

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ

ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΒΙΟΑΝΟΡΓΑΝΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ



ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΗΣ 5,10,15,20-ΤΕΤΡΑΚΙΣ (4-CARBOXYPHENYL)-PORPHYRIN COBALT

(II) ΚΑΙ ΣΥΖΕΥΞΗ ΤΗΣ ΜΕ NC-DOTS ΓΙΑ ΦΩΤΟΚΑΤΑΛΥΤΙΚΗ ΠΑΡΑΓΩΓΗ

ΥΔΡΟΓΟΝΟΥ

ΣΤΥΛΙΑΝΗ ΜΕΡΤΖΑΝΗ 2637

ΥΠΕΥΘΥΝΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ: ΑΘΑΝΑΣΙΟΣ Γ. ΚΟΥΤΣΟΛΕΛΟΣ

ΗΡΑΚΛΕΙΟ ΚΡΗΤΗΣ 2023-2024

**UNIVERSITY OF CRETE
DEPARTMENT OF CHEMISTRY**

BIOINORGANIC CHEMISTRY LAB



BACHELOR THESIS

**SYNTHESIS OF THE 5,10,15,20-TETRAKIS (4-CARBOXYPHENYL)-PORPHYRIN
COBALT (II) AND COUPLING WITH NC-DOTS FOR PHOTOCATALYTIC HYDROGEN
GENERATION**

STYLIANI MERTZANI 2637

BSc THESIS SUPERVISOR: ATHANASIOS G. COUTSOLELOS

HERAKLEION CRETE 2023-2024

ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

ΑΘΑΝΑΣΙΟΣ Γ. ΚΟΥΤΣΟΛΕΛΟΣ

Καθηγητής Τμήματος Χημείας, Πανεπιστήμιο Κρήτης

ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ ΝΕΟΧΩΡΙΤΗΣ

Καθηγητής Τμήματος Χημείας, Πανεπιστήμιο Κρήτης

ΔΗΛΩΣΗ

Δια του παρόντος δηλώνω ότι η διπλωματική αυτή εργασία έχει πραγματοποιηθεί αποκλειστικά από εμένα, στο πλαίσιο των προπτυχιακών μου σπουδών στο Τμήμα Χημείας του Πανεπιστημίου Κρήτης. Επιπλέον, δηλώνω ότι η συγγραφή του παρόντος έργου έχει πραγματοποιηθεί ανεξάρτητα, χωρίς να έχουν χρησιμοποιηθεί βοηθήματα ή άλλα εργαλεία πέραν όσων αναφέρονται και ότι δεν έχει γίνει καμία αντιγραφή κειμένων τρίτων χωρίς αυτό να έχει επισημανθεί.

Ηράκλειο, 25/2/23

Μερτζάνη Στυλιανή

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Πρωτίστως, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον καθηγητή κ. Αθανάσιο Γ. Κουτσολέλο, για την ευκαιρία που μου έδωσε να εκπονήσω την διπλωματική μου εργασία στο πλαίσιο του εργαστηρίου βιοανόργανης χημείας, καθώς και για την καθοδήγηση και τον χρόνο που αφιέρωσε καθόλη την διάρκεια της εκπόνησης αυτής. Επιπλέον, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κ. Κωνσταντίνο Νεοχωρίτη, καθηγητή του Τμήματος Χημείας στο Πανεπιστήμιο Κρήτης, που δέχτηκε να αξιολογήσει την διπλωματική μου εργασία. Στην συνέχεια, θα ήθελα να ευχαριστήσω την Άννα Κατσαρή, μεταπτυχιακό φοιτήτρια του Τμήματος χημείας στο εργαστήριο βιοανόργανης χημείας, για την διαρκή στήριξη, καθοδήγηση και βοήθεια που μου παρείχε σε όλη την διαδικασία διεκπεραίωσης αυτής της διπλωματικής, από τα πειράματα έως και την συγγραφή της παρούσας εργασίας. Ομοίως, θα ήθελα να ευχαριστήσω όλα τα μέλη του εργαστηρίου για την συνεργασία και για όποια βοήθεια μου παρείχαν κατά την διάρκεια εκπόνησης της διπλωματικής μου εργασίας. Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένεια μου και τους φίλους μου για την στήριξη που μου παρείχαν καθόλη την διάρκεια της φοίτησης μου στο τμήμα Χημείας.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Περιεχόμενα

Περίληψη.....	1
Abstract.....	3
Κεφάλαιο 1: Εισαγωγή.....	4
1.1 Ενεργειακή Κρίση.....	4
1.2 Ηλιακή Ενέργεια	5
1.3 Τεχνητή Φωτοσύνθεση.....	6
1.4 Φωτοκαταλυτικό Σύστημα.....	6
1.5 Πορφυρίνες.....	8
1.5.1 Χαρακτηριστικά.....	8
1.5.2 Χλωροφύλλες.....	9
1.5.3 Πρωτεΐνες Αίμης Μεταφοράς Οξυγόνου.....	10
1.5.4 Κυτοχρώματα.....	12
1.5.5 Εφαρμογές Πορφυρινών.....	15
1.6 Carbon Dots	16
1.6.1 Χαρακτηριστικά.....	16
1.6.2 Ιδιότητες.....	17
1.6.3 Σύνθεση.....	18
1.6.4 Εφαρμογές.....	19
Κεφάλαιο 2: Σκοπός.....	22
Κεφάλαιο 3: Πειραματικό Μέρος.....	23
3.1 Σύνθεση της 5,10,15,20-tetrakis-(4-methoxycarbonyl-phenyl)-porphyrin H ₂ TEPP	23
3.2 Σύνθεση της 5,10,15,20-tetrakis-(4-methoxycarbonyl-phenyl)-porphyrin Cobalt(II) Co-TEPP 25	
3.3 Υδρόλυση της 5,10,15,20-tetrakis-(4-methoxycarbonyl-phenyl)-porphyrin Cobalt(II) Co- TEPP σε 5,10,15,20-tetrakis-(4-carboxy-phenyl)-porphyrin Cobalt(II) Co-TCPP	26
3.4 Σύζευξη NC-Dots και Co-TCPP.....	28
3.5 Kaiser Test	30
3.6 Φωτοκαταλυτική Παραγωγή Υδρογόνου	32
Κεφάλαιο 4: Αναλυτικές Μέθοδοι.....	33
4.1 Φασματοσκοπία Απορρόφησης υπεριώδους-ορατού (UV-Vis).....	33
4.2 Φασματοσκοπία Φθορισμού.....	36
4.3 Ιοντισμός Εκρόφησης Υποβοηθούμενος Από Μήτρα (MALDI-TOF-MS)	37

4.4	Φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR)	39
4.5	Αέρια Χρωματογραφία (GC) με ανιχνευτή θερμικής αγωγιμότητας (TCD).....	41
Κεφάλαιο 5: Αποτελέσματα.....		44
5.1	Φασματοσκοπία Υπερίωδους Ορατού (UV-Vis)	44
5.2	Φασματοσκοπία Φθορισμού (Fluorescence Spectroscopy).....	46
5.3	Φασματομετρία MALDI-TOF	47
5.4	Φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (Nuclear Magnetic Resonance)	48
5.5	Kaiser Test	51
Κεφάλαιο 6: Συμπεράσματα.....		53

Περίληψη

Η ραγδαία ανάπτυξη του σύγχρονου κόσμου, έχει οδηγήσει σε αυξημένες ενεργειακές απαιτήσεις, η κάλυψη των οποίων προέρχεται κυρίως από καύση ορυκτών πόρων. Οι πόροι αυτοί, αποτελούν μη ανανεώσιμες πηγές ενέργειας και η καύση τους οδηγεί σε εκπομπές διοξειδίου του άνθρακα. Έτσι, η αλόγιστη χρήση ορυκτών πόρων οδήγησε τόσο σε ενεργειακή, όσο και σε περιβαλλοντική κρίση. Για τους λόγους αυτούς, ο επιστημονικός κόσμος έστρεψε το ενδιαφέρον του στην εύρεση νέων ανανεώσιμων πηγών ενέργειας, μεταξύ των οποίων ξεχωρίζει η ηλιακή ενέργεια λόγω της αφθονίας της. Η ηλιακή ενέργεια είναι άκρως σημαντική καθώς αξιοποιείται σε φωτοκαταλυτικά συστήματα, για την παραγωγή καύσιμου υδρογόνου. Για την μέθοδο αυτή, σημαντική πηγή έμπνευσης αποτέλεσε η φύση, καθώς υπάρχουν αυτότροφοι οργανισμοί που χρησιμοποιούν την ηλιακή ενέργεια και την μετατρέπουν σε χημική σε μία διεργασία που ονομάζεται φωτοσύνθεση. Επιπλέον, το υδρογόνο είναι ένα πολύ υποσχόμενο καύσιμο καθώς το στοιχείο του υδρογόνου υπάρχει σε μεγάλη αφθονία και επίσης η καύση του μοριακού υδρογόνου είναι καθαρή και φιλική προς το περιβάλλον, καθώς έχει ως προϊόν το νερό. Τα φωτοκαταλυτικά συστήματα που αξιοποιούν την ηλιακή ενέργεια αποτελούνται από τον φωτοευαισθητοποιητή (PS), τον καταλύτη (CAT) και τον θυσιαστικό δότη ηλεκτρονίων (SED). Τούτη η διπλωματική εργασία αφορά την υλοποίηση ενός τέτοιου συστήματος, μέσω της σύνθεσης μίας πορφυρίνης CoTCPP και νανοσωματιδίων NC-Dots, μεταξύ των οποίων πραγματοποιείται σύζευξη και τα υβρίδια που προκύπτουν θα δράσουν ως φωτοευαισθητοποιητής, αλλά και ως καταλύτης. Η πορφυρίνη CoTCPP, τα NC-Dots και τα υβρίδια NC-Dots-CoTCPP χαρακτηρίστηκαν με πληθώρα μεθόδων: φασματομετρία μάζας μέσω ιοντισμού εκρόφησης υποβοηθούμενου από μήτρα (MALDI-TOF-MS), φασματοσκοπία απορρόφησης υπεριώδους-ορατού (UV-Vis), φασματοσκοπία φθορισμού, και φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR). Τέλος, πραγματοποιήθηκαν πειράματα φωτοκατάλυσης στα οποία μελετήθηκαν δείγματα που περιείχαν τα υβρίδια και δείγματα που περιείχαν τα NC-Dots και έτσι λήφθηκαν συμπεράσματα για την σημασία της πορφυρίνης στην ιδιότητα των υβριδίων να δρουν ως φωτοευαισθητοποιητές. Βρέθηκε ότι η πορφυρίνη διαδραματίζει σπουδαίο ρόλο στην απορρόφηση του φωτός από τον φωτοευαισθητοποιητή καθώς στα δείγματα στα οποία απουσίαζε η πορφυρίνη δεν

παράχθηκε υδρογόνο. Για την μέτρηση της παραγωγής υδρογόνου χρησιμοποιήθηκε αέριος χρωματογράφος με ανιχνευτή θερμικής αγωγιμότητας (TCD).

Λέξεις κλειδιά: Ενεργειακή κρίση, ανανεώσιμες πηγές ενέργειας, ηλιακή ενέργεια, φωτοκατάλυση, παραγωγή υδρογόνου, πορφυρίνες, NC-Dots

Abstract

The rapid development of the modern world, has led to increased energy demands, the fulfilment of which mainly comes from the burning of fossil fuels. Fossil fuels are described as non-renewable sources and burning of fossil fuels leads to carbon dioxide emissions. Thus, the improvident use of fossil fuels led not only to the energy crisis, but to the environmental crisis as well. Therefore, the scientific world became interested in finding renewable sources, including which the solar energy stands out due to its abundance. Solar energy is very important, since it can be used by photocatalytic systems, for the generation of hydrogen. Nature was a great source of inspiration for this idea, since there are organisms that use solar energy and convert it into chemical energy in a biological path that is called photosynthesis. In addition, molecular hydrogen is a very promising type of fuel, since the element of hydrogen abundant and since its burning is clean and friendly for the environment, due to the fact that its only product is water. Photocatalytic systems that use solar energy consist of the photosensitizer (PS), the catalyst (CAT) and the sacrificial electron donor (SED). This bachelor thesis is about the implementation of such a photocatalytic system, through the synthesis of the porphyrin CoTCPP and the nanoparticles NC-Dots, that combine to form hybrids that will act both as photosensitizers and catalysts. Porphyrin CoTCPP, NC-Dots and hybrid NC-Dots-CoTCPP are characterized by various methods such as: matrix-assisted laser ionization (MALDI-TOF-MS), UV-Visible absorption spectroscopy (UV-Vis), fluorescence and nuclear magnetic resonance spectroscopy (NMR). Finally, photocatalytic experiments took place, in which samples of the hybrids and the NC-Dots alone are studied, in order to specify the importance of the porphyrin in the ability of the hybrids to act as photosensitizers. It was found that the porphyrin plays a significant role in the absorption of light by the photosensitizer, since the samples of the NC-Dots without the porphyrin didn't generate hydrogen. Gas chromatography with a thermal conductivity detector (TCD) was used in order to measure the hydrogen generated by the samples.

Key words: energy crisis, renewable energy sources, solar energy, photocatalysis, hydrogen generation, porphyrins, NC-Dots

Κεφάλαιο 1: Εισαγωγή

1.1 Ενεργειακή Κρίση

Η ραγδαία ανάπτυξη της βιομηχανίας, της τεχνολογίας και του ανθρώπινου πληθυσμού, οδήγησε σε ραγδαία αύξηση των ενεργειακών αναγκών του σύγχρονου κόσμου, για την κάλυψη των οποίων σημειώνεται σημαντική κατανάλωση ορυκτών καυσίμων. Η χρήση των ορυκτών καυσίμων όπως είναι το κάρβουνο, το πετρέλαιο και το φυσικό αέριο είναι έως τώρα ο πιο διαδεδομένος τρόπος παραγωγής ενέργειας. Τέτοιου είδους καύσιμα δημιουργήθηκαν από την εναπόθεση οργανικής ύλης που προήλθε από ζώα και φυτά και σταδιακά με την πάροδο εκατομμυρίων χρόνων καλύφθηκε από στρώματα πέτρας. Ανάλογα με την σύσταση της παρούσας οργανικής ύλης, τις συνθήκες πίεσης και θερμοκρασίας καθώς και το χρονικό διάστημα που μεσολάβησε, σχηματίστηκαν διαφορετικά είδη ορυκτών καυσίμων. Ο τρόπος σχηματισμού τους, λοιπόν, καθιστά αυτά τα καύσιμα ως μη ανανεώσιμες πηγές ενέργειας. Η καύση των ορυκτών καυσίμων είναι άμεσα συνυφασμένη τόσο με την περιβαλλοντική κρίση, όσο και με την ενεργειακή. Προϊόν των καύσεων των ορυκτών είναι το διοξείδιο του άνθρακα CO_2 , το οποίο συμβάλλει στην ρύπανση και υπερθέρμανση του πλανήτη, ενώ η συνεχής κατανάλωση μη ανανεώσιμων καυσίμων σε συνδυασμό με την έλλειψη εξίσου αποτελεσματικών πηγών ενέργειας, οδηγεί σε αύξηση του κόστους της χρήσης τους. Με σκοπό την επίλυση του προβληματισμού που προκαλεί η συνεχής κατανάλωση μη ανανεώσιμων πηγών ενέργειας, η επιστήμη στρέφεται στην εύρεση νέων πηγών ενέργειας, όπως είναι η **ηλιακή**, η υδροηλεκτρική, η αιολική, η γεωθερμική ενέργεια και η βιομάζα.

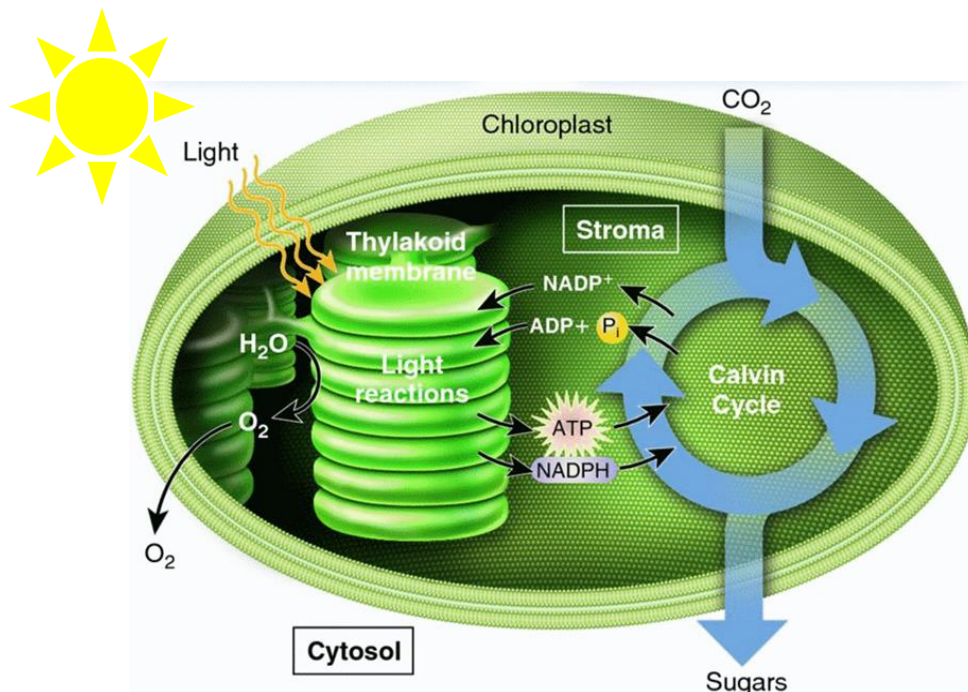


Εικόνα 1. 1 Ανανεώσιμες Πηγές Ενέργειας

1.2 Ηλιακή Ενέργεια

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον αποτελεί η ηλιακή ενέργεια, μια μορφή ενέργειας που χρησιμοποιείται παραδειγματικά στο φυτικό βασίλειο, είναι φιλική προς το περιβάλλον και το κυριότερο, είναι ανεξάντλητη.

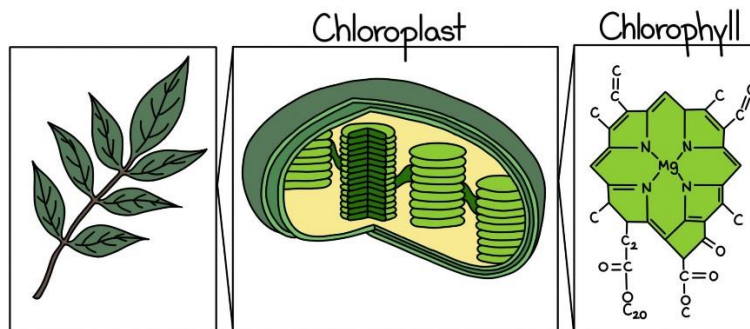
Η χρήση της ηλιακής ενέργειας απαιτεί πρωτίστως την δέσμευση της, την μετατροπή της σε μορφή που μπορεί να χρησιμοποιηθεί και την αποθήκευσή της. Η φύση έχει καταφέρει να αναπτύξει ένα μοντέλο αξιοποίησης του ηλιακού φωτός προκειμένου να καλύπτει τις ενεργειακές της ανάγκες, το οποίο ονομάζεται **Φωτοσύνθεση**.



Εικόνα 1. 2 Φωτοσύνθεση

Κατά την διαδικασία της φωτοσύνθεσης, οι φωτοσυνθετικοί οργανισμοί δεσμεύουν την ηλιακή ενέργεια και την μετατρέπουν σε χημική, παράγοντας υδατάνθρακες από την αναγωγή του διοξειδίου του άνθρακα CO₂ και χρησιμοποιώντας ως αναγωγικό παράγοντα το νερό. Από την φωτόλυση του νερού προκύπτει η παραγωγή μοριακού οξυγόνου O₂. Η δέσμευση του φωτός πραγματοποιείται από φωτοσυνθετικές χρωστικές ενώσεις που έχουν την ικανότητα να απορροφούν το ηλιακό φως, βρίσκονται στους χλωροπλάστες και ονομάζονται χλωροφύλλες. Η απορρόφηση του φωτός από τις χλωροφύλλες οδηγεί στην

διέγερση ενός ηλεκτρονίου στο μόριο της χλωροφύλλης παρέχοντας έτσι την ενέργεια που χρειάζεται για την έναρξη της φωτοσυνθετικής διαδικασίας.



Εικόνα 1.3

1.3 Τεχνητή Φωτοσύνθεση

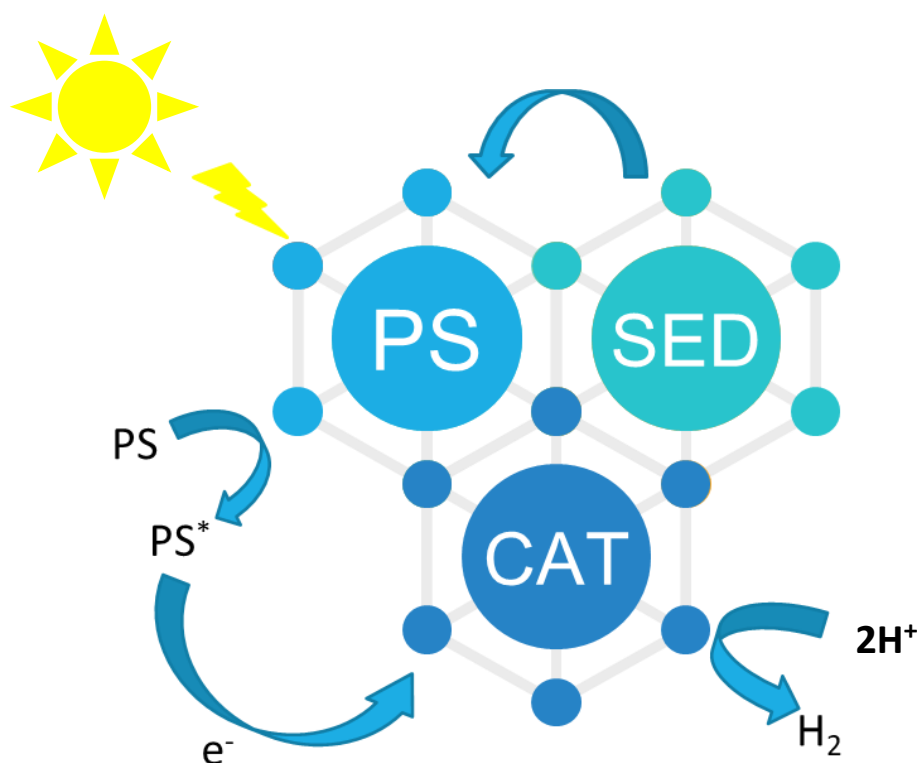
Ο λόγος που η φωτοσύνθεση αποτέλεσε πηγή έμπνευσης για τον επιστημονικό κόσμο είναι ένα από τα στάδια της πορείας παραγωγής μοριακού οξυγόνου, το οποίο περιλάμβανε την οξείδωση του νερού. Η λογική της τεχνητής φωτοσύνθεσης στηρίχτηκε στην καταλυτική διάσπαση του μορίου του νερού προς παραγωγή τόσο μοριακού οξυγόνου, όσο και μοριακού υδρογόνου. Το μοριακό υδρογόνο έχει ιδιαίτερο ενδιαφέρον ως παραπροϊόν, καθώς η παραγωγή του είναι καθαρή ως προς το περιβάλλον, είναι εξαιρετικά δραστικό κι μπορεί να λάβει μέρος σε αντίδραση καύσης, από την οποία μοναδικό παραπροϊόν είναι το νερό. Επιπρόσθετα, η καύση του υδρογόνου χρησιμοποιώντας μοριακό οξυγόνο παράγει θερμότητα. Η δραστικότητα του σε συνδυασμό με το γεγονός ότι υπάρχει σε αφθονία στην φύση το στοιχείο του υδρογόνου οδήγησε στην χρήση του ως ανανεώσιμη πηγή ενέργειας.

1.4 Φωτοκαταλυτικό Σύστημα

Η τεχνητή φωτοσύνθεση περιλαμβάνει την ανάπτυξη τέτοιων συστημάτων που χρησιμοποιούν την ηλιακή ενέργεια, όπως κάνουν και οι φωτοσυνθετικοί οργανισμοί και την μετατρέπουν σε χημική. Τα συστήματα αυτά αποτελούνται από ένα χρωμοφόρο, το οποίο δρα ως φωτοευαισθητοποιητής, έναν θυσιαστικό δότη ηλεκτρονίων και έναν καταλύτη. Το χρωμοφόρο απορροφά ηλιακή ενέργεια με αποτέλεσμα να διεγερθεί το μόριο. Η χρήση του

Θυσιαστικού δότη ηλεκτρονίων είναι για την διευκόλυνση της διαδικασίας παραγωγής υδρογόνου, καθώς η διάσπαση του νερού προϋποθέτει διαχωρισμό και μεταφορά φορτίου. Ο θυσιαστικός δότης ηλεκτρονίων παρέχει τα απαραίτητα ηλεκτρόνια στο διεγερμένο χρωμοφόρο ανάγοντάς το και στην συνέχεια το ανηγμένο χρωμοφόρο μεταφέρει τα ηλεκτρόνια στον καταλύτη και τέλος αυτός καταλύει την αναγωγή σε μοριακό υδρογόνο.

Σε ένα τέτοιο σύστημα ο φωτοευαισθητοποιητής πρέπει να πληροί κάποια κριτήρια όπως να απορροφά σε μεγάλο εύρος στο φάσμα ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας, να είναι σταθερός για μεγάλο χρονικό διάστημα, να μην αντιδρά με τα άλλα μέρη του συστήματος και να είναι διαλυτός σε υδατικά διαλύματα, ενώ θα πρέπει επίσης να διαχωρίζει και να μεταφέρει αποτελεσματικά τα φορτία. Μεταξύ πληθώρας οργανικών και ανόργανων μορίων συναρμοσμένων με μέταλλα που δρουν ως χρωμοφόρα, ευρέως διαδεδομένη είναι η χρήση των **πορφυρινών** λόγω της συγγενείας τους με τις χλωροφύλλες που χρησιμοποιούνται στην φωτοσύνθεση.

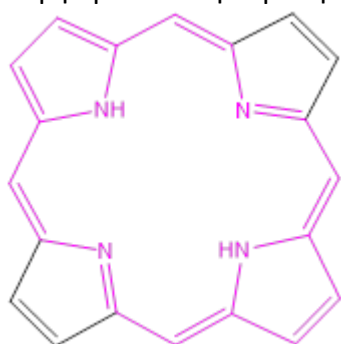


Εικόνα 1. 4 Σύστημα Φωτοκατάλυσης

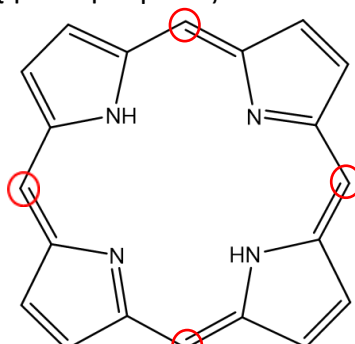
1.5 Πορφυρίνες

1.5.1 Χαρακτηριστικά

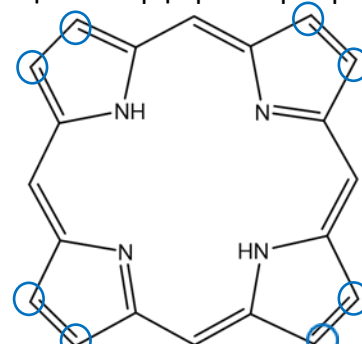
Οι πορφυρίνες είναι πολυπυρρολικά, ετεροκυκλικά και μακροκυκλικά οργανικά μόρια, τα οποία ευθύνονται για πληθώρα χρωμάτων που συναντώνται στην φύση. Τέτοια χρώματα είναι το πορφυρό χρώμα του αίματος, που οφείλεται στο μόριο της αίμης η οποία είναι μία πρωτοπορφυρίνη ή το πράσινο χρώμα στα φύλλα των φυτών το οποίο οφείλεται στο μόριο της χλωροφύλλης. Οι πορφυρίνες αποτελούνται από τέσσερα πυρρόλια, συνδεδεμένα μεταξύ τους με ρίζες μεθινίου ($-C=H$). Επιπλέον, οι πορφυρίνες είναι αρωματικά μόρια, καθώς ο δακτύλιος συνίσταται από συζυγές σύστημα 22 π-ηλεκτρονίων, 18 εκ των οποίων συνεισφέρουν στην αρωματικότητα του συστήματος, σύμφωνα με τον κανόνα του Huckel ($4n+2$). Στο συζυγές αυτό αρωματικό σύστημα οφείλεται η έντονη απορρόφηση των πορφυρινών στην ορατή περιοχή του φάσματος. Η υποκατάσταση των πορφυρινών μπορεί



Εικόνα 1. 5 Συζυγιακό Σύστημα Πορφυρίνης



Εικόνα 1. 6 Meso-Υποκατάσταση



Εικόνα 1. 7 β-Υποκατάσταση

να λάβει χώρα στις θέσεις meso- και β-πυρρολικές, από τις οποίες στον δακτύλιο υπάρχουν 4 και 8 αντίστοιχα. Η υποκατάσταση μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την τροποποίηση των φυσικοχημικών και ηλεκτρονιακών ιδιοτήτων των πορφυρινών.

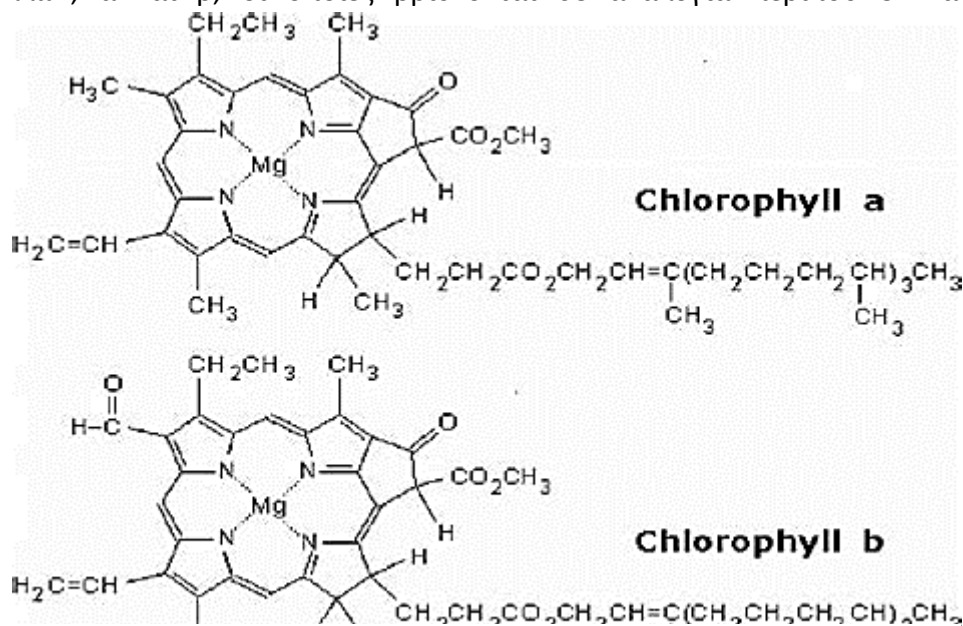
Στο εσωτερικό των μακροκυκλικών τους δακτυλίων, οι πορφυρίνες περιέχουν τέσσερα άζωτα, τα οποία είναι sp^2 υβριδισμένα και έτσι προσδίδουν βασικότητα στις πορφυρίνες μέσω των ελευθέρων ζευγών ηλεκτρονίων. Ανάλογα με την υποκατάσταση του πορφυρινικού δακτυλίου μπορεί να τροποποιείται η δυνατότητα συναρμογής των μορίων με μεταλλικά ιόντα, τα οποία συναρμόζονται στις πορφυρίνες μέσω των αζώτων, που πρωτίστως ήταν συνδεδεμένα με δύο πρωτόνια. Η επιλογή του μετάλλου που συναρμόζεται στον πορφυρινικό δακτύλιο διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην αποτελεσματικότητα των πορφυρινών ως φωτοευαισθητοποιητές, στην σταθερότητα του δακτυλίου, αλλά και στις

οπτικές τους ιδιότητες, ενώ παράλληλα η προσθήκη του μετάλλου μπορεί να αυξήσει την διαλυτότητα τους σε υδατικά διαλύματα. Όταν η πορφυρίνη υφίσταται στην αμετάλλωτη μορφή της, έχει μια επίπεδη γεωμετρία, την οποία χάνει όταν πραγματοποιηθεί η συναρμογή της με μέταλλο. Η συναρμογή του μετάλλου, πρόκειται για μια παραμόρφωση που οδηγεί σε απομάκρυνση της πορφυρίνης από την επίπεδη διαμόρφωση και αυξάνει σημαντικά την συμμετρία του μορίου, ενώ παράλληλα μειώνει τις επιτρεπτές μεταβάσεις. Αυτή η αλλαγή στη γεωμετρία του μορίου επιβεβαιώνεται από φασματοσκοπικά δεδομένα που έχουν ληφθεί και υποδεικνύουν ότι η συναρμογή μεταλλικού ιόντος επηρεάζει τις γραμμές απορρόφησης που οφείλονται σε d-d μεταβάσεις και ταινίες μεταφοράς φορτίου CT. Αξίζει να σημειωθεί ότι παρόμοια επίδραση στο μόριο προκαλεί και η υποκατάσταση της πορφυρίνης στις meso- θέσεις, από ογκώδεις υποκαταστάτες.

Οι πορφυρίνες διαδραματίζουν σπουδαίο ρόλο σε πολλές βιοχημικές διαδικασίες όπως είναι η φωτοσύνθεση, στην οποία συμμετέχουν οι χλωροφύλλες, η μεταφορά οξυγόνου, στην οποία συμμετέχουν πρωτεΐνες της αίμης, αλλά και η μεταφορά ηλεκτρονίων, στην οποία συμμετέχουν τα διάφορα κυτοχρώματα.

1.5.2 Χλωροφύλλες

Οι χλωροφύλλες απαντώνται στους χλωροπλάστες των φυτών και αποτέλεσαν πηγή έμπνευσης για την σύνθεση πολλών χρωμοφόρων μορίων, λόγω της ικανότητας τους να απορροφούν ηλιακή ακτινοβολία. Στους χλωροπλάστες συναντώνται δύο είδη χλωροφυλλών, α και β, οι οποίες βρίσκονται σε αναλογία περίπου 3:1 αντίστοιχα.

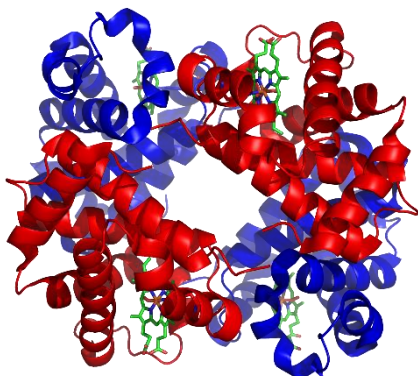


Εικόνα 1. 9 Χλωροφύλλες

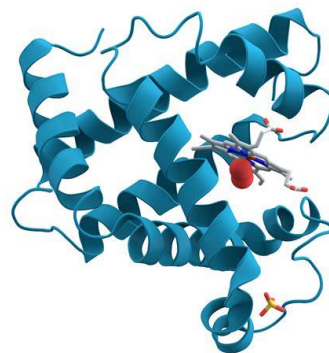
Αποτελούνται από ένα πορφυρινικό δακτύλιο συναρμοσμένο με ιόν μαγνησίου Mg^{2+} στο κέντρο και μία μακριά υδρογονανθρακική αλυσίδα συνδεδεμένη σε β - θέση, την φυτόλη. Στην χλωροφύλλη α , ο τρίτος πυρρολικός δακτύλιος είναι υποκατεστημένος με μια μεθυλομάδα, ενώ στην χλωροφύλλη β είναι υποκατεστημένος με μια αλδεϋδομάδα. Φασματοσκοπικά δεδομένα που έχουν ληφθεί, υποδεικνύουν δύο χαρακτηριστικές κορυφές στο φάσμα των χλωροφυλλών, μία στο κυανό (450nm) και μία στο ερυθρό (650-700nm) τμήμα του ορατού, ελαφρώς μετατοπισμένες αναλόγως του τύπου της χλωροφύλλης, στις οποίες οφείλεται το πράσινο χρώμα των φύλλων στα φυτά.

1.5.3 Πρωτεΐνες Αίμης Μεταφοράς Οξυγόνου

Οι δύο κυριότερες αιμοπρωτεΐνες που συμμετέχουν στην μεταφορά οξυγόνου είναι η αιμοσφαιρίνη και η μυοσφαιρίνη. Η αιμοσφαιρίνη εντοπίζεται στα ερυθροκύτταρα και φροντίζει την μεταφορά του οξυγόνου από τους πνεύμονες στους ιστούς, καθώς και την μεταφορά του διοξειδίου του άνθρακα και ιόντων υδρογόνου από τους διάφορους ιστούς στους πνεύμονες. Η μυοσφαιρίνη εντοπίζεται στους μύς και έχει διττό ρόλο, καθώς



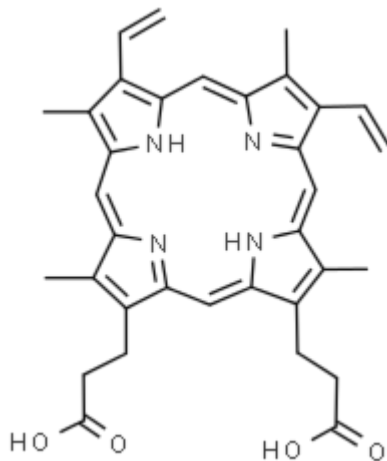
Εικόνα 1. 10 Αιμοσφαιρίνη



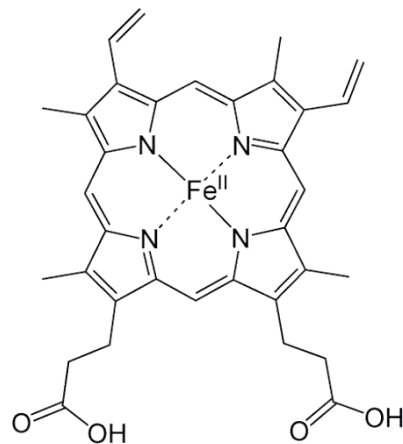
Εικόνα 1. 11 Μυοσφαιρίνη

συμπεριφέρεται τόσο ως μεταφορέας αλλά και ως δεξαμενή οξυγόνου, μεταφέρει οξυγόνο διαμέσου των μυϊκών κυττάρων στους μύες.

Πρόκειται για πρωτεΐνες που περιέχουν μια προσθετική ομάδα, την πρωτοπορφυρίνη, συναρμοσμένη με ένα ιόν σιδήρου, ο οποίος απαντάται σε δύο οξειδωτικές βαθμίδες, Fe(II) και Fe(III), μόνο η πρώτη ωστόσο μπορεί να δεσμεύσει το οξυγόνο. Στον πορφυρινικό δακτύλιο της αίμης, τα πυρρόλια είναι υποκατεστημένα από τέσσερις μεθυλικές ομάδες, δύο

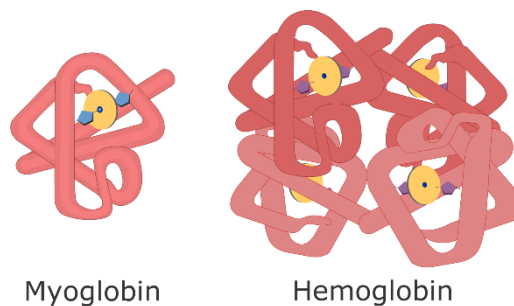


Εικόνα 1. 12 Πρωτοπορφυρίνη IX



Εικόνα 1. 13 Αίμη

βινυλικές ομάδες και δύο προπιονικές πλευρικές ομάδες. Εξαιτίας του μεγάλου μεγέθους του σιδήρου, αυτός δεν βρίσκεται στο επίπεδο της πορφυρίνης, αλλά ελαφρώς εκτός από αυτό. Η συναρμογή του οξυγόνου στον σίδηρο έχει ως αποτέλεσμα την ανακατανομή των ηλεκτρονίων στο άτομο του σιδήρου και έτσι το μεταλλικό ιόν κινείται προς το επίπεδο της πορφυρίνης. Η αιμοσφαιρίνη αποτελείται από τέσσερις υπομονάδες, εκ των οποίων οι δύο είναι πανομοιότυπες αλυσίδες α και οι άλλες δύο πανομοιότυπες αλυσίδες β. Κάθε επιμέρους υπομονάδα της αιμοσφαιρίνης παρουσιάζει δομική ομοιότητα με το μόριο της μιοσφαιρίνης.



Εικόνα 1. 14 Σύγκριση Υπομονάδων

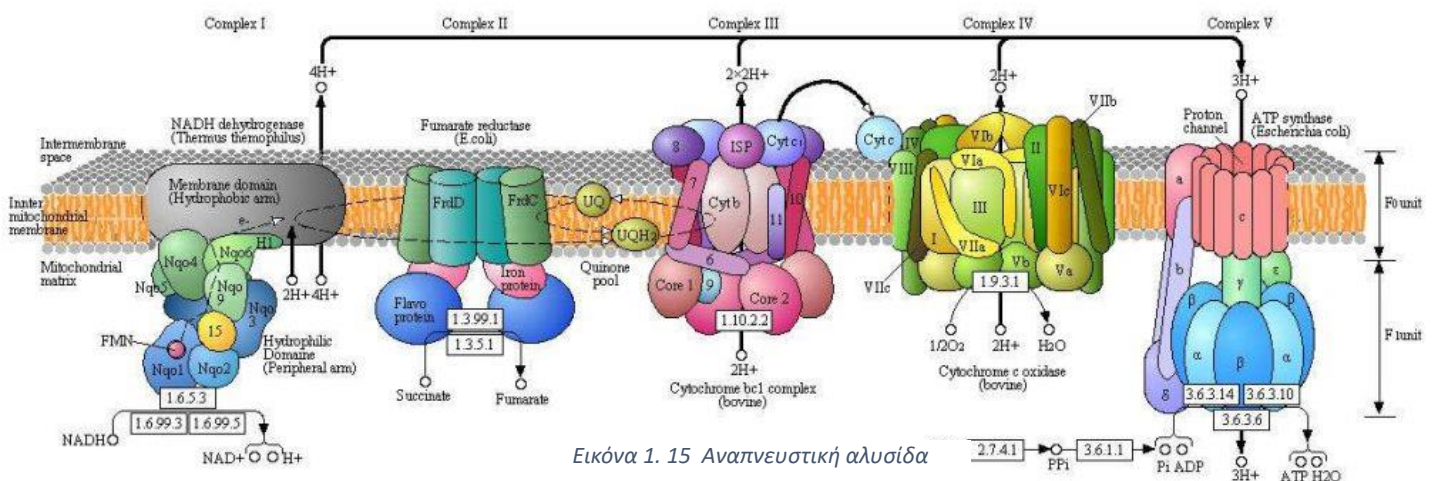
Η αιμοσφαιρίνη δεσμεύει οξυγόνο συνεργειακά και υφίσταται σε δύο καταστάσεις, την T και την R, οι οποίες βρίσκονται σε ισορροπία. Μια αιμοσφαιρίνη στην ελεύθερη μορφή της βρίσκεται σε κατάσταση T και κατόπιν πρόσδεσης ενός μορίου οξυγόνου σε μία θέση στο μόριο προκαλείται μετατόπιση της ισορροπίας στην κατάσταση R. Η πρόσδεση ενός μορίου οξυγόνου είναι ικανή να προκαλέσει επαγόμενη προσαρμογή στο μόριο της αιμοσφαιρίνης, ελευθερώνοντας τις θέσεις δέσμευσης του οξυγόνου και αυξάνοντας την συγγένεια της πρωτεΐνης ως προς το οξυγόνο. Αντίθετα, στην μυοσφαιρίνη η δέσμευση δεν είναι συνεργειακή, καθώς πρόκειται για μονομερές. Στην δέσμευση του οξυγόνου στην αίμη οφείλεται το κόκκινο χρώμα στο αίμα.

1.5.4 Κυτοχρώματα

Πρόκειται για σιδηροπρωτεΐνες μεταφοράς ηλεκτρονίων χρησιμοποιώντας πορφυρινικό σύστημα. Τα κυτοχρώματα χρησιμοποιούνται στις αλυσίδες μεταφοράς ηλεκτρονίων, τόσο στα μιτοχόνδρια κατά την κυτταρική αναπνοή, όσο και στους χλωροπλάστες κατά τη φωτοσύνθεση. Τα κυτοχρώματα περιέχουν ένα μόριο αίμης συναρμοσμένη με ένα μεταλλικό ιόν σιδήρου. Οι διαφορετικοί τύποι κυτοχρωμάτων φέρουν διαφορετικούς υποκαταστάτες στους πυρρολικούς δακτυλίους, οι οποίοι σταθεροποιούν την δομή αίμης-πρωτεΐνης αναλόγως. Οι διαφορετικής φύσης υποκαταστάτες επηρεάζουν τις ταινίες στα φάσματα απορρόφησης των κυτοχρωμάτων, καθώς μπορούν να επηρεάσουν τις ταινίες d-d και τις ταινίες μεταφοράς φορτίου πορφυρίνης-μετάλλου.

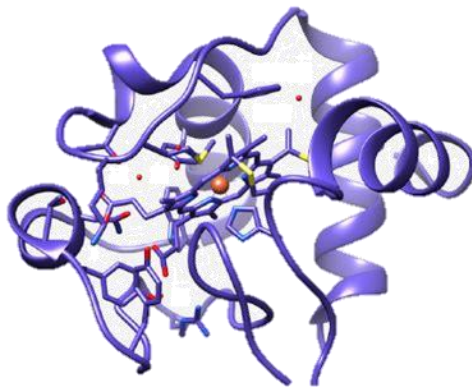
Τύπου c

Τα κυτοχρώματα τύπου c συμμετέχουν στην αναπνευστική αλυσίδα του μιτοχονδρίου και δεν υπόκεινται σε καμία δομική αλλαγή κατά την μεταφορά ηλεκτρονίων, ενώ επίσης είναι



Εικόνα 1. 15 Αναπνευστική αλυσίδα

σταθερά σε μεταβολές της θερμοκρασίας και του pH. Η αίμη συνδέεται ομοιοπολικά με την πρωτεΐνη μέσω θειοαιθερικής γέφυρας και συνήθως η πέμπτη και η έκτη θέση δέσμευσης του σιδήρου καταλαμβάνονται από δύο ιστιδίνες ή μία ιστιδίνη και μία μεθειονίνη. Στην δεύτερη περίπτωση, το μόριο της μεθειονίνης συνδέεται μέσω του θείου με τον σίδηρο, διαμορφώνει τις ιδιότητες μεταφορέα της πρωτεΐνης και επιτρέπει ταχεία μεταφορά ηλεκτρονίων, διατηρώντας την απόσταση του σιδήρου με το άτομο του θείου σταθερή. Το κυτόχρωμα c φέρει δύο κανάλια, το πρώτο επικαλύπτεται από αμινοξέα με υδρόφοβες πλευρικές αλυσίδες, διαμέσου του οποίου πραγματοποιείται η έξοδος του ηλεκτρονίου από τον μεταφορέα και το δεύτερο δεν έχει καμία επαφή με τον διαλύτη διευκολύνοντας έτσι την είσοδο του ηλεκτρονίου. Φασματοσκοπικά δεδομένα που έχουν ληφθεί, έχουν υποδείξει ότι τέτοιου τύπου κυτοχρώματα παρουσιάζουν την ταινία α, στο φάσμα UV-Vis στα 548-552nm.



Εικόνα 1. 5 Δομή Κυτοχρώματος c

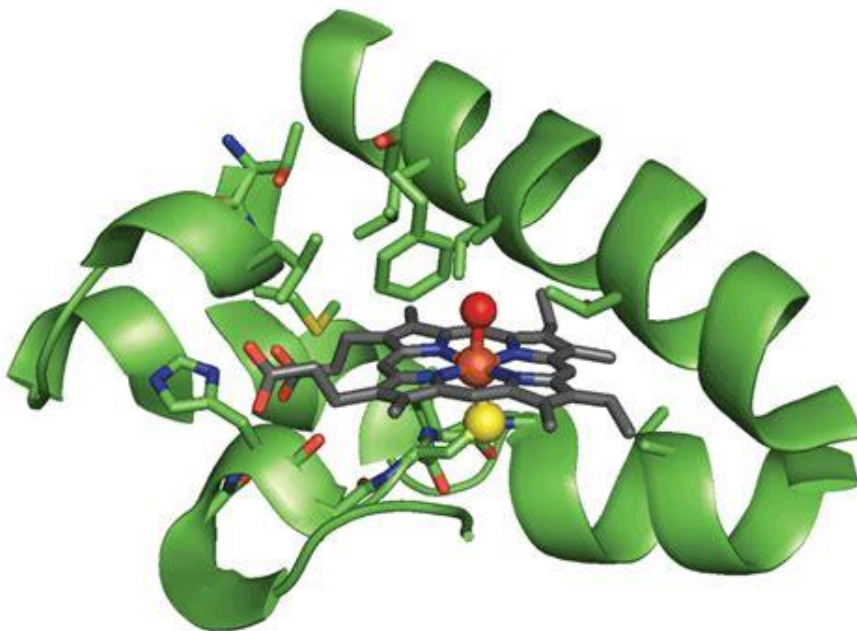
Τύπου b

Τα κυτοχρώματα τύπου b απαντώνται στους χλωροπλάστες και συμμετέχουν στα φωτοσυστήματα I και II, λαμβάνοντας μέρος στις φωτολυτικές αντιδράσεις οξειδοαναγωγής. Πρόκειται για σιδηροπρωτεΐνες αίμης μεταφοράς ηλεκτρονίων, οι οποίες συμμετέχουν στην φωτοσύνθεση. Τα κυτοχρώματα τύπου b περιέχουν μια πρωτοαίμη και σε αντίθεση με τα τύπου c, αυτή δεν συνδέεται ομοιοπολικά με την πρωτεΐνη, αλλά μέσω δεσμών συναρμογής του κεντρικού σιδήρου με δύο ιμιδαζολικούς δακτυλίους, που προέρχονται από δύο ιστιδίνες, η με ένα ιμιδαζολικό δακτύλιο ιστιδίνης και μια μεθειονίνη. Το μήκος δεσμού μετάλλου-ιστιδίνης έχει την δυνατότητα να αλλάζει ταχύτατα, με αποτέλεσμα να ευνοείται η ταχεία μεταφορά ηλεκτρονίων. Αυτή η ιδιότητα του κυτοχρώματος τύπου b οφείλεται στην

εξισορρόπηση των δομών χαμηλού και υψηλού σπιν, ανάλογα με το pH. Φασματοσκοπικά δεδομένα που έχουν ληφθεί, έχουν υποδείξει ότι τέτοιου τύπου κυτοχρώματα παρουσιάζουν την ταινία α, στο φάσμα UV-Vis στα 555-560nm.

Τύπου P-450

Τα κυτοχρώματα τύπου P-450 χαρακτηρίζονται ως εξής, λόγω της ιδιότητας τους να απορροφούν φως με μέγιστο στα 450nm, όταν έχουν συναρμοστεί με μονοξείδιο του άνθρακα. Συμμετέχουν στην κατάλυση της υδροξυλίωσης του υποστρώματος RH, προσθέτοντας στο υπόστρωμα μοριακό οξυγόνο, το οποίο πρωτίστως έχει ενεργοποιηθεί. Η ενεργοποίηση του μοριακού οξυγόνου πραγματοποιείται μέσω της πρόσδεσης του στην αίμη του κυτοχρώματος P-450. Η πρόσδεση του μοριακού οξυγόνου στον αιμικό σίδηρο πραγματοποιείται μόνο όταν αυτός υφίσταται στην κατάσταση Fe(II). Η διαδικασία προσθήκης του μοριακού οξυγόνου στην αίμη απαιτεί την κατανάλωση αναγωγικών μορίων NADPH, τα οποία προσφέρουν το ηλεκτρόνιο που είναι απαραίτητο για την αναγωγή του Fe(III) προς Fe(II) και το ηλεκτρόνιο που είναι απαραίτητο για την αναγωγική διάσπαση του δεσμού O-O. Κατόπιν σχηματισμού του υδροξυλιωμένου προϊόντος, το άτομο του σιδήρου επιστρέφει στην κατάσταση Fe(III). Το ένα άτομο οξυγόνου ενσωματώθηκε στο υπόστρωμα ως υδροξυλομάδα και το άλλο πρωτονιώθηκε και απελευθερώθηκε ως μόριο ύδατος.



Εικόνα 1. 6 Δομή Κυτοχρώματος P450

1.5.5 Εφαρμογές Πορφυρινών

Οι πορφυρίνες και τα διάφορα πορφυρινικά παράγωγα είναι εξαιρετικά σημαντικά λειτουργικά μακρομόρια, χάριν στην ποικιλία και την πολυπλοκότητα των χαρακτηριστικών τους. Αυτή η ποικιλία καθιστά τα πορφυρινικά παράγωγα εξαιρετικά χρήσιμα μακρομόρια, με πολλές εφαρμογές, όπως είναι η αξιοποίηση του φωτός για την παραγωγή ανανεώσιμων πηγών ενέργειας, η θεραπευτική και η διαγνωστική ιατρική.

Μία από τις σημαντικότερες εφαρμογές των πορφυρινικών παραγώγων στην θεραπευτική ιατρική, είναι η χρήση τους στην θεραπεία του καρκίνου. Οι συμβατικές θεραπείες κατά του καρκίνου όπως είναι η χημειοθεραπεία και η ακτινοθεραπεία, έχουν ορισμένα μειονεκτήματα όπως είναι η κακή κατανομή των φαρμάκων, η αδυναμία του φαρμάκου να φτάνει αποκλειστικά στα κύτταρα στόχους και η τοξικότητα, τα οποία διέγειραν το ενδιαφέρον πολλών ως προς την ανάπτυξη νέων μεθόδων που θα αντιμετώπιζαν όσο το δυνατόν περισσότερο τα παραπάνω. Έτσι, αναπτύχθηκαν δύο μέθοδοι που στηρίχτηκαν στην μη παρεμβατική φωτοθεραπεία, η φωτοδυναμική θεραπεία PDT και η φωτοθερμική θεραπεία PTT, οι οποίες παρουσιάζουν μειωμένες παρενέργειες. Η φωτοθεραπεία περιλαμβάνει έναν φωτοευαισθητοποιητή, ακτινοβολία φωτός συγκεκριμένου μήκους κύματος και μοριακό οξυγόνο. Ως φωτοευαισθητοποιητές χρησιμοποιούνται πορφυρίνες συζευγμένες με νανοσωματίδια, τα οποία αυξάνουν την βιοδιαθεσιμότητα των πορφυρινών, ενώ παράλληλα βελτιώνουν την ικανότητα τους να φτάνουν στον στόχο και δρουν σε αυτόν. Στην φωτοδυναμική θεραπεία PDT, ακτινοβολία μεταξύ του θεραπευτικού εύρους 650-850nm, απορροφάται από τον φωτοευαισθητοποιητή, προκαλώντας την διέγερσή του. Ο φωτοευαισθητοποιητής στην διεγερμένη κατάσταση μεταφέρει την ενέργεια στο μοριακό οξυγόνο που βρίσκεται στον ιστό, παράγοντας έτσι δραστικές οντότητες οξυγόνου ROS (reactive oxygen species), οι οποίες καταστρέφουν καρκινικά κύτταρα μέσω διαδικασιών νέκρωσης ή απόπτωσης. Στην φωτοθερμική θεραπεία PTT, ο φωτοευαισθητοποιητής διεγείρεται τόσο από την απορρόφηση ακτινοβολίας, όσο και από την δονητική κίνηση του, παράγοντας έτσι θερμότητα, η οποία είναι ικανή να σκοτώσει γειτονικά καρκινικά κύτταρα. Ο ρόλος των φωτοευαισθητοποιητών στην τελευταία μέθοδο είναι η μετατροπή της φωτεινής ενέργειας σε θερμότητα. Στην φωτοθερμική θεραπεία δεν είναι απαραίτητη η παρουσία μοριακού οξυγόνου για την αλληλεπίδραση των φωτοευαισθητοποιητών με τα καρκινικά κύτταρα. Από τα νανοσωματίδια που χρησιμοποιούνται σε τέτοιου είδους

μεθόδους, είναι ευρέως διαδεδομένα τα νανοσωματίδια NPs που περιλαμβάνουν χρυσό (AuNPs) και είναι επίσης ομοιοπολικά τροποποιημένα από συγκεκριμένο αντίσωμα. Τα νανοσωματίδια έχουν μεγάλη αναλογία επιφάνειας προς όγκο και έτσι αυξάνουν την ποσότητα των φωτοευαίσθητοποιητών που μεταφέρονται στους καρκινικούς ιστούς, επίσης διευκολύνουν την παθητική διάχυση των πορφυρινών έτσι ώστε να διευκολύνουν την μεταφορά τους στους καρκινικούς ιστούς.

Χρησιμοποιώντας την ίδια λογική, αναπτύχθηκαν σύμπλοκα πορφυρινών με μαγνητικά νανοσωματίδια τα οποία χρησιμοποιούνται στην διαγνωστική ιατρική και πιο συγκεκριμένα στην απεικόνιση μαγνητικού συντονισμού MRI. Η ένταση του σήματος στο MRI εξαρτάται από την διαθεσιμότητα πρωτονίων, προερχόμενων από μόρια νερού και από τους χρόνους χαλάρωσης τους. Μεταλλοπορφυρίνες που διαθέτουν μέταλλα με μεγάλη παραμαγνητική ιδιότητα μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως σκιαγραφικά μέσα (contrast agents CA). Τα σκιαγραφικά μέσα είναι μόρια που περιέχουν μέταλλα που έχουν ισχυρά μαγνητικά πεδία που μπορούν να αλληλεπιδράσουν με τα μαγνητικά πεδία των πρωτονίων και να ενισχύσουν τους χρόνους χαλάρωσης, με αποτέλεσμα να λαμβάνεται σήμα μεγαλύτερης έντασης. Η ενίσχυση των χρόνων χαλάρωσης στηρίζεται στις αλληλεπιδράσεις διπόλου-διπόλου μεταξύ των σπιν των ηλεκτρονίων των παραμαγνητικών μετάλλων και των σπιν των πρωτονίων των μορίων νερού. Έτσι, σχεδιάστηκαν σύμπλοκα πορφυρινών με παραμαγνητικά μέταλλα και νανοσωματίδια NPs, τα οποία παρουσιάζουν μεγαλύτερη βιοδιαθεσιμότητα, αποτελεσματικότερη ικανότητα να μεταφέρονται και καλύτερη συγγένεια με τα καρκινικά κύτταρα, ώστε να στοχοποιούν αποκλειστικά αυτά.

1.6 Carbon Dots

1.6.1 Χαρακτηριστικά

Τα carbon dots (CDs) είναι νανοσωματίδια, εξαιρετικά μικρού μεγέθους που κυμαίνεται μεταξύ 10 και 90nm, που αποτελούνται από έναν πυρήνα από άνθρακα και μία επιφάνεια που φέρει σημαντικές λειτουργικές ομάδες, όπως υδροξυλομάδες και καρβοξυλομάδες. Η επιφάνειά τους επιτρέπει την τροποποίησή τους, εισάγοντας σε αυτή ετεροάτομα όπως ομάδες αζώτου και θείου. Τέτοιου είδους τροποποιήσεις, καθώς και αλλαγές στα μεγέθη τους οδηγούν σε μία πληθώρα διαφορετικών οπτικών και φυσικοχημικών ιδιοτήτων. Τα Carbon Dots έχουν πολλές εφαρμογές χάριν στην εντυπωσιακή μορφολογία τους, στο πλήθος

των ιδιοτήτων τους, καθώς και στην καταλυτική ικανότητα τους, η οποία παρομοιάζει αυτή των ενζύμων. Τέτοιες εφαρμογές παρατηρούνται στην βιοαπεικόνιση, στην μεταφορά θεραπευτικών παραγόντων, στην θεραπεία ασθενειών, στην θεραπεία του καρκίνου, καθώς και στην διάγνωση συμμετέχοντας στην απεικόνιση MRI. Αξίζει να σημειωθεί επίσης, ότι τέτοια νανοσωματίδια μπορεί να έχουν αντιοξειδωτική και αντιβιοτική δράση.

1.6.2 Ιδιότητες

Στις κυριότερες ιδιότητες των carbon dots εντάσσονται η οπτική σταθερότητα και η φωτοσταθερότητα, ο φθορισμός και η φωταύγεια, η απορρόφηση φωτός, καθώς και καταλυτική δραστηριότητα.

Φθορισμός

Ο **φθορισμός** είναι μία από τις σημαντικότερες οπτικές ιδιότητες των carbon dots και σε αυτόν οφείλεται πληθώρα εφαρμογών τους. Η εκπομπή φθορισμού εξαρτάται από την ενεργειακή διαφορά μεταξύ των υψηλότερων ενεργειακά κατειλημμένων τροχιακών (HOMO) και των χαμηλότερων ενεργειακά κενών τροχιακών (LUMO), καθώς και από το μήκος κύματος της προσπίπτουσας ακτινοβολίας. Τα μήκη κύματος στα οποία εμφανίζεται η εκπομπή φθορισμού μπορούν να μεταβάλλονται με τροποποιήσεις των carbon dots, όσον αφορά το μέγεθος (quantum size effect), την σύσταση του πυρήνα και την σύσταση της επιφάνειας (λειτουργικές ομάδες και doping). Η αύξηση του μεγέθους των carbon dots οδηγεί σε αύξηση της περιεκτικότητας του πυρήνα σε sp^2 άνθρακες στο συζυγιακό σύστημα. Όσο ο π-τομέας στο εσωτερικό των carbon dots αυξάνεται ο αριθμός των sp^2 διαμορφώσεων, τόσο μειώνεται το band gap και τόσο περισσότερο το μήκος κύματος της εκπομπής στρέφεται προς την περιοχή του κόκκινου (redshift emission wavelength). Η επιφάνεια των carbon dots συνίσταται κυρίως από συζυγείς άνθρακες και συζευγμένα άτομα οξυγόνου. Η τροποποίηση της επιφάνειας μέσω της προσθήκης ετεροατομικών ομάδων, όπως είναι η αιθυλενοδιαμίνη (ETA), η πυριδίνη (py) και διάφορα αμινοξέα, επηρεάζει το φάσμα εκπομπής φθορισμού των carbon dots. Οι παραπάνω ομάδες επικαλύπτουν την επιφάνεια με άτομα αζώτου (nitrogen doping) σχηματίζοντας nitrogen doped carbon dots (NC-Dots). Η ετεροατομική επικάλυψη οδηγεί σε μετατόπιση της εκπομπής σε μεγαλύτερα μήκη κύματος, προς την κόκκινη περιοχή του φάσματος (redshift), γεγονός που οφείλεται σε μεταβολές στις ιδιότητες των carbon dots λόγω δομικών αλλαγών. Επομένως, η εκπομπή

φθορισμού μπορεί να ρυθμιστεί κατά την σύνθεση των carbon dots, προσαρμόζοντας το μέγεθος, την σύσταση, καθώς και το doping της επιφάνειας.

Απορρόφηση

Τα Carbon dots **απορροφούν** φως κυρίως στην περιοχή του υπεριώδους, στα 200-400nm του φάσματος και εμφανίζουν μία ουρά η οποία επεκτείνεται πέρα από τα 400nm στην περιοχή του ορατού. Το φάσμα απορρόφησης των carbon dots βασίζεται σε ηλεκτρονικές μεταβάσεις τόσο στον πυρήνα, όσο και στην επιφάνεια των νανοσωματιδίων. Η υψηλή κορυφή στο φάσμα που απαντάται στην περιοχή 200-300nm, οφείλεται σε μετάβαση π-π* σε sp^2 υβριδισμένους άνθρακες που ανήκει σε αρωματικό σύστημα στο εσωτερικό του πυρήνα (aromatic C=C bonds). Η ουρά της κύριας κορυφής που συνεχίζει στην περιοχή 300-400nm οφείλεται σε μετάβαση ηλεκτρονίου n-π* σε δεσμό C=O που υφίσταται στο εσωτερικό του πυρήνα. Η επέκταση της ουράς πέρα από τα 400nm και προς την κόκκινη περιοχή του ορατού (red shifted UV-Vis absorption), οφείλεται σε ηλεκτρονικές μεταβάσεις που αφορούν δεσμούς και άτομα λειτουργικών ομάδων στην επιφάνεια των carbon dots, όπως είναι δεσμοί C=O και C=N. Η σύνθεση carbon dots που φέρουν στις επιφάνειες τους λειτουργικές ομάδες πλούσιες σε τέτοιους δεσμούς και τέτοια άτομα, ενισχύει την επέκταση της απορρόφησης τους σε αυτήν την περιοχή και οδηγεί στην εμφάνιση επιπλέον κορυφών σε αυτήν.

1.6.3 Σύνθεση

Έχουν αναπτυχθεί πολλές μέθοδοι σύνθεσης νανοσωματιδίων Carbon Dots, προκειμένου να συντίθενται carbon dots διαφόρων μεγεθών και διαφορετικά τροποποιημένων επιφανειών με διαφορετικές λειτουργικές ομάδες, οι οποίες προσδίδουν διαφορετικές ιδιότητες. Οι μέθοδοι μπορούν να καταταχθούν σε δύο κύριες κατηγορίες τις μεθόδους top down και τις μεθόδους bottom up. Μέθοδοι όπως είναι η ηλεκτροχημική σύνθεση, η εκτομή με λέιζερ, η σύνθεση με υπερήχους και η οξειδωση χρησιμοποιώντας όξινο παράγοντα, ανήκουν στην κατηγορία top down και βασίζονται στην αποδόμηση ή διάσπαση μεγαλύτερων δομών με βάση τον άνθρακα. Μέθοδοι όπως είναι η υδροθερμική σύνθεση, η διαλυθερμική σύνθεση, η σύνθεση με την χρήση μικροκυμάτων και η σύνθεση σε υποστηρικτικό υλικό (template method) ανήκουν στην κατηγορία bottom up και βασίζονται στην σύντηξη οργανικών πρόδρομων μορίων προς σχηματισμό sp^2 υβριδισμένων δομών που αποτελούν τον πυρήνα

των carbon dots. Οι μέθοδοι της κατηγορίας top down χρησιμοποιούνται για την ρύθμιση των ιδιοτήτων των carbon dots μέσω της ρύθμισης του μεγέθους τους, ενώ οι μέθοδοι της κατηγορίας bottom up χρησιμοποιούνται για την ρύθμιση των ιδιοτήτων μέσω της τροποποίησης της επιφάνειας και της ύπαρξης επιθυμητών λειτουργικών ομάδων σε αυτήν. Συχνά για την σύνθεση των carbon dots χρησιμοποιείται ως πρώτη ύλη ο γραφίτης, οι ίνες άνθρακα και οι νανοσωλήνες άνθρακα για τις top down μεθόδους, ενώ για τις bottom up μεθόδους χρησιμοποιούνται το κιτρικό οξύ και η ουρία.

1.6.4 Εφαρμογές

Χάριν στην εξαιρετικά ενδιαφέρουσα μορφολογία τους, τα carbon dots έχουν πολλές εφαρμογές στην βιοϊατρική. Το μικρό τους μέγεθος τους προσδίδει μεγάλη ικανότητα διαπερατότητας μέσω φυσικών βιολογικών φραγμάτων με αποτέλεσμα να μπορούν να διεισδύουν στα διάφορα κύτταρα και να φτάνουν στους στόχους. Η τροποποίηση των επιφανειών τους με συγκεκριμένες λειτουργικές ομάδες, συμπληρωματικές ως προς τις περιοχές πρόσδεσης υποδοχέων σε κύτταρα στόχους, αποσκοπεί στην ανίχνευση αυτών και επιτρέπει την μεταφορά των carbon dots επιλεκτικά σε αυτά. Επιπρόσθετα, αυτή η τροποποίηση μπορεί επίσης να ευνοήσει την πρόσδεση ενός θεραπευτικού παράγοντα στην επιφάνεια των carbon dots, μέσω αλληλεπίδρασης των λειτουργικών τους ομάδων με αντίστοιχες των θεραπευτικών παραγόντων και έτσι διευκολύνεται η μεταφορά τους στα κύτταρα στόχους (nano-drug delivery system).

Η επιλεκτικότητα στην πρόσδεση σε κύτταρα στόχους, το μικρό μέγεθος, η ικανότητα να απορροφούν φως και η καταλυτική δραστηριότητα των carbon dots τα καθιστά εξαιρετικά χρήσιμα στην φωτοδυναμική θεραπεία, την φωτοθερμική θεραπεία και την ανοσοθεραπεία. Σε αυτές τις θεραπείες, πέρα από τον ρόλο του μεταφορέα, μπορούν να δράσουν και ως φωτοευαίσθητοποιητές, καθώς έχουν την ικανότητα να απορροφούν φως και να το μετατρέπουν σε θερμότητα. Στην φωτοθερμική θεραπεία (PTT) μπορούν να λειτουργήσουν ως φωτοθερμικοί παράγοντες, χάριν στην ικανότητα να μετατρέπουν την φωτεινή ενέργεια σε θερμική, έχουν καλή φωτο-σταθερότητα και βιοπροσαρμογή, ενώ μπορούν να διασκορπίζονται αποτελεσματικά στο νερό και να στοχεύουν συγκεκριμένα καρκινικά κύτταρα. Στην φωτοδυναμική θεραπεία (PDT) μπορούν να λειτουργήσουν ως φωτοευαίσθητοποιητές οι οποίοι απορροφούν ακτινοβολία και παράγουν δραστικές οντότητες οξυγόνου (ROS), οι οποίες καταστρέφουν επιλεκτικά όγκους. Στην ανοσοθεραπεία

τα Carbon Dots μπορούν να δράσουν ως ανοσοθεραπευτικοί παράγοντες και ως μεταφορείς ανοσοθεραπευτικών φαρμάκων, καθώς στην ανοσοθεραπεία ένα σημαντικό πρόβλημα είναι η χαμηλή ικανότητα των φαρμάκων να διεισδύουν στα κύτταρα και να φτάνουν στους στόχους. Τα carbon dots ως ανοσοθεραπευτικοί παράγοντες μπορούν να αυξήσουν την παραγωγή των δραστικών οντοτήτων οξυγόνου, να προωθήσουν την ανοσολογική απόκριση των κυττάρων και να ενισχύσουν σηματοδοτικές πορείες ανοσολογικής απόκρισης.

Επιπρόσθετα, χάριν στην ικανότητα τους να φθορίζουν μπορούν να χρησιμοποιηθούν στην βιοαπεικόνιση και την ανίχνευση όγκων, μέσω πληθώρας διαδικασιών όπως είναι η απεικόνιση φθορισμού, η φωτοακουστική απεικόνιση (PAI) και η απεικόνιση μαγνητικού συντονισμού (MRI). Η ανίχνευση μέσω απεικόνισης φθορισμού προσφέρει υψηλότερη σταθερότητα, συντονισμένη εκπομπή και καλή βιοπροσαρμογή, ενώ παράλληλα έχει χαμηλό κόστος. Η τεχνική αυτή στηρίζεται στην ικανότητα των carbon dots να απορροφούν ακτινοβολία υψηλής ενέργειας και μικρού μήκους κύματος και να την εκπέμπουν ως ακτινοβολία χαμηλής ενέργειας και μεγάλου μήκους κύματος (downconversion FL) και το αντίστροφο (upconversion FL). Στην φωτοακουστική απεικόνιση, μπορούν να χρησιμοποιηθούν τα carbon dots χάρη στην ιδιότητα της φωτοθερμικής μετατροπής. Ως πηγή ενέργειας χρησιμοποιείται ένα λέιζερ το οποίο ακτινοβολεί τα carbon dots και αυτά μετατρέπουν την ενέργεια σε θερμική. Η αύξηση της θερμοκρασίας που προκύπτει, προκαλεί μικρές δονήσεις στα μόρια των ιστών, οι οποίες παρατηρούνται και δίνουν σήμα. Η επιλεκτικότητα των carbon dots να στοχεύουν ασθενείς ιστούς είναι σημαντική, έτσι ώστε οι μικρές δονήσεις να παρατηρούνται σε αυτούς. Τέλος, τα carbon dots μπορούν να χρησιμοποιηθούν στην απεικόνιση μαγνητικού συντονισμού (MRI) ως σκιαγραφικά μέσα, ιδίως όταν έχουν επεξεργαστεί έτσι ώστε να φέρουν παραμαγνητικά μέταλλα. Το μικρό τους μέγεθος και η ικανότητα τους να στοχεύουν στα καρκινικά κύτταρα, τα καθιστά εξαιρετικά χρήσιμα για την ακρίβεια του σήματος που λαμβάνεται από το MRI. Επιπρόσθετα, τα carbon dots έχουν την δυνατότητα να φθορίζουν, γεγονός που προσφέρει ακόμη μεγαλύτερη ενίσχυση του σήματος, επιτρέποντας fluorescence/MR απεικόνιση.

Τέλος, ευρεία είναι η χρήση τους και στον τομέα της παραγωγής ενέργειας, η οποία στηρίζεται στην ιδιότητα να δρουν ως καταλύτες. Ορισμένα carbon dots τα οποία διαθέτουν κατάλληλες λειτουργικές ομάδες στην επιφάνειά τους που μπορούν να συνεισφέρουν στην μεταφορά ηλεκτρονίων. Αυτή η ιδιότητα σε συνδυασμό με την ικανότητά τους να

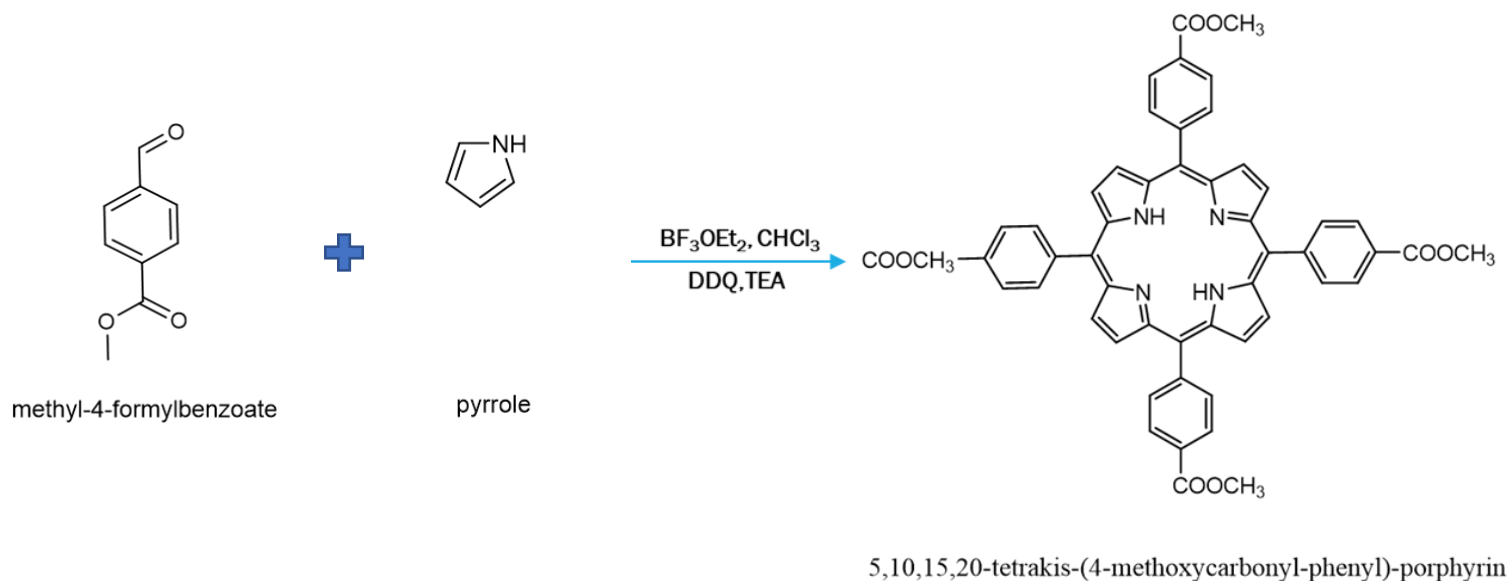
απορροφούν ακτινοβολία τα καθιστά ικανούς φωτοκαταλύτες. Συγκεκριμένα nitrogen doped carbon dots έχουν σχηματιστεί και εφαρμόζονται ως φωτοευαισθητοποιητές στην φωτοκαταλυτική παραγωγή υδρογόνου, από το νερό. Τέτοια carbon dots είναι πολύ αποτελεσματικοί φωτοευαισθητοποιητές διότι έχουν μεγάλη φωτο-σταθερότητα, είναι διαλυτά στο νερό και είναι βιοσυμβατά.

Κεφάλαιο 2: Σκοπός

Η διπλωματική αυτή εργασία αποσκοπεί στην σύνθεση της πορφυρίνης Co-TCPP και ύστερα την σύζευξή της με NC-Dots, προκειμένου να μελετηθεί ως προς την ικανότητά της να παράγει υδρογόνο σε φωτοκαταλυτικό σύστημα. Πρώτα, συντίθεται η πορφυρίνη και χαρακτηρίζεται χρησιμοποιώντας τις μεθόδους φασματομετρίας μάζας μέσω ιοντισμού εκρόφησης υποβοηθούμενου από μήτρα (MALDI-TOF-MS), φασματοσκοπίας απορρόφησης υπεριώδους-ορατού (UV-Vis) και φασματοσκοπίας πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR). Κατόπιν, πραγματοποιείται η σύνθεση των νανοσωματιδίων NC-Dots χρησιμοποιώντας την υδροθερμική μέθοδο και ακολουθεί ο χαρακτηρισμός τους χρησιμοποιώντας τις μεθόδους φασματοσκοπίας υπεριώδους-ορατού (UV-Vis), φασματοσκοπίας φθορισμού, φασματοσκοπίας πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR) και Kaiser Test. Ύστερα, ακολουθεί η σύζευξη των NC-Dots με την πορφυρίνη Co-TCPP και το υβρίδιο χαρακτηρίζεται μέσω φασματοσκοπίας υπεριώδους-ορατού (UV-Vis), φασματοσκοπίας φθορισμού, φασματοσκοπίας πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR) και Kaiser Test. Τέλος, τα υβρίδια μελετώνται ως προς την φωτοκαταλυτική τους ιδιότητα για την παραγωγή υδρογόνου και συγκρίνονται με την αντίστοιχη των NC-Dots χωρίς την πορφυρίνη για να εξακριβωθεί ο ρόλος της πορφυρίνης.

Κεφάλαιο 3: Πειραματικό Μέρος

3.1 Σύνθεση της 5,10,15,20-tetrakis-(4-methoxycarbonyl-phenyl)-porphyrin H₂TEPP



Σε δίλαιμη σφαιρική φιάλη του 1L προστίθενται 4eq 4-φορμυλοβενζοϊκού μεθυλεστέρα (0.6763gr, 4mmol), 4eq πυρρολίου (0.3 mL, 4mmol) και 400mL διαλύτη CHCl₃. Ακολουθεί απαέρωση του διαλύματος χρησιμοποιώντας ροή N₂ για 20 λεπτά. Μετά την ολοκλήρωση της απαέρωσης, πραγματοποιείται προσθήκη 300mL του καταλύτη Br₃OEt₂ και μόλις παρατηρηθεί το διάλυμα να χρωματίζεται κόκκινο, αφήνεται υπό ανάδευση για 1 ώρα σε συνθήκες reflux. Με την πάροδο της μίας ώρας, στο διάλυμα προστίθεται το 2,3-Dichloro-5,6-dicyano-1,4-benzoquinone (2.5755gr, 11mmol) και αφήνεται υπό ανάδευση, σε θερμοκρασία δωματίου για 3 ώρες. Μετά το πέρας των 3 ωρών προστίθεται 0.5mL τριαιθυλαμίνης, ώστε να καταβυθιστεί ίζημα και το διάλυμα αφήνεται για ακόμη 15 λεπτά και ύστερα τοποθετείται στην κατάψυξη για το υπόλοιπο της ημέρας.

Λαμβάνεται η φιάλη από την κατάψυξη και πραγματοποιείται απόσταξη του διαλύτη, χρησιμοποιώντας ρότορα κενού, μέχρι να ληφθεί ξηρό στερεό ιώδους χρώματος, το οποίο στην συνέχεια επαναδιαλυτοποιείται σε μικρή ποσότητα CH₂Cl₂ και φιλτράρεται μέσα από σύστημα χρωματογραφίας στήλης (SiO₂), με σκοπό την απομάκρυνση τυχόν πολυμερών που σχηματίστηκαν από το πυρρόλιο που δεν αντέδρασε.

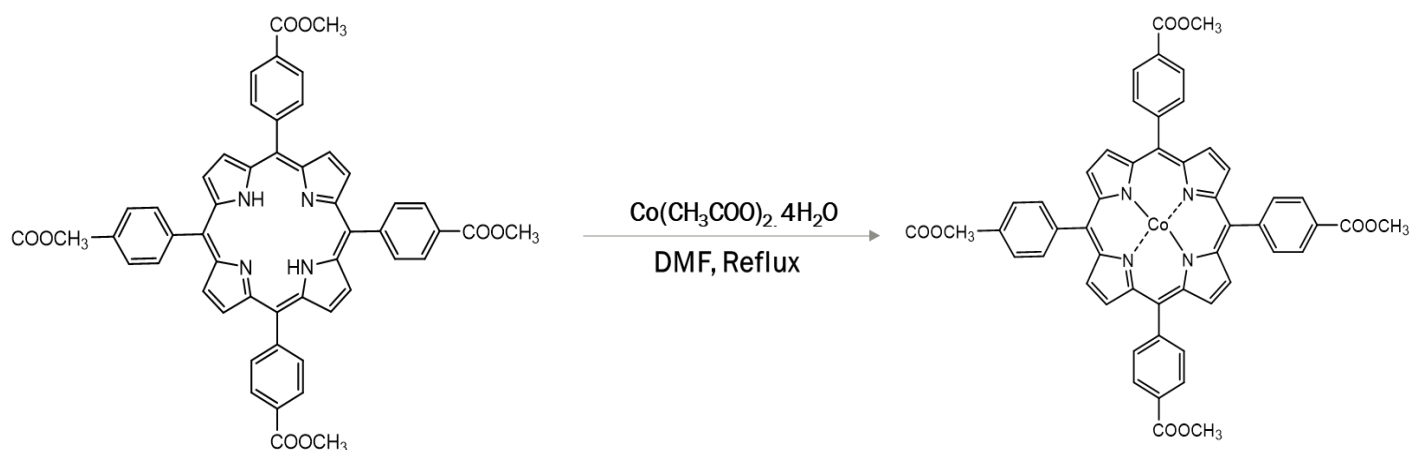
Από την στήλη συλλέγονται τα κλάσματα που ενδείκνυνται να περιέχουν την πορφυρίνη, κάνοντας έλεγχο των κλασμάτων κάθε φορά με χρωματογραφία TLC, χρησιμοποιώντας ως

πρότυπο δείγμα της πορφυρίνης που συντίθεται. Η συνολική ποσότητα του δείγματος αποστάζεται υπό κενό. Πρώτου ολοκληρωθεί η απόσταξη όλης της ποσότητας διαλύτη του δείγματος, προστίθεται σε αυτό μικρή ποσότητα Silica και αφήνεται για απόσταξη. Όσο το δείγμα αποστάζει, γίνεται προετοιμασία dry στήλης χρωματογραφίας SiO₂. Η δεύτερη στήλη αποσκοπεί στον διαχωρισμό της πορφυρίνης από άλλες οργανικές ενώσεις που μπορεί να σχηματίστηκαν κατά την αντίδραση.

Κατόπιν λαμβάνει χώρα περισυλλογή των κλασμάτων που περιέχουν την πορφυρίνη και ακολουθεί απόσταξη τους έως ξηρού.

Στην σφαιρική με την πορφυρίνη προστίθεται μικρή ποσότητα CH₂Cl₂ και ύστερα προστίθεται ποσότητα εξάνιου με σκοπό την καταβύθιση του ιζήματος. Η φιάλη αφήνεται στην κατάψυξη. Το περιεχόμενο της φιάλης διηθείται υπό κενό και ακολουθεί έκπλυση του στερεού στον ηθμό με εξάνιο. Το στερεό αφήνεται στον φούρνο για ξήρανση υπό κενό για 48 ώρες. Μετά το πέρας των 48 ωρών, ζυγίζεται το δείγμα που απομονώθηκε (**166mg H₂TEPP**).

3.2 Σύνθεση της 5,10,15,20-tetrakis-(4-methoxycarbonyl-phenyl)-porphyrin Cobalt(II) Co-TEPP



5,10,15,20-tetrakis-(4-methoxycarbonyl-phenyl)-porphyrin

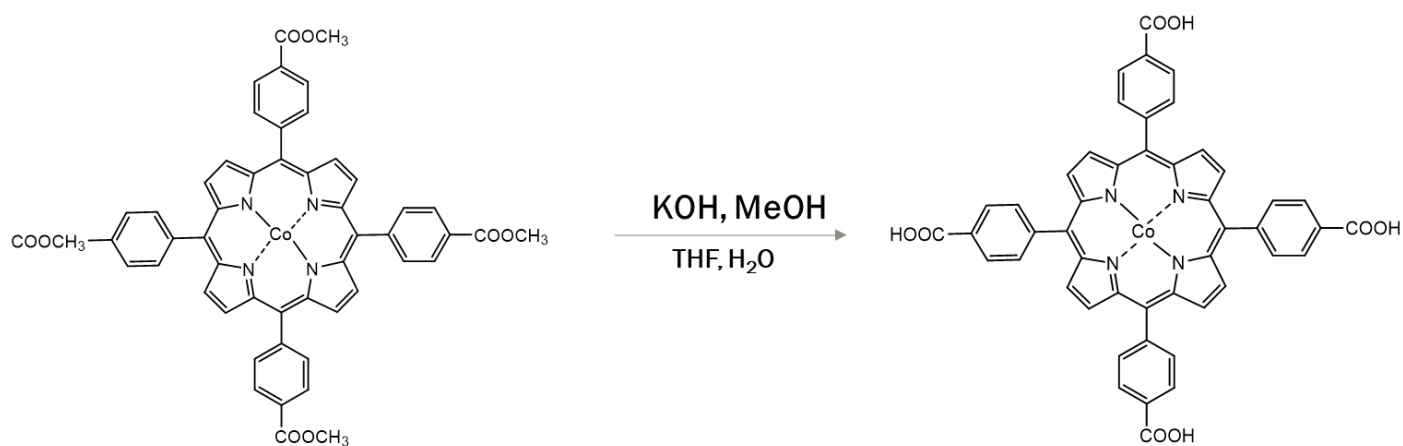
5,10,15,20-tetrakis-(4-methoxycarbonyl-phenyl)-porphyrin Cobalt(II)

Σε δίλιαιμη σφαιρική των 50mL προστίθεται όλη η ποσότητα της πορφυρίνης 1eq H_2TEPP (166mg, 0.072mmol) και 1.2eq άλατος $\text{Co}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (119mg, 0.086mmol) σε 15mL dimethylformamide. Συνδέουμε την ροή αζώτου, ώστε στην σφαιρική να σημειωθούν συνθήκες αζώτου N_2 . Η σφαιρική αφήνεται υπό reflux για 4 ώρες. Μετά το πέρας των 4 ωρών η σφαιρική αφήνεται να κρυώσει σε θερμοκρασία δωματίου και ύστερα ακολουθεί απόσταξη του DMF, χρησιμοποιώντας την ακόλουθη πειραματική διάταξη:

Το στερεό που προκύπτει, επαναδιαλυτοποιείται σε 20mL CH_2Cl_2 και υφίσταται 3 εκχυλίσεις με 60mL απιονισμένου H_2O η καθεμία. Στην υδατική φάση θα διαλυθούν τυχόν άλατα που σχηματίστηκαν ή δεν αντέδρασαν, ενώ στην οργανική φάση απαντώνται τα σύμπλοκα Co-TEPP. Στις υδατικές φάσεις που συλλέγονται, λαμβάνουν χώρα αντίστροφες εκχυλίσεις με 20mL CH_2Cl_2 κάθε φορά και περισυλλέγονται ξανά οι οργανικές φάσεις. Τέλος, συγκεντρώνονται όλες οι οργανικές φάσεις που περιέχουν την μεταλλωμένη πορφυρίνη και απορρίπτονται οι υδατικές. Στην τελική οργανική φάση προστίθεται ποσότητα ξηραντικού, με σκοπό την απομάκρυνση του απιονισμένου νερού που μπορεί να πέρασε κατά τις εκπλύσεις και ύστερα το διάλυμα διηθείται. Ο καθαρισμός του δείγματος επιτυγχάνεται με χρήση χρωματογραφίας στήλης dry SiO_2 και διαλύτη έκλουσης CH_2Cl_2 . Ακολουθεί η διαδικασία προετοιμασίας όπως αναγράφεται σε προηγούμενο στάδιο και συλλέγονται τα κλάσματα που φέρουν την πορφυρίνη. Τα κλάσματα αυτά στην συνέχεια αποστάζονται μέχρι ξηρού.

Το στερεό που προκύπτει από τον καθαρισμό στην στήλη χρωματογραφίας, επαναδιαλυτοποιείται σε μικρή ποσότητα CH_2Cl_2 και στην συνέχεια προστίθεται στο διάλυμα τριπλάσια ποσότητα εξάνιου. Το διάλυμα αφήνεται στην κατάψυξη, προκειμένου να καταβυθιστεί στερεό. Κατόπιν το δείγμα διηθείται υπό κενό και το στερεό εκπλένεται με εξάνιο. Τέλος το στερεό αφήνεται στον φούρνο για ξήρανση υπό κενό για 24 ώρες. Μετά το πέρας των 24 ωρών, ζυγίζεται το δείγμα που απομονώθηκε (**102gr Co-TEPP**).

3.3 Υδρόλυση της 5,10,15,20-tetrakis-(4-methoxycarbonyl-phenyl)-porphyrin Cobalt(II) Co-TEPP σε 5,10,15,20-tetrakis-(4-carboxy-phenyl)-porphyrin Cobalt(II) Co-TCPP



5,10,15,20-tetrakis-(4-methoxycarbonyl-phenyl)-porphyrin Cobalt(II)

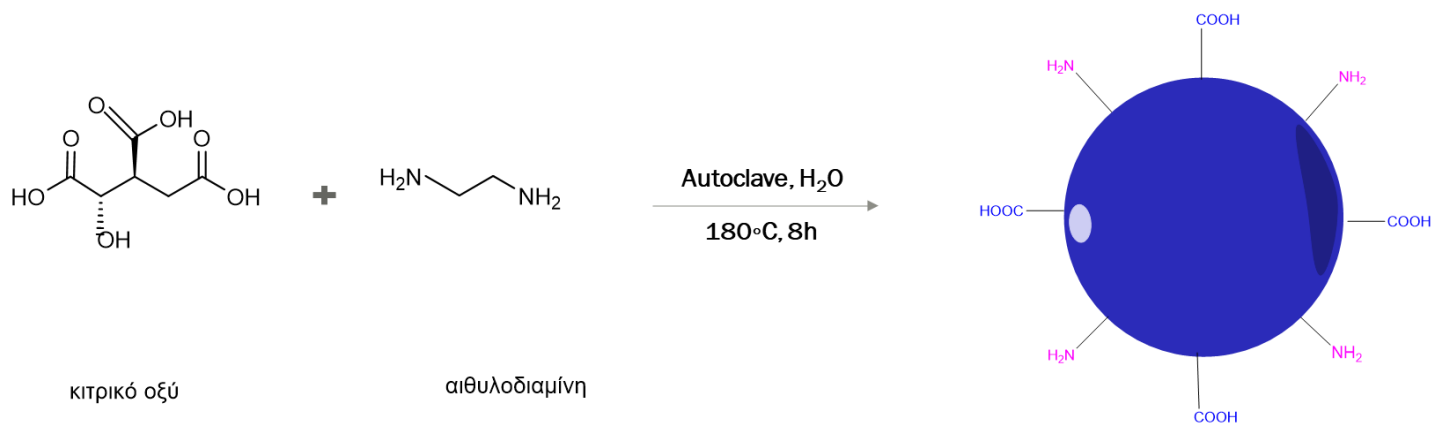
CoTCPP

Για την υδρόλυση, σε σφαιρική φιάλη των 100mL προστίθεται όλη η ποσότητα της πορφυρίνης 1eq Co-TEPP (102mg, 0,113mmol) σε 76.5mL THF και 40mL MeOH (THF/MeOH 2:1 v/v). Στην συνέχεια προστίθενται 335eq KOH (ζύγιση 2.23gr, 0.039mol), τα οποία έχουν διαλυθεί σε 40mL απιονισμένου H_2O . Η σφαιρική αφήνεται υπό ανάδευση για 48 ώρες. Μετά το πέρας των 48 ωρών, πραγματοποιείται έλεγχος μέσω χρωματογραφίας TLC, προκειμένου να διαπιστωθεί ότι έχει υδρολυθεί η πορφυρίνη χρησιμοποιώντας ως ένωση αναφοράς την μη υδρολυμένη πορφυρίνη.

Εφόσον διαπιστωθεί η υδρόλυση της πορφυρίνης, ακολουθεί η οξίνιση του δείγματος με την προσθήκη στάγδην 12mL υδατικού διαλύματος HCl 3N. Καθ'όλη την διάρκεια της προσθήκης του οξέος, ελέγχουμε το pH του διαλύματος να μην πέσει κάτω από 3, χρησιμοποιώντας πεχαμετρικό χαρτί. Έπειτα το δείγμα αποστάζεται, προκειμένου να απομακρυνθεί το THF και η MeOH και διηθείται υπό κενό. Το στερεό αφήνεται στον φούρνο

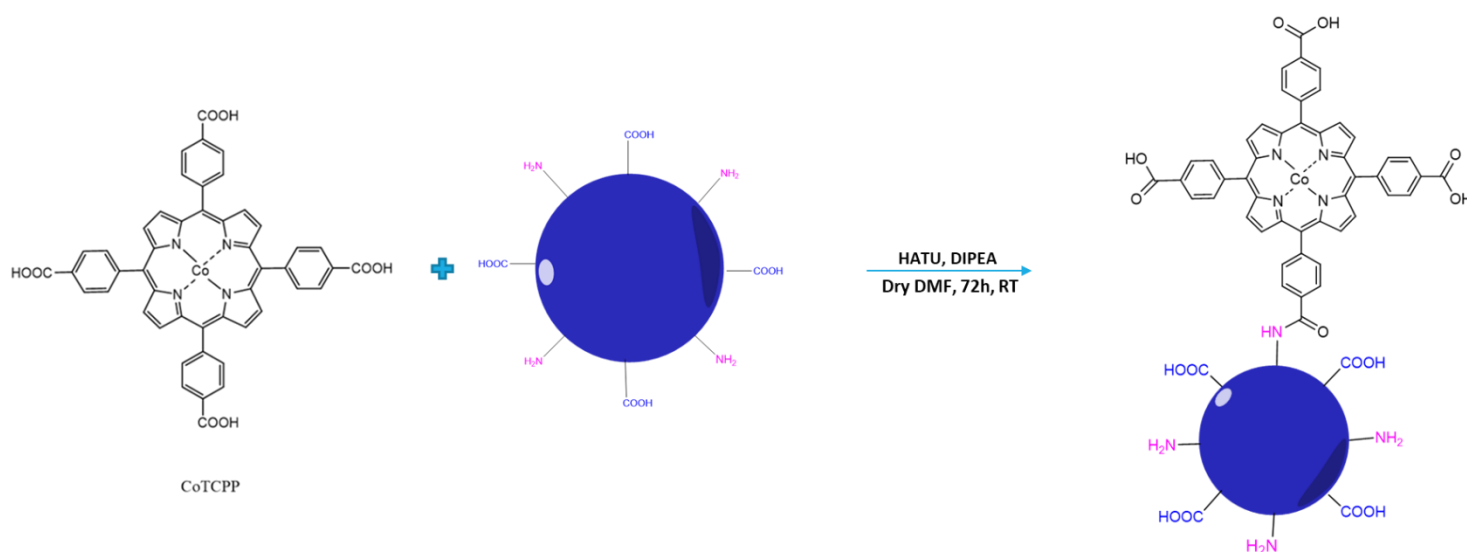
για ξήρανση υπό κενό για 72 ώρες. Μετά το πέρας της ξήρανσης ζυγίζεται το δείγμα που απομονώθηκε (**101mg Co-TCPP**).

3.4 Σύνθεση των Nitrogen-Doped Carbon Dots



Σε ειδικούς αντιδραστήρες προστίθεται κιτρικό οξύ, που δρα ως δότης καρβοξυλομάδων και αιθυλο-διαμίνη (ETA), που δρα ως δότης αμινομάδων και διαλύονται σε 10mL υπερκάθαρο νερού. Έπειτα τα μείγματα μεταφέρονται σε autoclave και θερμαίνονται για 8 ώρες στους 180°C. Μετά το πέρας των 8 ωρών, προκύπτει σκούρο καφέ διάλυμα, το οποίο προστίθεται σε dialysis tubes 1kDa για 48 ώρες, προκειμένου να απομακρυνθεί τυχόν ποσότητα κιτρικού οξέος που δεν αντέδρασε και μικρού μεγέθους προϊόντα. Στην συνέχεια, το προϊόν μεταφέρεται σε σφαιρική φιάλη για λυοφιλίωση και τα NC-Dots λαμβάνονται στην μορφή καφέ σκόνης.

3.5 Σύζευξη NC-Dots και Co-TCPP



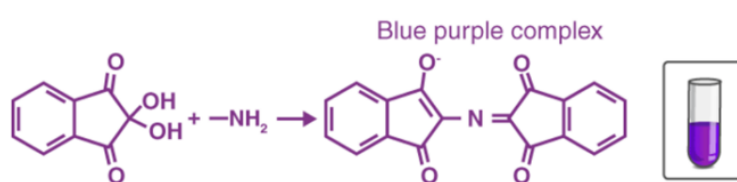
Σε δίλιμη σφαιρική των 50mL προστίθενται η Co-TCPP (0.0745gr) και το HATU (0.1202gr) υπό συνθήκες N₂. Έπειτα, στην σφαιρική προστίθενται 6mL dry DMF και 120μL DIPEA. Παράλληλα, σε ειδικό σκεύος Schlenk προστίθενται τα NC-Dots (0.1206gr) και εφαρμόζονται συνθήκες N₂. Τα NC-Dots διαλύονται σε 8mL διαλύτη dry DMF και το μείγμα αφήνεται υπό ανάδευση για 10 λεπτά. Μετά το πέρας των 10 λεπτών, το περιεχόμενο του Schlenk προστίθεται σιγά σιγά στην δίλιμη σφαιρική που περιέχει την πορφυρίνη. Η αντίδραση σύζευξης αφήνεται για 3 ημέρες υπό ανάδευση σε θερμοκρασία δωματίου.

Μετά το πέρας των 3 ημερών, το δείγμα υφίσταται απόσταξη υπό αντλία κενού και χρησιμοποιώντας υγρό άζωτο. Το στερεό που προκύπτει, διαλύεται σε 10mL αιθανόλης (EtOH) και 10mL H₂O και το διάλυμα μεταφέρεται σε Falcon, οι όγκοι των οποίων ισοσταθμίζονται. Στην συνέχεια, τα δείγματα μεταφέρονται στην φυγόκεντρο για 15 λεπτά. Όταν ολοκληρωθεί η φυγοκέντριση, λαμβάνεται το υπερκείμενο που προκύπτει. Στο Falcon προστίθενται εκ νέου αιθανόλη και νερό και το περιεχόμενο αναδεύεται προκειμένου να διαλυθεί το ίζημα που προέκυψε από την φυγοκέντριση. Το δείγμα φυγοκεντρείται ξανά για 15 λεπτά. Η διαδικασία αυτή επαναλαμβάνεται όσες φορές χρειάζεται μέχρι το υπερκείμενο που θα προκύπτει να είναι αποχρωματισμένο. Τα υπερκείμενα από κάθε φυγοκέντριση, στα οποία απαντώνται τα συζευγμένα προϊόντα NC-Dots-Co-TCPP, συλλέγονται και μεταφέρονται στον ρότορα κενού, όπου αποστάζονται μέχρι ξηρού. Το στερεό που προκύπτει από την απόσταξη ανακρυσταλλώνεται με την προσθήκη πετρελαϊκού αιθέρα. Το δείγμα αφήνεται στην κατάψυξη για 30 λεπτά, ύστερα ακολουθεί διήθηση και το στερεό που

προκύπτει αφήνεται στον φούρνο για ξήρανση υπό κενό για 2 ώρες. Το τελικό προϊόν που απομονώθηκε ζυγίζεται (**0.0824gr NC-Dots-Co-TCPP**).

3.6 Kaiser Test

Η διαδικασία αυτή αποσκοπεί στην ποσοτικοποίηση των ελεύθερων αμινομάδων στα NC-Dots πριν και μετά την σύζευξή τους με την πορφυρίνη. Ένα από τα διαλύματα με τα οποία αναμειγνύεται το δείγμα, περιέχει την νινυδρίνη, η οποία συνδέεται μόνο με τις πρωτοταγείς αμινομάδες των NC-Dots και οδηγεί στον σχηματισμό συμπλόκων με έντονο μπλε χρώμα. Από το χρώμα και την ένταση του, είναι δυνατός ο προσδιορισμός του ποσοστού ελεύθερων αμινομάδων στα NC-Dots και NC-Dots-Co-TCPP, μέσω της μέτρησης της απορρόφησης στα 570nm. Σε αυτό το μήκος κύματος απορροφά η νινυδρίνη.

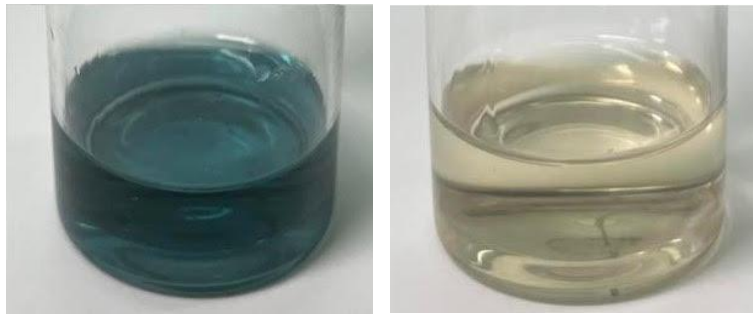


3.1.1 Αντίδραση Νινυδρίνης

Για το Kaiser Test, προηγείται η προετοιμασία τριών διαλυμάτων: 1) ζύγιση 10gr φαινόλης και προσθήκη σε 20mL υπερκάθαρης αιθανόλης (PhOH/EtOH), 2) προσθήκη 20mL κυανιούχου καλίου KCN(1mM) σε 98mL πυριδίνης (KCN/py) και 3) ζύγιση 1gr νινυδρίνης σε 20mL υπερκάθαρης αιθανόλης (νινυδρίνη/EtOH). Στην συνέχεια σε ένα vial προστίθενται 200μg NC-Dots και σε δεύτερο vial προστίθενται 200μg NC-Dots-Co-TCPP. Σε κάθε vial προστίθενται 75μL από το διάλυμα PhOH/EtOH, 100μL από το διάλυμα KCN/py και 75μL από το διάλυμα νινυδρίνη/EtOH. Τα vials μεταφέρονται για sonication για 5 λεπτά, έπειτα σε ελαιόλουτρο στους 120°C για 5 λεπτά και τέλος προστίθενται 4750μL αιθανόλης 60% και τα δείγματα μεταφέρονται για φυγοκέντρωση για 15 λεπτά. Μετά το πέρας των 15 λεπτών συλλέγεται το υπερκείμενο και λαμβάνεται απορρόφηση στα 570nm. Γίνεται λήψη και της τιμής απορρόφησης του διαλύματος της νινυδρίνης. Η τιμή της απορρόφησης στα 570nm χρησιμοποιείται στην εξής εξίσωση:

$$\text{NH}_2 \text{ loading } (\mu\text{mol}/\text{gr}) = \frac{[\text{Abs sample} - \text{Abs blank}] * \text{dilution (mL)} * 10^6}{\text{Extinction coefficient} * \text{sample weight (mg)}}$$

Όπου dilution=5mL και extinction coefficient= $15000\text{ m}^{-1}\text{cm}^{-1}$.

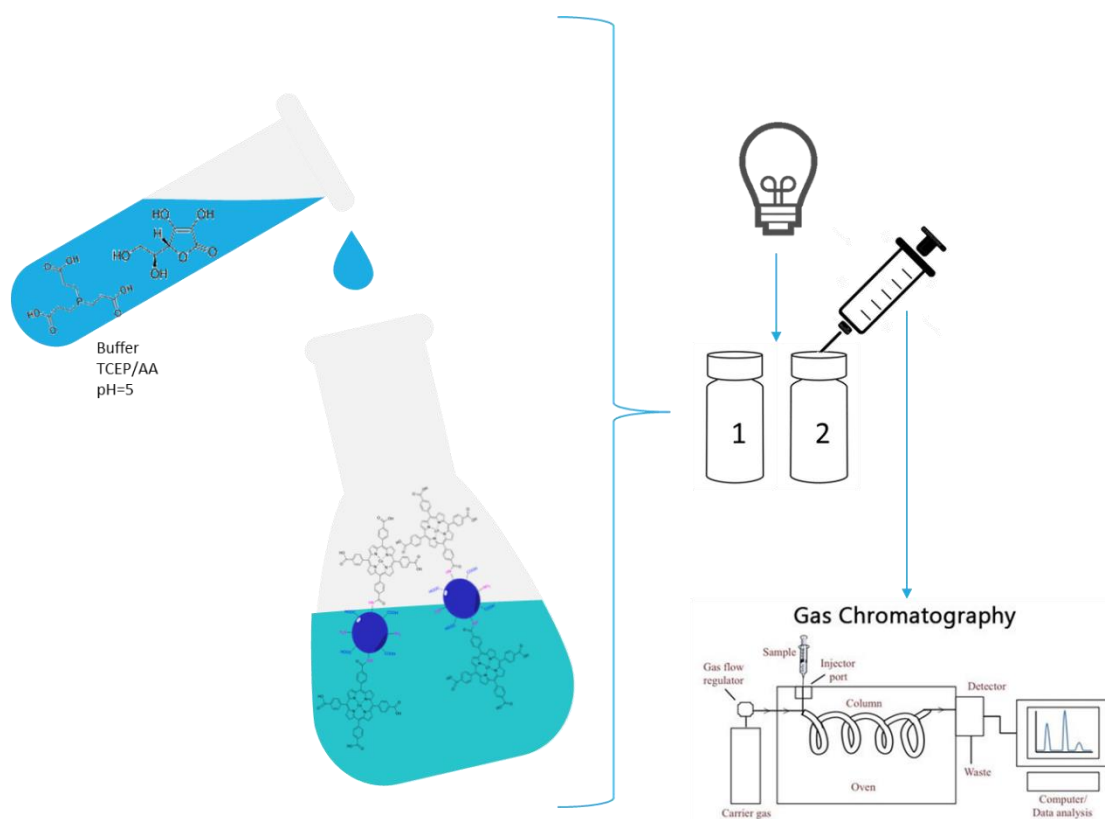


3.1 2 Διαλύματα με *NC-Dots* & *NC-Dots-Co-TCPP* αντίστοιχα

3.7 Φωτοκαταλυτική Παραγωγή Υδρογόνου

Τα υβρίδια που προκύπτουν μελετώνται ως προς την παραγωγή υδρογόνου σε φωτοκαταλυτικά συστήματα. Ένα φωτοκαταλυτικό σύστημα αποτελείται από ένα φωτοευαισθητοποιητή, έναν καταλύτη και ένα θυσιαστικό δότη ηλεκτρονίων. Στο σύστημα που μελετάται στο παρόν πείραμα, το υβρίδιο NC-Dots-CoTCPP λειτουργεί τόσο ως φωτοευαισθητοποιητής, όσο και ως καταλύτης, ενώ ως θυσιαστικός δότης ηλεκτρονίων λειτουργεί το ρυθμιστικό διάλυμα TCEP/Ασκορβικό οξύ (0.1M) με pH=5.

Σε ένα γυάλινο vial προστίθεται 3ml ρυθμιστικού διαλύματος (TCEP/Ασκορβικό οξύ 0.1M pH=5) και 0.10gr του φωτοευαισθητοποιητή NC-Dots-CoTCPP. Ακολουθεί απαέρωση του vial με ροή N₂ και σφραγίζεται με λαστιχένιο septum. Το δείγμα ακτινοβολείται με λάμπα ορατού φωτός, υπό ανάδευση και λαμβάνεται ένεση κάθε 24 ώρες για μέτρηση της παραγωγής υδρογόνου, χρησιμοποιώντας αέρια χρωματογραφία (GC). Η ίδια διαδικασία πραγματοποιείται και για δείγμα που περιέχει μόνο NC-Dots, ώστε να μπορεί να γίνει η σύγκριση για την σημασία της παρουσίας της πορφυρίνης.



Εικόνα 3. 3 Πείραμα Φωτοκατάλυσης

Κεφάλαιο 4: Αναλυτικές Μέθοδοι

4.1 Φασματοσκοπία Απορρόφησης υπεριώδους-ορατού (UV-Vis)

Η φασματοσκοπία απορρόφησης φωτός στην περιοχή υπεριώδους-ορατού είναι μία οπτική μέθοδος κατά την οποία μετράται η ένταση του φωτός που απορροφάται από τον αναλύτη, ως συνάρτηση του μήκους κύματος της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας και η μέτρηση αυτή παρέχει ποιοτικές και ποσοτικές πληροφορίες για τον αναλύτη. Όταν τα μόρια του αναλύτη απορροφούν ακτινοβολία, διεγείρονται. Αυτή η διεγερση περιλαμβάνει την μετάβαση ενός ηλεκτρονίου από τροχιακό που βρίσκεται στην θεμελιώδη κατάσταση, σε τροχιακό υψηλότερης ενέργειας. Ωστόσο, προκειμένου να πραγματοποιηθεί αυτή η μετάβαση του ηλεκτρονίου, η ενέργεια $h\nu$ του φωτονίου πρέπει να καλύπτει την ενεργειακή διαφορά των δύο τροχιακών. Επομένως, το μήκος κύματος της ακτινοβολίας επιλέγεται σύμφωνα με την ενεργειακή διαφορά των τροχιακών, που εξαρτάται από την φύση των δεσμών του αναλύτη.

Για τις φασματοσκοπικές μετρήσεις χρησιμοποιείται ο νόμος της απορρόφησης Beer Lambert, ο οποίος ορίζει πως η απορρόφηση είναι ευθέως ανάλογη προς την συγκέντρωση του αναλύτη σύμφωνα με την εξίσωση:

$$A = \epsilon bc$$

Όπου:

c: συγκέντρωση του αναλύτη [εκφράζεται σε mol/L (M)]

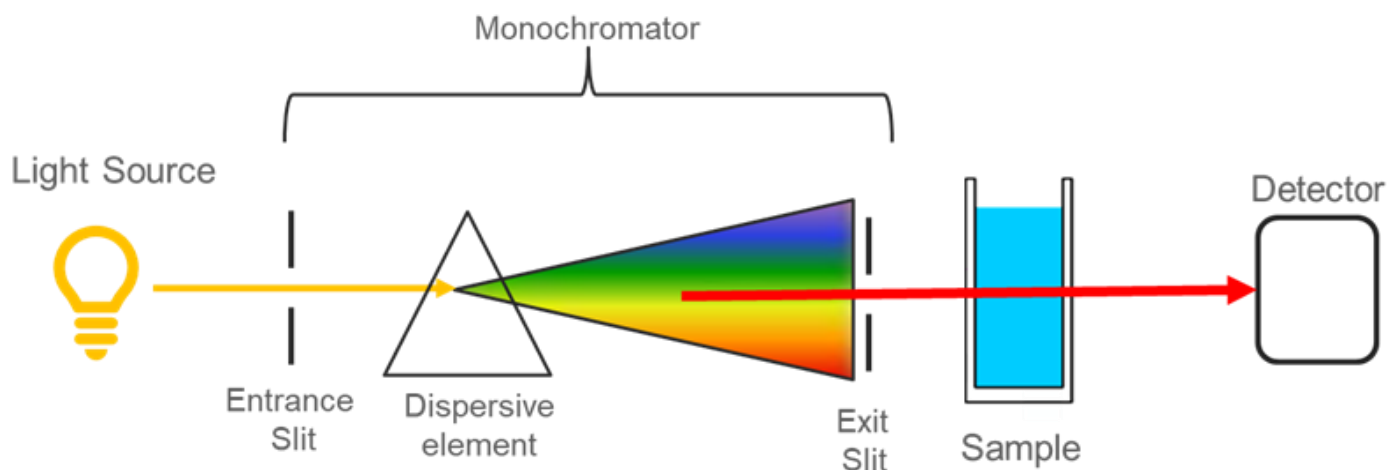
b: οπτική διαδρομή ή πάχος της κυψελίδας [εκφράζεται σε cm]

ϵ : γραμμομοριακή απορροφητικότητα [εκφράζεται σε $M^{-1}cm^{-1}$]

Να σημειωθεί πως η γραμμομοριακή απορροφητικότητα είναι εγγενές χαρακτηριστικό της ουσίας και για συγκεκριμένο μήκος κύματος.

Ένα βασικό όργανο φασματοσκοπίας Υπεριώδους-Ορατού (UV-Vis) αποτελείται από μία σταθερή πηγή ακτινοβολίας, έναν μονοχρωμάτορα, μία κυψελίδα στην οποία περιλαμβάνεται το δείγμα, έναν ανιχνευτή, έναν ενισχυτή και ένα καταγραφικό. Όσον αφορά την πηγή ακτινοβολίας, στα όργανα φασματοσκοπίας υπεριώδους-ορατού υπάρχουν δύο πηγές, μία για την περιοχή του υπεριώδους (200-400nm) και μία για την περιοχή του ορατού (400-800nm). Στην συνέχεια η ακτινοβολία διέρχεται από τον μονοχρωμάτορα, ο οποίος

επιλέγει και απομονώνει την επιθυμητή ζώνη μηκών κύματος, βελτιώνοντας έτσι την εκλεκτικότητα και την ευαισθησία του οργάνου. Η μονοχρωματική ακτινοβολία, τότε, διέρχεται από την κυψελίδα του δείγματος και έπειτα καταλήγει στον ανιχνευτή, ο οποίος την μετατρέπει σε ηλεκτρικό σήμα. Το σήμα αυτό ενισχύεται από τον ενισχυτή και καταγράφεται από το καταγραφικό.

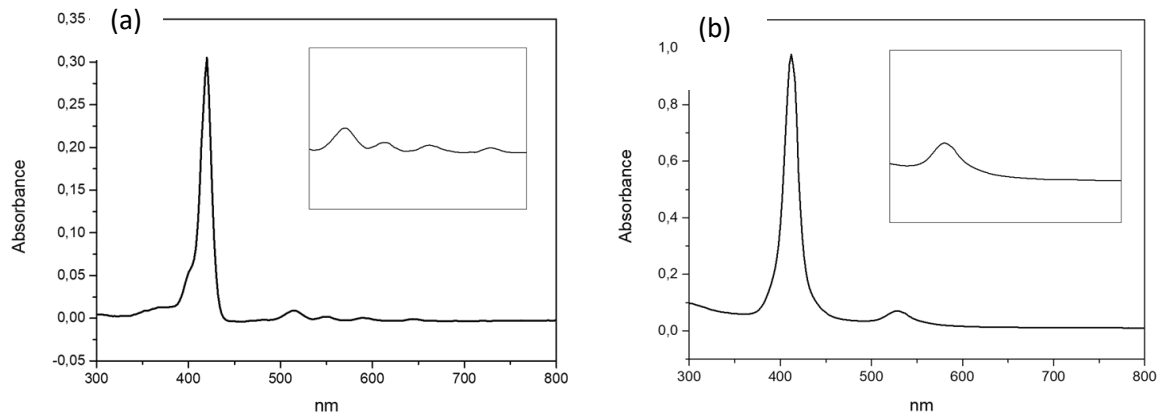


Εικόνα 4. 1 Οργανολογία Φασματοσκοπίας Απορρόφησης UV-Vis

Η μέθοδος της φασματοσκοπίας απορρόφησης στην περιοχή υπεριώδους-ορατού (UV-Vis) χρησιμοποιήθηκε για τον χαρακτηρισμό της πορφυρίνης, σε όλα τα στάδια κατά την σύνθεσή της, των NC-Dots και των υβριδίων.

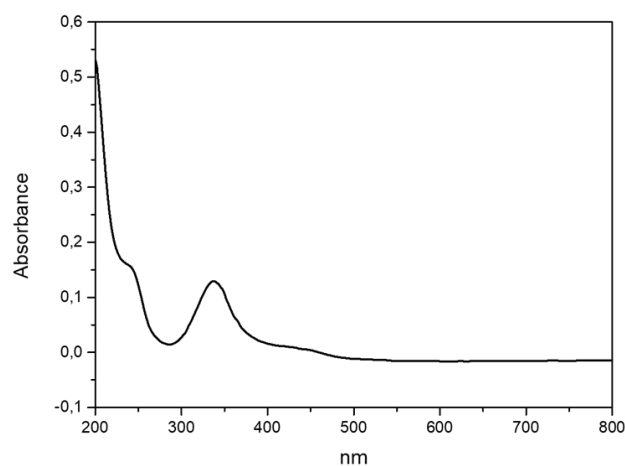
Οι πορφυρίνες είναι αρωματικά μόρια που συνίστανται από συζυγιακό σύστημα 18 ηλεκτρονίων και χαρακτηρίζονται ως χρωμοφόρα καθώς φέρουν ακόρεστους δεσμούς και απορροφούν στην περιοχή 380-400nm (UV-Vis). Τα φάσματα που προκύπτουν από την απορρόφηση ακτινοβολίας από τις πορφυρίνες, φέρουν μία χαρακτηριστική έντονη κορυφή στην περιοχή 380-500nm, η οποία ονομάζεται Soret και επιπλέον φέρουν μικρότερης έντασης κορυφές στην περιοχή 500-700nm ονομάζονται Q-bands. Η κορυφή Soret αντιστοιχεί σε ηλεκτρονιακή μετάβαση από τροχιακό με συμμετρία $a_{1u}(\pi)$ της θεμελιώδους κατάστασης σε τροχιακό με συμμετρία $e_g^*(\pi)$ της δεύτερης διεγερμένης κατάστασης ($S_0 \rightarrow S_2$). Οι κορυφές Q bands αντιστοιχούν σε ηλεκτρονικές μεταβάσεις από τροχιακό με συμμετρία $a_{2u}(\pi)$ της θεμελιώδους κατάστασης σε εκφυλισμένα τροχιακά με συμμετρία $e_g^*(\pi)$ της πρώτης διεγερμένης κατάστασης ($S_0 \rightarrow S_1$). Κατόπιν συναρμογής του μετάλλου στον πορφυρινικό δακτύλιο, μέσω των αζώτων N, η συμμετρία της πορφυρίνης αυξάνεται από D_{2h} σε D_{4h} και ο αριθμός των Q bands μειώνεται. Ανάλογα με την φύση του μετάλλου, στα φάσματα των μεταλλοπορφυρινών μπορεί να παρατηρηθεί και αλλαγή στην κορυφή Soret

σε σύγκριση με τα αντίστοιχα φάσματα των πορφυρινών χωρίς μέταλλο, η οποία συνιστά την μετατόπιση της κορυφής.



Εικόνα 4. 2 (α) Φάσμα αμετάλλωτης πορφυρίνης, (β) Φάσμα μεταλλωμένης πορφυρίνης

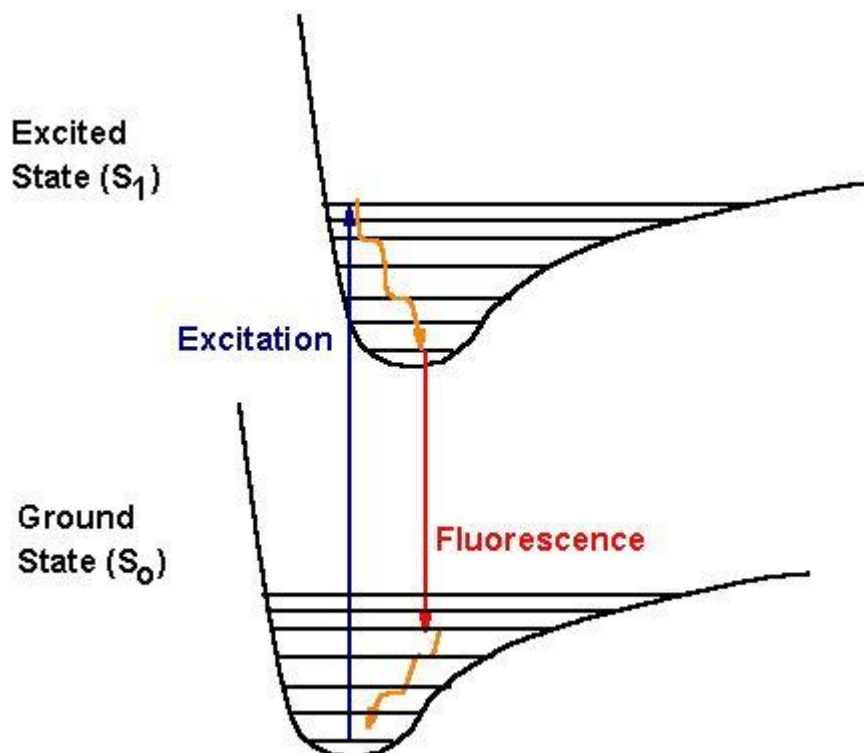
Τα NC-Dots εμφανίζουν ενδιαφέροντα φάσματα απορρόφησης λόγω της ιδιαιτερότητας του πυρήνα τους αλλά και της παρουσίας διάφορων λειτουργικών ομάδων στην επιφάνεια τους. Τα φάσματά τους μπορούν να αναλυθούν σε δύο επιμέρους περιοχές. Η πρώτη είναι η περιοχή 200-300nm στην οποία παρατηρείται κορυφή υψηλής έντασης η οποία αποδίδεται σε μεταβάσεις $\pi \rightarrow \pi^*$ μεταξύ sp^2 υβριδισμένων ανθράκων των δεσμών C=C, του πυρήνα των NC-Dots. Η δεύτερη είναι η περιοχή 300-400nm στην οποία παρατηρείται κορυφή μικρότερης έντασης η οποία αποδίδεται σε μετάβαση $n \rightarrow \pi^*$ του δεσμού C=O. Η ουρά που μπορεί να παρατηρηθεί προς την περιοχή του ορατού οφείλεται στην παρουσία λειτουργικών ομάδων και σε ηλεκτρονικές μεταβάσεις των δεσμών αυτών.



Εικόνα 4. 3 Φάσμα Απορρόφησης UV-Vis NC-Dots

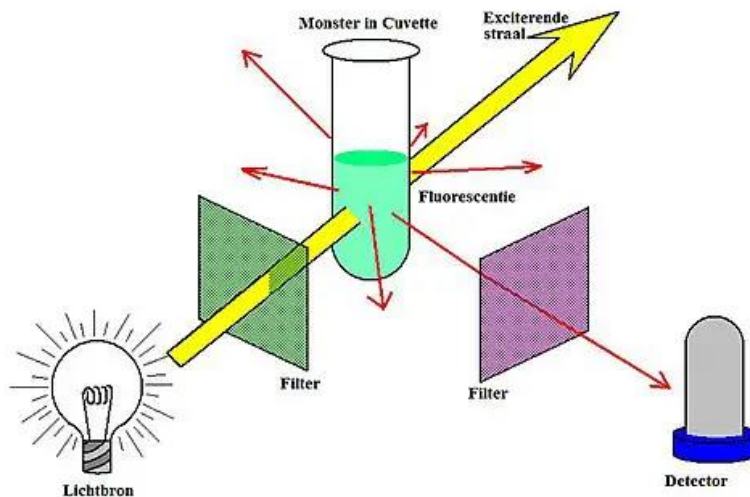
4.2 Φασματοσκοπία Φθορισμού

Η φασματοσκοπία φθορισμού είναι μια οπτική μέθοδος κατά την οποία ο αναλύτης απορροφά ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία στην θεμελιώδη κατάσταση με αποτέλεσμα την διέγερσή του σε υψηλότερης ενέργειας διεγερμένη κατάσταση, από την οποία θα επιστρέψει στην αρχική του κατάσταση εκπέμποντας ενέργεια υπό την μορφή φωτονίων. Το φωτόνιο που προκύπτει από την εκπομπή έχει χαμηλότερη ενέργεια από το φωτόνιο που προσφέρθηκε για να γίνει η διέγερση, με αποτέλεσμα να παρατηρείται η εκπομπή του σε μεγαλύτερα μήκη κύματος. Η διαφορά στην ενέργεια των δύο φωτονίων αποδίδεται στην δονητική αποδιέγερση η οποία περιγράφει τα συγκρούσεις μεταξύ των διεγερμένων μορίων του αναλύτη μεταξύ τους αλλά και μεταξύ αυτών και των μορίων του διαλύτη και έχει ως αποτέλεσμα την μετάβαση των διεγερμένων μορίων στη χαμηλότερη δονητική στάθμη μιας διεγερμένης ηλεκτρονικής κατάστασης. Η μετατόπιση σε μεγαλύτερα μήκη κύματος που οφείλεται στην μικρότερη ενέργεια του εκπεμπόμενου φωτονίου ονομάζεται μετατόπιση κατά Stokes. Ο φθορισμός είναι το φαινόμενο αποδιέγερσης των μορίων από την πρώτη διεγερμένη κατάσταση στην θεμελιώδη κατάσταση με εκπομπή ενός φωτονίου ($S_1 \rightarrow S_0$) και επηρεάζεται από την δομή του αναλύτη αλλά και από το χημικό περιβάλλον (π.χ. Διαλύτης).



Εικόνα 4. 4 Διάγραμμα Ενεργειακών Μεταβάσεων

Ένα βασικό όργανο φασματοσκοπίας φθορισμού αποτελείται από μία πηγή φωτός, έναν μονοχρωμάτορα ή φίλτρο διέγερσης, μία κυψελίδα στην οποία περιλαμβάνεται το δείγμα, έναν δεύτερο μονοχρωμάτορα ή φίλτρο εκπομπής, έναν ανιχνευτή και το καταγραφικό. Η πηγή φωτός εκπέμπει ακτινοβολία, η οποία διέρχεται από τον μονοχρωμάτορα, ο οποίος επιλέγει το μήκος κύματος της ακτινοβολίας διέγερσης και ύστερα αυτή διέρχεται από την κυψελίδα που φέρει το δείγμα. Έτσι, το δείγμα διεγείρεται και στην συνέχεια εκπέμπει ακτινοβολία σύμφωνα με το φαινόμενο του φθορισμού. Η εκπεμπόμενη ακτινοβολία διέρχεται από το φίλτρο εκπομπής το οποίο επιλέγει μόνο το μήκος κύματος της ακτινοβολίας εκπομπής και ύστερα αυτή φτάνει στον ανιχνευτή. Ο ανιχνευτής είναι ένας φωτοπολλαπλασιαστής, ο οποίος ενισχύει το σήμα των φωτονίων, το οποίο καταγράφεται από το καταγραφικό.



Εικόνα 4. 5 Οργανολογία Φασματοσκοπίας Φθορισμού

4.3 Ιοντισμός Εκρόφησης Υποβοηθούμενος Από Μήτρα (MALDI-TOF-MS)

Η φασματομετρία μαζών είναι μία μέθοδος που δίνει πληροφορίες για την δομή αλλά και την ποιοτική και ποσοτική σύσταση πληθώρας οργανικών μορίων. Κατά την φασματομετρία μάζας, μόρια του αναλύτη μετατρέπονται σε ιόντα, καθώς δέχονται ενέργεια και έπειτα διαχωρίζονται μεταξύ τους ως προς τον λόγο μάζα-προς-φορτίο (m/z). Τα διάφορα ιόντα με τους διαφορετικούς λόγους, κατευθύνονται προς τον μεταλλάκτη, ο οποίος μετατρέπει αυτή την ροή ιόντων σε ηλεκτρικό σήμα. Σε ένα φάσμα μαζών απεικονίζεται η αφθονία ως προς τον λόγο μάζα-προς-φορτίο.

Στην τεχνική MALDI-TOF ο αναλύτης αναμειγνύεται με μήτρα και τοποθετείται στην ειδική πλάκα και έτσι εισάγεται στην κενή περιοχή ιονισμού. Στην περιοχή αυτή υφίσταται χαμηλή πίεση, έτσι ώστε να εξασφαλίζεται υψηλό κενό και να περιορίζεται όσο το δυνατόν περισσότερο η συχνότητα συγκρούσεων μεταξύ των σωματιδίων, γεγονός που συμβάλλει στην συντήρηση των ιόντων και των ηλεκτρονίων. Το σύστημα αυτό περιλαμβάνει πηγή εκρόφησης, κατά την οποία το δείγμα σε υγρή μορφή μετατρέπεται απευθείας σε αεριώδη ιόντα με ακτινοβολία από παλμικό λέιζερ. Στην έξοδο της πηγής ιόντων εφαρμόζεται ηλεκτρικό πεδίο και αυτό οδηγεί τα ιόντα στον αναλύτη μαζών, όπου διαχωρίζονται και ταξινομούνται σύμφωνα με τον λόγο m/z . Στην τεχνική αυτή, χρησιμοποιείται φασματόμετρο μαζών τύπου χρόνου πτήσης (time-of-flight, TOF). Ο διαχωρισμός των ιόντων βασίζεται στον χρόνο που χρειάζεται προκειμένου να διασχίσουν την απόσταση μέχρι τον ανιχνευτή. Η κινητική ενέργεια δίνεται από την σχέση:

$$E = \frac{1}{2} m v^2 \quad (1)$$

Επομένως, η ταχύτητα του ιόντος v είναι αντιστρόφως ανάλογη ως προς την μάζα του ιόντος σύμφωνα με την σχέση:

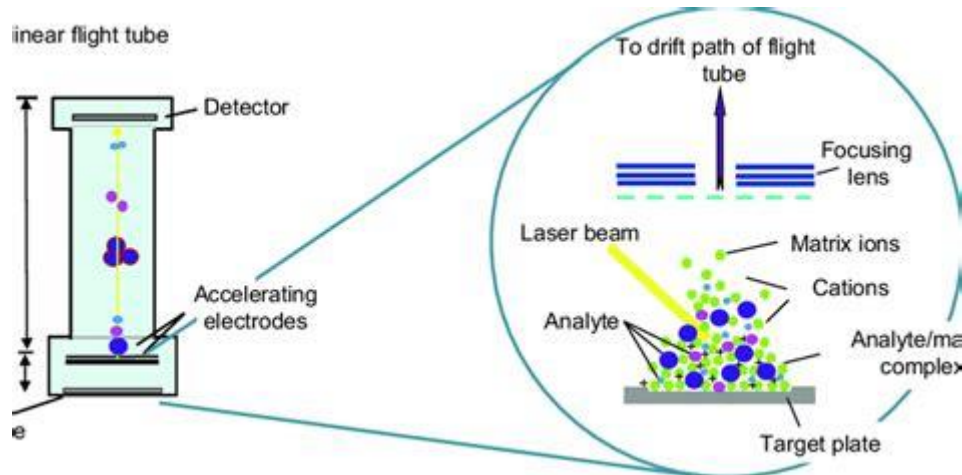
$$v = \sqrt{\frac{2E}{m}} \quad (2)$$

Από τις σχέσεις 1 και 2 προκύπτει ότι ο χρόνος που χρειάζεται κάθε ιόν για να διασχίσει μια σταθερή απόσταση μέχρι των ανιχνευτή είναι συνυφασμένος με την μάζα του και έτσι τα ιόντα με διαφορετικούς λόγους m/z φτάνουν σε διαφορετικούς χρόνους στον ανιχνευτή και ανιχνεύονται διαδοχικά. Καθώς τα ιόντα φτάνουν στον ανιχνευτή και προσπίπτουν σε αυτόν, εκπέμπονται ηλεκτρόνια τα οποία επεξεργάζονται από ηλεκτρονιοπολλαπλασιαστές και έτσι παράγεται ηλεκτρικό σήμα το οποίο έχει ενισχυθεί και καταγράφεται από το καταγραφικό.

Η ακτινοβολία του δείγματος που έχει αναμειχθεί με μήτρα, από παλμικό λέιζερ, έχει ως αποτέλεσμα την απορρόφηση του μεγαλύτερου μέρους της ενέργειας των φωτονίων που ακτινοβολήθηκαν, από τα μόρια της μήτρας. Έτσι, η μήτρα περιορίζει σε μεγάλο βαθμό την θραυσματοποίηση του δείγματος από την ακτινοβολία λέιζερ. Η μήτρα εξαχνώνεται με την απορρόφηση της ενέργειας από το λέιζερ και μεταβαίνει στην αέρια κατάσταση,

μεταφέροντας μαζί της και το δείγμα. Ο ιοντισμός του δείγματος είναι προϊόν της σύγκρουσης των μορίων του δείγματος με τα ιόντα της μήτρας.

Η μήτρα πρέπει να πληροί τις παρακάτω προϋποθέσεις:



Εικόνα 4. 6 Αρχή Λειτουργίας MALDI-TOF

- Φωτοευαισθησία σε μεγάλο εύρος του φάσματος ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας το οποίο θα περιλαμβάνει το μήκος κύματος λειτουργίας του λέιζερ
- Μοριακό βάρος που θα επιτρέπει την εξάτμιση της κατά την λειτουργία του οργάνου αλλά όχι κατά την προετοιμασία του δείγματος
- Ικανότητα να περιορίζει τις διαμοριακές δυνάμεις του δείγματος

4.4 Φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR)

Ο πυρηνικός μαγνητικός συντονισμός (Nuclear Magnetic Resonance) ανήκει στις μεθόδους φασματοσκοπίας απορρόφησης. Πρόκειται για μία μέθοδο κατά την οποία το δείγμα βρίσκεται με τις προσανατολισμένες ιδιοπεριστροφές του μέσα σε μαγνητικό πεδίο, όπου απορροφά ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία σε διάφορες συχνότητες, που οδηγούν στον χαρακτηρισμό του. Η απορρόφηση εξαρτάται κάθε φορά από τον παρατηρούμενο πυρήνα, ο οποίος μπορεί να είναι ένας από τους εξής: ^1H , ^{13}C , ^{19}F , ^{31}P . Αυτοί οι πυρήνες ανιχνεύονται λόγω της αυτοστροφορμής τους καθώς έχουν περιττό ατομικό αριθμό, ενώ πυρήνες με ζυγό ατομικό αριθμό δεν μπορούν να ανιχνευτούν με την μέθοδο αυτή, καθώς δεν έχουν spin. Το δείγμα εισάγεται σε μαγνήτη με σωληνοειδή μορφή, στον οποίο εφαρμόζεται μαγνητικό πεδίο, η ένταση του οποίου προσδιορίζει την διακριτικότητα των φασμάτων. Ο μαγνήτης

πρέπει να χαρακτηρίζεται από υψηλή σταθερότητα και ομοιογένεια, προκειμένου να ληφθεί φάσμα. Με την εφαρμογή ομοιογενούς πεδίου τα σπιν των πυρήνων προσανατολίζονται σε σχέση με την έντασή του. Στο κέντρο του συστήματος περιλαμβάνεται αισθητήρας ο οποίος εκπέμπει ραδιοπαλμούς στο εύρος συχνοτήτων που χρειάζονται για την διέγερση όλων των πυρήνων του δείγματος, προκαλώντας τον συντονισμό τους. Μόλις σταματήσει να ακτινοβολείται το δείγμα, οι πυρήνες αποδιεγείρονται και επιστρέφουν στην αρχική τους κατάσταση, εκπέμποντας ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία η οποία ενισχύεται και καταλήγει σε ειδικό δέκτη, όπου υπόκειται σε μετασχηματισμό Fourier προκειμένου να μπορεί να διαβαστεί με φασματοσκοπικά δεδομένα η πληροφορία του δείγματος. Στην ακτινοβολία που προκύπτει από την αποδιέγερση των πυρήνων οφείλεται το σήμα του NMR.

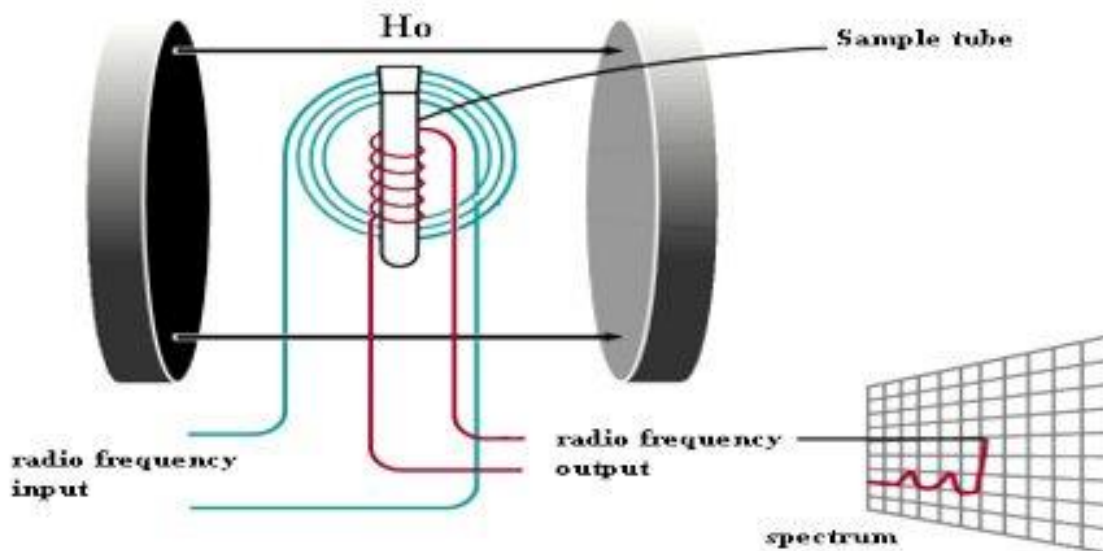
Στο ^1H -NMR οργανικών μορίων, οι διάφοροι πυρήνες ^1H αντιλαμβάνονται διαφορετικά την επίδραση και την ένταση του εφαρμοζόμενου μαγνητικού πεδίου B_0 , λόγω του διαφορετικού χημικού περιβάλλοντος στο οποίο βρίσκεται κάθε ένας από αυτούς. Στα οργανικά μόρια τα πρωτόνια συνδέονται στην δομή με ομοιοπολικούς δεσμούς δύο ηλεκτρονίων, τα οποία περιστρέφονται κάθετα ως προς την φορά του εφαρμοζόμενου μαγνητικού πεδίου B_0 , με αποτέλεσμα να δημιουργούν μικρότερο τοπικό μαγνητικό πεδίο B_1 , αντιπαράλληλης φοράς ως προς το B_0 . Η ένταση του B_1 σχετίζεται με την ένταση του B_0 σύμφωνα με την σχέση:

$$B_1 = B_0 * \sigma$$

Η σταθερά σ αναφέρεται στην θωράκιση του πυρήνα και εξαρτάται από το ηλεκτρονιακό περιβάλλον του. Επομένως, κάθε πυρήνας προστατεύεται ή αποπροστατεύεται από τα περιβάλλοντα ηλεκτρόνια και δέχεται διαφορετική συνολική ένταση πεδίου B σύμφωνα με την σχέση:

$$B = B_0 - B_1$$

Λαμβάνοντας υπόψιν τις παραπάνω πληροφορίες, λόγω του διαφορετικού χημικού περιβάλλοντος στο οποίο βρίσκεται κάθε πυρήνας πραγματοποιείται διαφορετική χημική μετατόπιση στο φάσμα ^1H -NM. Από την ερμηνεία των διαφορετικών χημικών μετατοπίσεων μπορούν να ληφθούν πληροφορίες για την δομή του οργανικού μορίου. Επιπλέον, δεδομένου ότι η ένταση του σήματος εξαρτάται από τον αριθμό των συντονισμένων πυρήνων, η μέθοδος αυτή χαρακτηρίζεται ως ποσοτική.



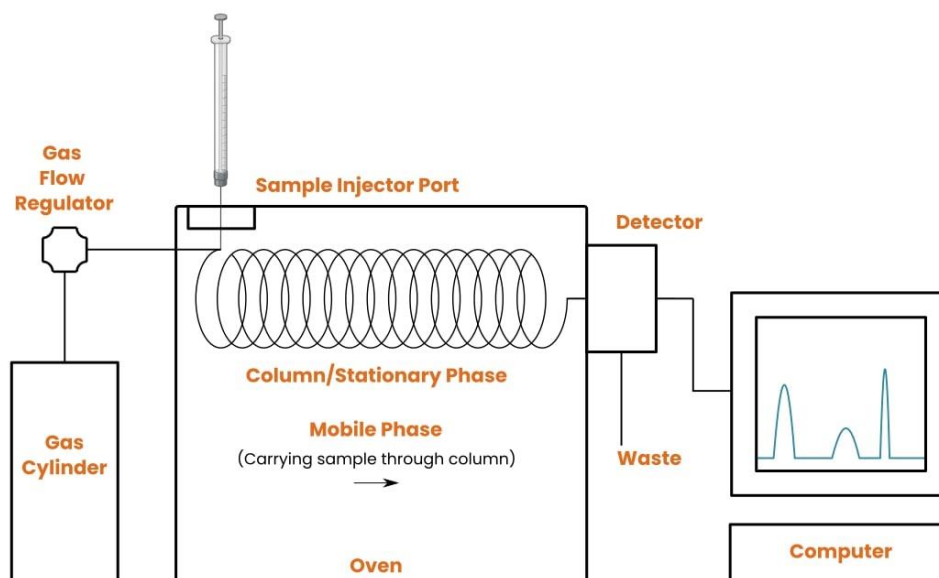
Εικόνα 4. 7 Αρχή Λειτουργίας NMR

Στις πορφυρίνες, οι οποίες είναι αρωματικά συστήματα, τα ηλεκτρόνια του αρωματικού δακτυλίου απεντοπίζονται και κυκλοφορούν πάνω και κάτω από το επίπεδο του δακτυλίου παράγοντας ένα επιπλέον μαγνητικό πεδίο το οποίο ονομάζεται ρεύμα δακτυλίου. Το ρεύμα δακτυλίου αντιτίθεται ως προς το εφαρμοζόμενο πεδίο B_0 στο εσωτερικό του δακτυλίου, ενώ το ενισχύει στην περιφέρεια του δακτυλίου. Αυτό επιβεβαιώνεται από φάσματα ελεύθερων πορφυρινών, στα οποία φαίνονται κορυφές σε πολύ ισχυρό πεδίο (αρνητικές τιμές χημικής μετατόπισης δ σε ppm) οι οποίες αντιστοιχούν σε πρωτόνια που βρίσκονται πάνω από το επίπεδο του αρωματικού δακτυλίου και επομένως προστατεύονται πάρα πολύ από το ρεύμα δακτυλίου, τέτοια είναι τα πρωτόνια που συνδέονται ομοιοπολικά με τα άτομα N. Στα ίδια φάσματα, σε ασθενέστερα πεδία εμφανίζονται κορυφές που αντιστοιχούν σε πρωτόνια που βρίσκονται στο επίπεδο του δακτυλίου, όπως είναι τα πυρρολικά.

4.5 Αέρια Χρωματογραφία (GC) με ανιχνευτή θερμικής αγωγιμότητας (TCD)

Η μέθοδος της αέριας χρωματογραφίας χρησιμοποιείται τόσο για ποσοτική, όσο και για ποιοτική ανάλυση και χαρακτηρίζεται από υψηλή διαχωριστική ικανότητα. Στην τεχνική αυτή το δείγμα εξατμίζεται και διαχωρίζεται στα συστατικά του, με βάση την ικανότητα αυτών να κατανέμονται μεταξύ μιας αέριας κινητής φάσης και μίας στατικής φάσης, η οποία μπορεί να είναι είτε υγρή, είτε στερεή. Η οργανολογία της μεθόδου αυτής περιλαμβάνει τον θάλαμο

έγχυσης του δείγματος, την κινητή φάση μαζί με ρυθμιστή της ροής του φέροντος αερίου, την χρωματογραφική στήλη, τον ανιχνευτή και το καταγραφικό.



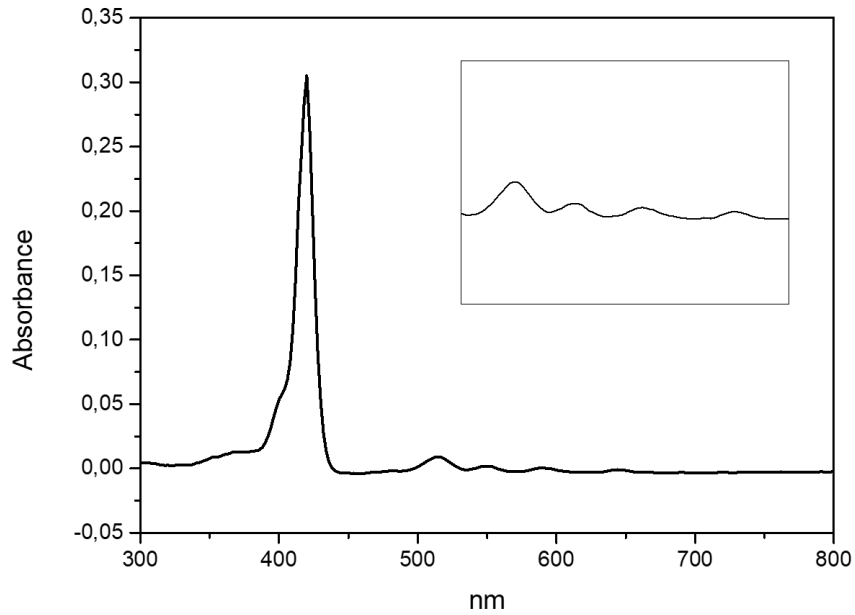
Εικόνα 4. 8 Οργανολογία Αέριας Χρωματογραφίας

Αρχικά, το δείγμα εισάγεται στον θάλαμο, όπου και εξατμίζεται προτού εισέλθει στην χρωματογραφική στήλη. Κατόπιν εξάτμισης του δείγματος, αυτό μεταφέρεται στην στήλη με την βοήθεια ροής του φέροντος αερίου, το οποίο αποτελεί την κινητή φάση. Το φέρον αέριο πρέπει να είναι εξαιρετικά υψηλής καθαρότητας και χημικώς αδρανές και συνήθως χρησιμοποιείται ήλιο, αργό, άζωτο και υδρογόνο. Η ταχύτητα ροής του ρυθμίζεται πριν εισέλθει στην στήλη, με την χρήση ρυθμιστών πίεσης, μανομέτρων και ροόμετρων. Καθώς το δείγμα μεταφέρεται μέσω της ροής του φέροντος αερίου διαμέσου της στήλης, διαχωρίζεται στα συστατικά του αναλόγως με την ικανότητα αυτών να αλληλεπιδρούν με την στατική φάση. Έτσι, διαφορετικά συστατικά αλληλεπιδρούν διαφορετικά με την στατική φάση και επομένως εκλούνται από την στήλη σε διαφορετικούς χρόνους. Τα διαφορετικά κλάσματα φτάνουν στον ανιχνευτή θερμικής αγωγιμότητας (TCD) σε διαφορετικούς χρόνους. Ο ανιχνευτής θερμικής αγωγιμότητας χρησιμοποιεί 4 μέρη ανίχνευσης, ένα ζεύγος αναφοράς και ένα ζεύγος δείγματος και η ανίχνευση των κλασμάτων βασίζεται στην διαφορά στην θερμική αγωγιμότητα μεταξύ του φέροντος αερίου και του δείγματος που μεταφέρεται μέσω του φέροντος αερίου. Τα φέροντα αέρια που χρησιμοποιούνται, έχουν πολύ μεγαλύτερη θερμική αγωγιμότητα από τις οργανικές ενώσεις, με αποτέλεσμα η παρουσία των

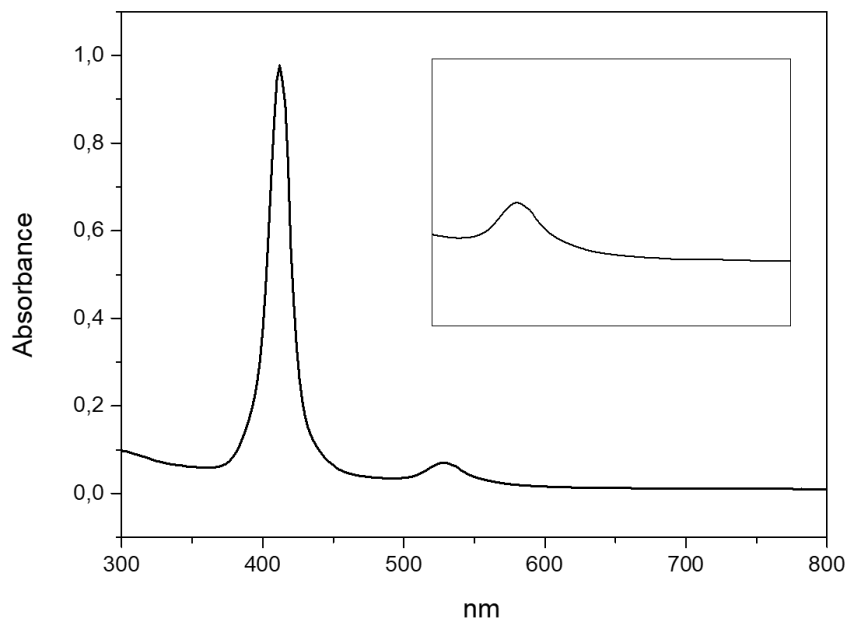
τελευταίων στα κλάσματα που μεταφέρονται στον ανιχνευτή, να παρουσιάζει αρκετά μειωμένη θερμική αγωγιμότητα και έτσι να προκαλεί αύξηση της θερμοκρασίας στον ανιχνευτή. Το σήμα του ανιχνευτή, διαβάζεται και καταγράφεται από το καταγραφικό. Πρόκειται για μέθοδο απλή, με μεγάλο γραμμικό εύρος και μη καταστρεπτικό χαρακτήρα που χρησιμοποιείται για την μέτρηση της παραγωγής υδρογόνου στα φωτοκαταλυτικά πειράματα.

Κεφάλαιο 5: Αποτελέσματα

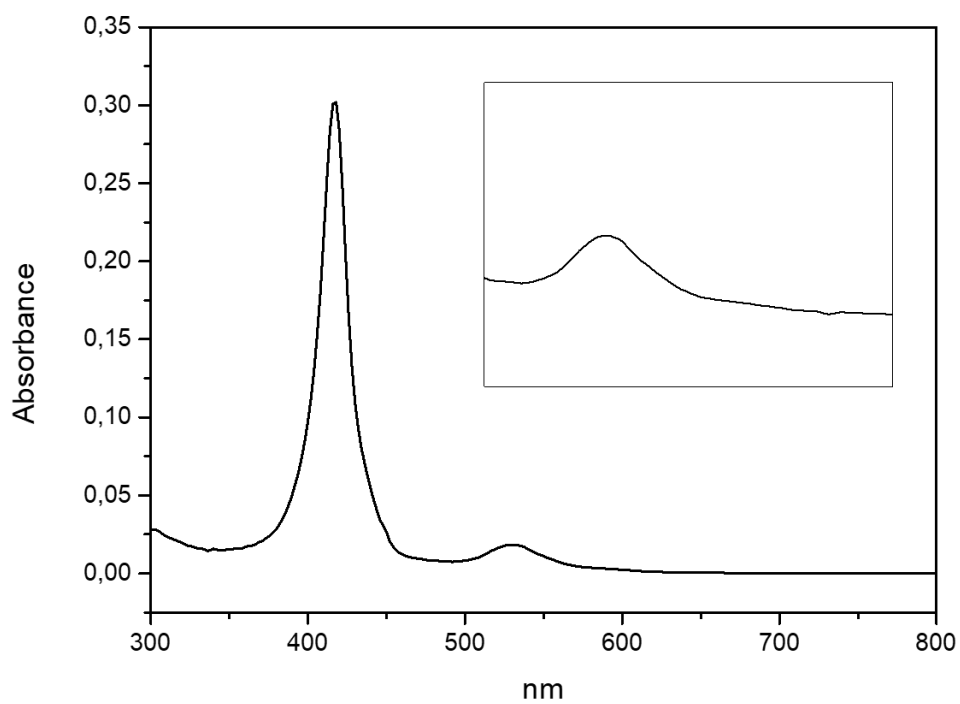
5.1 Φασματοσκοπία Υπερίωδους Ορατού (UV-Vis)



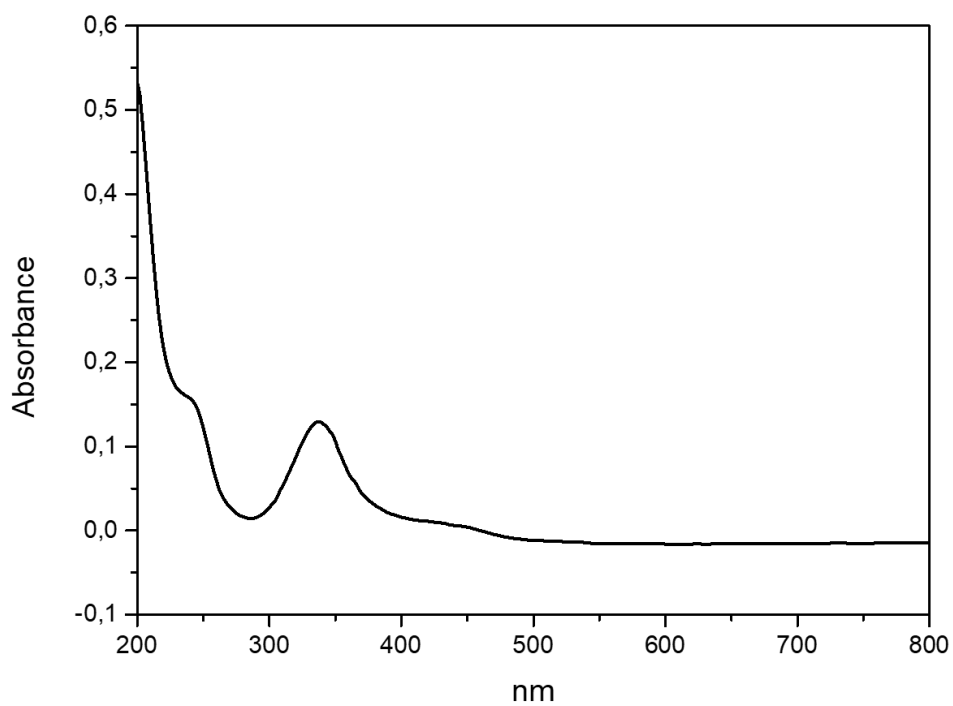
Εικόνα 5. 1 Φάσμα UV-Vis της TEPP



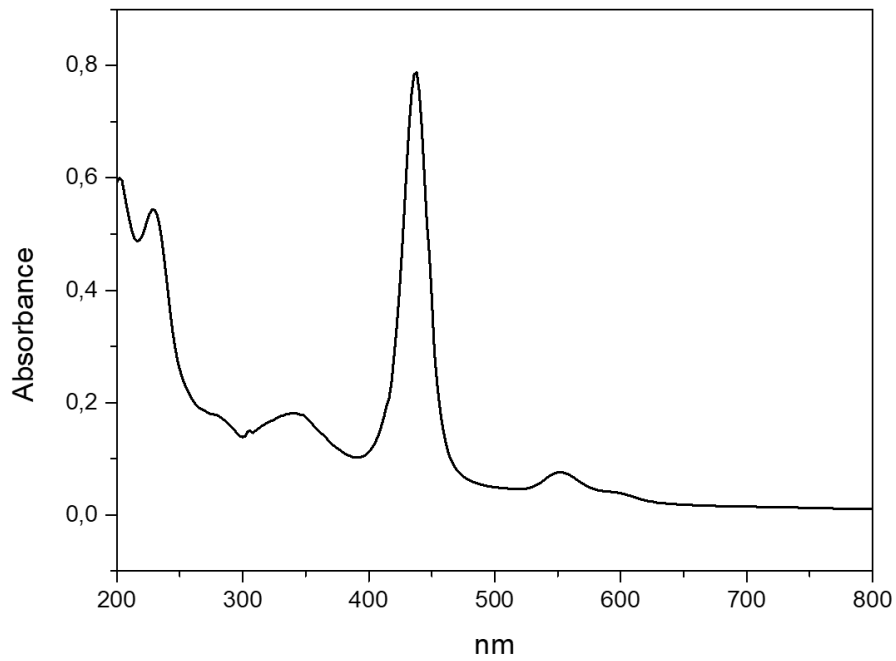
Εικόνα 5. 2 Φάσμα UV-Vis της CoTEPP



Εικόνα 5. 3 Φάσμα UV-Vis της CoTCPP

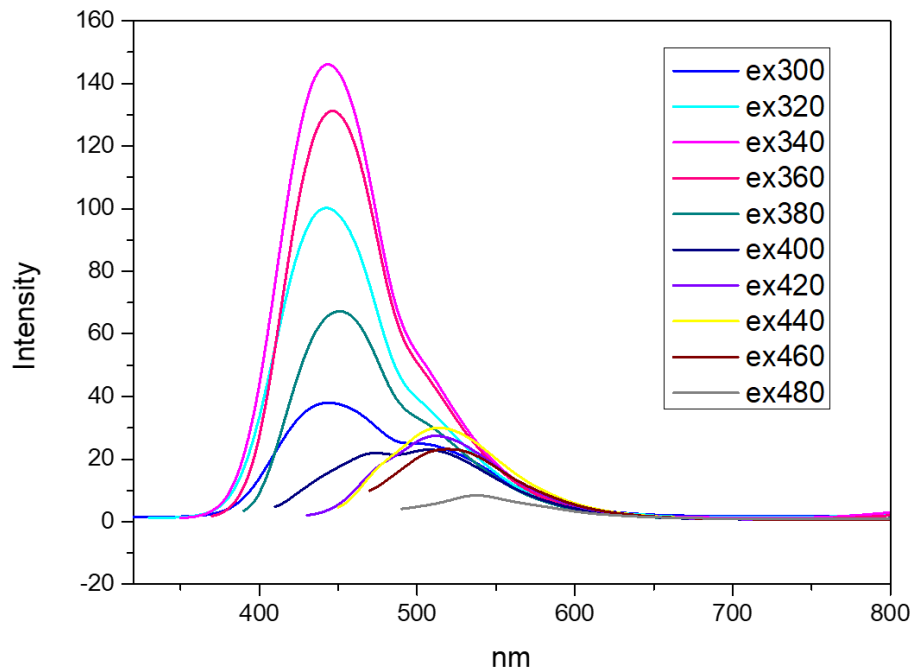


Εικόνα 5. 4 Φάσμα UV-Vis των NC-Dots



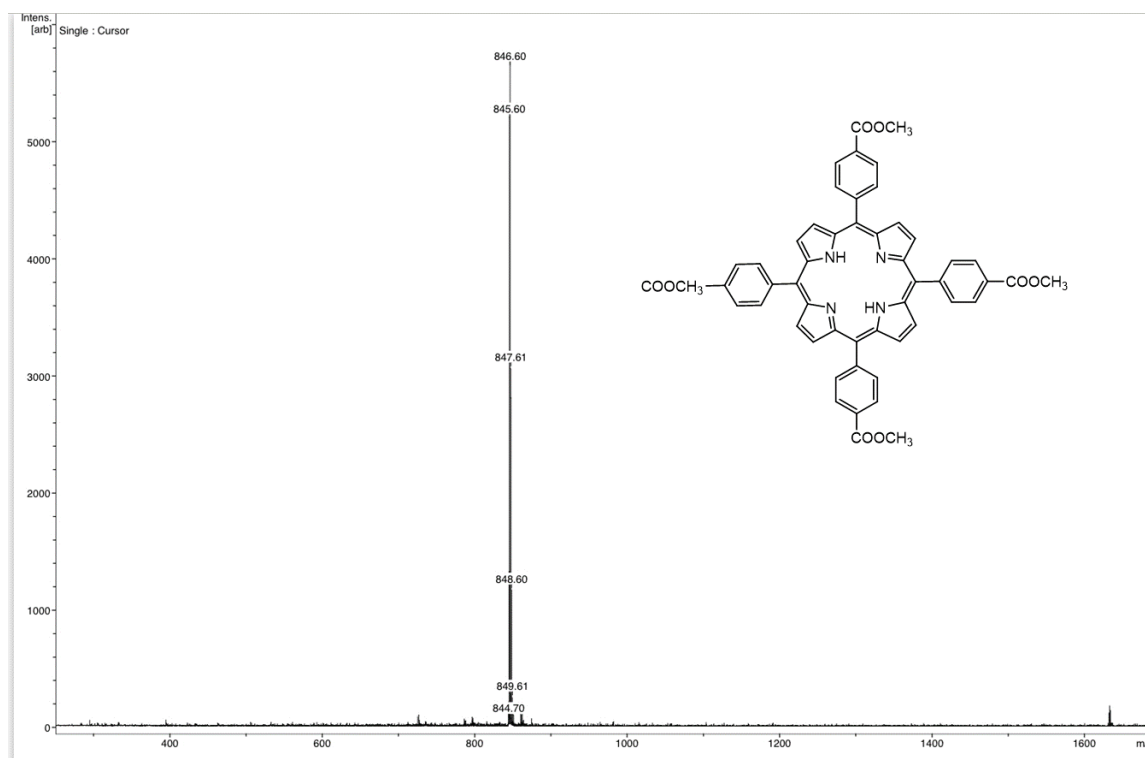
Εικόνα 5. 5 Φάσμα UV-Vis του υβριδίου NC-Dots-CoTCPP

5.2 Φασματοσκοπία Φθορισμού (Fluorescence Spectroscopy)

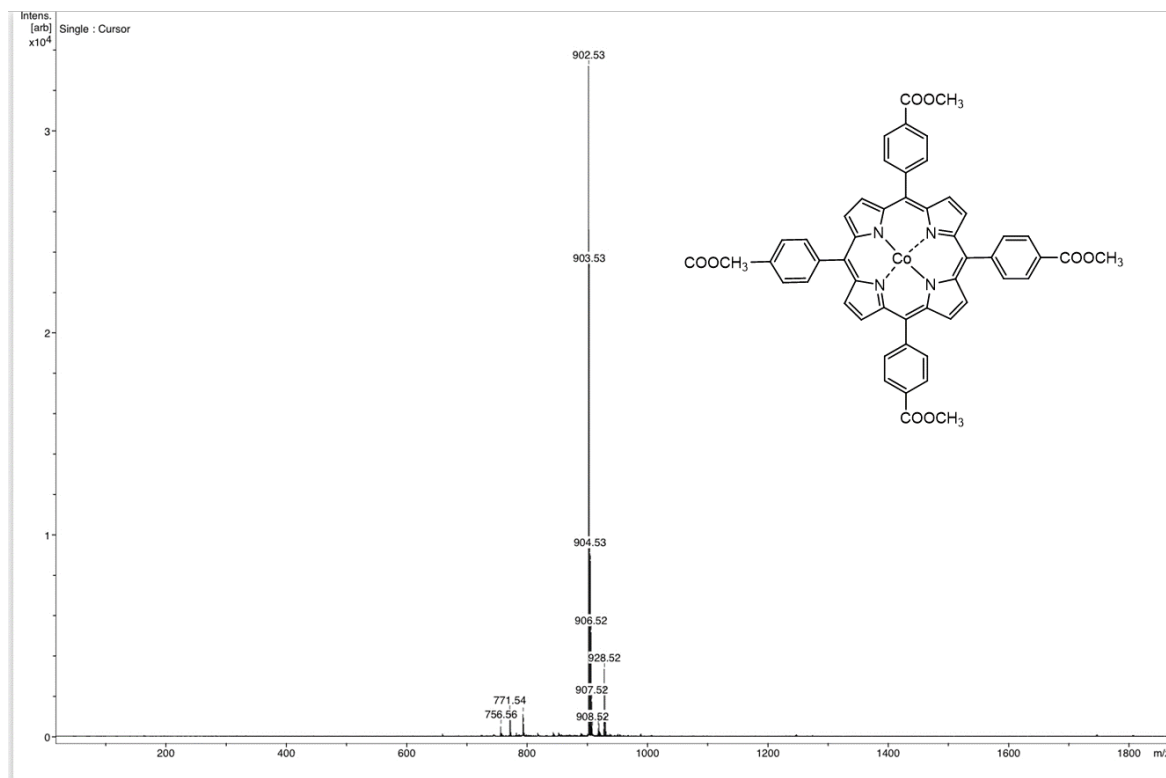


Εικόνα 5. 6 Φάσμα Φθορισμού των NC-Dots

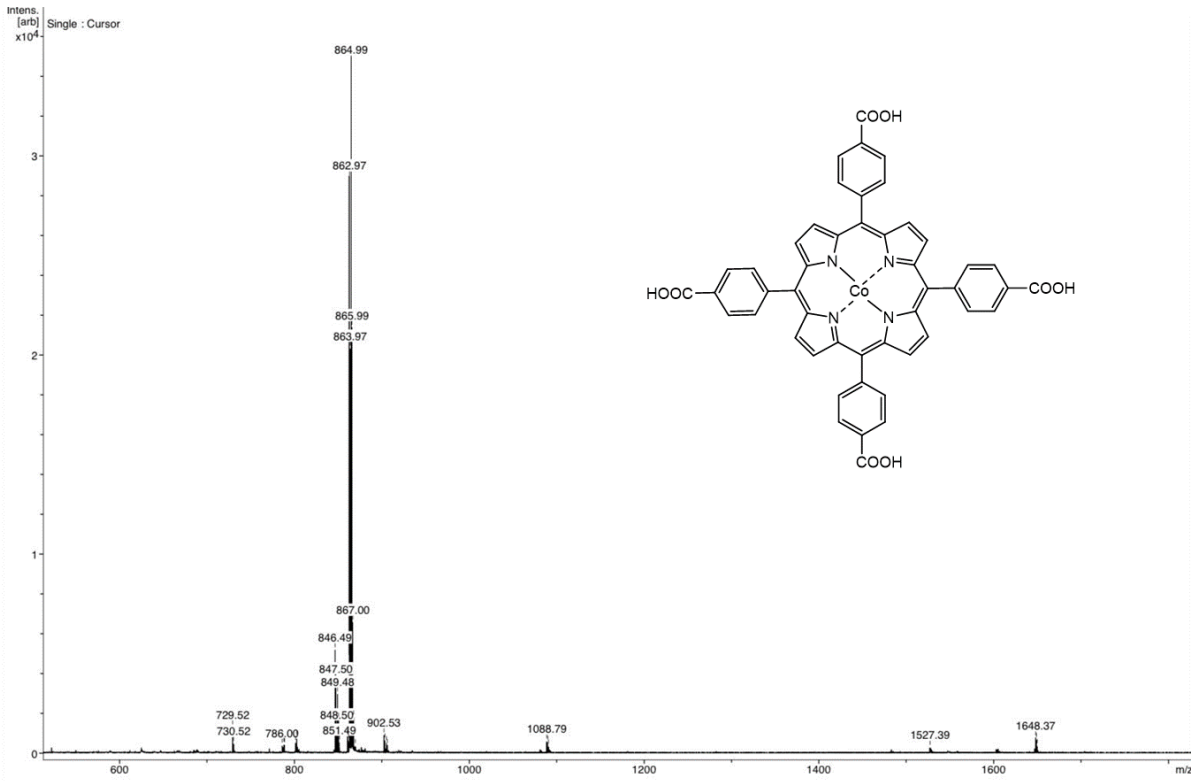
5.3 Φασματομετρία MALDI-TOF



Εικόνα 5. 7 Φάσμα MALDI-TOF της TEPP

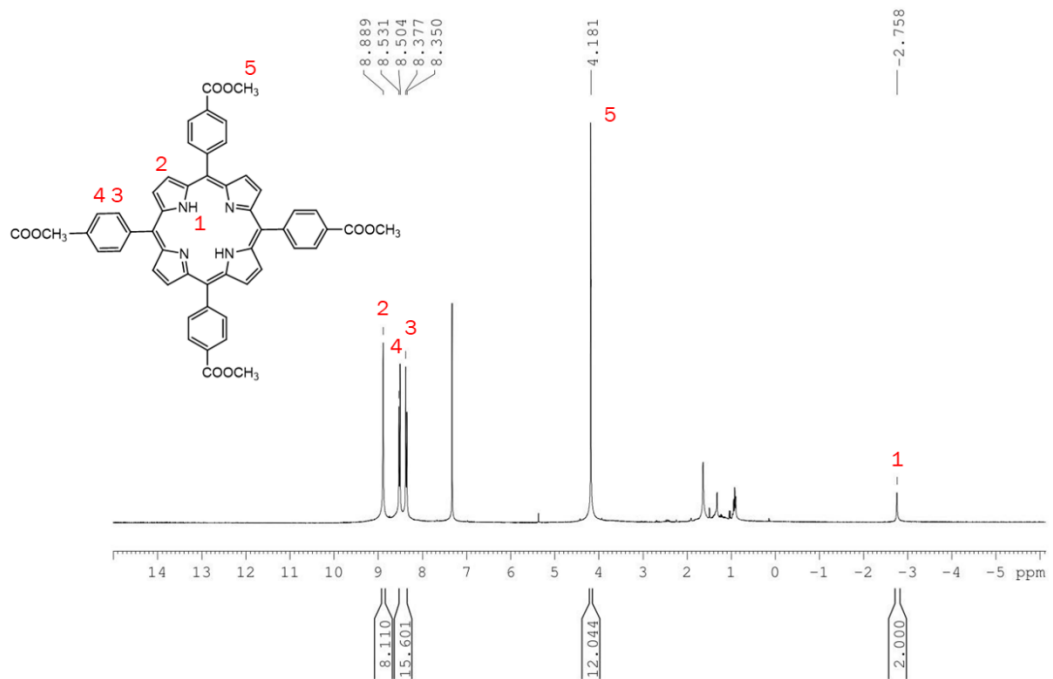


Εικόνα 5. 8 Φάσμα MALDI-TOF της CoTEPP

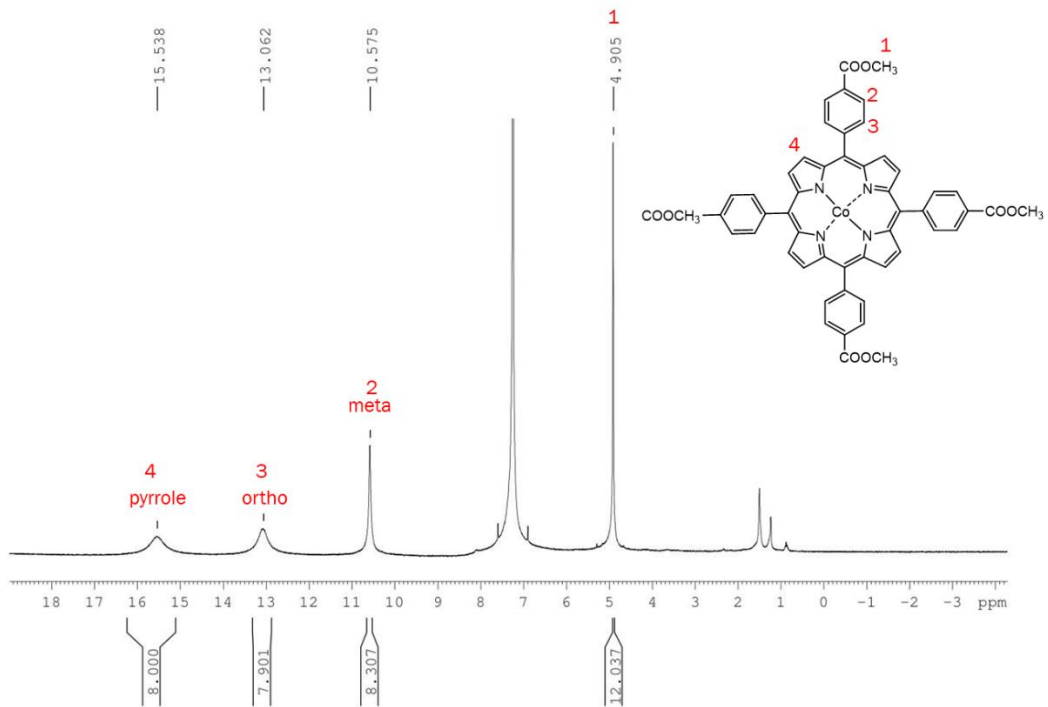


Εικόνα 5. 9 Φάσμα MALDI-TOF της CoTCPP

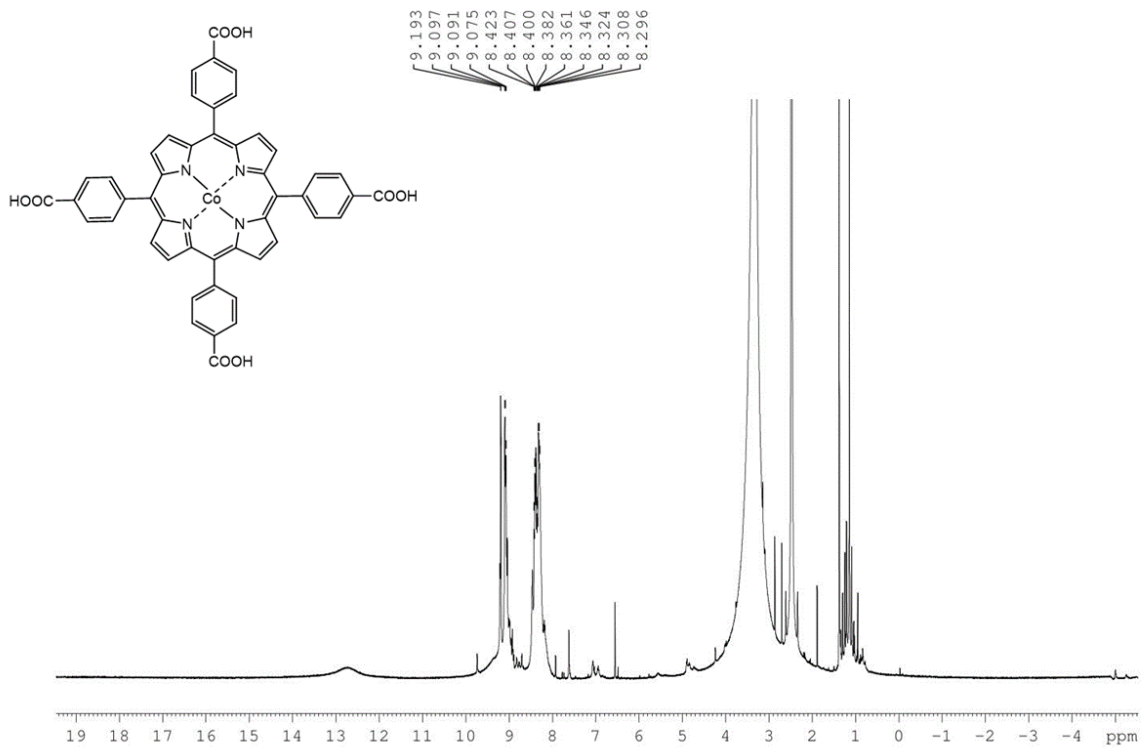
5.4 Φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (Nuclear Magnetic Resonance)



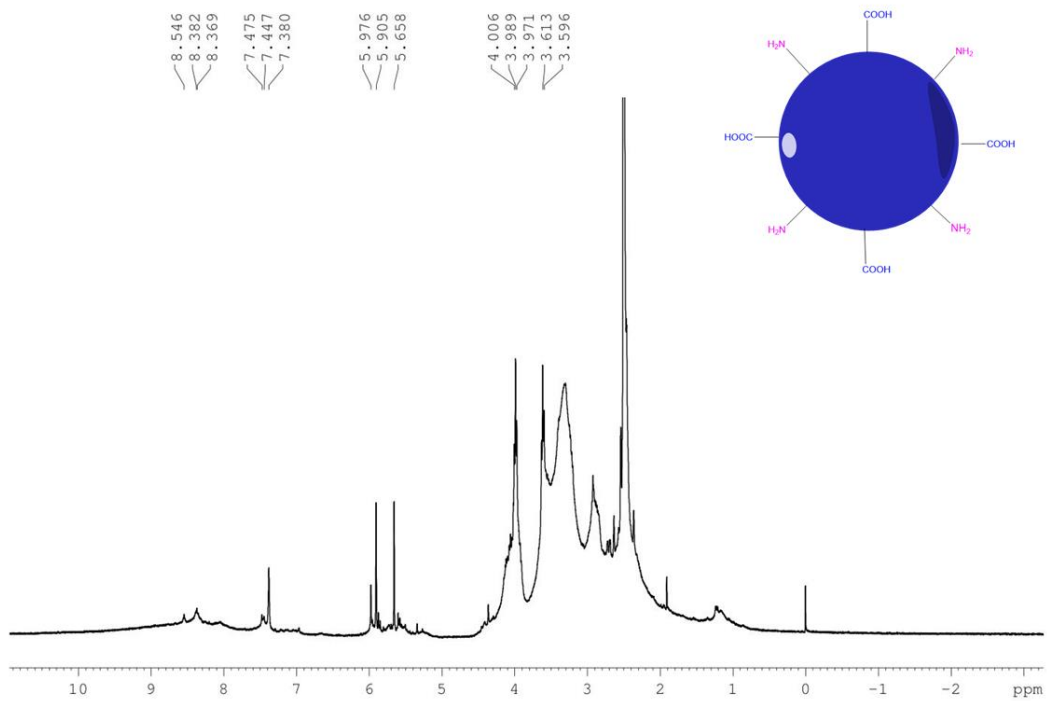
Εικόνα 5. 10 Φάσμα H^1NMR της TEPP



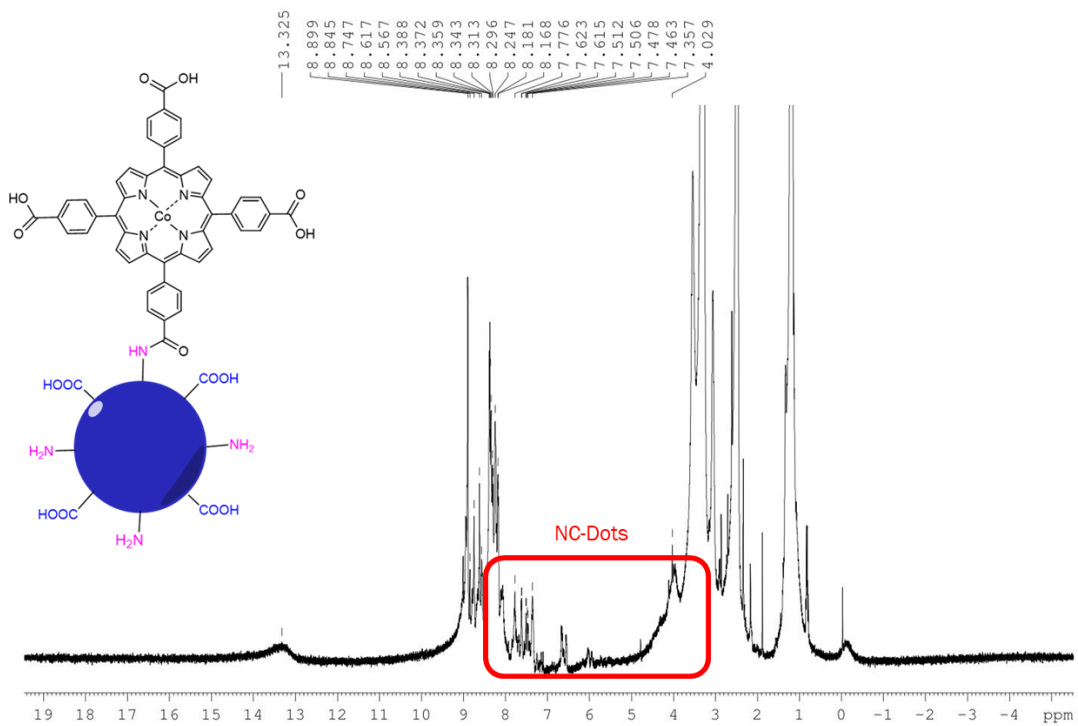
Εικόνα 5. 11 Φάσμα H^1NMR της CoTEPP



Εικόνα 5. 12 Φάσμα H^1NMR της CoTCPP

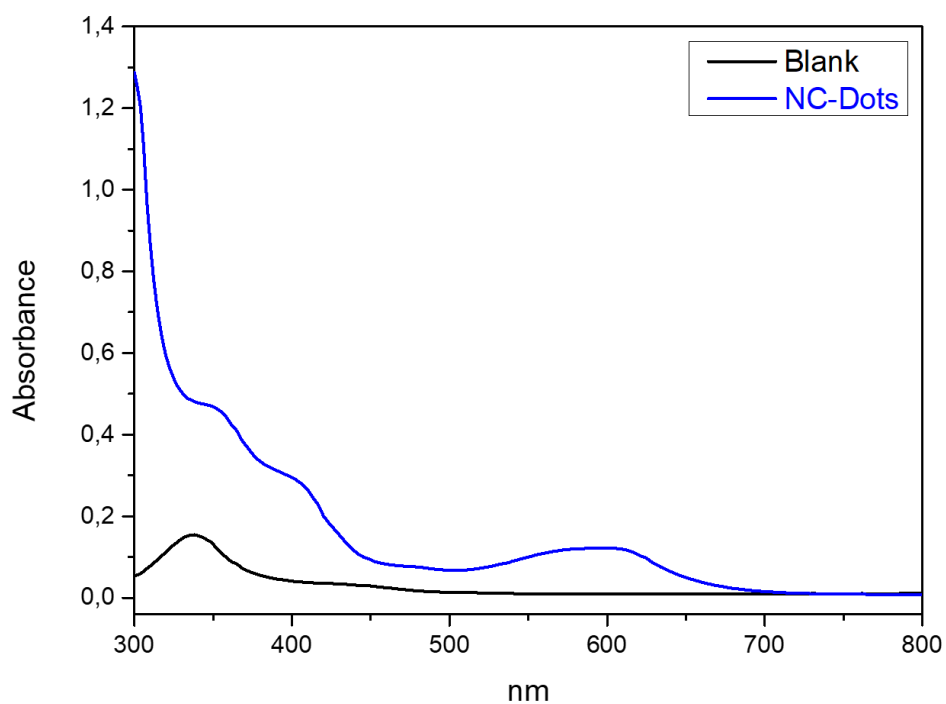


Εικόνα 5. 13 Φάσμα ¹H NMR των NC-Dots

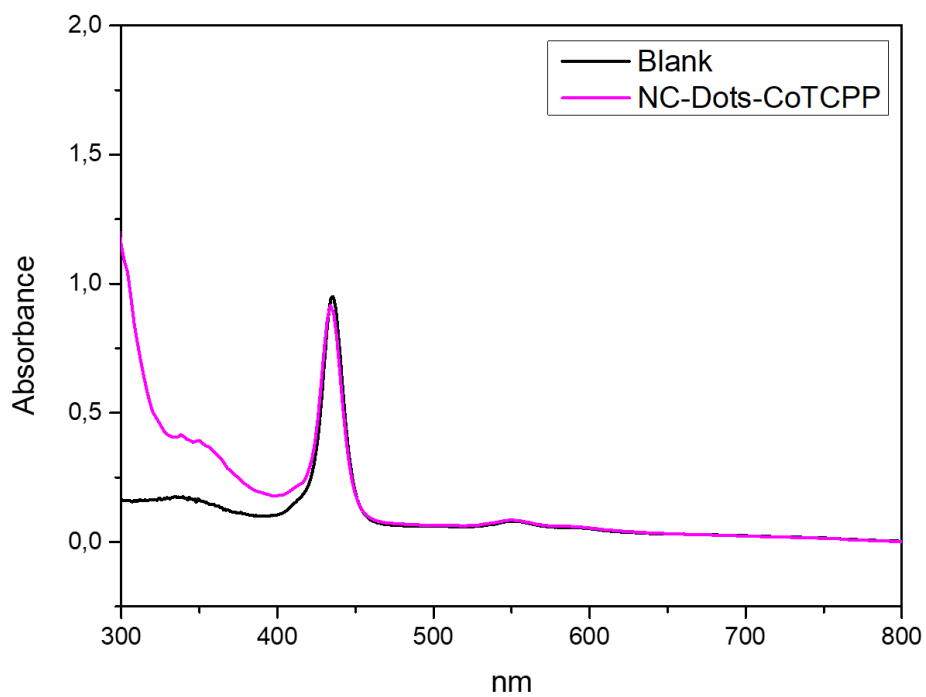


Εικόνα 5. 14 Φάσμα ¹H NMR των υβριδίων NC-Dots-CoTCPP

5.5 Kaiser Test



Εικόνα 5. 15 Φάσμα UV-Vis των NC-Dots σε συνδυασμό με blank



Εικόνα 5. 16 Φάσμα UV-Vis των NC-Dots-CoTCPP σε συνδυασμό με blank

$$\text{NH}_2 \text{ loading } (\mu\text{mol/g}) = \frac{[\text{Abs sample} - \text{Abs blank}] * \text{dilution} * 10^6}{\text{extinction coefficient} * \text{sample weight} (mg)}$$

Χρησιμοποιώντας την παραπάνω εξίσωση προσδιορίστηκε το ποσοστό των ελεύθερων αμινομάδων στην επιφάνεια των NC-Dots πριν και μετά την σύζευξή τους με την πορφυρίνη.

Για τα NC-Dots: $\text{NH}_{2(\text{NC-Dots})} (\mu\text{mol/g}) = \frac{[0,11621 - (-0,0155)] * 5(\text{ml}) * 10^6}{15000\text{m}^{-1}\text{cm}^{-1} * 200 * 10^3\text{mg}} = \frac{0,65855 * 10^3}{3000000} = 2,19 * 10^{-4} \mu\text{mol/g}$

Για τα NC-Dots-Co-TCPP: $\text{NH}_{2(\text{NC-Dots-Co-TCPP})} (\mu\text{mol/g}) = \frac{[0,06531 - 0,06152] * 5(\text{ml}) * 10^6}{15000\text{m}^{-1}\text{cm}^{-1} * 200 * 10^3\text{mg}} = \frac{0,01895 * 10^3}{3000000} = 6,32 * 10^{-6} \mu\text{mol/g}$

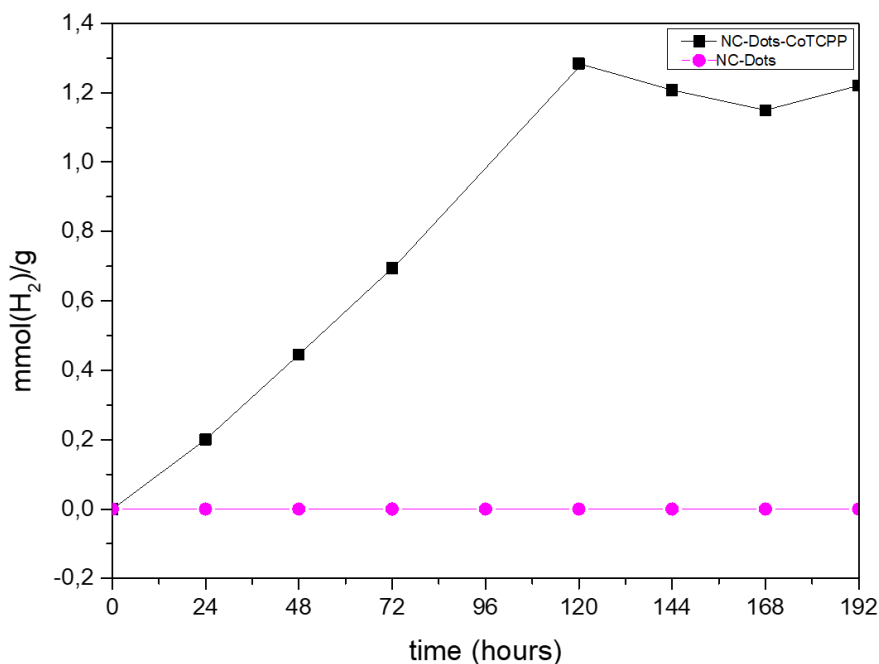
$2,19 * 10^{-4} \mu\text{mol/g} \rightarrow 100\%$

$6,32 * 10^{-6} \mu\text{mol/g} \rightarrow x$

Όπου $x = \frac{6,32 * 10^{-6}}{2,12 * 10^{-4}} * 100 = 2,87 \approx 3\%$

Βρέθηκε ότι το ποσοστό των αμινομάδων που παρέμεινε ελεύθερο αφού έγινε η σύζευξη με την πορφυρίνη Co-TCPP, είναι 3%.

5.6 Φωτοκαταλυτική Παραγωγή Υδρογόνου



Εικόνα 5. 17 Διάγραμμα των mmol(H₂) που παράγονται ανά g υλικού, συναρτήσει του χρόνου

Κεφάλαιο 6: Συμπεράσματα

Στο πέρας της εκπόνησης της διπλωματικής αυτής πραγματοποιήθηκε η σύνθεση της πορφυρίνης H₂TEPP και η μετάλλωσή της, όπως επιβεβαιώθηκε από φασματοσκοπικά δεδομένα απορρόφησης UV-Vis και πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού NMR. Στο φάσμα απορρόφησης UV-Vis της CoTEPP παρατηρήθηκε μείωση του αριθμού Q-bands και σαφής μετατόπιση της κύριας κορυφής, ενώ στο φάσμα NMR της CoTEPP απουσίαζε η κορυφή στις αρνητικές τιμές του φάσματος, υποδεικνύοντας την απουσία των πρωτονίων στο εσωτερικό του δακτυλίου στα οποία η κορυφή αυτή οφειλόταν. Έπειτα, ακολούθησε η υδρόλυση της πορφυρίνης σε CoTCPP, την παρουσία της οποίας επιβεβαίωσαν δεδομένα που λήφθηκαν από το φάσμα MALDI-TOF-MS στο οποίο υπήρχε κορυφή που αντιστοιχούσε σε μοριακό ιόν με μοριακή μάζα που συνάδει με αυτήν την CoTCPP.

Στην συνέχεια, ακολούθησε η σύνθεση των NC-Dots τα οποία χαρακτηρίστηκαν μέσω φασματοσκοπίας απορρόφησης UV-Vis, φασματοσκοπίας φθορισμού και φασματοσκοπίας πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού. Η ανάλυση τους βασίστηκε στις δύο σημαντικές ιδιότητες τους να απορροφούν και να φθορίζονται λόγω της παρουσίας λειτουργικών ομάδων όπως -OH, -NH₂, -COOH, αλλά και της παρουσίας του πυρήνα άνθρακα που αυτά περιέχουν, ο οποίος συνίσταται από συζυγιακό σύστημα συνδεδεμένων ανθράκων με εναλλασσόμενους μονούς και διπλούς δεσμούς. Κατόπιν προσδιορισμού τους, τα NC-Dots συζεύχθηκαν με την CoTCPP και ακολούθησε ο χαρακτηρισμός του υβριδίου με φασματοσκοπία απορρόφησης UV-Vis, κατά την οποία προέκυψε ότι το νέο φάσμα έδειχνε απορρόφηση ακτινοβολίας σε μεγαλύτερο εύρος σε σύγκριση με τα NC-Dots και την CoTCPP μόνα τους, με φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού και με Kaiser Test. Η επιβεβαίωση της σύζευξης προέκυψε σε μεγαλύτερο βαθμό από τα δεδομένα που λήφθηκαν από τα Kaiser Test, κατά τα οποία προσδιορίστηκε ο αριθμός των ελεύθερων αμινομάδων στην επιφάνεια των NC-Dots πριν και μετά την σύζευξή τους με την πορφυρίνη, από τα οποία προσδιορίστηκε ότι μόνο το 3% των ελεύθερων αμινομάδων των NC-Dots παρέμεινε ελεύθερο μετά την σύζευξή τους με την πορφυρίνη. Μέσω των παραπάνω χαρακτηρισμών ήταν επίσης δυνατό να ληφθούν πληροφορίες σχετικά με τον τρόπο σύζευξης της πορφυρίνης με τα NC-Dots, η οποία πραγματοποιήθηκε μέσω σχηματισμού πεπτιδικών

δεσμών μεταξύ των ελευθέρων αμινομάδων των NC-Dots και των καρβοξυλομάδων των πορφυρινών.

Τέλος, τα υβρίδια που συντέθηκαν μελετήθηκαν ως προς τον ρόλο τους σε φωτοκαταλυτικά συστήματα παραγωγής υδρογόνου. Στα πειράματα φωτοκατάλυσης λήφθηκαν μετρήσεις για δύο δείγματα, ένα που περιείχε τα υβρίδια NC-Dots-CoTCPP και ένα που περιείχε τα NC-Dots μόνα τους. Χρησιμοποιώντας αέρια χρωματογραφία μετρήθηκε η παραγωγή υδρογόνου από τα δύο δείγματα στην πάροδο 192 ωρών και προέκυψε ότι τα NC-Dots μόνα τους στο φωτοκαταλυτικό σύστημα δεν παρήγαγαν υδρογόνο σε αντίθεση με το δείγμα των υβριδίων που παρήγαγε ικανοποιητική ποσότητα υδρογόνου και μάλιστα με ρυθμό $[0,01076(\text{mmol/g})/(\text{hour})]$ για τις πρώτες 120 ώρες. Τα δεδομένα αυτά οδήγησαν στο συμπέρασμα ότι η παρουσία της πορφυρίνης είναι άκρως απαραίτητη στην απορρόφηση φωτός προκειμένου να ξεκινήσει ο φωτοκαταλυτικός κύκλος, ενώ παρείχαν επίσης πληροφορίες για την συνεισφορά της ως φωτοευαισθητοποιητής.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Ravi, P., Noh, J., (2022). Photocatalytic Water Splitting: How Far Away Are We From Being Able to Industrially Produce Solar Hydrogen? *Molecules, MDPI, Volume 27*.
2. Fukuzumi, S., Yamada, Y., Suenobu, T., Ohkubo, K., Hiroaki Kotania, H., (2011). Catalytic mechanisms of hydrogen evolution with homogeneous and heterogeneous catalysts. *The Royal Society of Chemistry*.
3. Ladomenou, K., Natali, M., Iengo, E., Charalambidis, G., Scandola, F., Coutsolelos, A., (2014). Photochemical hydrogen generation with porphyrin-based systems. *Coordination Chemistry Reviews, Volumes 304-305, Pages 38-54*.
4. O'Neill, J. S., Kearney, L., Brandon, M. P., Pryce, M. T., (2022). Design components of porphyrin-based photocatalytic hydrogen evolution systems: A review. *Coordination Chemistry Reviews, Volume 467*.
5. Kingsbury, C. J., Senge, M. O., (2021). The shape of porphyrins. *Coordination Chemistry Reviews, Volume 431*.
6. Di Carlo, G., Biroli, A. O., Tessore, F., Caramori, S., Pizzotti, M., (2018). β -Substituted Zn^{II} porphyrins as dyes for DSSC: A possible approach to photovoltaic windows. *Coordination Chemistry Reviews, Volume 358*.
7. Shi, Y., Zhang, F., Linhardt, R. J., (2021). Porphyrin-based compounds and their applications in materials and medicine. *Dyes and Pigments, Volume 188*.
8. Montaseri, H., Kruger, C. A., Abrahamse, H., (2020). Recent Advances in Porphyrin-Based Inorganic Nanoparticles for Cancer Treatment. *International Journal of Molecular Sciences, MDPI, Volume 21*.
9. Geraldes, C. F.G.C., Castro, M. M. C.A., Peters, J. A., (2021). Mn(II) porphyrins as potential MRI contrast agents for diagnosis and MRI-guided therapy. *Coordination Chemistry Reviews, Volume 445*.
10. Ladomenou, K., Landrou, G., Charalambidis, G., Nikoloudakis, E., Coutsolelos, A., (2021). Carbon dots for photocatalytic H₂ production in aqueous media with molecular Co catalyst. *The Royal Society of Chemistry*.

11. Meng, X., Zhang, C., Dong, C., Sun, W., Ji, D., Ding, Y., (2020). Carbon quantum dots assisted strategy to synthesize Co@NC for boosting photocatalytic hydrogen evolution performance of CdS. *Chemical Engineering Journal*, Volume 389.
12. Liu, M., (2020). Optical Properties of Carbon Dots: A Review. *Nanoarchitectonics, Universal Wiser*, Volume 1.
13. Zhang, Y., Wang, Y., Feng, X., Zhang, F., Yang, Y., Liu, X., (2016). Effect of reaction temperature on structure and fluorescence properties of nitrogen-doped carbon dots. *Applied Surface Science*, Volume 387.
14. Rui, S., Song, L., Lan, J., Feng, S., Lu, J., Wang, S., Zhao, Q., (2023). Recent advances in carbon dots-based nanoplatfoms: Physicochemical properties and biomedical applications. *Chemical Engineering Journal*, Volume 476.
15. Zheng, W., Shan, N., Yu, L., Wang, X., (2008). UV-visible, fluorescence and EPR properties of porphyrins and metalloporphyrins. *Dyes and Pigments*, Volume 77(1), pages 153-157.
16. Wang, L., Fan, H., Bai, F., (2020). Porphyrin-based photocatalysts for hydrogen production. *MRS Bulletin*, Volume 45(1), pages 49-56.
17. Κεσίσογλου, Δ., Ψωμάς, Γ., (2015). Βιοανόργανη Χημεία. Εκδόσεις Ζήτη, 94-104.
18. Berg, J.M., Tymoczko, J.L., Gatto, G.J., Stryer, L., (2021). Βιοχημεία. Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης, 215-230, 595-603, 887-942.
19. Boyer, R., (2018). Σύγχρονη Πειραματική Βιοχημεία. Εκδόσεις Κωσταράκη, 621-626.
20. Skoog, D.A., West, D.M., Holler, F.J., Crouch, S.R. Θεμελιώδεις Αρχές Της Αναλυτικής Χημείας. 9^η Έκδοση, 587-597, 615-653.
21. Harris, D. C., Lucy, C.A., (2021). Αναλυτική Χημεία. Εκδόσεις Π.Χ Πασχαλίδη & Broken Hill L.T. 10^η Έκδοση, Αεριοχρωματογραφία 757-788.
22. Μαυρομούστακος , Θ., Ματσούκας, Ι., (2006). NMR, Αρχές και εφαρμογές φασματοσκοπίας πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού στην Ιατρική, Φαρμακευτική Χημεία, Βιοχημεία, Χημεία τροφίμων και ποτών. Εκδόσεις Γιάννης Β. Παρισιάνος, 13-42.