος, που μας δίνει πάρα πολλές δυνατότητες. Ο παράγοντας L^* συσχετίζεται με τη φωτεινότητα (lightness), δηλαδή περιγράφει το πόσο άσπρο ή μαύρο είναι ένα αντικείμενο. Το απόλυτο λευκό έχει τιμή L ίση με 100, ενώ το απόλυτο μαύρο τιμή L ίση με 0. Οι συντεταγμένες a^* και b^* έχουν ως βάση τους τη θεωρία των αντίθετων χρωμάτων του Ewald Hering (1964). Ο Hering είχε υποστήριζε τα ότι τρία ζεύγη αντίθετων χρωμάτων μπορούν να αναπαράγουν όλα τα χρώματα. Η συντεταγμένη a^* με το κόκκινο ($+a^*$) και το πράσινο ($-a^*$), ενώ η συντεταγμένη b σχετίζεται με το κίτρινο ($+b^*$) και το μπλε ($-b^*$). (Abbott, 1999, Yam and Papadakis, 2004).



Σχήμα 1.6 : $L^* = 100$ (λευκό)- $L^* = 0$ (μαύρο) , a^* πράσινο / κόκκινο, b^* μπλε / Κίτρινο

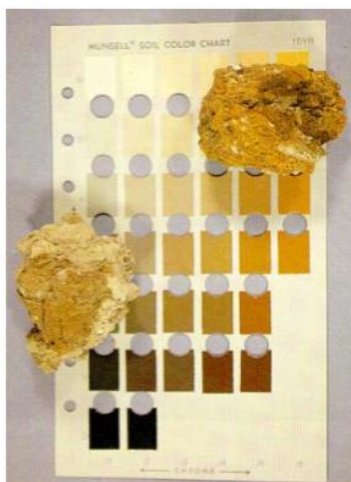
Τέλος πολύ σημαντικό είναι ότι το χρωματικό μοντέλο CIEL*a*b* είναι «device independent» ανεξάρτητο δηλαδή από ιδιότητες συσκευών καταγραφής ή

απεικόνισης κάτι που δεν συμβαίνει με τα υπόλοιπα χρωματικά μοντέλα (Hutchings, 1994, Rose, 2002, Yam and Papadakis, 2004).

1.4.6 ΤΟ ΧΡΩΜΑΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ MUNSELL

Το χρωματικό σύστημα Munsell δημιουργήθηκε από τον A. H. Munsell το 1905 και είναι το πιο διαδεδομένο χρωματικό σύστημα που χρησιμοποιείται. Ένα σημαντικό χαρακτηριστικό του συστήματος Munsell είναι ότι τα χρώματα κατατάσσονται κατά τέτοιο τρόπο ώστε η οπτική διαφορά μεταξύ δύο γειτονικών χρωμάτων να είναι σταθερή.

Στο βιβλίο των χρωμάτων Munsell, κάθε σελίδα έχει χρώματα (chips) της ίδιας χροιάς (Hue), ενώ οι τιμές ένταση (Value) και καθαρότητα (Chroma) αυξάνουν από κάτω προς τα πάνω και από αριστερά προς τα δεξιά.



Εικόνα 1.6 : Σελίδα του βιβλίου χρωμάτων Munsell για εδάφη.

Χροιά (Hue)

Όπως αναφέρθηκε ξανά, χροιά είναι η ιδιότητα ενός χρώματος με την οποία μπορούμε να διαχωρίσουμε τα χρώματα. Η φυσική σειρά στη χροιά των χρωμάτων είναι Κόκκινο (red), κίτρινο (yellow), πράσινο (green), μπλε (blue) και ιώδες (purple). Αναμειγνύοντας γειτονικά χρώματα μπορούν να παραχθούν όλες οι αποχρώσεις.

Ένταση (Value)

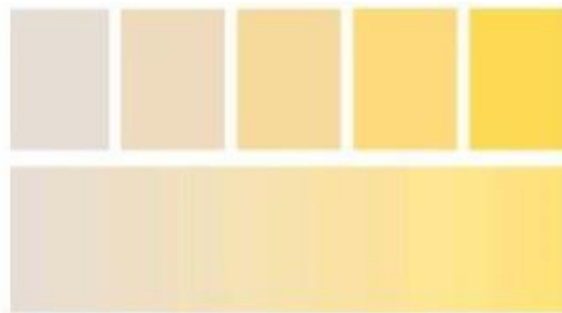
Η ένταση στο σύστημα Munsell είναι ενδεικτική της φωτεινότητας ενός αντικειμένου όταν αυτό παρατηρείται στο φως ημέρας και κυμαίνεται από 0 για το απόλυτο μαύρο έως 10 για το απόλυτο λευκό (Εικόνα 1.7). Το μαύρο, το λευκό και οι ενδιάμεσες γκρι αποχρώσεις καλούνται «ουδέτερα» χρώματα και δεν έχουν χροιά. Τα χρώματα που έχουν χροιά καλούνται «chromatic».



Εικόνα 1.7: Η απεικόνιση της έντασης του χρώματος στο σύστημα Munsell.

Καθαρότητα (chroma)

Η καθαρότητα του χρώματος αποτελεί τη διαφορά του χρώματος από το ουδέτερο χρώμα για την ίδια ένταση. Για παράδειγμα εάν σε κάποιο γκρι μα σταδιακά προσθέτουμε κίτρινο, τότε δημιουργούμε μία σειρά χρωμάτων των οποίων η καθαρότητα μεταβάλλεται βαθμιαία (Εικόνα 1.8)



Εικόνα 1.8 : Η απεικόνιση της καθαρότητας του χρώματος στο σύστημα Munsell. (Wyszecki and Stiles, 1982, Blume H.P. and Helsper M, 1987)

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΔΕΥΤΕΡΟ

ΦΩΤΟΓΡΑΦΙΑ ΚΑΙ ΕΝΟΡΓΑΝΗ ΜΕΤΡΗΣΗ

ΧΡΩΜΑΤΟΣ



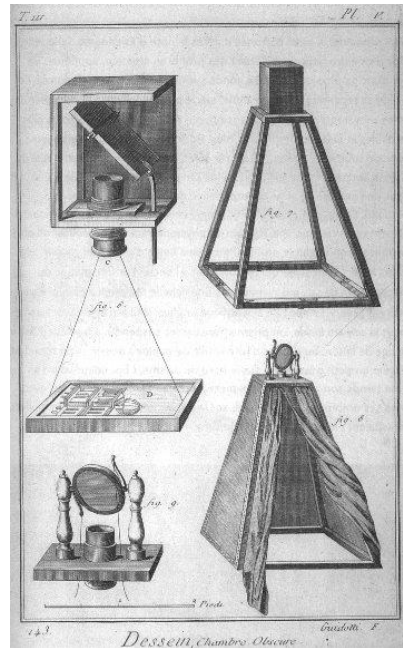
2.1 ΦΩΤΟΓΡΑΦΙΑ

Η ιστορία της φωτογραφίας είναι πολύ μεγάλη και ενδιαφέρουσα, η οποία βρίσκει αρχή σε βάθος αιώνων. Προκειμένου να υπάρξει η φωτογραφία ανακαλύφθηκε ένα είδος σκοτεινού θαλάμου. Εκεί οι εικόνες εμφανίζονταν σε πλάκες αργύρου και χαλκού. Στη σημερινή εποχή η τεχνολογία έχει προχωρήσει και έχουν κατασκευαστεί υπερσύγχρονες ψηφιακές μηχανές οι οποίες μπορούν να αποτυπώνουν εκατομμύρια χρώματα και σχέδια με τέλεια ανάλυση. (Sontag S., 1993)

Με τον όρο φωτογραφία αναφερόμαστε στην τέχνη και επιστήμη της δημιουργίας οπτικών εικόνων μέσω της αποτύπωσης του φωτός, με χρήση κατάλληλων συσκευών (φωτογραφικές μηχανές). Ετυμολογικά, η λέξη φωτογραφία είναι σύνθετη και προέρχεται από τις ελληνικές λέξεις φως και γραφή. (<https://el.wikipedia.org/wiki/%CE%A6%CF%89%CF%84%CE%BF%CE%B3%CF%81%CE%B1%CF%86%CE%AF%CE%B1>)

2.1.1 CAMERA OBSCURA

Με τις πρώτες φωτογραφίες είχαμε στην πραγματικότητα κάποιες απλές προβολές των εικόνων πάνω σε κάποια επιφάνεια. Η πρώτη φωτογραφική μηχανή (*camera obscura*) μπορεί να θεωρηθεί ότι ήταν ένα σκοτεινό δωμάτιο – κουτί. Αυτό είχε στη μία άκρη μια γυαλιστερή επιφάνεια και στην απέναντι μία πολύ μικρή οπή. Εκεί κατά συνέπεια οι ακτίνες του φωτός διαδίδονται μέσα από την οπή και σχηματίζουν πάνω στην επιφάνεια ένα είδωλο των αντικειμένων έξω από το δωμάτιο ή κουτί.



Εικόνα 2.1 : camera obscura

Η ιστορία της ξεκινάει από τον Αριστοτέλη, τον 4^ο αιώνα π.Χ. ο οποίος παρατηρώντας άρχισε να περιγράφει τον τρόπο που λειτουργεί η απλούστερη φωτογραφική μηχανή, η camera obscura. Αργότερα, στον 11ο αιώνα, ο Άραβας επιστήμονας Αλχαζέν περιγράφει το ίδιο φαινόμενο. Στα 1550 προέκυψε μια ουσιαστική διαφοροποίηση της camera obscura, από τον Girolamo Gardano, και συγκεκριμένα προστέθηκε ένας κοίλος φακός στην οπή εισόδου του φωτός. Το 1568 ο Daniello Barbaro εφηύρε επιπλέον ένα είδος διαφράγματος που πρόσθεσε την εστίαση στην λήψη της εικόνας. Το 1636 ο Daniel Schwenter επινόησε ένα σύστημα πολλαπλών φακών, διαφορετικών εστιακών αποστάσεων, παρόμοιο του σημερινού ζουμ. Κατά την περίοδο της Βιομηχανικής Επανάστασης οι προσπάθειες αρκετών ερευνητών οδήγησαν στην δημιουργία των πρώτων συσκευών φωτογράφισης που αξιοποιούσαν στο έπακρο τις ήδη γνωστές αρχές της camera obscura. (<https://el.wikipedia.org/wiki/%CE%A6%CF%89%CF%84%CE%BF%CE%B3%CF%81%CE%B1%CF%86%CE%AF%CE%B1>)

2.1.2 ΧΗΜΙΚΗ ΦΩΤΟΓΡΑΦΙΑ

Τα πρώτα πειράματα σε φωτοευαίσθητα υλικά έγιναν από τον Γιόχαν Χάινριχ Σούλτσε (Johann Heinrich Schulze) και πραγματοποιήθηκαν περίπου στις αρχές του 18ου αιώνα. Ο Σούλτσε με τα πειράματά του, πέτυχε την αποτύπωση της φωτογραφίας πάνω σε ένα φωτοευαίσθητοποιημένο με άλατα αργύρου χαρτί, όμως η στερέωση της εικόνας καθίσταται εξαιρετικά δύσκολη για την εποχή. Το 1815, ο Γάλλος ερευνητής Νικηφόρος Νιέπς (Nicéphore Niépce) και ο αδελφός του Κλαύδιος, έκαναν πολλές προσπάθειες να σταθεροποιήσουν την φωτογραφική εικόνα πράγμα το οποίο επιτεύχθηκε το 1826. Κατάφερε λοιπόν να αποτυπώσει απευθείας σε "θετικό" την πρώτη φωτογραφία της ιστορίας, χάρη στη χρήση ενός παραγώγου του πετρελαίου. Για να αποτύπωθεί η φωτογραφία αυτή απαιτήθηκε έκθεση στο φως για διάστημα οκτώ ωρών και το θέμα της ήταν οι στέγες των σπιτιών του χωριού Chalon-sur-Saone της Γαλλίας από το εργαστήριο του Νιέπς. Η μέθοδος ονομάστηκε ηλιογραφία από τον ίδιο.

Ο όρος φωτογραφία χρησιμοποιείται για πρώτη φορά το 1839 από τον Τζον Χέρσελ (Sir John Herschel) ο οποίος τότε καταθέτει τα συμπεράσματά του για την επίδραση του φωτός στα φωτοευαίσθητα υλικά. Κατά τη περίοδο 1827-1839 τουλάχιστον πέντε ανεξάρτητοι μεταξύ τους ερευνητές ο Γουίλιαμ Χένρυ Φοξ Τάλμποτ, ο Ιππόλυτος Μπαγιάρ, ο Λουί Νταγκέρ και ο ίδιος ο Τζον Τάλμποτ, συνδυάζοντας τις φαινομενικά ασύνδετες επιστημονικές γνώσεις που είχαν συλλεχθεί έως τότε συμπέραναν το ίδιο. Η κορύφωση των προσπαθειών γίνεται το 1839, όταν στις 19 Αυγούστου ο Λουί Νταγκέρ παρουσιάζει επίσημα στη Γαλλική Ακαδημία Επιστημών τη φωτογραφική μέθοδό του. Είναι η ιστορική στιγμή της επίσημης γέννησης της φωτογραφίας.

2.1.3 Η ΧΗΜΕΙΑ ΤΗΣ ΦΩΤΟΓΡΑΦΙΑΣ

Η φωτογραφία όπως αναφέρθηκε στην αρχή, αποτελεί την διεργασία με την οποία παράγονται εικόνες με τη επίδραση του φωτός πάνω σε φωτοευαίσθητα υλικά. Υπάρχουν υλικά τα οποία είναι φωτοευαίσθητα, δεν είναι όμως όλα κατάλληλα για την παραγωγή φωτογραφιών γιατί :

- α) ξεθωριάζουν στο φως
- β) σκουραίνουν στο φως
- γ) με το φως τα μόρια ορισμένων υλικών αποσυντίθενται πιο εύκολα.
- δ) με το φως κάποια μόρια δημιουργούν μεγαλύτερα μόρια.

Τα πλέον χρησιμοποιούμενα φωτοευαίσθητα υλικά για την φωτογραφία είναι τα άλατα αργύρου, ενώ από την άλλη τα νιτρικά φιλμ είναι εξαιρετικά επικίνδυνα καθώς αποτελούνται από νιτρική κυτταρίνη, ένα πολύ ασταθές υλικό, το οποίο όταν αποσυντίθεται έχει σαν αποτέλεσμα την αυτόματη ανάφλεξη του φιλμ.

2.1.4 ΤΑ ΜΕΡΗ ΤΗΣ ΦΩΤΟΓΡΑΦΙΑΣ

Η αλληλεπίδραση μεταξύ των διάφορων υλικών από τα οποία δημιουργείται η φωτογραφία, όπως και η αλληλεπίδραση με το περιβάλλον επηρεάζει το χρόνο ζωής της φωτογραφίας. Η κλασσική φωτογραφία αποτελείται από τρία διαφορετικά μέρη :

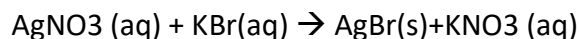
Υποστήριγμα - βάση : Ως υλικά βάσης χρησιμοποιούνται συνήθως το γυαλί, το πλαστικό και το χαρτί επικαλυμμένο ή όχι με μια ρητίνη.

Συνδετικό μέσο: Το συνδετικό μέσο κάνει την επιφάνεια απαλότερη από αυτή του μη επικαλυμμένου χαρτιού και δίνει πιο έντονα εστιασμένες εικόνες και επιτυγχάνει καλύτερη εξάπλωση των φωτοευαίσθητων αλάτων πάνω από το υλικό της βάσης. Επίσης το πιο συνηθισμένο συνδετικό γαλάκτωμα είναι η ζελατίνη αλλά επίσης η αλβουμίνη (ασπράδι αυγού κότας) ή το κολλώδιο (νιτροκυτταρίνη διαλυμένη σε ένα μίγμα ίσων ποσοτήτων αλκοόλης/αιθέρα.

Το τελικό υλικό της εικόνας: Αυτό μπορεί να είναι συνήθως άργυρος, πλατίνα, οργανικές βαφές ή πιγμέντα. Συχνά διαχέεται μέσα στο συνδετικό μέσο και έχει ως αποτέλεσμα να δημιουργεί την εικόνα που εμφανίζουμε.

2.1.5 ΦΩΤΟΕΥΑΙΣΘΗΤΑ ΑΛΑΤΑ ΑΡΓΥΡΟΥ

Τα άλατα αργύρου αποσυντίθενται με το φως και παράγουν μεταλλικό άργυρο, ο οποίος δημιουργεί την εικόνα. Μετά από πειράματα οι επιστήμονες κατέληξαν ότι άλατα αργύρου που λειτουργούν καλύτερα σε αυτή τη διεργασία είναι τα αλογονίδια του αργύρου (AgBr, AgI, AgCl). Τα αλογονίδια αυτά είναι αδιάλυτα και εφαρμόζονται επάνω στο χαρτί με την αντίδραση :

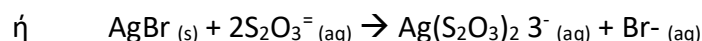
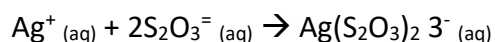


2.1.6 ΥΛΙΚΑ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ

Με τα υλικά ανάπτυξης, ένα ευαίσθητο χαρτί μπορεί να εκτεθεί στο φως για μικρότερη περίοδο. Πρόκειται για αναγωγικά μέσα δηλαδή παρέχουν ηλεκτρόνια στο σύστημα, τα οποία μπορούν να ανάγουν τα αλογονίδια του αργύρου σε μεταλλικό άργυρο, ακόμα αν δεν έχουν εκτεθεί στο φως. Συνήθως τα φωτογραφικά υλικά ανάπτυξης περιέχουν υδροκινόνη, μετόλη, φαινιδόνη κ.α. Επιπρόσθετα ως υλικό ανάπτυξης μπορεί να χρησιμοποιηθεί και ο επιταχυντής που επιταχύνει τις αργές διεργασίες. Το ανθρακικό νάτριο και κάλιο (Na₂CO₃, KNO₃), μεταβορικό και τετραβορικό νάτριο (NaBO₂, Na₂B₄O₇) είναι υλικά τα οποία με την χρήση τους επιταχύνουν την αναγωγή χωρίς να καταστρέφουν το υπόστρωμα της ζελατίνης.

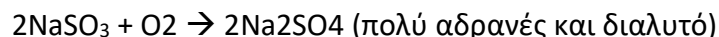
2.1.7 ΣΤΕΡΕΩΤΙΚΑ

Αφού αναπτυχθεί η εικόνα τα αλογονίδια αργύρου που δεν έχουν εκτεθεί στο φως θα πρέπει να ξεπλυθούν από το σύστημα γιατί οι χημικές αντιδράσεις θα συνεχίσουν και η φωτογραφία θα μαυρίσει. Τα στερεωτικά είναι χημικά που καταστρέφουν τα αλογονίδια αργύρου του συστήματος. Αυτά μπορεί να είναι το σιδηροκυανιούχο κάλιο [K₃Fe(CN)₆], ή το θειοθειικό νάτριο (Na₂S₂O₃), σύμφωνα με την αντίδραση:



2.1.8 ΣΥΝΤΗΡΗΤΙΚΟ ΤΩΝ ΑΝΑΓΩΓΙΚΩΝ ΜΕΣΩΝ

Τα αναγωγικά μέσα που χρησιμοποιούνται ως υλικά ανάπτυξης πρέπει να προστατεύονται γιατί έχουν την τάση να οξειδώνονται από το ατμοσφαιρικό οξυγόνο. Συνήθως με το θειώδες νάτριο που αντιδρά με το ατμοσφαιρικό οξυγόνο επιτυγχάνεται η προστασία αυτή με την αντίδραση (Greenberg R. B and Patterson D., 1998) :



2.2 ΕΝΟΡΓΑΝΗ ΜΕΤΡΗΣΗ ΧΡΩΜΑΤΟΣ

Η μέτρηση του χρώματος γίνεται με τη χρήση οργάνων τα οποία μετρούν έγχρωμα δείγματα με μορφή αδιαφανών, ημιδιαφανών και διαφανών υλικών, όπως επίσης και υγρών. Κάποια από τα όργανα μέτρησης του χρώματος είναι τα παρακάτω: χρωματόμετρα, φασματοφωτόμετρο ορατού-υπεριώδους, φασματοφωτόμετρο ανάκλασης, πυκνόμετρο σάρωσης, βιντεοκάμερα, σαρωτής. (Mac Donald R., 1987, Berger –Schunn A., 1994, Billmeyer F.W. & Saltzmann J.M., 1981).

2.2.1 ΨΗΦΙΑΚΗ ΕΙΚΟΝΑ

Τα τελευταία χρόνια, η εξέλιξη της τεχνολογίας και οι ανάγκες της επιστήμης προάγουν την έρευνα νέων μη καταστροφικών (non destructive) μεθόδων ποιοτικής αξιολόγησης (Computer vision), για την αξιοποίηση εικόνων σε ηλεκτρονική μορφή με χρήση ηλεκτρονικών υπολογιστών. Έτσι με την εφαρμογή ειδικών αλγόριθμων πραγματοποιούνται αυτοματοποιημένες διαδικασίες ανάλυσης και να επεξεργασίας εικόνας προκειμένου, μέσω αυτών, να γίνεται ποιοτική αξιολόγηση δεδομένων. Αυτές οι μέθοδοι επεξεργασίας και μέτρησης ψηφιακής εικόνας εφαρμόζονται σε τομείς της επιστήμης όπως είναι οι αυτοματισμοί στην βιομηχανία, σε συστήματα ελέγχου, και στη ρομποτική, όπως επίσης και η διαγνωστική ιατρική. Οι τεχνικές ποιοτικής αξιολόγησης που αναφέρονται παραπάνω πραγματοποιούνται με επεξεργασία ψηφιακής εικόνας

(Image processing) και με ανάλυση ψηφιακής εικόνας (Image analysis). Ένα σύστημα ποιοτικής αξιολόγησης υπολογίζει τις πληροφορίες από τις εικόνες που λαμβάνονται από ψηφιακές συσκευές μετά από α) την απόκτηση της εικόνας, β) επεξεργασία - ανάλυση εικόνας, γ) εξαγωγή αποτελεσμάτων και δ) λήψη αποφάσεων. (Χατζής Γ.Ε., 2015)

2.2.2 ΣΥΛΛΗΨΗ ΨΗΦΙΑΚΗΣ ΕΙΚΟΝΑΣ

Η διαδικασία κατά την οποία μία αναλογική πηγή μετατρέπεται σε ψηφιακή εικόνα σε κάποια συσκευή ή ακόμα στον ηλεκτρονικό υπολογιστή ονομάζεται Image Capture. Σε αυτή τη διαδικασία κατά συνθήκη χρησιμοποιείται εξοπλισμός Hardware όπως επίσης προγράμματα λογισμικού Software. Ο εξοπλισμός επιλέγεται με βάση το είδος και την προέλευση της ληφθείσας εικόνας ενώ το λογισμικό με βάση το είδος της επεξεργασίας και της διαχείρισης της ψηφιακής εικόνας όπως επίσης και την εξαγωγή των αποτελεσμάτων.

Πολλοί άνθρωποι αγοράζουν ψηφιακό σύστημα απεικόνισης, με πρωτεύον μέτρο σύγκρισης το μέγεθος των εικονοστοιχείων, που εκφράζεται σε megapixels. Όσα περισσότερα megapixels έχουν οι κάμερες, οι φωτογραφικές μηχανές, και τα κινητά τόσο τόσο το καλύτερο για τον καταναλωτή. Η καταγραφή της τιμής έντασης φωτός για κάθε megapixel γίνεται με την βοήθεια ειδικών αισθητήρων φωτός οι οποίοι μετράνε το φως σε ηλεκτρικά φορτία. Τέτοιοι μπορεί να είναι οι Δίοδοι CCD (Charge Coupled Diodes), τα CMOS (complementary metal oxide semiconductor) και τα LEDs.

Οι αισθητήρες εικόνας είναι παντού. Σε κάθε περίπτωση, μια μικρή μονάδα, σε κάθε ψηφιακό σύστημα απεικόνισης, διαθέτει μια επιφάνεια καταγραφής που αποτελείται από μεγάλο αριθμό αισθητήρων εικόνας, όπως οι παραπάνω, σε διάταξη πλέγματος, που ο καθένας καταγράφει και απεικονίζει ένα σημείο της εικόνας. (Davies A. & Fennessy P., 2002) (<https://www.cse.wustl.edu/~jain/cse567-11/ftp/imgsens.pdf>)

2.2.3 ΣΑΡΩΤΗΣ

Ο Σαρωτής μετράει σαν έγχρωμη εικόνα όλη την επιφάνεια ενός έγχρωμου υλικού, με ανάκλαση μονοχρωματικής ακτινοβολίας, καταγράφοντας και μεταφέροντας στον υπολογιστή τα χρώματα σε τιμές RGB. Έπειτα με ειδικό πρόγραμμα οι τιμές RGB μετατρέπονται σε τιμές CMYK (αναλογίες χρωστικών, μελανών).

Όταν εκτυπώνουμε σε χαρτί με μελάνι τετραχρωμίας, οι χρωστικές αποτυπώνονται με εκτυπωτικά μηχανήματα στο χαρτί, η μία μετά την άλλη. Στην συνέχεια γίνεται χρωματικός διαχωρισμός, κατασκευή των φιλμ με ποσότητες των βασικών χρωμάτων CMYK και έπειτα εκτυπώνονται οι μελάνες η μία μετά την άλλη σε αναλογίες για τις σωστές αποχρώσεις. Σε αυτές τις εκτυπώσεις τα βασικά χρώματα είναι τα CMYK (κυανό, ματζέντα, κίτρινο και μαύρο) που μαζί με λευκό του χαρτιού δίνουν την τελική και επιθυμητή απόχρωση.

Τέλος μπορούν να εκτυπωθούν σε χαρτί απευθείας με τη βοήθεια εκτυπωτή ψεκασμού μελάνης (inkjet) και laser χωρίς χρωματικό διαχωρισμό. Τα όργανα αυτά έχουν το πλεονέκτημα να μετρούν πολλά χρώματα ταυτόχρονα, όπως επίσης και ολόκληρη εικόνα. (Αντωνιάδης κ.ά., 2002)

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΡΙΤΟ

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ



3.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Κατά την διάρκεια της τελευταίας δεκαετίας σημαντικό μέρος της έρευνας έχει αφιερωθεί στην ανάπτυξη των φορητών, σε αναλύσεις πεδίων, και ασύρματων ανιχνευτών για τον ποσοτικό προσδιορισμό μεγάλου φάσματος αναλυτών σε διαφορετικά δείγματα. Αυτοί οι ανιχνευτές όχι μόνο μειώνουν τα εμπόδια, στη παροχή σύγχρονων αναλυτικών δοκιμών στην ανάλυση πεδίου και εφαρμογών μειωμένων πόρων (όπως 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 στον καταναλωτή ηλεκτρονικές συσκευές όπως τα κινητά τηλέφωνα, τα tablets και ο εξοπλισμός γραφείου (όπως σαρωτές, οθόνη LCD ή tablets) αποτελούν την κύρια επιλογή κατά την ανάπτυξη πλατφορμών ανίχνευσης χαμηλού κόστους λόγω της ευρείας χρήσης και της διαθεσιμότητάς τους (Grudpan K. et. al., 2015, Walker F.M. et. al., 2014). Τα κινητά τηλέφωνα για παράδειγμα έχουν χρησιμοποιηθεί για την ανάπτυξη ανιχνευτών ηλεκτροχημείας (Nemiroski A. et. al., 2014), χημειοφωταύγειας (Roda A. et. al., 2014), ηλεκτροχημειοφωταύγειας (Rasooly Ed. A. and Herold K.E., 2015), φθορισμού (Zhu H. et. al., 2011) και πιο συχνά φωτομετρίας (Rateni G, et.al., 2017, Hernández-Neuta I, et. al., 2019, Grudpan K. et. al., 2015, Walker F.M. et. al., 2014, Rasooly Ed. A. & Herold K.E., 2015), χρησιμοποιώντας διαφορετικές διατάξεις σχεδιασμού ή εξωτερικά μέσα ανάλογα με τις ανάγκες της ανάλυσης. Η εφαρμογή αυτών των πλατφορμών ανίχνευσης έχει αποδειχθεί για τον προσδιορισμό μεγάλου φάσματος αναλυτών περιβαλλοντικού, βιολογικού και τροφικού ενδιαφέροντος με πολύ ικανοποιητικά αποτελέσματα.

3.1.1 ΑΝΑΓΚΗ ΧΡΗΣΗΣ ΑΝΙΧΝΕΥΤΩΝ ΧΑΜΗΛΟΥ ΚΟΣΤΟΥΣ

Στις μέρες μας, η φασματοσκοπία απορρόφησης είναι η πιο κοινή αναλυτική τεχνική που χρησιμοποιείται για χημικές και βιοχημικές αναλύσεις. Επίσης, πολυάριθμες αναλυτικές ανιχνεύσεις χρησιμοποιούν μετρήσεις υπεριώδους ή ορατής απορρόφησης. Η χρήση ανιχνευτών χαμηλού κόστους βασισμένων σε κοινές ηλεκτρονικές συσκευές είναι ιδιαίτερα ελκυστική, καθώς μπορούν να συλλάβουν έγχρωμες εικόνες των δειγμάτων και στη συνέχεια να ποσοτικοποιήσουν την ένταση χρώματος στο σύστημα χρωμάτων RGB (κόκκινο-πράσινο-μπλε). Αυτή η προσέγγιση αναφέρεται ως ψηφιακή χρωματομετρία εικόνας και εφαρμόζεται επιτυχώς τόσο σε στερεή επιφάνεια (δοκιμαστικές ταινίες, συσκευές χαρτιού κ.λπ.) όσο και σε δείγματα υγρών.

Αν και οι μετρήσεις ανάκλασης φωτός σε στερεές επιφάνειες είναι ευκολότερες, η μέτρηση της απορρόφησης των υγρών δειγμάτων είναι πιο απαιτητική, δεδομένου ότι χρειάζεται τόσο μια πηγή φωτός όσο και ένας κατάλληλος ανιχνευτής για τη σύλληψη του μεταδιδόμενου φωτός. Οι περιορισμένες, έγχρωμες, δίοδοι εκπομπής φωτός (LED) είναι οι απλούστερες πηγές φωτός που χρησιμοποιούνται για τη φωτισμό των υγρών δειγμάτων ενώ φωτοανιχνευτές χαμηλού κόστους (όπως φωτοαντιστάσεις, φωτοδίοδοι ή φωτοτρανζιστορ) έχουν χρησιμοποιηθεί για την ανίχνευση του φωτός που μεταδίδεται μέσω του δείγματος. (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 Kanwar L. et. al., 2010, Sumriddetchkajorn S. et. al., 2014, Wei Q. et. al., 2014). Αυτές οι φωτομετρικές συσκευές είναι κατάλληλες για συγκεκριμένες εφαρμογές, καθώς μπορούν να χρησιμοποιηθούν για δοκιμές όπου τα έγχρωμα προϊόντα απορροφούν μέσα στο εύρος ζώνης της συγκεκριμένης πηγής LED. Επομένως, χρειάζονται πολλαπλές συσκευές για την εκτέλεση μιας σειράς αναλύσεων.

Για να παρακάμψουν αυτόν τον περιορισμό, χρησιμοποιήθηκαν LEDs ευρείας ζώνης για φωτισμό δείγματος, τα οποία περιλαμβάνουν οι επίπεδοι σαρωτές και οι ψηφιακές οθόνες (π.χ. οθόνες υπολογιστών, υπολογιστές tablet και οθόνες ψηφιακής φωτογραφίας). (Quagliano J. M. et. al., 2013, Medeiros de Moraes

C. d. L. et. al., 2014, Abbaspour A. et. al., 2009, Filippini D. et. al., 2003, Iqbal Z. et. al., 2010, Tortora L. et. al., 2009, Alimelli A. et. al., 2007, Filippini D. et. al., 2007, Vashist S. et. al., 2015). Αν και ακριβότερες, και σε ορισμένες περιπτώσεις μη φορητές (π.χ. οθόνες), οι πηγές φωτός ευρείας ζώνης επιτρέπουν την εκτέλεση φωτομετρικών μετρήσεων σε πολλά μήκη κύματος, ενώ μπορούν να συζευχθούν με αισθητήρες εικόνας ως ανιχνευτές. Τέτοιοι αισθητήρες εικόνας περιλαμβάνουν ανιχνευτές CCD ή CMOS που βρίσκονται συνήθως σε σαρωτές επίπεδης επιφάνειας και φωτογραφικές μηχανές.

Ένα άλλο πλεονέκτημα αυτών των διατάξεων είναι η ικανότητα μέτρησης της απορρόφησης είτε ως τρόπος ανάκλασης είτε διαπερατότητας. Η ανάκλαση είναι η απλούστερη προσέγγιση και προτιμάται όταν η μεταβλητότητα των τιμών χρώματος σε όλο το δείγμα δεν επηρεάζει αρνητικά την απόκτηση δεδομένων και την ακρίβεια των μετρήσεων. Οι μετρήσεις με βάση τη διαπερατότητα, από την άλλη πλευρά, είναι ακριβέστερες, αλλά απαιτούν ειδικά σχεδιασμένο λογισμικό για την επεξεργασία των δεδομένων εικόνας και την εξαγωγή της έντασης του φωτός.

Ο Χριστοδουλέας και οι συνεργάτες του πρότειναν μια απλή λύση σε αυτό το πρόβλημα χρησιμοποιώντας λευκές λυχνίες LEDs ευρείας ζώνης ως πηγές φωτός (επίπεδοι σαρωτές και κινητά τηλέφωνα) και αισθητήρες εικόνας CCD/CMOS ως φωτοανιχνευτές (Christodouleas D.C. et. al., 2015). Με αυτό τον τρόπο δημιουργήθηκε μια οπτική διαδρομή μεταξύ της πηγής φωτός και του ανιχνευτή που επέτρεψε τη λήψη και την ψηφιοποίηση του μεταδιδόμενου φωτός στο σύστημα χρωμάτων RGB. Αυτή η απλή και εύχρηστη μέθοδος χρησιμοποιήθηκε με επιτυχία και στην εκτέλεση δοκιμών θολωσιμετρίας. (Karpi F.A. et. al., 2017).

Παρά το γεγονός ότι όλες αυτές οι εξελίξεις επεκτείνουν την εφαρμογή φωτομετρικών συσκευών χαμηλού κόστους, είναι όλες σε θέση να πραγματοποιούν φωτομετρικές μετρήσεις μόνο στην ορατή περιοχή του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος. Ωστόσο, η μεγάλη πλειοψηφία των ενώσεων (τόσο οργανικών όσο και ανόργανων) απορροφάται επίσης στην περιοχή UV και συνήθως πιο έντονα. Οι μετρήσεις που εκτελούνται σε μικρά μήκη κύματος στο ηλεκτρομαγνητικό φάσμα (UVC: $<280\text{ nm}$) συνήθως δεν είναι κατάλληλες επειδή οι περισσότερες ενώσεις απορροφούν σε αυτή την περιοχή και ως εκ τούτου τα περισσότερα δείγματα

εμφανίζουν ισχυρή απορρόφηση υπεριώδους υποβάθρου που παρεμβαίνει στην ανάλυση. Εντούτοις, δουλεύοντας σε περιοχή μεσαίων (UVB: 280-315 nm) και μεγαλύτερων μήκων κύματος (UVA: 315-400 nm) του φάσματος υπεριώδους ακτινοβολίας μειώνεται ο κίνδυνος παρόμοιων παρεμποδίσεων. Στην πραγματικότητα πολλές αναλύσεις πραγματοποιούνται στην περιοχή UVA ή UVB, αφού πολλοί αναλύτες εμφανίζουν απορρόφηση μόνο 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)(ref), η ανάλυση φαρμακευτικά δραστικών συστατικών (refs), ο προσδιορισμός καρβονυλικών ενώσεων με DNPH (στα 370 nm) (ref), ο προσδιορισμός των πρωτεϊνών (στα 280 nm) (ref). Επιπλέον, χρησιμοποιώντας ανιχνευτές χαμηλού κόστους, μπορεί να βελτιωθεί η ακρίβεια των αναλύσεων που πραγματοποιήθηκαν στο πεδίο ή σε εφαρμογές περιορισμένων πόρων. Το γεγονός αυτό στηρίζεται στην ικανότητα εκτέλεσης φωτομετρικών μετρήσεων τόσο σε υπεριώδη όσο και σε ορατή ακτινοβολία, αξιοποιώντας το πλεονέκτημα του ότι η απορρόφηση μετριέται σε περισσότερα από ένα μήκη κύματος.

Γενικότερα παρατηρείται έλλειψη μη-ενόργανων φωτομετρικών τεχνικών που επιτρέπουν τον προσδιορισμό της απορρόφησης υπεριώδους ακτινοβολίας με χαμηλό κόστος. Πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι είναι εφικτή η λήψη της υπεριώδους ακτινοβολίας με συμβατικές κάμερες που χρησιμοποιούν αισθητήρες CMOS οπίσθιου φωτισμού, ενσωματώνοντας κατάλληλα εξαρτήματα όπως φακοί UV, φίλτρα διέλευσης UV και φίλτρα ουδέτερης πυκνότητας (Wilkes T.C. et. al., 2016, Iggoe D.P. et. al., 2013). Αυτές οι διατάξεις με τις κάμερες των smartphone έχουν δείξει υποσχόμενα αποτελέσματα στη μέτρηση της απορρόφησης ακτινοβολίας UV σε αέρια (Wilkes T.C. et. al., 2016) και αερολύματα (Iggoe D.P. et. al., 2013) αλλά η χρήση τους σε υγρά δείγματα δεν έχει αποδειχθεί. Επιπλέον, τα smartphones με αισθητήρες οπίσθιου φωτισμού μπορεί να βελτιώνουν την ευαισθησία της κάμερας στην υπεριώδη ακτινοβολία αλλά α) μειώνεται η ευκρίνεια και δημιουργείται θόρυβος στην ληφθείσα φωτογραφία, γεγονός που μπορεί να προκαλέσει σφάλμα στην ανάλυση και β) μειώνουν τα όρια ευαισθησίας στα 300-310 nm (Prutchi D., 2016, Wilkes T.C. et. al., 2016) περιορίζοντας έτσι τη χρήση τους σε αναλυτικές εφαρμογές. Εκτός από τους τεχνικούς περιορισμούς, η ενσωμάτωση

όλων των απαραίτητων εξαρτημάτων σε μια κάμερα smartphone συνεπάγεται τελικά ένα υψηλό κόστος το οποίο πλησιάζει το κόστος των σύγχρονων φωτομέτρων UV χαμηλού κόστους.

Σε αυτή την εργασία περιγράφουμε μια απλή και οικονομικά αποδοτική μέθοδο για την εκτέλεση φωτομετρικών μετρήσεων στην περιοχή UV του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος χωρίς ενόργανους ανιχνευτές. Η μέθοδος μας βασίζεται στον επαναπροσδιορισμό των αρχών της πρώτης φωτογραφίας για την εφαρμογή των μετρήσεων απορρόφησης UV μέσω της προσαρμοστικής χρήσης φωτοχημικώς ευαίσθητου (φωτογραφικού) χαρτιού ως ανιχνευτή. Συγκεκριμένα, μια πηγή υπεριώδους ακτινοβολίας UV ακτινοβολεί τα δείγματα που βρίσκονται σε μικροπλακίδια. Η προσπίπτουσα υπεριώδης ακτινοβολία απορροφάται από το δείγμα ενώ η ακτινοβολία που διαπερνά φτάνει στην επιφάνεια του φωτοχημικά ευαίσθητου χαρτιού που είναι τοποθετημένο στο κάτω μέρος του μικροπλακιδίου (μια διαδικασία που είναι ισοδύναμη με την «εκτύπωση επαφής» στη φωτογραφία) (REF). Η επικάλυψη του χαρτιού φωτοανάγεται παράγοντας ένα «θετικό» είδωλο του δείγματος. Η ένταση του χρώματος στην περιοχή που ορίζεται από αυτό το «θετικό» είδωλο καταγράφεται με τη χρήση ηλεκτρονικών συσκευών (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 διαφορετικές μεθόδους που βασίζονται στην απορρόφηση της υπεριώδους και ορατής ακτινοβολίας. Οι μέθοδοι που εφαρμόστηκαν είναι η μελέτη της βανιλίνης, το H₂O₂ με βάση την μιμητική δραστικότητα υπεροξειδάσης των νανοσωματιδίων του ροδίου (RhNPs) χρησιμοποιώντας το TMB ως χρωμοφόρο αντιδραστήριο, το H₂O₂ με τη χρήση ιωδιούχου καλίου, του νικελίου χρησιμοποιώντας το έγχρωμο προϊόν του με διμεθυλογλυοξίμη, φωσφορικά ανιόντα χρησιμοποιώντας το έγχρωμο σύμπλοκο των βαναδοφωσφομολυβδαινικών, των φαρμάκων

παρακεταμόλη, ινδομεθακίνη, ιμπουπροφαίνη και σουλφασαλικλικό οξύ, των δεικτών kresolred και eriochrome black T. Επίσης εφαρμόστηκε μια μέθοδος που βασίζεται στην θολωσιμετρία (προσδιορισμός πρωτεϊνών). Οι παραπάνω τεχνικές αξιολογούνται σε σύγκριση με την τυπική φασματοφωτομετρία UV/Vis χρησιμοποιώντας κλασσικό φωτογραφικό χαρτί με επικαλύψεις αλογονιδίων αργύρου.

3.2 ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

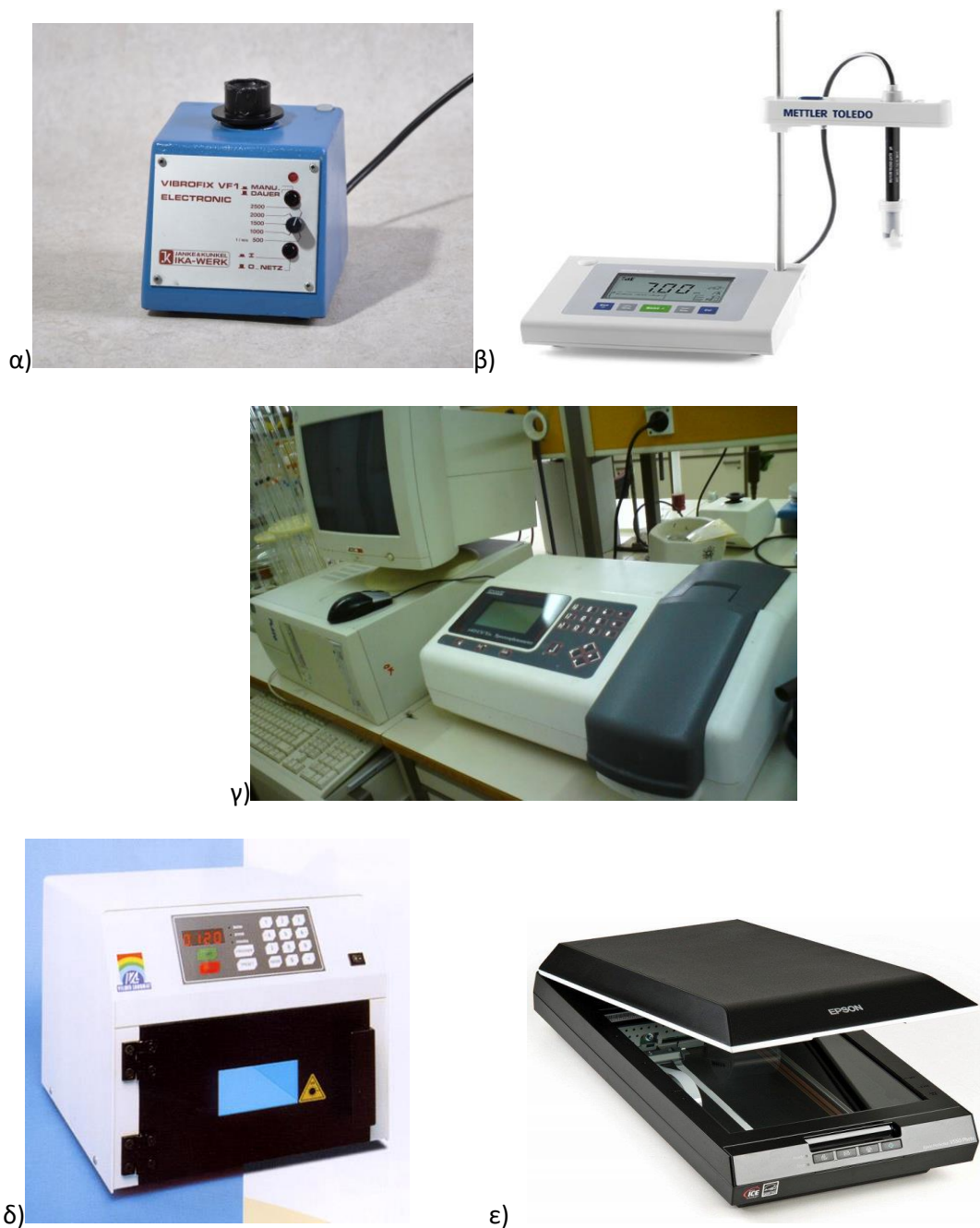
Όλα τα χημικά αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν ήταν αναλυτικού βαθμού καθαρότητας και χρησιμοποιήθηκαν χωρίς περαιτέρω κατεργασία. Η παρακεταμόλη, ινδομεθακίνη, σουλφασαλικλικό οξύ και ιμπουπροφαίνη αγοράστηκαν από εμπορικά μαγαζιά και φαρμακεία. η πρωτεΐνη Bovine Serum Albumin (BSA), το θειικό αμμώνιο, δισόξινο φωσφορικό κάλιο, φωσφορικό Νάτριο αγοράστηκαν από Sigma-Aldrich (Steinheim, Germany). Η μεθανόλη και η αιθανόλη αγοράστηκαν την Fisher Chemical (Λάφμπορο, UK). Η βανιλίνη, οι δείκτες eriochrome black T και kresolred, το βορικό οξύ, το καυστικό νάτριο, το υπεροξείδιο του υδρογόνου, το οξικό οξύ και το φωσφορικό νάτριο αγοράστηκαν από Merck (Darmstadt, Germany). Το κιτρικό οξύ, ιωδιούχο κάλιο αγοράστηκαν από Mallinckrodt (Dublin, Ireland). Το κιτρικό νάτριο, εξαύδατο νιτρικό νικέλιο, επταμολυβδαινικό αμμώνιο, τρυγικό καλιοαντιμονυλιο, οξικό νάτριο αγοράστηκαν από την Fluka Chemical (Switzerland). Το θειικό οξύ αγοράστηκε από την Bacacos P. Chemical (Athens, Greece), η διμεθυλογλυοξίμη (DMG) από την Ferak Berlin (berlin, Germany) και το TMB αγοράστηκε από την Alfa Aesar (Μασαχουσέτη, ΗΠΑ). Τα νανοσωματίδια ροδίου (RhNPs) παρασκευάστηκαν στο εργαστήριο. Το φωτογραφικό χαρτί με αλογονίδια αργύρου (MULTIGRADE IV RC DELUXE σατινέ φύλλα, 190 gsm επικαλυμμένα με ρητίνη) αγοράστηκε από την ILFORD (Harman Technology Ltd, Worcester, UK).

3.3 ΠΡΑΓΜΑΤΙΚΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ

Εμπορικά φάρμακα σε διάφορες μορφές (χάπι ή gel) αγοράστηκαν από τοπικά φαρμακεία και διαλύθηκαν σε νερό. Τα διαλύματα στη συνέχεια διηθήθηκαν για να απομακρυνθούν τα μη-διαλυμένα έκδοχα και αραιώθηκαν σε αποσταγμένο νερό. Εμπορική βανιλίνη λήφθηκε σε μορφή σκόνης από τοπικά καταστήματα και διαλύθηκε σε απεσταγμένο νερό. Το υγρό καθαρισμού φακών επαφής αγοράστηκε από τα τοπικά φαρμακεία. Παρασκευάστηκαν διαλύματα πλάσματος τεχνητού αίματος (ABP) ως εξής : Αναμίξαμε 137,5 mM χλωριούχο νάτριο, 4,2 mM όξινο ανθρακικό νάτριο, 3,0 mM χλωριούχο κάλιο, 0,5 mM όξινο φωσφορικό δινάτριο, 0,5 mM χλωριούχο μαγνήσιο, 2,64 mM χλωριούχο ασβέστιο και 0,5 θειικό νάτριο σε απεσταγμένο νερό και ρυθμίστηκε το pH στην τιμή 7,4.

3.4 ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ

Για την ανάδευση των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκε αναδευτήρας IKA Vibrofix VF1 electronic (IKA-WERK, Germany) με ρυθμιζόμενη ταχύτητα περιστροφής. Για τη μέτρηση των τιμών pH των διαλυμάτων χρησιμοποιήθηκε πεχάμετρο METTLER- TOLEDO. Οι μετρήσεις απορρόφησης και τα φάσματα υπεριώδους-ορατού(UV-Vis) των αναλυτών διεξήχθησαν με κυψελίδες χαλαζία μήκους διαδρομής 1 cm σε φασματοφωτόμετρο Jenway (Essex, UK) μοντέλο 6405 UV/Vis. Για την ακτινοβολήση των δειγμάτων χρησιμοποιήσαμε ένα θάλαμο φωτισμού UV (Vilber Lourmat Bio-Link® BLX Crosslinker) για να διασφαλίσουμε τη σταθερή έκθεση των δειγμάτων στο υπεριώδες φως και ορατό φως και την αποφυγή της ακτινοβολίας του ηλιακού φωτός. Ο θάλαμος έχει θέσεις για μέχρι και 5 σωλήνες (μήκος 211 mm). Χρησιμοποιήσαμε πέντε σωλήνες μεταβλητού μήκους κύματος (254, 312 και 365 nm και ψυχρούς(cool white) σωλήνες ορατού φωτός) για να επιτύχουμε ένταση φωτός από 5 έως 40W. Τέλος οι εικόνες του φωτογραφικού χαρτιού ανακτήθηκαν χρησιμοποιώντας έναν επίπεδο σαρωτή (PerfectionV550 Photo, Epson) σε λειτουργία ανάκλασης.



Εικόνα 3.1 : Εξοπλισμός πειραματικής πορείας. α) αναδευτήρας IKA Vibrofix VF1 electronic, β) πεχάμετρο METTLER- TOLEDO, γ) φασματοφωτόμετρο Jenway, δ) θάλαμος φωτισμού UV Vilber Lourmat Bio-Link® BLX Crosslinker, ε) επίπεδος σαρωτής PerfectionV550 Photo.

3.5 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΠΟΡΕΙΑ

Με την χρήση της μεθόδου μας προσδιορίστηκαν αναλύτες από τις μεθόδους που αναφέρθηκαν παραπάνω, όπως το νικέλιο, η BSA, η βανιλίνη, το υπεροξείδιο υδρογόνου, φωσφορικά ανιόντα, παρακεταμόλη, σουλφοσαλικυλικό οξύ, ιμπουπροφαίνη, ινδομεθακίνη, eriochroma T και kresolred. Δημιουργήθηκαν για την κάθε μέθοδο τα προβλεπόμενα διαλύματα και τοποθετήθηκαν στο μικροπλακίδιο σε διάφορες συγκεντρώσεις στην ποσότητα που χρειάζεται. Το μικροπλακίδιο ακτινοβολήθηκε μέσα σε θάλαμο UV με τις κατάλληλες λάμπες ανάλογα τι προϋποθέτει η εκάστοτε μέθοδος. Κάτω από το μικροπλακίδιο είναι τοποθετημένο το χαρτί ilford κάθε φορά, σχετικά πολύ κοντά σε αυτό, έτσι ώστε το μεγαλύτερο μέρος της ακτινοβολίας να περάσει μέσα από τα δείγματα και να αποτυπωθεί στο χαρτί. Έπειτα το χαρτί που ακτινοβολήθηκε σαρώθηκε σε επίπεδο σαρωτή Epson perfection V550 photo και αποθηκεύτηκε ως εικόνα. Για να πάρουμε τις τιμές RGB προκειμένου να γίνει η επεξεργασία διαγραμμάτων, η εικόνα επεξεργάστηκε στον υπολογιστή με την βοήθεια του προγράμματος Image J έτσι ώστε να γίνει η εξαγωγή των τιμών (Σχήμα 3.1). Με αυτές τις τιμές κατασκευάστηκαν οι καμπύλες βαθμονόμησης του σήματος των διαλυμάτων συναρτήσει της συγκέντρωσής τους.



Σχήμα 3.1 : Σχηματική απεικόνιση πειραματικής πορείας.

Συγκεκριμένα προσδιορίστηκαν οι παρακάτω αναλυτές σε υπεριώδη και ορατή ακτινοβολία.

Για τον προσδιορισμό του **δείκτη eriochrome black T** παρασκευάστηκε διάλυμα συγκέντρωσης 0,125% w/v διαλυμένο σε νερό ρυθμισμένο σε τιμή pH 10 με διάλυμα κιτρικού οξέος 0,05 M, βορικού οξέος 0,2 M και φωσφορικού νατρίου 0,1 M. Από αυτό δημιουργήθηκαν διαλύματα συγκεντρώσεων από 0,0006% έως 0,0032% w/v. Έπειτα από κάθε ένα διάλυμα μεταγγίστηκαν 250ul σε κάθε οπή του μικροπλακιδίου με χρήση αυτόματης πιπέτας. Τέλος το μικροπλακίδιο με το χαρτί Ilford τοποθετήθηκαν στον θάλαμο UV με 5 λάμπες 254 nm, σε απόσταση 15 cm από την κορυφή και χρόνο ακτινοβολήσης 28 sec.

Για τον προσδιορισμό του **δείκτη kresolred** παρασκευάστηκε διάλυμα συγκέντρωσης 0,25 % w/v διαλυμένο σε αιθανόλη ρυθμισμένο σε τιμή pH 5,64 με την χρήση ρυθμιστικού διαλύματος κιτρικού οξέως 0,1M και κιτρικού νατρίου 0,1M. Από αυτό δημιουργήθηκαν διαλύματα συγκεντρώσεων από 0,0012% έως 0,0032% w/v. Έπειτα από κάθε ένα διάλυμα μεταγγίστηκαν 250ul σε κάθε οπή του μικροπλακιδίου με χρήση αυτόματης πιπέτας. Τέλος το μικροπλακίδιο με το χαρτί Ilford στο κάτω μέρος του τοποθετήθηκαν στον θάλαμο UV με 5 λάμπες 254 nm, σε απόσταση 15 cm από την κορυφή και χρόνο ακτινοβολήσης 28 sec.

Για τον προσδιορισμό **παρακεταμόλης** παρασκευάστηκε διάλυμα με συγκέντρωση 1000 mgL^{-1} σε απεσταγμένο νερό. Από αυτό δημιουργήθηκαν διαλύματα συγκεντρώσεων 5 έως 80 mg L^{-1} . Έπειτα από κάθε ένα διάλυμα μεταγγίστηκαν 150ul σε κάθε οπή του μικροπλακιδίου με χρήση αυτόματης πιπέτας. Τέλος το μικροπλακίδιο με το χαρτί Ilford τοποθετήθηκαν στον θάλαμο UV με 5 λάμπες 254 nm, σε απόσταση 15 cm από την κορυφή και χρόνο ακτινοβολήσης 28 sec.

Για τον προσδιορισμό **ινδομεθακίνης** παρασκευάστηκε διάλυμα με συγκέντρωση 100 mgL^{-1} σε διάλυμα αιθανόλης. Από αυτό δημιουργήθηκαν διαλύματα συγκεντρώσεων 5 έως 80 mg L^{-1} . Έπειτα από κάθε ένα διάλυμα μεταγγίστηκαν 250ul σε κάθε οπή του μικροπλακιδίου με χρήση αυτόματης πιπέτας. Τέλος το μικροπλακίδιο με το χαρτί Ilford τοποθετήθηκαν στον θάλαμο UV

με 5 λάμπες 254 nm, σε απόσταση 15 cm από την κορυφή και χρόνο ακτινοβολήσης 28 sec.

Για τον προσδιορισμό **σουλφοσαλικυλικού οξέως** παρασκευάστηκε διάλυμα με συγκέντρωση 4000 mgL^{-1} σε απεσταγμένο νερό. Από αυτό δημιουργήθηκαν διαλύματα συγκεντρώσεων 20 έως 100 mg L^{-1} . Έπειτα από κάθε ένα διάλυμα μεταγγίστηκαν 250ul σε κάθε οπή του μικροπλακιδίου με χρήση αυτόματης πιπέτας. Τέλος το μικροπλακίδιο με το χαρτί Ilford τοποθετήθηκαν στον θάλαμο UV με 5 λάμπες 312 nm, σε απόσταση 15 cm από την κορυφή και χρόνο ακτινοβολήσης 28 sec.

Για τον προσδιορισμό **ιμπουπροφαίνης** με συγκέντρωση 3000 mgL^{-1} διαλυμένο σε μεθανόλη. Από αυτό δημιουργήθηκαν διαλύματα συγκεντρώσεων 25 έως 150 mg L^{-1} . Έπειτα από κάθε ένα διάλυμα μεταγγίστηκαν 150ul σε κάθε οπή του μικροπλακιδίου με χρήση αυτόματης πιπέτας. Τέλος το μικροπλακίδιο με το χαρτί Ilford τοποθετήθηκαν στον θάλαμο UV με 5 λάμπες 254 nm, σε απόσταση 15 cm από την κορυφή και χρόνο ακτινοβολήσης 28 sec.

Για τη μελέτη της **βανιλίνης** παρασκευάστηκε διάλυμα με συγκέντρωση 100 mg L^{-1} σε απεσταγμένο νερό από το οποίο με παρασκευάστηκαν τα διαλύματα των οποίων οι συγκεντρώσεις κυμαίνονταν από 10 έως 60 mg L^{-1} . Έπειτα από κάθε ένα διάλυμα μεταγγίστηκαν 250ul σε κάθε οπή του μικροπλακιδίου με χρήση αυτόματης πιπέτας. Τέλος το μικροπλακίδιο με το χαρτί Ilford τοποθετήθηκαν στον θάλαμο UV με 5 λάμπες 254 nm, σε απόσταση 15 cm από την κορυφή και χρόνο ακτινοβολήσης 28 sec.

Για την **θολωσιμετρική μέθοδο** με την χρήση **BSA πρωτεΐνης** δημιουργήθηκε διάλυμα πρωτεΐνης BSA με συγκέντρωσης 0,6 mM σε απεσταγμένο νερό από το παρασκευάστηκαν τα μετρούμενα διαλύματα συγκεντρώσεων από 0,012 έως 0,12 mM με τη χρήση διαλύματος θειικού αμμωνίου 4 M. Έπειτα από κάθε ένα διάλυμα μεταγγίστηκαν 250ul σε κάθε οπή του μικροπλακιδίου με χρήση αυτόματης πιπέτας. Τέλος το μικροπλακίδιο με το χαρτί Ilford τοποθετήθηκαν στον θάλαμο UV με 5 λάμπες 254 nm, σε απόσταση 15 cm από την κορυφή και χρόνο ακτινοβολήσης 28 sec.

Για τον προσδιορισμό του **υπεροξειδίου του υδρογόνου** παρασκευάστηκε διάλυμα με συγκέντρωση 1 mM σε απεσταγμένο νερό από το οποίο παρασκευάστηκαν τα διαλύματα συγκεντρώσεων από 0,16 έως 0,66 mM με τη χρήση υδατικού διαλύματος ιωδιούχου καλίου 1 M. Το διάλυμα έφτασε σε τιμή pH 7,23 που πραγματοποιήθηκε με χρήση ρυθμιστικού διαλύματος δισόξινου φωσφορικού καλίου 0,1 M και καυστικού νατρίου 0,1 M. Έπειτα από κάθε ένα διάλυμα μεταγγίστηκαν 250ul σε κάθε οπή του μικροπλακιδίου με χρήση αυτόματης πιπέτας. Τέλος το μικροπλακίδιο με το χαρτί Ilford τοποθετήθηκαν στον θάλαμο UV με 5 λάμπες 365 nm, σε απόσταση 15 cm από την κορυφή και χρόνο ακτινοβολήσης 28 sec.

Για την μελέτη του **υπεροξειδίου του υδρογόνου** με βάση την μιμητική δραστικότητα υπεροξειδάσης των νανοσωματιδίων του ροδίου (RhNPs) παρασκευάστηκε διάλυμα υπεροξειδίου του υδρογόνου με συγκέντρωση 5 mM σε απεσταγμένο νερό από το οποίο παρασκευάστηκαν τα μετρούμενα διαλύματα σε συγκεντρώσεις από 0,01 έως 0,5 mM με τη χρήση του χρωμοφόρου TMB συγκεντρώσεως 10 mM, νανοσωματιδίων ροδίου που παρασκευάστηκαν στο εργαστήριο, θειικού οξέως συγκέντρωσης 5M. Το διάλυμα ρυθμίστηκε σε τιμή pH 4 που πραγματοποιήθηκε με χρήση ρυθμιστικού διαλύματος οξικού νατρίου 0,2M και οξικού οξέως 0,2M. Έπειτα από κάθε ένα διάλυμα μεταγγίστηκαν 250ul σε κάθε οπή του μικροπλακιδίου με χρήση αυτόματης πιπέτας. Τέλος το μικροπλακίδιο με το χαρτί Ilford τοποθετήθηκαν στον θάλαμο UV με 5 λάμπες 254 nm την μία φορά και με 5 λάμπες ορατού την επόμενη. Και στις δύο περιπτώσεις ακτινοβολήθηκαν σε απόσταση 15 cm από την κορυφή και χρόνο ακτινοβολήσης 28 sec.

Για την μελέτη των **φωσφορικών ανιόντων** παρασκευάστηκε διάλυμα φωσφορικού νατρίου συγκέντρωσης 1000 mg L⁻¹ διαλυμένο σε απεσταγμένο νερό. Με την χρήση επταμολυβδαινικού αμμώνιου 60*10³ mg L⁻¹, τρυγικού καλιοαντιμονυλίου 2,74*10³ mg L⁻¹ και θειικού οξέως 2,5M παρασκευάστηκαν τα μετρούμενα διαλύματα συγκεντρώσεων 10 mg L⁻¹ έως 140 mg L⁻¹. Έπειτα από κάθε ένα διάλυμα μεταγγίστηκαν 250ul σε κάθε οπή του μικροπλακιδίου με χρήση αυτόματης πιπέτας. Τέλος το μικροπλακίδιο με το χαρτί Ilford τοποθετήθηκαν στον θάλαμο UV με 5 λάμπες 254 nm την μία φορά και με 5 λάμπες ορατού την επόμενη.

Και στις δύο περιπτώσεις ακτινοβολήθηκαν σε απόσταση 15 cm από την κορυφή και χρόνο ακτινοβολήσης 28 sec.

Για τον προσδιορισμό του **νικελίου** παρασκευάστηκε διάλυμα νιτρικού νικελίου συγκέντρωσης 100 mg L^{-1} σε απεσταγμένο νερό. Με την χρήση DMG διμεθυλογλιόξιμης 0,1M παρασκευάστηκαν διαλύματα συγκεντρώσεων από 1 mg L^{-1} έως 16 mg L^{-1} . Τα παραπάνω διαλύματα ρυθμίστηκαν σε pH 8.77 με την βοήθεια ρυθμιστικού διαλύματος βορικού οξέως 0,1M, καυστικού νατρίου 0,1M και χλωριούχου καλίου 0,1M. Έπειτα από κάθε ένα διάλυμα μεταγγίστηκαν 250ul σε κάθε οπή του μικροπλακιδίου με χρήση αυτόματης πιπέτας. Τέλος το μικροπλακίδιο με το χαρτί Ilford τοποθετήθηκαν στον θάλαμο UV με 5 λάμπες 254 nm την μία φορά και με 5 λάμπες ορατού την επόμενη. Και στις δύο περιπτώσεις ακτινοβολήθηκαν σε απόσταση 15 cm από την κορυφή και χρόνο ακτινοβολήσης 28 sec.

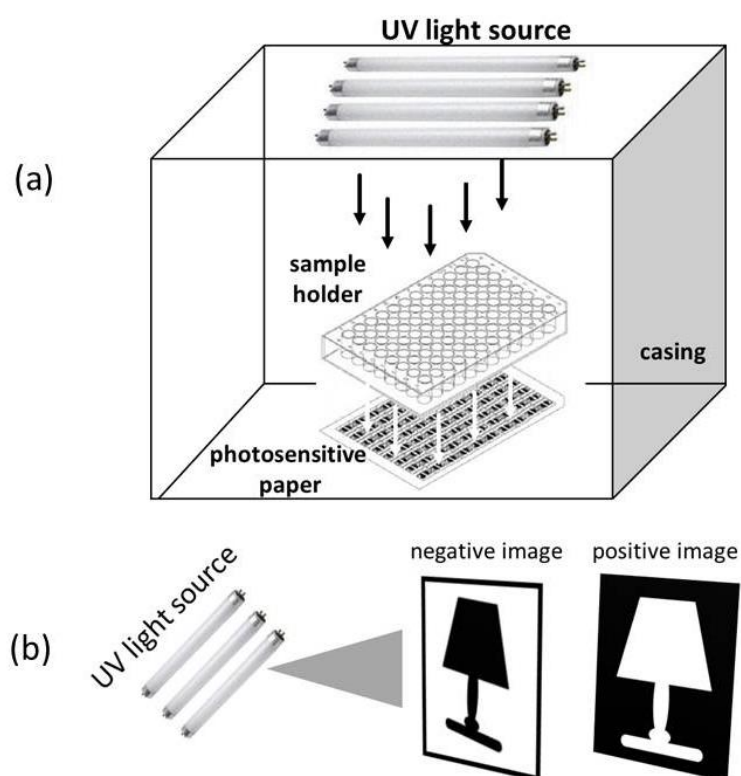
ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΕΤΑΡΤΟ

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

4.1 ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΥΠΕΡΙΩΔΟΥΣ ΦΩΤΟΓΡΑΦΙΚΗΣ ΦΩΤΟΜΕΤΡΙΑΣ

Η αρχή της υπεριώδους φωτομετρικής φωτογραφίας βασίζεται στις γενικές αρχές της φωτογραφικής διαδικασίας εκτύπωσης εξ επαφής όπως αυτή είχε χρησιμοποιηθεί μέχρι τις αρχές του 21^{ου} αιώνα. Σε αυτή τη διαδικασία, μια αρνητική εικόνα καταγράφεται αρχικά εκθέτοντας ένα φωτοευαίσθητο χαρτί στο φως. Καθώς το φως του περιβάλλοντος αντανακλάται (ή διασκορπίζεται) από τις επιφάνειες πάνω από το χαρτί με διαφορετικό τρόπο, η ένταση φωτός που φτάνει στο φωτοευαίσθητο χαρτί διαφέρει σε κάθε τμήμα της εκτιθέμενης περιοχής επηρεάζοντας έτσι την φωτοευαίσθητη επικάλυψη του χαρτιού με διαφορετικό τρόπο. Τα πιο φωτεινά αντικείμενα τα οποία αντανακλούν ή διασκορπίζουν περισσότερο φως εμφανίζονται πιο σκούρα (καθώς περισσότερο φως φτάνει στο φωτοευαίσθητο χαρτί) ενώ τα σκουρόχρωμα αντικείμενα εμφανίζονται πιο φωτεινά στο χαρτί (καθώς περισσότερο φως απορροφάται από την επιφάνειά τους). Όταν η αρνητική εικόνα εκτίθεται σε τεχνητό φως, λειτουργεί ως μάσκα προσπίπτοντος φωτός. Οι σκουρόχρωμες περιοχές απορροφούν περισσότερο φως και έτσι λειτουργούν ως προστατευτικό στρώμα έναντι της αναγωγής του φωτοευαίσθητου χαρτιού που βρίσκεται από κάτω, ενώ οι ανοιχτόχρωμες περιοχές αφήνουν περισσότερο φως να περάσει.

Με αυτόν τον τρόπο δημιουργείται μια θετική εικόνα που εμφανίζεται ως αντιστροφή της αρνητικής εικόνας. Στην μέθοδό μας οι κυψελίδες των μικροπλακιδίων λειτουργούν ως αρνητική εικόνα ενώ το φωτογραφικό χαρτί ως 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 επικάλυψή του. Όταν ένα δείγμα που περιέχει ενώσεις που απορροφούν ακτινοβολία τοποθετείται στην κυψελίδα, ένα μέρος της προσπίπτουσας ακτινοβολίας απορροφάται από τα μόρια με αποτέλεσμα η προσπίπτουσα, στην φωτοευαίσθητη επικάλυψη του χαρτιού ακτινοβολία, να μειώνεται αναλογικά με την ποσότητα φωτός που απορροφάται από το δείγμα. Η τελευταία είναι ευθέως ανάλογη με τη συγκέντρωση του αναλύτη στο δείγμα. Η γραφική απεικόνιση της μεθόδου απεικονίζεται στο Σχήμα 4.1.



Σχήμα 4.1 : α) Αρχή και βασική διαμόρφωση της συσκευής φωτογραφικής φωτομετρίας β) Απλοποιημένη αναπαράσταση της επαφής φωτογραφικής εκτύπωσης.

4.2 ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΩΝ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ ΤΩΝ ΣΥΣΚΕΥΩΝ

Το πρώτο βήμα στη διαμόρφωση μιας συσκευής υπεριώδους φωτογραφικής φωτομετρικής είναι η επιλογή των πηγών φωτός. Οι λαμπτήρες Xenon, υδρογόνου ή υδραργύρου UV δεν είναι κατάλληλοι για τη συγκεκριμένη συσκευή όχι μόνο λόγω του υψηλού κόστους τους αλλά και λόγω της ευρείας κλίμακας εκπομπών τους, η οποία δεν είναι κατάλληλη για διάφορους λόγους: α) τα φωτογραφικά χαρτιά που χρησιμοποιούνται ως ανιχνευτές σε αυτή την εργασία, είναι ευαίσθητοι σε ένα ευρύ φάσμα ακτινοβολίας με υπεριώδη ακτινοβολία που εμφανίζει μικρή ή

καθόλου εκλεκτικότητα στο υπεριώδες φως, 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. Κάτω από μία πηγή φωτός ευρείας ζώνης το εύρος των μηκών κύματος που δεν απορροφώνται από το δείγμα θα φωτοανάγουν την φωτοευαίσθητη επικάλυψη του χαρτιού και θα μειώσουν την ευαισθησία και την ακρίβεια της ανάλυσης και, γ) τα πραγματικά δείγματα περιέχουν αναπόφευκτα και άλλες ενώσεις που απορροφούν στο UV οι οποίες μπορεί να απορροφήσουν μέρος της προσπίπτουσας ακτινοβολίας και να προκαλέσουν θετική παρεμβολή στην ανάλυση.

Για τους λόγους αυτούς προτιμώνται οι πηγές φωτός UV που εκπέμπουν σε συγκεκριμένο μήκος κύματος και διατίθενται στο εμπόριο με χαμηλό κόστος. Μια μεγάλη ποικιλία πηγών υπεριώδους φωτός όπως λάμπες, λυχνίες LEDs, δίοδοι κ.λ.π. που εκπέμπουν σε ένα ευρύ φάσμα μηκών κύματος (από 200-395 nm) διατίθενται στο εμπόριο τόσο από επιστημονικούς όσο και από βιομηχανικούς κατασκευαστές με μεταβλητό κόστος. Στη συγκεκριμένη εργασία, χρησιμοποιήσαμε λάμπες UV (tubes) που εκπέμπουν στα 254,312 και 365 nm.

Όσο αναφορά την ανίχνευση, επιλέξαμε μια δημοφιλή φωτογραφική τεχνική, την διαδικασία salted paper, η οποία έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως στην πρώιμη φωτογραφία. Η τεχνική επιλέχθηκε ανάμεσα σε διάφορες τεχνικές που χρησιμοποιούνται 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 είναι εμπορικά διαθέσιμα διάφορα υλικά και φωτογραφικά χαρτιά. Η διαδικασία αλατισμένου χαρτιού βασίζεται σε φωτογραφικές επικαλύψεις από κρυστάλλους αλογονιδίων αργύρου που είναι ενσωματωμένες σε ένα στρώμα συνδετικού μέσου, το οποίο είναι σχεδόν πάντοτε ζελατίνη (στη φωτογραφία ονομάζονται "φωτογραφικά γαλακτώματα")(Bjelkhagen Hans I., 1999). Πιστεύεται ότι όταν ο κρύσταλλος αλογονιδίου του αργύρου εκτίθεται σε επαρκώς ισχυρό πρότυπο φωτός ή ιονίζουσας ακτινοβολίας κατάλληλου μήκους κύματος, η ενέργεια φωτονίων

απορροφάται από το αλογονίδιο και απελευθερώνεται από τον κρύσταλλο, απελευθερώνοντας ένα φωτοηλεκτρονίο, το οποίο συνδυάζεται με ιόντα αργύρου παράγουν άτομα μετάλλου Ag^0 . (Bjerkhagen Hans I., 1999, Attridge G., 2011, Marchetti A.P. & Eachus R.S., 1992.

Ο σχηματισμός πολλών Ag_0 δημιουργεί μια λανθάνουσα εικόνα η οποία μετασχηματίζεται σε μια ορατή εικόνα ακολουθώντας μια διαδικασία έξι σταδίων, όπως αναφέρθηκε ξανά στο πρώτο κεφάλαιο, που περιλαμβάνει: α) η βύθιση του φωτογραφικού χαρτιού σε διάλυμα ανάπτυξης που αποτελείται από παράγοντα ανάπτυξης (όπως υδροκινόνη, η μεθυλοαμινοφαινόλη (metol), πυρογαλλόλη, αμιδόλη κλπ), ρυθμιστή pH για ρύθμιση του pH σε αλκαλικές συνθήκες ($\text{pH} > 10$) και θειώδες νάτριο για την καθυστέρηση της οξείδωσης των αναπτυσσόμενων παραγόντων με ατμοσφαιρικό οξυγόνο. Αυτό το βήμα συμβάλλει στη μετατροπή των κόκκων αργύρου που έλαβαν επαρκή ακτινοβολία φωτός σε μεταλλικό ασήμι, β) ένα λουτρό διακοπής σε οξικό ή κιτρικό οξύ που χρησιμεύει για να σταματήσει η αναγωγή των αλογονιδίων αργύρου σε μεταλλικό άργυρο, γ) ένα διάλυμα στερεώσεως θειοθειικού νατρίου προς απομάκρυνση του υπολειπόμενου αλογονιδίου του αργύρου από την επιφάνεια του χαρτιού, ενώ αφήνεται άθικτο μεταλλικό άργυρο, δ) ένα βήμα έκπλυσης (συνήθως υπό τρεχούμενο ύδωρ) για να απομακρυνθεί η περίσσεια του διαλύματος στερέωσης ε) ένας παράγοντας διαβροχής που χρησιμοποιείται για την ελαχιστοποίηση υγρών σημείων στην επιφάνεια χαρτιού και στ) ξήρανση του χαρτιού σε περιβάλλον χωρίς σκόνη.

Για τους σκοπούς της εργασίας αυτής, το φωτογραφικό χαρτί αλογονιδίων αργύρου εκτέθηκε σε φως έναντι του διαλύματος του δείγματος για επαρκή χρόνο ώστε να σχηματίσει ένα είδωλο του δείγματος που είναι ορατό με γυμνό μάτι αποφεύγοντας τη διαδικασία ανάπτυξης που είναι δύσκολο να εκτελεστεί και δεν είναι πρακτική σε δοκιμές ρουτίνας για διάφορους λόγους:

α) απαιτεί αρκετά διαλύματα για την ανάπτυξη της εικόνας σε μια διαδικασία που απαιτεί ειδικούς χειρισμούς και απαιτεί σχεδόν 20-25 λεπτά για να ολοκληρωθεί,

β) μερικές από τις χημικές ουσίες που χρησιμοποιούνται σε αυτή τη διαδικασία απαιτούν προσεκτικό χειρισμό, καθώς μπορεί να προκαλέσουν

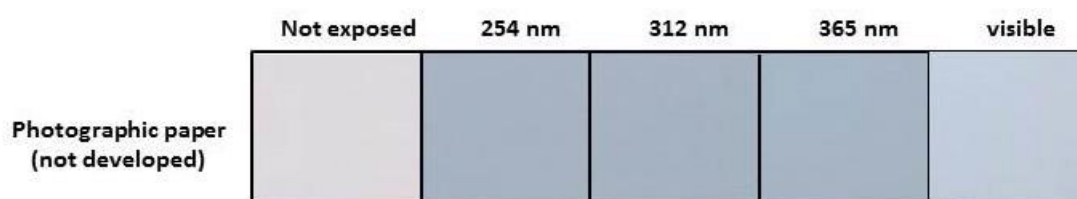
δυσμενείς επιπτώσεις στην υγεία (όπως η μεθυλοαμινοφαινόλη (metol) και υδροκινόνη),

γ) όλες οι διαδικασίες πρέπει να εκτελούνται σε συνθήκες σκοτεινού δωματίου και σε περιβάλλον χωρίς σκόνη,

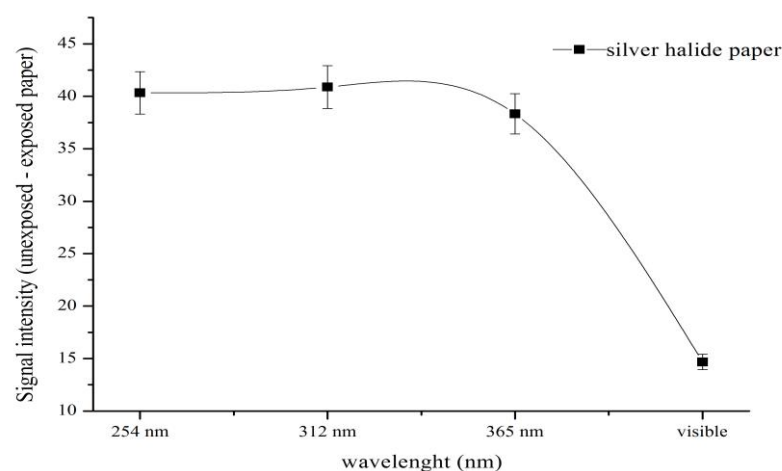
δ) η διαδικασία παράγει μεγάλο όγκο αποβλήτων.

4.3 ΦΑΣΜΑΤΙΚΗ ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ ΤΩΝ ΕΠΙΚΑΛΥΨΕΩΝ ΤΟΥ ΦΩΤΟΓΡΑΦΙΚΟΥ ΧΑΡΤΙΟΥ

Ομοίως με τα παραδοσιακά φασματοφωτόμετρα, η φωτογραφική φωτομετρία κατά προτίμηση μετρά την απορρόφηση στο μέγιστο μήκος κύματος. Ωστόσο, το φωτογραφικό χαρτί έχει διαφορετική ευαισθησία στο μήκος κύματος που εκτίθεται. Στο Σχήμα 4.2 φαίνεται η φασματική απόκριση του χρώματος των εκτεθειμένων και μη εκτεθειμένων στην ακτινοβολία χαρτιών.



Σχήμα 4.2 : Ευαισθησία του χαρτιού αλογονιδίων αργύρου σε υπεριώδη και ορατή ακτινοβολία φωτός.



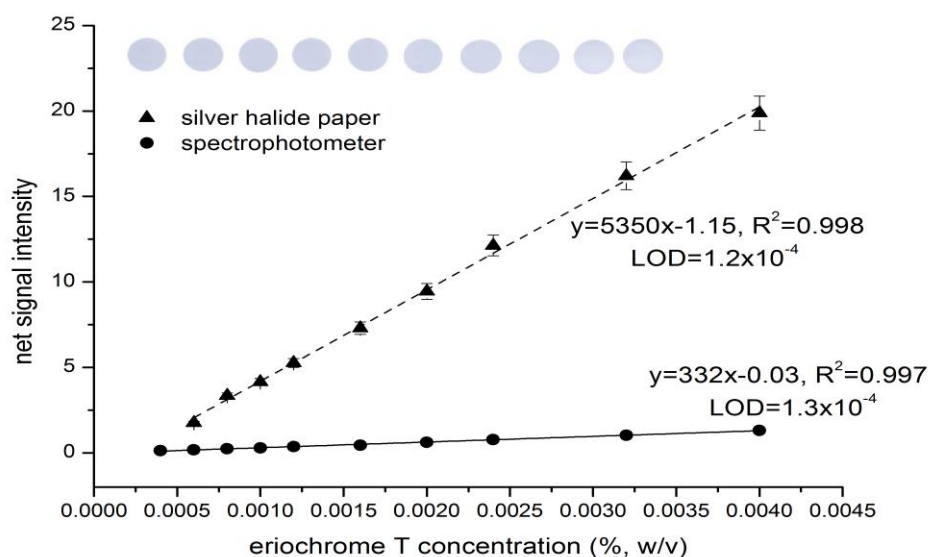
Σχήμα 4.3 : Διάγραμμα ευαισθησίας φωτογραφικού χαρτιού αλογονιδίων αργύρου.

Το φωτογραφικό χαρτί με αλογονίδια αργύρου δείχνει παρόμοια ευαισθησία στο υπεριώδες φως από 254-365 nm και μερική ευαισθησία στο ορατό φως. Αυτά τα αποτελέσματα υποδεικνύουν ότι το χαρτί αλογονιδίου αργύρου έχει μια γενικότερη χρησιμότητα σε όλο το φάσμα υπεριώδους ακτινοβολίας και εν μέρει περιορισμένη στο ορατό φάσμα.

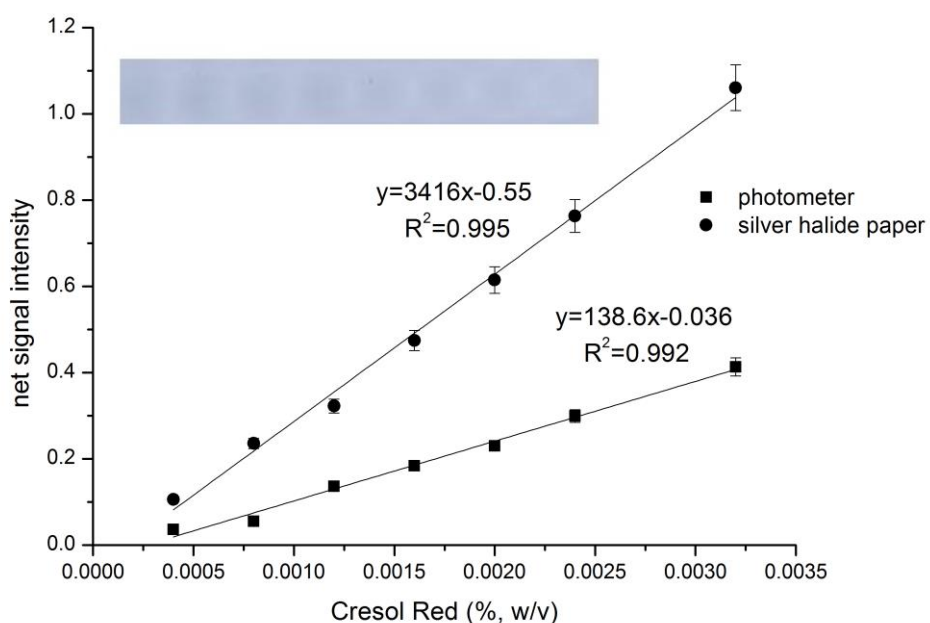
4.4 ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΜΕΤΡΗΣΕΩΝ ΜΕΤΑΞΥ ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗΣ ΚΑΙ ΦΩΤΟΓΡΑΦΙΚΗΣ ΦΩΤΟΜΕΤΡΙΑΣ

Η απόκριση της φωτογραφικής φωτομετρίας εκτιμήθηκε αρχικά με ανάλυση μίας σειράς δεικτών pH επειδή οι περισσότεροι από αυτούς εμφανίζουν κορυφές απορρόφησης τόσο σε υπεριώδες όσο και σε ορατό φάσμα, επιτρέποντας έτσι τη σύγκριση των αποτελεσμάτων που προκύπτουν από τη φωτογραφική φωτομετρία UV με τις παραδοσιακές φασματοφωτομετρικές μετρήσεις. Για παράδειγμα, το Σχήμα 2 δείχνει τις καμπύλες βαθμονόμησης του Eriochrome T σε pH 10 και του cresol red σε pH 5.65. Παρουσιάζουμε Eriochrome T σε pH 10 επειδή παρουσιάζει την ίδια ένταση απορρόφησης και σε UV ($\lambda = 254$ nm) και ορατή ($\lambda = 610$ nm), ενώ το cresol red σε pH 5,65, επιπρόσθετα, επειδή παρουσιάζει την ίδια ένταση απορρόφησης και σε UV ($\lambda = 254$ nm) και ορατή ($\lambda = 450$ nm), επιτρέποντας την άμεση σύγκριση μεταξύ μετρήσεων που πραγματοποιήθηκαν σε υπεριώδη και ορατά φάσματα.

Τα διαγράμματα βαθμονόμησης που ελήφθησαν από το φωτοευαίσθητο χαρτί ήταν γραμμικά και τα όρια ανίχνευσης ήταν συγκρίσιμα. Αυτά τα αποτελέσματα αποδεικνύουν ότι η υπεριώδης φωτογραφική φωτομετρία μπορεί να είναι χρήσιμη για μετρήσεις απορρόφησης στην περιοχή UV, ανεξάρτητα από τη θέση, το σχήμα ή την ένταση της υψηλότερης απορρόφησης του δείγματος. Όσο καλύτερη είναι η ευθυγράμμιση της εκπομπής φωτός UV με την κορυφή απορρόφησης, τόσο πιο ευαίσθητες θα είναι οι μετρήσεις.



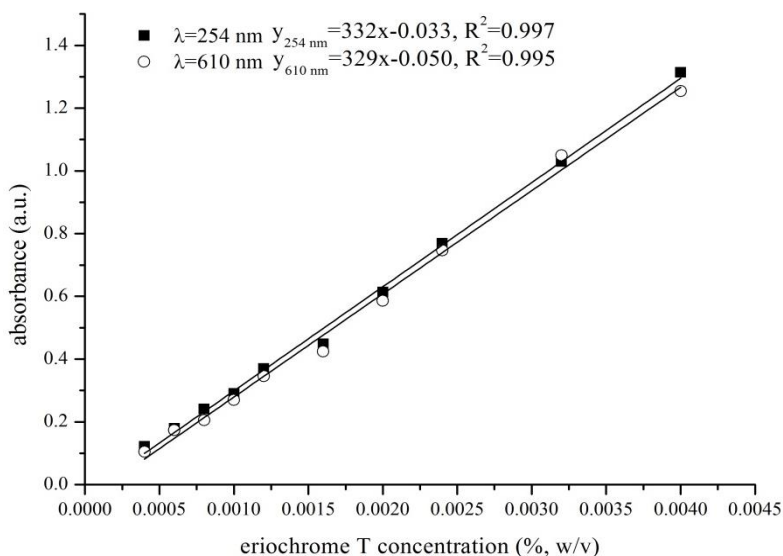
α) Γράφημα βαθμονόμησης έντασης Eriochrome T σε pH 10.



β) Γράφημα βαθμονόμησης έντασης Cresol red σε pH 5,65.

Σχήμα 4.4 : Γραφήματα βαθμονόμησης έντασης σήματος (δηλ. Μέση ένταση γκρίζας περιοχής που μετρείται στο σύστημα χρωμάτων RGB για το φωτογραφικό χαρτί και απορρόφηση από φασματοφωτομετρικές μετρήσεις) έναντι της συγκέντρωσης του δείκτη Eriochrome T (pH 10) και Cresol red (pH 5,65) αντίστοιχα. Κάθε σημείο δεδομένων αντιστοιχεί στη μέση τιμή πέντε μετρήσεων (σε ορισμένες

περιπτώσεις οι γραμμές που χρησιμοποιούνται για τυπικές αποκλίσεις είναι μικρότερες από τα σύμβολα).



Σχήμα 4.5 : Γραφήματα βαθμονόμησης έντασης απορρόφησης στην UV και ορατή περιοχή έναντι της συγκέντρωσης Εριόχρωμα T (pH 10).

Αντιστοίχως το Cresol red (pH 5,65) στο γράφημα απορρόφησης στην UV και ορατή περιοχή έναντι της συγκέντρωσης παρουσίασε τις εξής εξισώσεις:

$$\lambda=254\text{nm} \quad y_{254\text{nm}} = 0.0522x - 0.0228, R^2 = 0.995$$

$$\lambda=460\text{nm} \quad y_{460\text{nm}} = 0.0705x - 0.0482, R^2 = 0.996$$

4.5 ΕΠΙΔΕΙΞΗ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ ΦΩΤΟΓΡΑΦΙΚΗΣ ΦΩΤΟΜΕΤΡΙΑΣ ΣΕ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗ, ΒΙΟΧΗΜΕΙΑ ΚΑΙ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

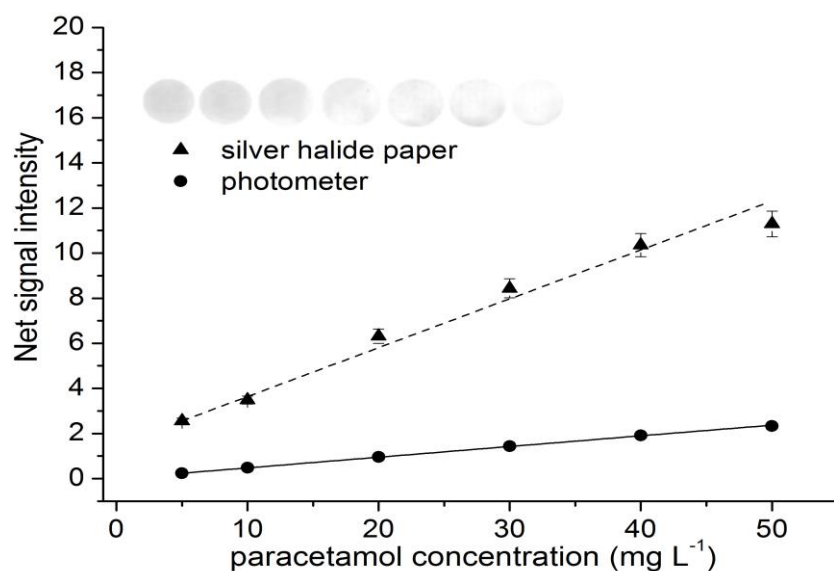
Εφαρμόσαμε φωτογραφική φωτομετρία και συγκρίναμε τα αποτελέσματα με ένα φασματοφωτόμετρο σε διαφορετικές μεθόδους για τον προσδιορισμό α) φαρμακευτικών δραστικών συστατικών σε συνταγογραφούμενα φάρμακα (δύο παυσίπονα, ένα μη στεροειδές αντιφλεγμονώδες φάρμακο και το σουλφοσαλικυλικό οξύ), β) βανιλίνης σε εμπορικά πρόσθετα γευστικών τροφίμων, γ) πρωτεΐνης στο πλάσμα αίματος και δ) υπεροξειδίου του υδρογόνου σε διάλυμα καθαρισμού φακών επαφής. Για κάθε δοκιμή χρησιμοποιήσαμε τους κατάλληλους λαμπτήρες UV που εκπέμπουν όσο το δυνατόν περισσότερο το μέγιστο μήκος κύματος του αναλύτη στόχου και βελτιστοποιήσαμε τις ακόλουθες παραμέτρους: α)

χρόνος έκθεσης, β) ένταση έκθεσης, γ) απόσταση από την πηγή φωτός UV και δ) όγκου δείγματος στα μικροπλακίδια. Οι βέλτιστες συνθήκες αποφασίστηκαν με βάση τρία κριτήρια: τον συντελεστή γραμμικότητας (R^2) της καμπύλης συγκέντρωσης-απόκρισης, την ένταση του σήματος και το γραμμικό εύρος. Σε όλες τις δοκιμασίες οι βέλτιστες πειραματικές συνθήκες δεν εξαρτώνται μονομερώς από έναν παράγοντα, και τα βέλτιστα αποτελέσματα θα μπορούσαν να επιτευχθούν μεταβάλλοντας μία παράμετρο ως συνάρτηση του άλλου. Για παράδειγμα, μειώνοντας την ένταση του φωτός ένας μεγαλύτερος χρόνος έκθεσης ή μικρότερη απόσταση από την πηγή φωτός μπορεί να έχει παρόμοια ή ισοδύναμα αποτελέσματα. Επομένως, θα πρέπει κατά προτίμηση να χρησιμοποιούνται πολυπαραμετρικές βελτιστοποιήσεις κατά τη βελτιστοποίηση της φωτογραφικής φωτομετρίας για την επίτευξη των καλύτερων αποτελεσμάτων.

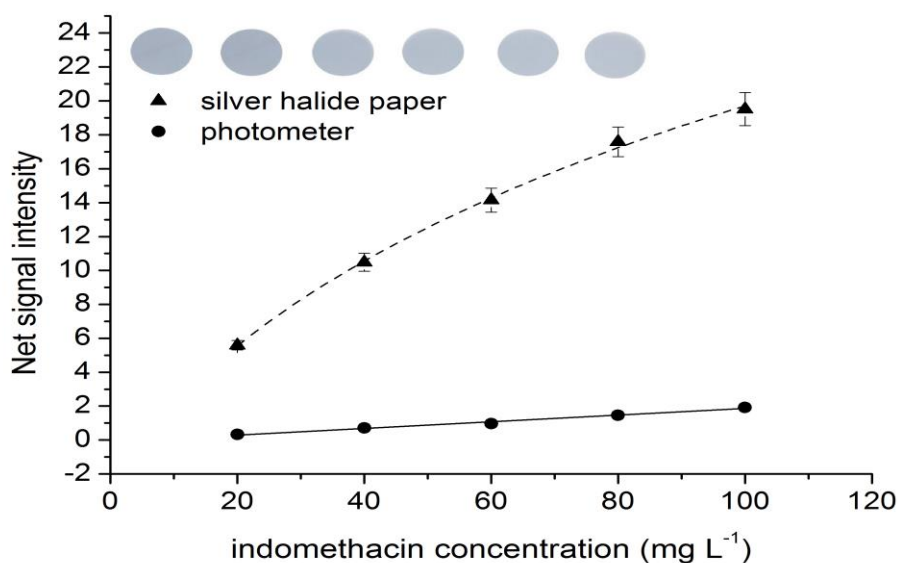
Στην εργασία μας επιλέξαμε ένα γενικό σύνολο βέλτιστων τιμών που θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν σε όλες τις αναλύσεις, πιθανώς σε βάρος κάποιας απώλειας ευαισθησίας ή γραμμικότητας σε σύγκριση με τις πραγματικές βέλτιστες συνθήκες για κάθε αναλύτη, αλλά χωρίς να υποβαθμίζεται η ποιότητα των αναλυτικών δεδομένων. Μια τέτοια προσέγγιση θεωρήθηκε προτιμότερη σε σχέση με την πολυπαραγοντική βελτιστοποίηση για κάθε αναλυόμενη ουσία δεδομένου ότι μια γενική στρατηγική ανίχνευσης εφαρμόζεται ευκολότερα στο σημείο ανάγκης από μη ειδικούς και είναι πιθανώς λιγότερο δαπανηρή αφού μπορεί να χρησιμοποιηθεί μία πηγή φωτός και μια συγκεκριμένη διαμόρφωση συσκευής για όλες τις δοκιμασίες. Με βάση αυτό το σκεπτικό, οι μέθοδοι πραγματοποιήθηκαν χρησιμοποιώντας 250 ή 150 μL ίδιου όγκου σε απόσταση 15 cm από την φωτεινή πηγή σε ένταση φωτός 40 W και χρόνο έκθεσης 28 δευτερόλεπτα για χαρτί αλογονιδίων αργύρου.

Το Σχήμα 4.6 παρουσιάζει τα διαγράμματα βαθμονόμησης των δέκα αναλυτών με φωτοφωτομετρία και την τυπική φασματοφωτομετρική προσέγγιση ενώ οι πίνακες 1 συνοψίζουν τα συστατικά των καμπυλών βαθμονόμησης. Στις περισσότερες δοκιμασίες που πραγματοποιήθηκαν με το χαρτί αλογονιδίων αργύρου, η απόκριση θα μπορούσε καλύτερα να αντιπροσωπεύεται από μη γραμμικές λειτουργίες και η ευαισθησία ήταν συγκρίσιμη ή ελαφρώς καλύτερη από

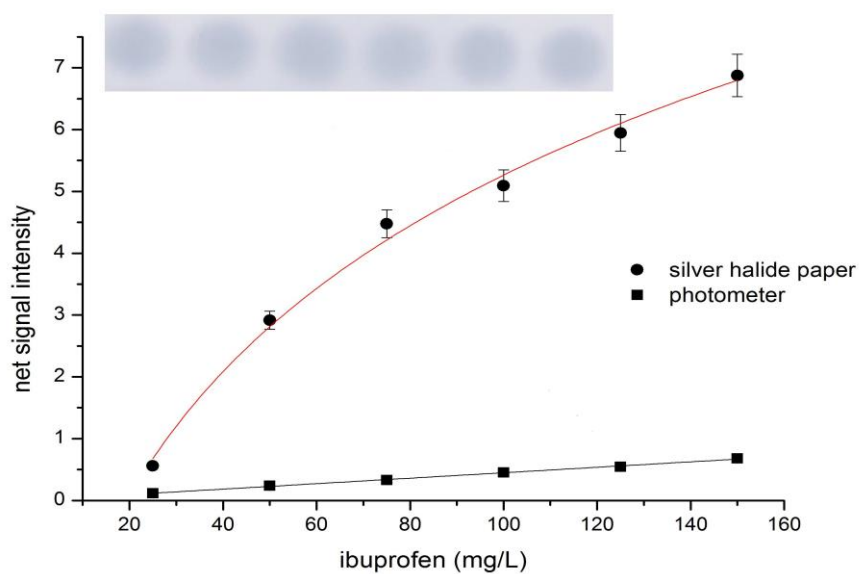
τη φασματοφωτομετρία. Αυτά τα αποτελέσματα δείχνουν ότι η φωτογραφική φωτομετρία μπορεί να είναι χρήσιμη για μετρήσεις απορρόφησης στην περιοχή UV και προσφέρει βελτιωμένη ευαισθησία σε σύγκριση με την τυποποιημένη φασματοφωτομετρική ανάλυση.



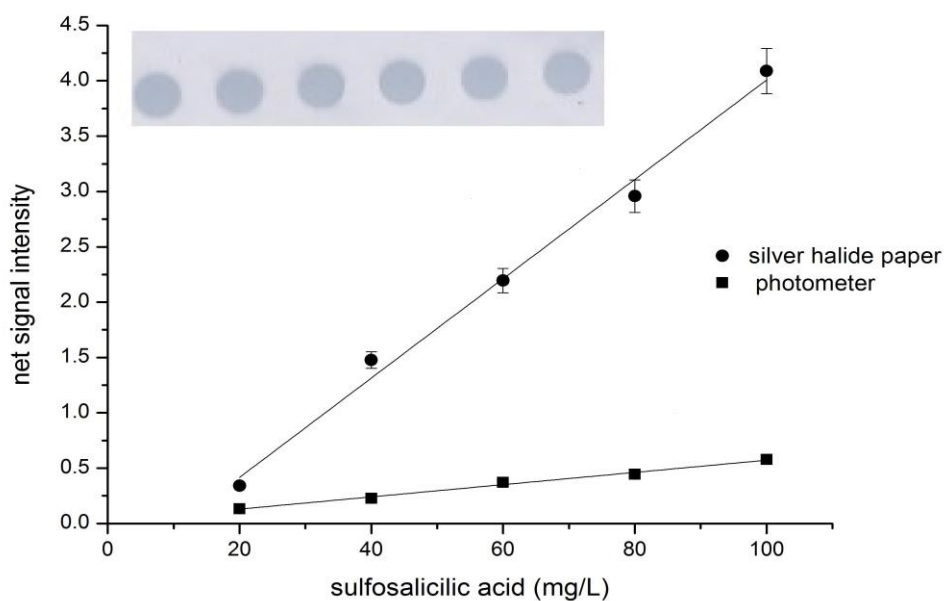
α) Γράφημα βαθμονόμησης έντασης σήματος έναντι της συγκέντρωσης παρακεταμόλης.



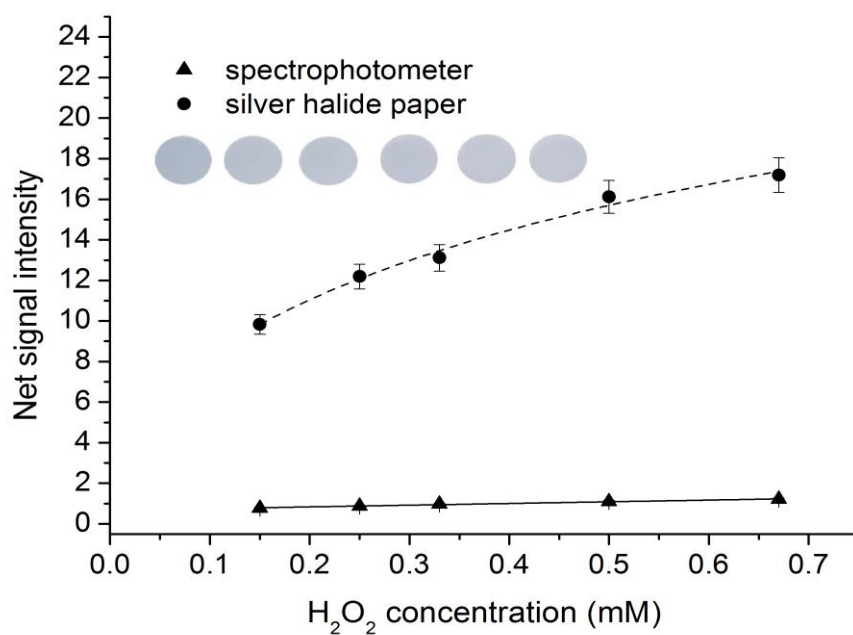
β) Γράφημα βαθμονόμησης έντασης σήματος έναντι της συγκέντρωσης ινδομεθακίνης.



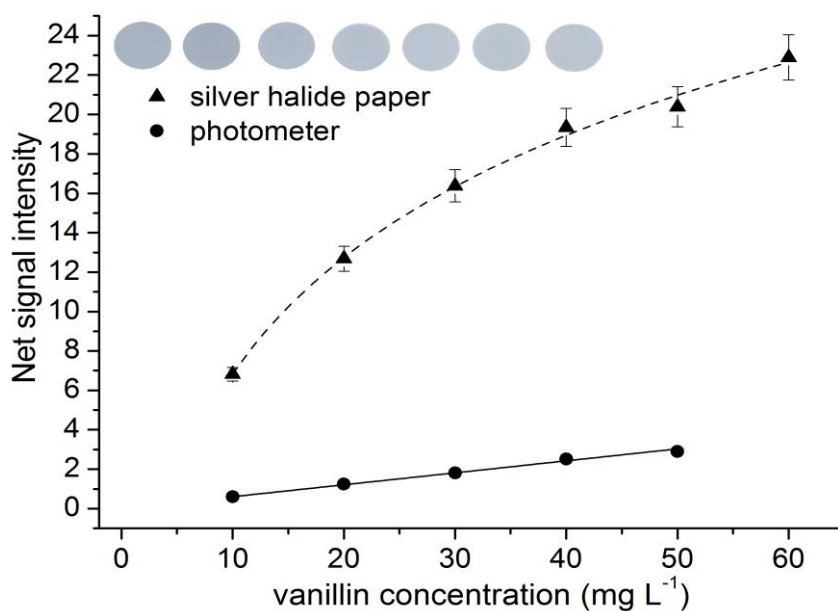
γ) Γράφημα βαθμονόμησης έντασης σήματος έναντι της συγκέντρωσης ιμπουπροφαίνης.



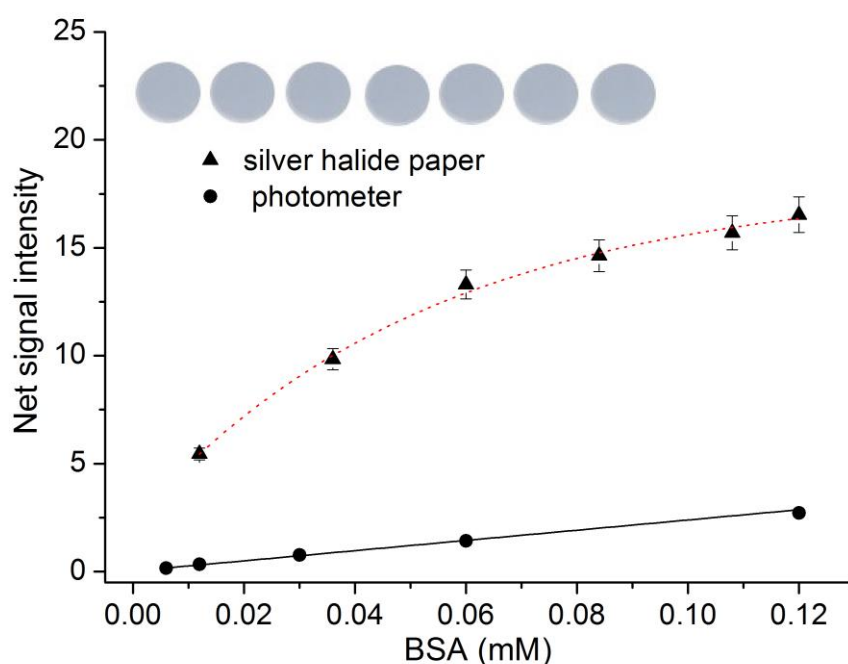
δ) Γράφημα βαθμονόμησης έντασης σήματος έναντι της συγκέντρωσης σουλφοσαλικυλικού οξέως.



ε) Γράφημα βαθμονόμησης έντασης σήματος έναντι της συγκέντρωσης υπεροξειδίου του υδρογόνου.



στ) Γράφημα βαθμονόμησης έντασης σήματος έναντι της συγκέντρωσης βανιλίνης.



ζ) Γράφημα βαθμονόμησης έντασης σήματος έναντι της συγκέντρωσης πρωτεΐνης BSA.

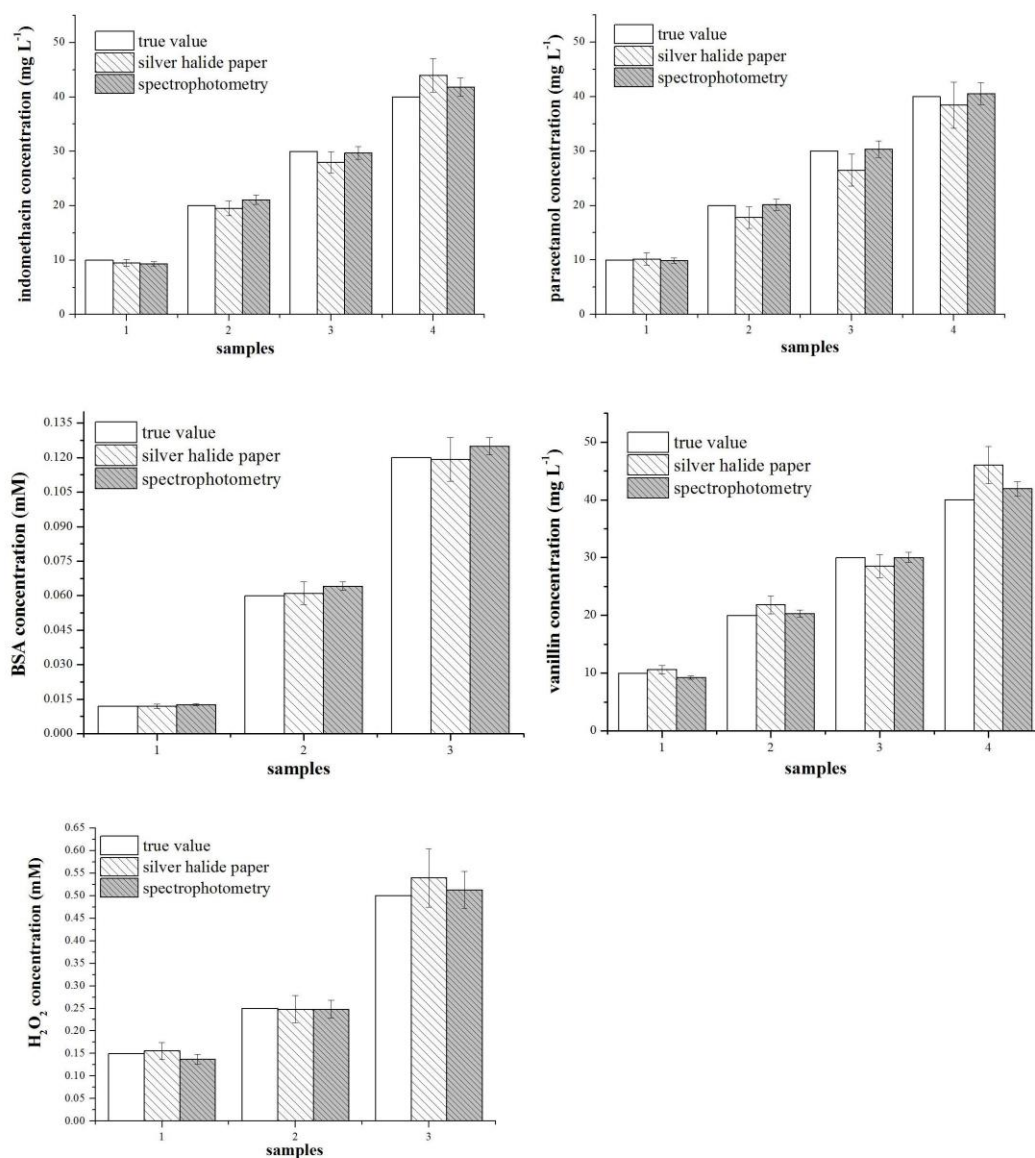
Σχήμα 4.6 : Γραφήματα βαθμονόμησης έντασης σήματος (δηλ. Μέση ένταση γκριζας περιοχής που μετράται στο σύστημα χρωμάτων RGB) έναντι της συγκέντρωσης α) παρακεταμόλης, β) ινδομεθακίνης, γ) ιμπουπροφαίνης, δ) σουφοσαλικυλικού οξέως, ε) H_2O_2 στ) βανιλίνης και ζ) πρωτεΐνης BSA. Κάθε ένα από τα σημεία δεδομένων αντιστοιχεί στη μέση τιμή πέντε μετρήσεων (σε ορισμένες περιπτώσεις οι γραμμές που χρησιμοποιούνται για τυπικές αποκλίσεις είναι μικρότερες από τα σύμβολα). Οι ενσωματωμένες φωτογραφίες δείχνουν τις μεταβολές χρώματος με αυξανόμενη συγκέντρωση αναλυόμενης ουσίας. Σε όλες τις ενσωματωμένες φωτογραφίες η πρώτη εικόνα (από αριστερά προς τα δεξιά) είναι το τυφλό δείγμα.

Πίνακας 4.1 : Αναλυτικά χαρακτηριστικά των n βαθμονόμησης σε σχέση με τη συγκέντρωση της αναλυόμενης ουσίας που λαμβάνεται από τη φωτογραφική φωτομετρία και τη φωτομετρία κοντά στο ή στο μέγιστο μήκος κύματος.

Χημική Ένωση	$\lambda_{\max}$ (nm)	RGB χρώμα	Χαρτί αλογονιδίων αργύρου				
			Εξίσωση	R^2	Εύρος	LOD	RSD(%, n=5)
Παρακεταμόλη	254	Grey	$y=0.21x+1.56$	0.995	5-50 mg L ⁻¹	3.1 mg L ⁻¹	0.3-0.9
Ινδομεθακίνη	312	Grey	$y=8.75\ln x-21.1$	0.99	20-100 mg L ⁻¹	10.0 mg L ⁻¹	1.8-4
Ιμπουπροφαίνη	254	Grey	$y=3.4\ln x-10.5$	0.995	25-125 mg L ⁻¹	11.0 mg L ⁻¹	2-4
Σουλφασαλικιλικό οξύ	312	Grey	$y=0.005x+0.02$	0.992	20-100 mg L ⁻¹	10.2 mg L ⁻¹	3-4
H ₂ O ₂ (KI)	365	Grey	$y=5.0\ln x+19.2$	0.98	0.15-0.67 mM	0.1 mM	4.1-7.4
Βανιλίνη	312	Grey	$y=8.8\ln x-13.6$	0.996	10-60 mg L ⁻¹	5.5 mg L ⁻¹	1.4-4.4
BSA (θολωσιμετρική)	254	Grey	$y=4.84\ln x+26.6$	0.99	0.012-0.12mM	0.008 mM	2.2-9

Χημική Ένωση	$\lambda_{\max}$ (nm)	Φωτόμετρο				
		Εξίσωση	R^2	Εύρος	LOD	RSD(%, n=5)
Παρακεταμόλη	254	$y=0.047x+0.016$	0.9995	5-50 mg L ⁻¹	1.55 mg L ⁻¹	0.5-1.3
Ινδομεθακίνη	312	$y=0.02x-0.078$	0.996	20-100 mg L ⁻¹	7.0 mg L ⁻¹	0.3-0.9
Ιμπουπροφαίνη	254	$Y=0.004x+0.008$	0.998	25-125 mg L ⁻¹	9.0 mg L ⁻¹	1.6-3.2
Σουλφασαλικιλικό οξύ	312	$y=0.005x+0.02$	0.993	20-100 mg L ⁻¹	10 mg L ⁻¹	2.4-3.8
H ₂ O ₂ (KI)	365	$y=0.83x-0.67$	0.98	0.15-0.67 mM	0.1 mM	2.5-4.1
Βανιλίνη	312	$y=0.058x+0.055$	0.99	10-50 mg L ⁻¹	4.65 mg L ⁻¹	1-2.3
BSA (θολωσιμετρική)	254	$y=22.3x+0.066$	0.999	0.006-0.12 mM	0.003 mM	2.9-5.2

Τέλος, συγκρίναμε την απόδοση της φωτογραφικής φωτομετρίας έναντι της τυπικής φασματοφωτομετρίας ως ανιχνευτές στην ανάλυση πραγματικών δειγμάτων. Η Εικόνα 4.1 δείχνει ότι τα αποτελέσματα που ελήφθησαν με τη φωτομετρία δεν έχουν σημαντική διαφορά από εκείνα που λαμβάνονται με το φασματοφωτόμετρο και συμφωνούν σε μεγάλο βαθμό με τις πραγματικές τιμές. Αυτή η παρατήρηση επιβεβαιώθηκε επίσης με τη βοήθεια του τεστ του φοιτητή (t-test) για τα μέσα. Από αυτά τα δεδομένα καταλήγουμε στο συμπέρασμα ότι η φωτογραφική φωτομετρία θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ως απλή και προσιτή εναλλακτική λύση από την τυποποιημένη φασματοφωτομετρία οργάνου για τις δοκιμές που πραγματοποιήθηκαν στην περιοχή UV.



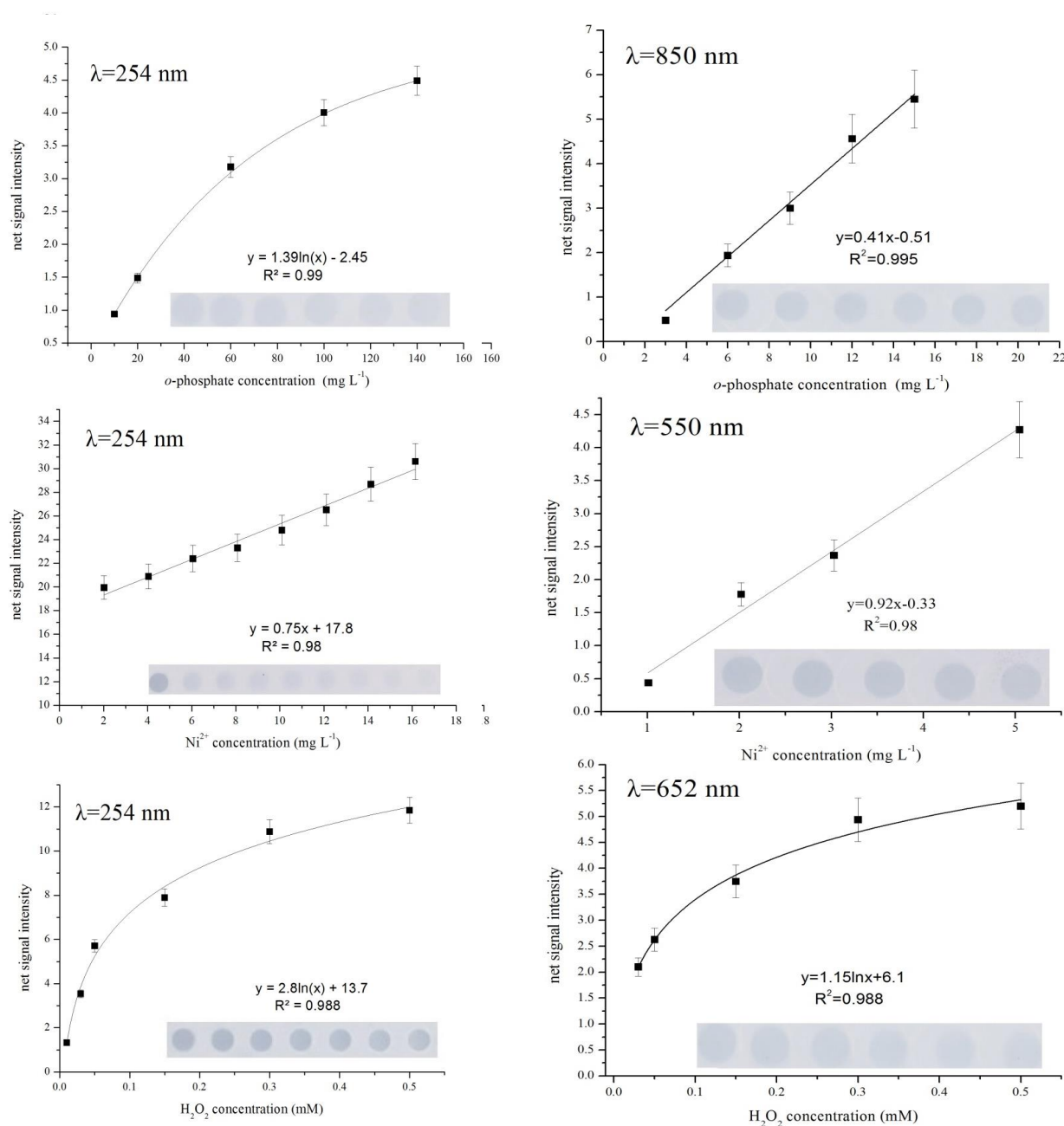
Εικόνα 4.1: Ιστογράμματα των αποτελεσμάτων ανάλυσης της α) παρακεταμόλης σε αναβράζοντα δισκία, β) ινδομεθακίνης σε κάψουλες ζελατίνης, γ) βανιλίνη σε τρόφιμα, δ) H₂O₂ σε διάλυμα καθαρισμού φακών επαφής και ε) (τεχνητό) πλάσμα αίματος. Όλες οι δοκιμασίες πραγματοποιήθηκαν με φασματοφωτόμετρο χρησιμοποιώντας κυψελίδες χαλαζία 1 cm. Οι ράβδοι σφάλματος αντιστοιχούν στην τυπική απόκλιση τριών μετρήσεων.

4.6 ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΦΩΤΟΓΡΑΦΙΚΗΣ ΦΩΤΟΜΕΤΡΙΑΣ ΥΠΟ ΟΡΑΤΟ ΦΩΣ

Παρόλο που οι φωτομετρικές μετρήσεις στην ορατή περιοχή του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος είναι εφικτές με πληθώρα μη οπτικών ανιχνευτών (κάμερες, σαρωτές κ.λπ.) εξετάσαμε επίσης την απόδοση της μεθόδου και με ακτινοβολία ορατού φωτός. Δεδομένου ότι το χαρτί με αλογονίδια αργύρου είναι ευαίσθητο στο ορατό φως, εξετάσαμε τη χρησιμότητα της φωτογραφικής φωτομετρίας κάτω από το ορατό φως χρησιμοποιώντας μια πηγή φωτισμού ευρείας ζώνης (λευκό φως). Εφαρμόσαμε τη μέθοδο σε τρεις δοκιμασίες για τον προσδιορισμό του νικελίου χρησιμοποιώντας το έγχρωμο προϊόν της αντίδρασης με διμεθυλογλυοξίμη, H_2O_2 με βάση την μιμητική δραστικότητα υπεροξειδάσης των RhNP χρησιμοποιώντας το TMB ως χρωμοφόρο αντιδραστήριο και φωσφορικών χρησιμοποιώντας το προϊόν αντίδρασης του μπλε συμπλόκου των βαναδοφωσφορομολυβδαινικών. Αυτές οι δοκιμασίες επιλέχθηκαν για να καλύψουν ένα ευρύ φάσμα του ορατού φάσματος. Το προϊόν νικελίου-διμεθυλογλυοξίμης παράγει κορυφή απορρόφησης στα 550 nm, η οξείδωση του TMB με H_2O_2 παράγει ένα κυανό χρώμα με απορρόφηση κορυφής στα 652 nm και η ανάλυση φωτός του μπλε συμπλόκου των βαναδοφωσφορομολυβδαινικών παράγει ένα μπλε χρώμα με απορρόφηση κορυφής στα 850 nm. Για να γίνει η σύγκριση, τα ίδια διαλύματα αναλύθηκαν επίσης υπό υπεριώδες φως στα 254 nm. Αν και άλλα μήκη κύματος στο UV θα μπορούσαν επίσης να χρησιμοποιηθούν, επιλέξαμε να δουλέψουμε στα 254 nm επειδή σε αυτό το μήκος κύματος το φωτόμετρο έφτασε στον κορεσμό σε όλες τις δοκιμασίες. Αντίθετα, όταν τα ίδια διαλύματα μετρήθηκαν με φωτογραφική φωτομετρία, τα καθαρά αναλυτικά σήματα αυξάνονταν με τη συγκέντρωση της αναλυόμενης ουσίας (λογαριθμικά ή γραμμικά) χωρίς να φτάσουν τον κορεσμό.

Τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης Σχήμα 4.7 δείχνουν ότι, κατ' αρχήν είναι εφικτή η εφαρμογή φωτογραφικής φωτομετρίας υπό ορατό φως ευρείας ζώνης, οι μεταβολές χρώματος, όμως, είναι αχνές με αποτέλεσμα να έχουμε χαμηλότερες εντάσεις σήματος και μικρό εύρος των καμπυλών δόσης-απόκρισης. Αντίθετα, όλες οι δοκιμασίες εφαρμόστηκαν κατάλληλα υπό υπεριώδες φως ακόμη και όταν το φωτόμετρο έφθασε στον κορεσμό. Ως εκ τούτου, καταλήξαμε στο συμπέρασμα ότι η φωτομετρική φωτομετρία είναι επίσης κατάλληλη για ανάλυση

διπλού μήκους κύματος (τόσο στο υπεριώδες όσο και στο ορατό φως) που μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη βελτίωση της επιλεκτικότητας της ανάλυσης.



Σχήμα 4.7 : Γραφήματα βαθμονόμησης σημάτων ο-φωσφορικού, νικελίου και H₂O₂ με χρήση φωτογραφικής φωτομετρία έναντι συγκέντρωσης υπό υπεριώδες και ορατό φως ευρείας ζώνης χρησιμοποιώντας φωτογραφικά χαρτιά αλογονιδίων

αργύρου. Οι ενσωματωμένες φωτογραφίες παρουσιάζονται χωρίς περικοπή για να διευκολύνουν την απεικόνιση των μεταβάσεων έντασης χρώματος.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Αυτή η εργασία περιγράφει μια απλή μέθοδο εκτέλεσης φωτομετρικών μετρήσεων στην περιοχή UV του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος που είναι εύκολη στη χρήση, συνεπάγεται χαμηλό κόστος κατασκευής και λειτουργίας και είναι φορητή. Μια απλή συσκευή που φιλοξενεί τις αρχές της πρώιμης φωτογραφίας χρησιμοποιείται για τις μετρήσεις που αποτελούνται από φθηνά, και εύκολο να βρεθούν, στοιχεία. Μια στενή δέσμη UV φωτός (όπως λάμπες , LED, κ.λπ.), διαπερατά από UV μικροπλακίδια ως υποδοχές του δείγματος και ένα φωτογραφικό χαρτί ως ανιχνευτής. Όλα αυτά τα στοιχεία εγκαθίστανται σε κλειστό θάλαμο φωτισμού για τη διασφάλιση συνεχών και σταθερών συνθηκών φωτισμού κατά την ανάλυση και την αποφυγή περιβαλλοντικού φωτισμού που αποτελεί πηγή ακτινοβολίας UV ευρείας ζώνης και ποικίλλει με την πάροδο του χρόνου και τη γεωγραφική θέση. Κατά τη διάρκεια της λειτουργίας, η συσκευή φωτίζει τα δείγματα που περιέχονται στο μικροπλακίδιο από τη μία πλευρά και χρησιμοποιεί ένα φωτοευαίσθητο χαρτί για να συλλάβει το φως που μεταδίδεται από τα δείγματα στην άλλη πλευρά. Ανάλογα με την ένταση του μεταδιδόμενου φωτός, η φωτοχημικώς ευαίσθητη επίστρωση του χαρτιού μειώνεται με αποτέλεσμα την εμφάνιση μιας εικόνας στην επιφάνεια του χαρτιού, στη μορφή των οπών του μικροπλακιδίου στο οποίο συγκρατείται το δείγμα. Μια ψηφιακή φωτογραφία της εικόνας καταγράφεται στη συνέχεια με μια φωτογραφική μηχανή ή έναν επίπεδο σαρωτή. Η ένταση του φωτός που ανακλάται από την επιφάνεια της ποσοτικοποιείται με την βοήθεια προγράμματος σε H/Y, στο σύστημα χρωμάτων RGB. Αυτή η προσέγγιση επιτρέπει για πρώτη φορά τη διεξαγωγή φωτομετρικών δοκιμών υψηλής απόδοσης πολλών δειγμάτων ταυτόχρονα στην περιοχή του υπεριώδους (36-192 θέσεις ανάλογα με τη διαμόρφωση του μικροπλακιδίου) ως εναλλακτική λύση για τα ογκώδη και ακριβά συμβατικά φωτόμετρα. Αυτή η προσιτή προσέγγιση μπορεί να είναι χρήσιμη για δοκιμές που εκτελούνται υπό συνθήκες περιορισμένων πόρων, από μη ειδικούς στο σημείο ανάγκης, σε μικρές και

αποκεντρωμένες μονάδες υγειονομικής περίθαλψης ή ακόμα και σε συμβατικά εργαστήρια για μετρήσεις ρουτίνας και εκπαιδευτικούς σκοπούς. Βάσει των αποτελεσμάτων που προέκυψαν από την εφαρμογή της απόδειξης εφαρμογής της μεθόδου σε διαφορετικούς προσδιορισμούς βιοχημικού, φαρμακευτικού και τροφικού ενδιαφέροντος, καταλήξαμε στο συμπέρασμα ότι η μέθοδος προσφέρει υψηλή ευαισθησία, και μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε όλη την περιοχή του υπεριώδους ηλεκτρομαγνητικού φάσματος. Η χαμηλή ευαισθησία της μεθόδου υπό ορατό φως είναι ένα πρόσθετο πλεονέκτημα καθώς επιτρέπει την εφαρμογή της κάτω από το φως του δωματίου χωρίς να χρειάζονται ειδικές ρυθμίσεις όπως συνθήκες σκοτεινού θαλάμου.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Abbaspour A., Khajehzadeh A., Ghaffarinejad A., *Analyst*, 134, 1692–1698, 2009.

Abbot A. J., Quality measurement of fruit and vegetables, *Postharvest Biology and Technology*, 15, 207-225, 1999.

Albert D. R., Todt M. A., Davis H. F. J., *Chem. Educ.* , 89, 1432–1435, 2012.

Alimelli A., Filippini D., Paolesse R., Moretti S., Ciolfi G., D’Amico A., Lundstrom I., Di Natale, C. *Anal. Chim. Acta*, 597, 103–112, 2007.

ASTM, Standards Practice for Computing the Colors of Objects by Using CIE System, ASTM standard E. American Society for Testing and Materials, Philadelphia, 1996.

Attridge G., Image formation and the photographic process in *The Manual of Photography 10th Edition*, Eds. Elizabeth Allen & Sophie Triantaphillidou, Elsevier, pp. 245-260, 2011.

Berger – Schunn A., *Practical Color Measurement*, New York: John Wiley & Sons, 1994.

Billmeyer F.W., Saltzman JrM. , *Principles of Color Technology*, 2nd Edition, Joh Wiley & Sons, 1981.

Bjelkhagen I.H., *Silver Halide Recording Materials for Holography and Their Processing*, 2nd Edition, Springer, 1999.

Blacklow L., *New Dimensions in Photo Processes. A Step-by-Step Manual in Alternative Photography*, 4th Edition, Elsevier, 151-166, 2007.

Blume H.P. and Helsper M, Schazung des Humusgehaltes nach der Munsell-Farbhelligkeit, *Z. Pflanzenernaehr. Bodenk.* 150: 354-356, 1987.

Bohren F. Craig, *Fundamentals of Atmospheric Radiation: An Introduction with 400 Problems*. Wiley-VCH. Ανακτήθηκε από *Fundamentals of Atmospheric Radiation: An Introduction with 400 Problems*, 2006.

Boni M., Wolf E., Principles of Optics, Pergamon Press, 1991.

Broadbent D. A. , A Critical Review of the Development of the CIE1931 RGB Color-Matching Functions, Wiley Periodicals Inc., 29 , 267-272, 2003

Brockes A. & Berger A., Colour measurement in the Textile Industry, Leverkusen: Bayer Farben Revue, 1986.

Brockes A., Strocka D. & Berger – Schunn A. , Farbmessung in der Textilindustrie, Leverkusen: Bayer Farben Revue, 1986.

Christodouleas D.C., Kaur B., Chorti P., From Point-of-Care Testing to eHealth Diagnostic Devices (eDiagnostics), ACS Cent. Sci., 4, 1600-1616, 2018.

Christodouleas D.C., Nemiroski A., Kumar A.A., Whitesides G.M., Broadly Available Imaging Devices Enable High-Quality Low-Cost Photometry, Anal. Chem. 87, 9170-9178, 2015.

Cohen A. R., Seidl-Friedman J., Pathol Am. J. Clin., 90, 302–305, 1988.

Cornelius L., A Matter of Perspective: Understanding Color Theory for Remanufacturing. RECHARGER Magazine, 2001, 36-42.

Davies A. & Fennessy P , Digital Imaging for Photographers, Focal Press, 4thEdition,2002.

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

Ditchburn R.W., Light, Dover Publications, 1991.

Duk Y.H., Chun H. J., Yoon H. C., Biosens, Bioelectron , 59, 259–268, 2014.

Ellerbee A. K., Phillips S. T., Siegel, A. C., Mirica K. A., Martinez A. W., Striehl P., Jain N., Prentiss M., Whitesides G. M., Anal. Chem. , 81, 8447–8452, 2009.

Filippini D., Di Natale C., Paolesse R., D'Amico A., Lundstrom I., Sens. Actuators B 121, 93–102, 2007.

Filippini D., Svensson S. P. S., Lundström I., Chem. Commun., 2, 240–241, 2003.

Gonzalez R.C., Wintz P., Digital Image Processing, Addison-Wesley Publishing Company, 1987.

Greenberg R.B., Patterson D., Art in Chemistry; Chemistry in Art, Teacher Ideas Press, A Division of Libraries Unlimited , Inc. Englewood Colorado USA, 1998.

Grim F., Bartleson C.J. , Optical Radiation Measurements, Volume 2, Academic Press, 1980.

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

Gunasekaran S., Computer vision technology for food quality assurance. Trends in Food Science & Technology, 245-256, 1999.

Halliday D. and Resnick R. , Φυσική, 2nd ed., Εκδόσεις Γ. Α. Πνευματικού, 1962.

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. J Intern Med , 285, 19–39, 2019.

HunterLab, CIE L*a*b* Color Scale, HunterLab The Color Management Company, Applications Note, 8, 1996.

HunterLab, What is color and How is Measured? HunterLab The Color Management Company, Applications Note, 12, 2000.

Hutchings B.J., Food Colour and Appearance. Glasgow, UK: Blackie Academic & Professional, 1994.

Igoe P.D., Parisi V.A., Carter B., Evaluating UVA Aerosol Optical Depth using a Smartphone Camera, *Photochemistry and Photobiology*, 89, 1244–1248, 2013.

Iqbal Z., Filippini D., *J. Sens.*, 2010, 381796, 2010.

Kappi A. K. , Papadopoulos A.G., Tsogas Z.G, Giokas L. D. , Low-cost colorimetric assay of biothiols based on the photochemical reduction of silver halides and consumer electronic imaging devices, *Talanta*, Volume 172, 15-22, 2017.

Kurt Nassau, *The Physics and Chemistry of Color, the fifteen causes of color*, Edition John Wiley & Sons, 1983.

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

Mac Donald, R., *Colour physics for industry*, Bradford: Society of Dyers and Colourists, 1987.

Marchetti A.P., Eachus R.S., *The Photochemistry and photophysics of the silver halides*, in *advances in photochemistry*, Volume 17 (eds D. H. Volman, G. S. Hammond and D. C. Neckers), John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA, 1992.

Medeiros de Moraes C. d. L., de Lima K. M., *G. Talanta* ,126, 145–150, 2014.

Mieczkowska E., Koncki R., Tymecki L., *Anal. Bioanal. Chem.* , 399, 3293–3297, 2011.

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

Ohno Y., NIP & Digital Fabrication Conference, international Conference on Digital Printing Technologies. Society for Imaging Science and Technology, 2000.

Prutchi, David., Recorded Books, Inc. Exploring U(z-lib.org)

Quagliano J. M., Marks C. A. J., *Chem. Educ.*, 90, 1409–1410, 2013.

- Quagliano J. M., Marks C. A., J. Chem. Educ. , 90, 1409–1410, 2013.
- Rasooly A. and Herold K.E., Mobile Health Technologies, Methods and Protocols, Humana Press, 511, 2015.
- Rateni G., Dario P., Cavallo F., Smartphone-Based Food Diagnostic Technologies: A Review, Sensors (Basel), 17, 2017.
- Rescok R., Shields L.D., Cairns T., McWilliam LG., Modern Methods of Chemical Analysis, Second Edition, Απόδοση στα ελληνικά Σ. Βολιώτης, Εκδόσεις Γ.Α. Πνευματικός, 1980.
- Roda A., Micheleni E., Cevenini L., Calabria D., Calabretta M. and Simoni P., Integrating bio-chemiluminescence detection on smartphones: mobile chemistry platform for point-of-need analysis, Anal. Chem., 86, 7299–7304, 2014.
- Rohit, Kanwar L., Rao K. K., Sens. Actuators B, 149, 245–251, 2010.
- Rösch S.W., Darstellung der Farbelehre für die Zwecke der Mineralogie, Classification Metrology, 1929.
- Rose C. , Οδηγός του Adobe Photoshop 7. Αθήνα: Εκδόσεις Μ. Γκιούρδας, 2002.
- Schanda J., CIE Colorimetry and Colour Displays. Vienna: University Veszpre, Hungary & CIE Central Bureau, 2000
- Sia S. K., Linder V., Parviz B. A., Siegel A., Whitesides G. M. Angew., Chem., Int. Ed. 43, 498–502, 2004.
- Sontag S., Περί φωτογραφίας. Αθήνα: ΦΩΤΟΓΡΑΦΟΣ, 1993.
- Süsstrunk S., Buckley R., Swen S., Color and Imaging Conference, 7th Color and Imaging Conference Final Program and Proceedings, Society for Imaging Science and Technology, 127-134, 1999.
- Sumriddetchkajorn S., Chaitavon K., Intaravanne Y., Sens. Actuators B, 191, 561–566, 2014.

Thompson B., Μελάνια και καλυπτικά εκτυπώσεων, Αθήνα: Εκδόσεις ΙΩΝ, 2002

Tortora L., Stefanelli M., Mastroianni M., Lvova L., Di Natale C., D'Amico A., Filippini D., Lundström I., Paolesse R., Sens. Actuators B, 142, 457–463, 2009.

Turner J., Parisi* A. V., Downs N. and 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, Photochem. Photobiol. Sci. 13, 1753-1764, 2014.

Vashist S. K., van Oordt T., Schneider E. M., Zengerle R., Stetten F., Luong J. H. T., Biosens. Bioelectron. , 67, 248–255, 2015.

Walker M.F., Ahmad M.K., Eisenstein M., and Soh H. T., Transformation of Personal Computers and Mobile Phones into Genetic Diagnostic Systems Analytical Chemistry86, 9236-9241, 2014.

Wargocki P, Deng W., Anwer G.A., Goldys M.E., Medically Relevant Assays with a Simple Smartphone and Tablet Based Fluorescence Detection System, 5, 11653-11664, 2015.

Wei Q., Nagi R., Sadeghi K., Feng S., Yan E., Ki S. J., Caire R., Tseng D., Ozcan A., ACS Nano, 8, 1121–1129, 2014.

Wilkes T.C., McGonigle A.J., Pering T.D., et. al. Ultraviolet Imaging with Low Cost Smartphone Sensors: Development and Application of a Raspberry Pi-Based UV Camera, Sensors (Basel), 16, 1649, 2016.

Wyszecki G., Stiles W.S., Color Science: Concepts and Methods, Quantitative Data and Formulae, Second Edition, John Wiley & Sons, 1982.

Yam L. K. and Papadakis E. S., A simple digital imaging method for measuring and analyzing color of food surfaces. Journal of Food Engineering, 61, 137-142, 2004

Zhu H., Yaglidere O., Su T.W., Tseng D., Ozcan A., Cost-effective and compact wide-field fluorescent imaging on a cell-phone, Lab Chip. , 11, 315-322, 2011.

Αντωνιάδης Κ., Ελευθεριάδης Ι., & Σταθάκης Κ. , Η Τέχνη και η Επικοινωνία στις γραφικές Τέχνες, Τόμος Γ, Χρώμα. Πάτρα: Ελληνικό Ανοικτό Πανεπιστήμιο, 2002.

Μερτίκας Π.Σ., Τηλεπισκόπηση και ψηφιακή ανάλυση εικόνας. Εκδόσεις ΙΩΝ, 1999.

Ορφανάκος Κ.Β., Χρωματομετρία-Βασικές Αρχές, Αθήνα: Εκδόσεις Σταμούλης, 2004.

Χατζής Γ. Ελευθέριος, Ανάπτυξη Μεθόδου Μέτρησης Χρώματος Νωπών Αγροτικών Προϊόντων με Ανάλυση Ψηφιακών Εικόνων, Αθήνα, 2015.

<https://www.cse.wustl.edu/~jain/cse567-11/ftp/imgsens.pdf>

<https://el.wikipedia.org/wiki/%CE%A6%CF%89%CF%84%CE%BF%CE%B3%CF%81%CE%B1%CF%86%CE%AF%CE%B1>

https://en.wikipedia.org/wiki/CIE_1931_color_space

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Αυτή η εργασία αποδεικνύει ότι η ιστορική φωτογραφία μπορεί να επαναχρησιμοποιηθεί επιτρέποντας υψηλής απόδοσης και ποιότητας φωτομετρική ανάλυση στην υπεριώδη περιοχή του περιοχής του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος, χρησιμοποιώντας φθηνά, και εύκολο να βρεθούν, υλικά. Η μέθοδος βασίζεται στην ακτινοβολία ενός μικροπλακιδίου, ως υποδοχέα του δείγματος,, από μία πηγή σε σειρά υπεριώδους ακτινοβολίας UV και ενός φωτοευαίσθητου φωτογραφικού χαρτιού αλογονιδίων αργύρου. Κατά την εφαρμογή της μεθόδου, τα δείγματα που περιέχονται στο μικροπλακίδιο ακτινοβολούνται από την πηγή υπεριώδους φωτός που απορροφά ένα μέρος της προσπίπτουσας ακτινοβολίας. Η ακτινοβολία που διαπερνά τα δείγματα, φθάνει στην επιφάνεια του φωτογραφικού χαρτιού και μειώνει την φωτοευαίσθητη επίστρωσή της, με τρόπο ανάλογο της έντασης της μεταδιδόμενης ακτινοβολίας. Η ένταση χρώματος στην επιφάνεια του χαρτιού είναι ευθέως ανάλογη με τη συγκέντρωση των αναλυτών στο δείγμα και καταγράφεται ως ψηφιακή φωτογραφία με φωτογραφική μηχανή ή επίπεδη σαρωτή και ποσοτικοποιείται στο σύστημα χρωμάτων RGB. Επιλέγοντας την κατάλληλη φωτεινή πηγή και το φωτογραφικό χαρτί, μπορεί να επιτευχθεί ευαισθησία στο φως, τέτοια που να ταιριάζει όσο το δυνατόν περισσότερο τα φάσματα απορρόφησης του αναλύτη που προσδιορίζεται, επιτυγχάνοντας έτσι βελτιωμένη ευαισθησία. Μια ποικιλία προσδιορισμών χρησιμοποιήθηκε για να αποδειχθεί ότι η φωτογραφική φωτομετρία μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε ένα ευρύ φάσμα κλινικών, περιβαλλοντικών και χημικών αναλύσεων που είναι άμεσα συγκρίσιμες με την πρότυπη φωτομετρία. Η ικανότητα να εκτελούνται ακριβείς μετρήσεις απορρόφησης, σε δείγματα υγρών στην περιοχή υπεριώδους ακτινοβολίας σε μορφή υψηλής διάχυσης (π.χ. πλακίδια μικροτιτλοδότησης), με χαμηλό κόστος και χωρίς ακριβούς ανιχνευτές οργάνων (όπως φωτόμετρα μικροπλακιδίων), επεκτείνει τις αναλυτικές δοκιμές σε εφαρμογές περιορισμένων πόρων οι οποίες λαμβάνουν χώρα συνήθως σε πολύ 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 microtiter plate as sample holder and a photosensitive paper (photographic paper). During operation, the samples are illuminated by the UV light source contained in the microtiter plate absorbing part of the incident irradiation. 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. The color intensity on the paper surface is directly proportional to the concentration of the analytes in the sample and is recorded as a digital photograph with a camera or a flatbed scanner and is quantified in the RGB color system. By selecting the appropriate light source and photographic paper, sensitivity to light can be selected to match as close as possible the absorbance spectra of the target analyte thus accomplishing improved sensitivity. 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. microtiter 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.