

ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ
2014

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ
ΦΑΝΟΥΡΙΟΣ ΤΟΥΡΝΑΣ

ΘΕΜΑ:

“ΜΕΛΕΤΗ ΠΡΟ-ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ
ΑΜΙΝΟΑΛΚΟΟΛΩΝ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ ΤΗΣ
ΧΗΜΕΙΟΦΩΤΑΥΓΕΙΑΣ”

ΥΠΕΥΘΥΝΟΙ ΚΑΘΗΓΗΤΕΣ:

ΔΡ.ΧΑΝΙΩΤΑΚΗΣ ΝΙΚΟΛΑΟΣ

ΔΡ.ΚΑΤΕΡΙΝΟΠΟΥΛΟΣ ΧΑΡΑΛΑΜΠΟΣ

ΔΡ.ΚΕΦΑΛΑΣ ΠΑΝΑΓΙΩΤΗΣ

ΣΕ ΣΥΝΕΡΓΑΣΙΑ ΜΕ ΤΟ ΑΓΡΟΝΟΜΙΚΟ ΙΝΣΤΙΤΟΥΤΟ
ΧΑΝΙΩΝ

Αυτή η εργασία πρόκειται για την τελευταία εργασία που αναλαμβάνω σε προπτυχιακό επίπεδο, για αυτό θα ήθελα να ευχαριστήσω ξεχωριστά τη μητέρα μου Σοφία, τον πατέρα μου Νεκτάριο και την αδερφή μου Στέλλα. Σε αυτούς...

Ευχαριστίες

Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Δρ. Χανιωτάκη Νικόλαο για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε και δέχτηκε να είναι υπεύθυνος καθηγητής μου. Ακόμη, θα ήθελα να ευχαριστήσω την κα Φουσκάκη Μαρία από το εργαστήριο του κου Χανιωτάκη, για τις συμβουλές της κατά την έναρξη εκτέλεσης της διπλωματικής μου, αλλά και για την παροχή αντιδραστηρίων για την εκτέλεση των πειραμάτων μου. Επιπροσθέτως, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Δρ.Κατερινόπουλο Χαράλαμπο για τις συμβουλές του κατά τη διάρκεια της διπλωματικής μου εργασίας, καθώς και για την παροχή αντιδραστηρίων από το εργαστήριό του. Για την παροχή αντιδραστηρίων, επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κο Στρατάκη και Καλαϊτζάκη. Επιπλέον, για την βοήθεια στην εύρεση βιβλιογραφίας θα ήθελα να ευχαριστήσω την κα Τσαγκαράκη Βασιλική, από τη βιβλιοθήκη του τμήματος Χημείας, και τον κο Τουλουπάκη Ελευθέριο.

Νιώθω την ανάγκη να ευχαριστήσω τον εκλιπόν Δρ.Κεφάλα Παναγιώτη, που επιθυμούσε να συνεργαστούμε για την εκτέλεση της διπλωματικής μου άσκησης.

Ακόμη, θα ήθελα να ευχαριστήσω τα άτομα του εργαστηρίου Αναλυτικής χημείας και Φυσικών Προϊόντων του Μεσογειακού Αγρονομικού Ινστιτούτου Χανίων, και ιδιαίτερα την Σοφία Λουπασάκη για τη βοήθειά της.

Τέλος, θα ήθελα να αφιερώσω αυτήν την εργασία και να ευχαριστήσω την οικογένειά μου για την αμέριστη ηθική και οικονομική στήριξή τους κατά τη διάρκεια όλων αυτών των χρόνων.

Περιεχόμενα:

Περίληψη Σελίδα 1

Abstract Σελίδα 2

Κεφάλαιο 1: Χημειοφωταύγεια

1.1 Εισαγωγή Σελίδα 3

1.2 Τα είδη της φωταύγειας Σελίδα 12

1.3 Αρχές χημειοφωταύγειας Σελίδα 15

1.3.1 Άμεσος μηχανισμός Σελίδα 18

1.3.2 Έμμεσος μηχανισμός Σελίδα 19

1.4 Προϋποθέσεις πραγμάτωσης αντιδράσεων χημειοφωταύγειας
Σελίδα 22

1.4.1 Ενεργειακές απαιτήσεις Σελίδα 22

1.4.2 Παράγοντες που επηρεάζουν την εκπομπή ακτινοβολίας Σελίδα
24

1.4.3 Περιορισμοί κινητικής φύσεως Σελίδα 26

1.4.4 Κινητική της αντίδρασης χημειοφωταύγειας Σελίδα 27

1.4.5 Επίδραση χημικής δομής Σελίδα 29

1.5 Χαρακτηριστικά της χημειοφωταύγειας ως αναλυτικής τεχνικής
Σελίδα 31

1.6 Βασική οργανολογία χημειοφωταύγειας Σελίδα 33

1.6.1 Σύστημα εισαγωγής δείγματος και αντιδραστηρίων Σελίδα 36

1.6.1.1 Στατικά χημειοφωταυγειόμετρα Σελίδα 36

1.6.1.1.1 Πλεονεκτήματα στατικών χημειοφωταυγειομέτρων Σελίδα 39

1.6.1.1.2 Μειονεκτήματα στατικών χημειοφωταυγειομέτρων Σελίδα 39

1.6.1.2 Χημειοφωταυγειόμετρα ροής Σελίδα 40

1.6.1.2.1 Πλεονεκτήματα Χημειοφωταυγειομέτρων ροής Σελίδα 44

1.6.1.2.2 Μειονεκτήματα Χημειοφωταυγειομέτρων ροής Σελίδα 45

1.6.2 Κυψελίδα αντίδρασης Σελίδα 46

1.6.3 Σύστημα ανίχνευσης Σελίδα 50

1.6.3.1 Φωτοπολλαπλασιαστές Σελίδα 51

1.6.3.1.1 Παράγοντες που επιδρούν στην απόκριση του
φωτοπολλαπλασιαστή Σελίδα 53

1.6.4 Σύστημα καταγραφής κι επεξεργασίας σήματος Σελίδα 54

- 1.7 Εφαρμογές της χημειοφωταύγειας Σελίδα 55
- 1.7.1 Χημειοφωταύγεια λουμινόλης σε ανόργανα συστήματα Σελίδα 57
- 1.7.2 Χημειοφωταύγεια λουμινόλης και άλλων ακυλυδραζιδίων σε οργανικά συστήματα Σελίδα 58
- 1.7.3 Χημειοφωταύγεια υπεροξαλικών εστέρων Σελίδα 63
- 1.7.4 Παλαιότερες εφαρμογές Σελίδα 66

Κεφάλαιο 2: Αμινοαλκοόλες

- 2.1 Ορισμός – Γενικά Σελίδα 68
- 2.1.1 Σφιγγοσίνη Σελίδα 68
- 2.1.2 Δομή και προέλευση Σελίδα 69
- 2.1.3 Κατηγορίες αμινοαλκοολών Σελίδα 70
- 2.2 β-Αμινοαλκοόλες Σελίδα 71
- 2.2.1 Ορισμός και ταξινόμηση Σελίδα 71
- 2.2.2 Σύνθεση των β-Αμινοαλκοολών Σελίδα 72
- 2.2.3 Σημασία και χρήση Αμινοαλκοολών Σελίδα 74
- 2.2.4 Αμινοαλκοόλες και Οξείδωση Σελίδα 76
- 2.2.5 Αμινοαλκοόλες που μελετήθηκαν Σελίδα 80
- 2.2.5.1 Αιθανολαμίνη Σελίδα 81
- 2.2.5.1.1 Σύνθεση Σελίδα 82
- 2.2.5.1.2 Εφαρμογές Σελίδα 83
- 2.2.5.1.2.1 Καθαρισμός ροής αερίου Σελίδα 83
- 2.2.5.1.2.2 Έλεγχος της αλκαλικότητας Σελίδα 85
- 2.2.5.1.2.3 Άλλες εφαρμογές Σελίδα 85
- 2.2.5.2 2-amino-1-phenyl-ethanol Σελίδα 86
- 2.2.5.2.1 Ύπαρξη Σελίδα 87

- 2.2.5.2.2 Χημεία Σελίδα 87
 - 2.2.5.2.2.1 Σύνθεση Σελίδα 87
 - 2.2.5.2.2.2 Ιδιότητες Σελίδα 87
- 2.2.5.2.3 Φαρμακολογία Σελίδα 88
- 2.2.5.2.4 Βιοχημεία Σελίδα 89
- 2.2.5.2.5 Τοξικολογία Σελίδα 89
- 2.2.5.3 Σερινόλη Σελίδα 89
 - 2.2.5.3.1 Σύνθεση Σελίδα 90
 - 2.2.5.3.2 Εφαρμογές Σελίδα 90
- 2.2.5.4 2-amino-3-phenyl-1-propanol Σελίδα 91
- 2.2.5.5 2-amino-2-methyl-1-propanol Σελίδα 92
 - 2.2.5.5.1 Εφαρμογές Σελίδα 92
- 2.2.5.6 1-amino-2-propanol Σελίδα 93
 - 2.2.5.6.1 Εφαρμογές Σελίδα 93
- 2.2.5.7 2-aminophenol Σελίδα 94
 - 2.2.5.7.1 Σύνθεση και δομή Σελίδα 94
 - 2.2.5.7.2 Εφαρμογές Σελίδα 95
- 2.2.5.8 4-aminophenol Σελίδα 96
 - 2.2.5.8.1 Σύνθεση Σελίδα 97
 - 2.2.5.8.2 Εφαρμογές Σελίδα 97
- 2.2.5.9 Τυραμίνη Σελίδα 98
 - 2.2.5.9.1 Ύπαρξη Σελίδα 99
 - 2.2.5.9.2 Φυσικά φαινόμενα και φαρμακολογία Σελίδα 99

- 2.2.5.9.3 Βιοσύνθεση Σελίδα 101
- 2.2.5.9.4 Χημεία Σελίδα 102
- 2.2.5.10 2-(methylamino)phenol sulfate Σελίδα 102
- 2.2.5.10.1 Σύνθεση Σελίδα 103
- 2.2.5.10.2 Εφαρμογές Σελίδα 103
- 2.3 Οξείδωση Σελίδα 104
- 2.3.1 Οξειδωτικό στρες Σελίδα 104
- 2.3.2 Οξείδωση τροφών Σελίδα 105
- 2.3.3 Αντιοξειδωτικά Σελίδα 106
- 2.4 Προ-οξειδωτική δράση Σελίδα 108
- 2.4.1 Οξειδωτικοί καταλύτες Σελίδα 108
- 2.4.1.1 Ένζυμα Σελίδα 108
- 2.4.1.2 Μέταλλα Σελίδα 109
- 2.4.1.3 Φως Σελίδα 110
- 2.4.1.4 Θερμότητα Σελίδα 111
- 2.4.2 Προ-οξειδωτικά Σελίδα 111
- 2.4.2.1 Ελεύθερες ρίζες Σελίδα 112
- 2.4.3 Παραδείγματα ενώσεων με προ-οξειδωτική δράση και ο μηχανισμός δράσης τους Σελίδα 113
- 2.4.4 Προ-οξειδωτική δράση και καρκίνος Σελίδα 117
- 2.4.4.1 Θρεπτικά προ-οξειδωτικά και αντιοξειδωτικά και η επίδρασή τους στην κυτταρική απόκριση Σελίδα 118
- 2.4.4.2 Προ-οξειδωτική δράση και καρκίνος Σελίδα 119
- 2.4.4.3 Προ-οξειδωτική δραστηριότητα και χημειοθεραπεία Σελίδα 119

2.4.4.4 Προ-οξειδωτικοί χημειοθεραπευτικοί παράγοντες Σελίδα 120

2.4.5 Μέθοδοι μέτρησης προ-οξειδωτικής δράσης Σελίδα 121

Κεφάλαιο 3: Όργανα και Αντιδραστήρια

3.1 Όργανα – Συσκευές Σελίδα 122

3.1.1 Χημειοφωταυγειόμετρο Σελίδα 122

3.1.2 Άλλα όργανα Σελίδα 122

3.2 Αντιδραστήρια – Διαλύματα Σελίδα 123

3.2.1 Αντιδραστήρια Σελίδα 123

3.2.2 Διαλύματα Σελίδα 124

3.2.2.1 Διαλύματα παρακαταθήκης Σελίδα 124

3.2.2.2 Διαλύματα εργασίας Σελίδα 125

Κεφάλαιο 4: Αποτελέσματα – Παρατηρήσεις

4.1 Εισαγωγή Σελίδα 134

4.2 Πορεία εργασίας Σελίδα 134

4.3 Αποτελέσματα Σελίδα 136

4.3.1 Αιθανολαμίνη Σελίδα 136

4.3.2 2-amino-1-phenyl-ethanol Σελίδα 145

4.3.3 1-amino-2-propanol Σελίδα 150

4.3.4 Tyramine Σελίδα 154

4.3.5 2-amino-2-methyl-1-propanol Σελίδα 156

4.3.6 2-amino-3-phenyl-1-propanol Σελίδα 160

4.3.7 Serinol Σελίδα 162

4.3.8 Λοιπές αμινοαλκοόλες Σελίδα 165

4.3.9 Συμπεράσματα Σελίδα 169

Βιβλιογραφία Σελίδα 171

Περίληψη

Στην παρούσα ερευνητική διαδικασία μελετήθηκε η προ-οξειδωτική δράση ορισμένων αμινοαλκοολών με τη μέθοδο της χημειοφωταύγειας. Συγκεκριμένα, τοποθετούσαμε 1ml διαλύματος Co(II)/EDTA, 100μl διαλύματος λουμινόλης και 25μl διαλύματος H₂O₂ σε μία γυάλινη κυψελίδα, την οποία τοποθετούσαμε στο χημειοφωταυγείομετρο. Το H₂O₂ το προσθέταμε τελευταίο στην κυψελίδα ώστε να μην πραγματοποιηθεί η αντίδραση πριν αναγνωσθεί η ένταση της ακτινοβολίας του εκπεμπόμενου φωτός. Πριν από την προσθήκη του υπεροξειδίου του υδρογόνου, προσθέταμε 25μl του δείγματός μας, δηλαδή της αμινοαλκοόλης, ενώ όταν θέλαμε να μετρήσουμε το “τυφλό” προσθέταμε απλά 25μl του διαλύτη, δηλαδή DMSO. Με αυτόν τον τρόπο είχαμε τις εντάσεις των “τυφλών”(I₀) και τις εντάσεις της εκπεμπόμενης ακτινοβολίας του δείγματος(I). Πρέπει να γίνουν τουλάχιστον 3 μετρήσεις έκαστης, ώστε να υπάρχει καλύτερη επαναληψιμότητα και αξιοπιστία των μετρήσεων. Αυτό συμβαίνει για τουλάχιστον τρεις διαφορετικές συγκεντρώσεις του δείγματός μας(5mM, 25mM και 50mM). Υπολογίζουμε τον μέσο όρο των I₀ και των I, και έπειτα βρίσκουμε το πηλίκο του μέσου όρου των εντάσεων των “τυφλών”, διά τον μέσο όρο των εντάσεων του δείγματος. Αυτές οι μετρήσεις τοποθετούνται στον κάθετο άξονα του διαγράμματος, ενώ στον οριζόντιο τοποθετούνται οι αντίστοιχες συγκεντρώσεις. Από την κλίση της ευθείας του διαγράμματος που προκύπτει μπορούμε να προσδιορίσουμε αν μία αμινοαλκοόλη δρα ως προ-οξειδωτική ή ως αντιοξειδωτική. Αυτή η έρευνα έγινε για τρεις διαφορετικές τιμές του pH(8, 9, 10) και σε διαφορετικές συγκεντρώσεις του δείγματος, ώστε να βρούμε τις βέλτιστες δυνατές συνθήκες έκφρασης της οξειδωτικής δραστηριότητας των αμινοαλκοολών.

Abstract

In this research process we studied pre-oxidant activity of certain amino alcohols by chemiluminescence method. Specifically, we placed 1ml solution of Co (II) / EDTA, 100ml of luminol and 25ml solution of H₂O₂ in a glass cuvette , which we placed in Chemiluminometer . We add H₂O₂ as the last reactant, so that does not carry out the reaction before the read of radiation intensity of the emitted light. Before the addition of hydrogen peroxide , we add 25ml of our sample , here is the amino alcohol , and when we wanted to measure the " blind " we just add 25ml of solvent , which is DMSO. In this way we measure the intensities of "blind " (I₀) and the intensities of the emitted radiation of the sample (I). They must be at least 3 measurements each, in order to better repeatability and reliability of measurements . This happens with at least three different concentrations of our sample (5mM, 25mM and 50mM). We calculate the average of I₀ and I, and then we find the ratio of the average intensities of " blind " , by the average of the intensities of the sample. These measurements are placed on the vertical axis of the diagram, while in the horizontal position be the respective concentrations . From the slope of the line on the chart we can determine whether an amino alcohol acts as a pro-oxidant or an antioxidant . This research was done for three different values of pH (8, 9, 10) and at different concentrations of the sample in order to find the optimal conditions for expression of the oxidative activity of aminoalcohols .

Κεφάλαιο 1: Χημειοφωταύγεια

1.1 Εισαγωγή

Φωταύγεια (luminescence) είναι το φαινόμενο κατά το οποίο ένα διεγερμένο σωματίδιο αποδιεγείρεται και μεταπίπτει στη θεμελιώδη ενεργειακή του κατάσταση, αποβάλλοντας την ενέργειά του με εκπομπή δευτερεύουσας ακτινοβολίας. Δευτερεύουσα είναι το είδος της ακτινοβολίας που προκύπτει από τη σκέδαση των πρωταρχικών ακτίνων x.

Ο όρος “φωταύγεια” χρησιμοποιήθηκε το 1888 από τον σπουδαίο Γερμανό φυσικό και ιστορικό της επιστήμης, Eilhardt Wiedemann, για “όλα τα φαινόμενα του φωτός που δεν είναι απόλυτα ελεγχόμενα από την άνοδο της θερμοκρασίας”. Με την αύξηση της θερμοκρασίας, ο Wiedemann αναφέρεται στο γεγονός ότι όλα τα υγρά και τα στερεά εκπέμπουν όλο και περισσότερη ακτινοβολία, που χαρακτηρίζεται από όλο και μικρότερα μήκη κύματος, καθώς η θερμοκρασία τους αυξάνεται συνεχώς πάνω από το απόλυτο μηδέν. Εν τέλει, εμφανίζονται μήκη κύματος που μπορούν να γίνουν αντιληπτά από γυμνό οφθαλμό, και τα υλικά γίνονται καυτά με κόκκινο χρώμα, και κατόπιν λευκά, ενώ παραμένουν καυτά. Αυτή η κατάσταση χαρακτηρίζεται ως κατάσταση “πυρακτώσεως” ή “ζεστού φωτός”, σε αντίθεση με τη φωταύγεια που χαρακτηρίζεται ως “ψυχρό φως”. Για πολλούς αιώνες, η “πυράκτωση” αποτελούσε την καθολική μέθοδο πρακτικών φωτισμού, ενώ ο ήλιος, η δάδα, το κερί, το φωτιστικό πετρέλαιο, αέριο ή σύρμα βολφραμίου έχουν χρησιμοποιηθεί τόσο για θερμότητα όσο και για φως.

Οι πρώτες αναφορές σε φαινόμενα βιοφωταύγειας στη φύση έγιναν το 1500-1000 π.Χ. στην Κίνα και αφορούσαν ζώντες οργανισμούς, ικανούς να εκπέμπουν φως, όπως η πυγολαμπίδα, διάφορα βακτήρια και μύκητες, θαλάσσιοι οργανισμοί και πρωτόζωα[1]. Ωστόσο, δεν έγινε καμία προσπάθεια για την κατανόηση και την εφαρμογή της γνώσης τέτοιων φαινομένων, έως ότου την πλήρη άνθηση της Αλχημείας στην Ευρώπη κατά τη διάρκεια του 16^{ου} και 17^{ου} αιώνα. Συγκεκριμένα, το 1669, ο Robert Boyle ανακαλύπτει τη σημασία του οξυγόνου στο φαινόμενο της φωταύγειας και ανοίγει νέους ορίζοντες στην κατανόηση και παρατήρηση των αντιδράσεων βιοφωταύγειας και χημειοφωταύγειας. Όταν η διέγερση είναι αποτέλεσμα ενζυμικής αντίδρασης ή λαμβάνει χώρα σε ζωντανούς οργανισμούς, τότε το φαινόμενο ονομάζεται βιοφωταύγεια. Ο Boyle έκανε πειράματα με ξύλο, ψάρι και κρέας και βρήκε ότι το εκπεμπόμενο φως μειωνόταν αρκετά ή και εξαφανιζόταν με την αφαίρεση του αέρα[2]. Μέχρι εκείνη την περίοδο δεν ήταν γνωστό ότι οι ζωντανοί οργανισμοί είναι υπεύθυνοι για τη λάμψη στο ξύλο και στο κρέας. Στην πραγματικότητα η λάμψη στο κρέας προκαλούνταν από μύκητες και βακτήρια, πράγμα που καταγράφηκε από τον Heller το 1843. Ερμηνείες του μηχανισμού βιοφωταύγειας αρχίζουν να δίνονται το 1821, όταν ο Macaire πρότεινε ότι στις πυγολαμπίδες η εκπομπή φωτός προέρχεται από αντιδράσεις οργανικών ενώσεων και όχι από το φωσφόρο[3].

Το 1877 ο Radziszewski κατέγραψε για πρώτη φορά την εκπομπή ακτινοβολίας από τη συνθετική οργανική ένωση λοφίνη (2,4,5-τριφαινυλιμιδαζόλη) ύστερα από αντίδρασή της με οξυγόνο σε ισχυρά αλκαλικό περιβάλλον. Την ίδια χρονιά ο Eder παρατήρησε τη φωταύγεια αλκαλικού διαλύματος πυρογαλλόλης κατά τη χρήση του για την εμφάνιση φωτογραφικών πλακών.

Ο όρος χημειοφωταύγεια εισήχθη το 1888, όταν ο Wiedermann όρισε τη φωταύγεια. Η φωταύγεια κατά την οποία η διέγερση προκαλείται από μια χημική αντίδραση ονομάζεται χημειοφωταύγεια (Chemiluminescence, CL). Στη χημειοφωταύγεια οι αντιδράσεις έχουν ως αποτέλεσμα τη διέγερση ενός από τα προϊόντα και την παραγωγή φωτός κατά την αποδιέγερσή του προς τη θεμελιώδη κατάσταση. Η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία που εκπέμπεται βρίσκεται συνήθως στην ορατή ή την εγγύς υπέρυθη περιοχή. Το 1928 ο Albrecht περιέγραψε την έντονη φωταύγεια που σχετίζεται με την αλκαλική οξείδωση της λουμινόλης (5-αμινο-2,3-διυδρο-1,4-φθαλαζινο-διόνη) και περαιτέρω N,N-διακυλ-υδραζίδια. Το 1935 οι Gleu και Petsch ανακάλυψαν μια από τις πιο αποτελεσματικές ενώσεις στη λειτουργία της χημειοφωταύγειας, τη λουσιγενίνη. Κατά την οξείδωσή της σε αλκαλικό μέσο εκπέμπει έντονο πράσινο φως.

Η χημειοφωταύγεια έχει χρησιμοποιηθεί από τη δεκαετία του '80 σε τιτλοδοτικές αναλύσεις ως δείκτης, σε διάφορα σημεία σε ανοσοτεχνικές, σε αναλύσεις εν ροή, ως τεχνική ανίχνευσης στην HPLC, στην ανάλυση του DNA, στη δημιουργία οπτικών αισθητήρων, στον προσδιορισμό ενώσεων βάσει της απευθείας οξείδωσης, και σε πολλές άλλες τεχνικές που αποτελούν χρήσιμα εργαλεία για τον άνθρωπο.

Τα πλεονεκτήματα που προσφέρει είναι πολλά και ανάμεσα σ' αυτά είναι τα χαμηλά όρια ανίχνευσης και η σχετικά απλή οργανολογία που απαιτείται[1].

Μέχρι εκείνη την χρονική περίοδο, η φιλοσοφική και πνευματική προεργασία που θα επέτρεπε μια λογική και υλιστική προσέγγιση στη μελέτη των φυσικών φαινομένων που είχαν τεθεί και, σύμφωνα με το πνεύμα της εποχής, η προσέγγιση αυτή εφαρμόστηκε για την εύρεση ή την πραγματοποίηση της “Φιλοσοφικής Λίθου”, η οποία θα ήταν σε θέση να μετατρέψει τα “ταπεινά” μέταλλα σε χρυσό.

Έτσι, όταν το 1602, οι συνθήκες ήταν αρκετά “ώριμες” μετά τον πρώτο ενθουσιασμό, ο Vincenzo Casciarolo, ένας τσαγκάρης στο επάγγελμα κι ερασιτέχνης αλχημιστής, ανακάλυψε τον “φώσφορο της Μπολόνιας”, στο Monte Paderno, λίγο έξω από τη Μπολόνια. Αυτή η φυσική πέτρα, που στη συνέχεια ονομάστηκε ως “Πέτρα της Μπολόνια” ή “Lithosphorus”, αποτέλεσε το πρώτο αντικείμενο επιστημονικής μελέτης των φαινομένων της φωταύγειας. Ο Casciarolo υποστήριζε πως η πέτρα ήταν η καταλληλότερη για την παραγωγή χρυσού, λόγω του αξιοσημείωτου βάρους της και της περιεκτικότητάς της σε θείο.

Ωστόσο, όπως αποκαλύφθηκε αργότερα, η ίδια η πέτρα δεν ήταν ικανή να εκπέμπει φως, αλλά απελευθέρωνε κατά τη διάρκεια της νύχτας, και ως επί το πλείστον στο σκοτάδι, το φως που είχε συσσωρεύσει την ημέρα. Αυτό οφείλεται στην ιδιότητα του φωσφόρου να “συλλέγει” το φως, κυρίως έπειτα από τη θέρμανση και την ασβεστοποίηση της πέτρας, καθώς έτσι συγκρατούνται ατμοί στους πόρους της, παράλληλα με τις ακτίνες φωτός.

Παρόλη την ποικιλία χρωμάτων που προσέφερε η πέτρα αυτή έπειτα από έκθεσή της στο φως, παρατηρήθηκε ότι η χρήση της αφορούσε κυρίως εξωτερική χρήση, όπως την απομάκρυνση τριχών και του μουσιού, παρόλη τη δυσάρεστη μυρωδιά της (Pierre Potier,1425).

Μία ομάδα επιστημόνων, στην οποία ηγείτο ο Francesco Maria Zanotti, χρησιμοποιήθηκαν δύο κομμάτια φωσφόρου, από τα οποία το ένα εκτέθηκε σε κόκκινο φως, ενώ το άλλο σε μπλε. Όπως αναμενόταν, υπήρξε διάθλαση μίας ακτίνας του ηλίου μέσα σε ένα σκοτεινό δωμάτιο, ενώ το αξιοπερίεργο του όλου πειράματος ήταν ότι και οι δύο πέτρες έλαμπαν ελαφρά με το ίδιο χρώμα φωτός.

Σε παλαιότερες έρευνες (Nicola Zucchi,1652) κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι το φως δεν απορροφάται απλώς, αλλά μάλλον διεγείρει και ενώνεται με ουσίες που περιέχονται στην πέτρα, έως ότου παύσει ο φωτισμός και διαλυθούν οι ουσίες, οπότε δεν είναι δυνατόν να εκπέμπεται πλέον ορατό φως. Γνωρίζουμε ότι η πέτρα είναι φτιαγμένη από βαρίτη(θειικό βάριο) και αξίζει να δοθεί σημασία σε αυτό το φαινόμενο, καθώς αποτελεί την πρώτη καταγεγραμμένη παρατήρηση φωσφορισμού ανόργανων ουσιών[4].



Εικόνα 1.1 Κομμάτι της πέτρας της Μπολόνια

Αποτελεί, πράγματι, έκπληξη το πόσο συχνά η φωταύγεια έχει προκαλέσει ενδιαφέρον σε κάθε κλάδο των επιστημών και επιστημόνων, και ιδιαίτερα των αστρονόμων, κάθε έθνους. Η ιστορία της φωταύγειας είναι ένας οδηγός για την ιστορία της επιστήμης γενικότερα. Μέλη της Αμερικανικής Φιλοσοφικής Εταιρείας δεν έχουν παραμελήσει αυτό το σημαντικό θέμα, ενώ οι περισσότεροι από την αμερικανική εξέλιξη των γνώσεων έχουν συνδεθεί με τον εικοστό αιώνα, και εκτός του πεδίου εφαρμογής αυτής της ιστορίας, πολλοί από τους πρωτοπόρους του δέκατου ένατου αιώνα στην Ευρώπη έχουν γίνει ξένα μέλη αυτής της κοινότητας. Η σημασία της φωταύγειας προερχόταν από το γεγονός ότι αποτελούσε και αποτελεί την παρούσα χρονική στιγμή την καθολική μέθοδο του εμπορικού φωτισμού, και της επικοινωνίας, μέσω της οθόνης της τηλεόρασης. Επιπλέον, έχει διαδραματίσει σημαντικό ρόλο στην ανακάλυψη των ηλεκτρονίων, των ακτίνων x και της ραδιενέργειας.

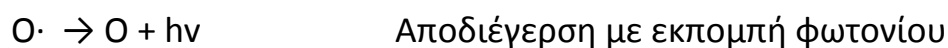
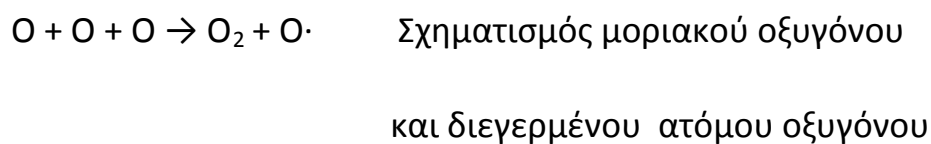
Παραδείγματα φωταύγειας αποτελούν αυτά του αμυδρού φωτισμού, όπως η λάμψη του φωσφόρου, η χημειοφωταύγεια, ο φωσφορισμός μερικών στερεών έπειτα από έκθεσή τους στο ηλιακό φως, σε ακτίνες x ή σε δέσμες ηλεκτρονίων. Επιπλέον, ο παροδικός φωτισμός πολλών ουσιών, διεγείρεται από την έκθεση σε διάφορα είδη ακτινοβολίας, ορατής ή μη. Το “βόρειο σέλας” και η ηλεκτροφωταύγεια των αερίων, όταν φέρουν ηλεκτρικό φορτίο, η τριβοφωταύγεια των κρυστάλλων που τρίβονται ή σπάνε σε μικρότερα κομμάτια, η βιοφωταύγεια από πολλούς ζωντανούς οργανισμούς, όπως η πυγολαμπίδα, ο φωτεινός μύκητας από σάπιους κορμούς δέντρων και το βακτηριακό φως από νεκρές σάρκες ή ψάρια αποτελούν μερικά παραδείγματα ακόμη έκκλησης φωτός, γνωστά ως φαινόμενο φωταύγειας.

Ένα από τα προβλήματα που μπορεί να αντιμετωπίσει όποιος αναζητά την ιστορία της φωταύγειας είναι να αναγνωρίσει τις αληθινές από τις ψεύτικες αναφορές. Ιστορίες από φωτεινά κοσμήματα και πέτρες έχουν εκδοθεί από τα αρχαία χρόνια, αλλά στις περισσότερες περιπτώσεις το φως προέρχεται από ανάκλαση και όχι από εκπομπή φωτός. Αυτό που είναι απολύτως βέβαιο είναι πως ο άνθρωπος δεν έχει καταφέρει να παράγει ένα φως σαν αυτό της πυγολαμπίδας.

Από τα πολλά είδη της ανάκλασης του φωτισμού που συγχέεται με την πραγματική εκπομπή του φωτός, η πιο κοινή είναι αυτή της λάμψης των ματιών. Τα λαμπερά μάτια των γατών αποτελούν γνωστό φαινόμενο, ενώ αυτή η λάμψη στα μάτια έχει παρατηρηθεί και σε ανθρώπινα όντα.

Ένα ακόμη φαινόμενο που είναι αμιγώς υποκειμενικό, το φωσφόριο, ή διαφορετικά το φαινομενικό φως που αντιλαμβάνεται το ανθρώπινο μάτι χωρίς αυτό πραγματικά να εκλύεται, οφείλεται στην πίεση του βολβού του ματιού, γνωστό από τον Αριστοτέλη και έχει συχνά συγχυστεί με τα αληθινά φαινόμενα φωταύγειας[1].

Στην περίπτωση της χημειοφωταύγειας, η ενέργεια παράγεται από μια χημική αντίδραση και συνίσταται στην εκπομπή φωτονίων από το διεγερμένο προϊόν της αντίδρασης, πρόκειται δηλαδή για μια αντίδραση που παράγει ακτινοβολία, όπως η ακόλουθη:



Στην παραπάνω αντίδραση οφείλεται η φωταύγεια της ατμόσφαιρας τη νύχτα.

Οι αρχικές έρευνες επικεντρώθηκαν κυρίως στην παρατήρηση των αντιδράσεων χημειοφωταύγειας και στη διερεύνηση του μηχανισμού τους. Επιγραμματικά αναφέρονται οι σπουδαιότερες μελέτες χημειοφωταύγειας με χρονολογική σειρά:

- 1877 Εκπομπή ακτινοβολίας κατά την οξείδωση της οργανικής ένωσης λοφίνης από οξυγόνο σε αλκαλικό διάλυμα (Radziszewski)[3].
- 1877 Εκπομπή ακτινοβολίας από αλκαλικό διάλυμα πυρογαλλόλης, κατά τη χρήση της ως μέσο εμφάνισης φωτογραφιών[5].
- 1922 Εκπομπή φωτός με επίδραση ισχυρών οξειδωτικών σε σιλοξάνια[6].
- 1927 Εκπομπή φωτός κατά την οξείδωση της λουμινόλης[7].
- 1935 Αναφορά στις χημειοφωταυγείς ιδιότητες της λουσιγενίνης[8].

Οι μελέτες για την εφαρμογή της χημειοφωταύγειας σε αναλύσεις ρουτίνας άρχισαν το 1960 και συνεχίστηκαν με την ανακάλυψη νέων αντιδράσεων χημειοφωταύγειας. Τα πρώτα χημειοφωταυγείόμετρα που χρησιμοποιήθηκαν ήταν τροποποιημένα φθορισμόμετρα, τα οποία λόγω της παρουσίας μονοχρωμάτορα μπροστά από τον ανιχνευτή, παρουσίαζαν μειωμένη ευαισθησία[9]. Μεγάλη ώθηση στην τεχνική της χημειοφωταύγειας για αναλυτικές εφαρμογές έδωσε η χρήση των συστημάτων ροής, που είχαν προκύψει από την ανακάλυψη της τεχνικής της εγχύσεως δείγματος σε ροή (Flow Injection Analysis, FIA) [9,10,11].

1.2 Τα είδη της φωταύγειας

Γενικά με τον όρο φωταύγεια χαρακτηρίζεται οποιαδήποτε εκπομπή φωτός χωρίς θέρμανση.

Το φαινόμενο της φωταύγειας είναι αυτό που παρατηρείται στα διάφορα σώματα όταν εκπέμπουν ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία που η έντασή της σε ορισμένα μήκη κύματος ή στενές περιοχές του ηλεκτρομαγνητικού φάσματός τους είναι μεγαλύτερη από εκείνη της θερμικής ακτινοβολίας που εκπέμπουν τα ίδια αυτά σώματα στην ίδια θερμοκρασία. Η φωταύγεια παρατηρείται τόσο σε στερεές όσο και σε ρευστές ουσίες, ανόργανες ή οργανικές[12].

Η φωταύγεια ανάλογα στο χώρο που παρατηρείται, αλλά και του τρόπου με τον οποίο συμβαίνει διακρίνεται ανάλογα σε:

- Χημειοφωταύγεια. Ως χημειοφωταύγεια ορίζεται η εκπομπή φωτός που είναι το αποτέλεσμα μιας χημικής αντίδρασης. Αν A και B είναι τα αντιδρώντα σώματα, το φαινόμενο μπορεί να παρασταθεί με την παρακάτω εξίσωση:



Το [A] μπορεί να είναι λουμινόλη και το [B] υπεροξείδιο του υδρογόνου. Η αποδιέγερση των ασταθών ενδιάμεσων προϊόντων σε χαμηλότερο επίπεδο ενέργειας είναι υπεύθυνη για την εκπομπή του φωτός.

- Βιοφωταύγεια, που είναι αποτέλεσμα βιοχημικής αντίδρασης. Βιοφωταύγεια ή βιοφωτισμός (bioluminescence) χαρακτηρίζεται η δημιουργία φωτός σε διάφορα μήκη κύματος που εκπέμπεται από διάφορους ζώντες οργανισμούς, που συχνά καλείται εσφαλμένα φωσφορισμός. Το φαινόμενο της βιοφωταύγειας παρουσιάζεται σε πολλές βιο-ομάδες πολύ διαφορετικές μεταξύ τους όπως τα βακτήρια, οι μύκητες, οι πυγολαμπίδες (και άλλα κολεόπτερα) καθώς και σε διάφορους θαλάσσιους οργανισμούς. Ερευνήθηκε και δαπιστώθηκε ότι αιτία της φωτοβολίας αυτής των ζωντανών οργανισμών είναι η οξείδωση της πρωτεΐνης λουκιφερίνης. Αυτή η βιοχημική αντίδραση απαιτεί τριφωσφάτη αδενοσίνη (ATP), που καταλύεται από τη λουκιφεράση[13].

Τα δύο παραπάνω είδη φωταύγειας λαμβάνουν χώρα συνήθως λόγω κάποιας χημικής αντίδρασης.

- Ατμοσφαιρική φωταύγεια. Η ηλιακή ακτινοβολία σε μεγάλο ποσοστό απορροφάται από τα συστατικά της ατμόσφαιρας. Στα μήκη κύματος που απορροφώνται περιλαμβάνονται κυρίως ακτινοβολίες με μήκος μέχρι 330nm, που ανήκουν στο υπεριώδες φάσμα του ηλιακού φωτός. Η απορρόφηση αυτή είναι απορρόφηση φωτονίων, δηλαδή ενέργειας, και προκαλεί την διέγερση ηλεκτρονίων των συστατικών της ατμόσφαιρας μορίων, φαινόμενο που στη συνέχεια συνοδεύεται από άλλα φαινόμενα. Ένα από αυτά είναι η αποδιέγερση των διεγερμένων μορίων, με ταυτόχρονη εκπομπή ισάριθμων φωτονίων, δηλαδή το αντίστροφο φαινόμενο.

Έτσι το μεγάλο πλήθος των αποδιεγειρόμενων μορίων συνοδεύεται από εκπομπή μεγάλου πλήθους φωτονίων, φαινόμενο που γίνεται ορατό την νύχτα ως απαλό φως και ονομάζεται ατμοσφαιρική φωταύγεια[14].

- Τριβοφωταύγεια είναι το οπτικό φαινόμενο στο οποίο παράγεται φως με το “σπάσιμο” των χημικών δεσμών σε ένα υλικό, όταν το τελευταίο διαχωρίζεται, γδέρνεται, σπάει ή τρίβεται. Το φαίνεται να προκαλείται από το διαχωρισμό και την επανένωση των ηλεκτρικών φορτίων. Συχνά αναφέρεται και με τον όρο Κρυσταλλοφωταύγεια[15].

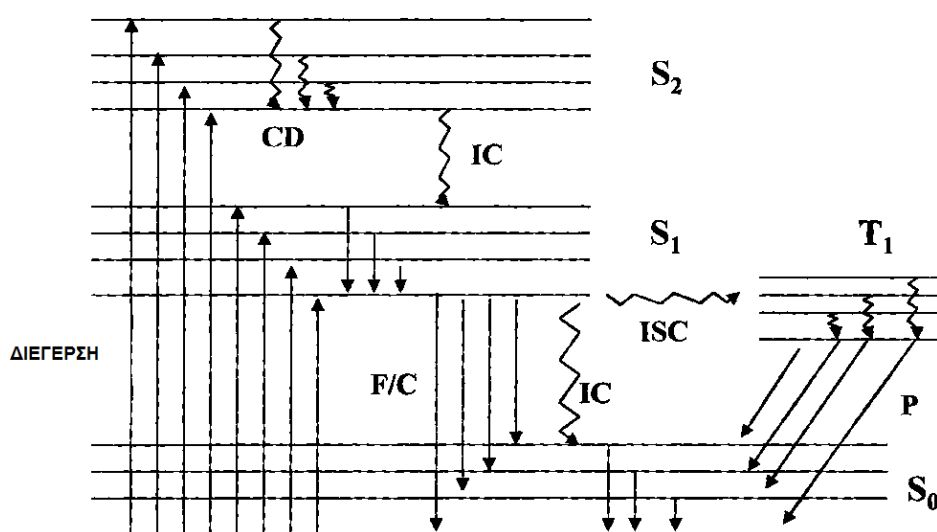
Αν η φωταύγεια προέρχεται από κάποιο είδος ακτινοβόλησης τότε διακρίνεται στα εξής είδη:

- Καθοδοφωταύγεια, με έκθεση του σώματος σε ενεργές καθοδικές ακτίνες. Στην ουσία το φως παράγεται με ενεργές καθοδικές ακτίνες.
- Ανοδοφωταύγεια, όπου το φως παράγεται λόγω ακτινοβόλησης με β σωματίδια.
- Φωτοφωταύγεια, όπου η διέγερση προκαλείται από απορρόφηση φωτονίων, δηλαδή με έκθεση του σώματος σε φωτεινή ακτινοβολία. Τέτοια φαινόμενα αποτελούν ο φωσφορισμός και ο φθορισμός[16].
- Ραδιοφωταύγεια, όπου το φως προέρχεται από έκθεση κατάλληλων υλικών σε ιονίζουσα ακτινοβολία υψηλής ενέργειας, όπως είναι οι ακτινοβολίες β και γ.

Αν το παραγόμενο φως οφείλεται σε θέρμανση, τότε αυτή μπορεί να είναι είτε θερμοφωταύγεια είτε πυροφωταύγεια[17,18,19].

1.3 Αρχές Χημειοφωταύγειας

Όπως φαίνεται στο παρακάτω σχήμα (Σχήμα 1.1), στο φθορισμό και το φωσφορισμό η ηλεκτρονικά διεγερμένη κατάσταση δημιουργείται με απορρόφηση υπεριώδους ακτινοβολίας ή ορατού φωτός και επιστρέφει στη θεμελιώδη κατάσταση (S_0) από τη χαμηλότερη απλή διεγερμένη (S_1) ή από την τριπλή διεγερμένη κατάσταση (T_1).



Σχήμα 1.1 Το διάγραμμα του Jablonski δείχνει τα ενεργειακά επίπεδα και τις μεταπτώσεις (όπου F: φθορισμός, C: χημειοφωταύγεια, P: φωσφορισμός, CD: απενεργοποίηση σύγκρουσης, IC: εσωτερική μετατροπή, ISC: ενδοσυστηματική διασταύρωση, S_0 : θεμελιώδης κατάσταση, S_1 , S_2 : απλές διεγερμένες καταστάσεις, T_1 : τριπλή διεγερμένη κατάσταση).

Επειδή η ένταση της ακτινοβολίας, ή διαφορετικά όπως ονομάζεται στην τεχνική της χημειοφωταύγειας, η ισχύς της ακτινοβολίας εκπομπής σχετίζεται με τη συγκέντρωση των συστατικών που περιλαμβάνονται στην αντίδραση της χημειοφωταύγειας, η μέτρηση των εντάσεων εκπομπής μπορεί να χρησιμοποιηθεί για αναλυτικούς σκοπούς. Ένα πλεονέκτημα των τεχνικών χημειοφωταύγειας είναι ότι απαιτείται απλή οργανολογία και το οπτικό σύστημα δε χρειάζεται εξωτερική πηγή φωτός, όπως συμβαίνει με τη φασματοφωτομετρία και τη φθορισμομετρία. Το τελευταίο έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση του θορύβου και τη βελτίωση των ορίων ανίχνευσης.

Η οργανολογία μπορεί να είναι από απλή μέχρι πολύ πολύπλοκη, όπως συμβαίνει στην περίπτωση χρήσης φθορισμόμετρου με σβηστή λάμπα ή εφαρμογή ορισμένων πιο εξελιγμένων συστημάτων.

Υπάρχουν όμως και κάποιοι αξιοσημείωτοι περιορισμοί, παρά τα πλεονεκτήματα της μεθόδου της χημειοφωταύγειας, όπως εξάρτηση της εκπομπής φωτός από διάφορους περιβαλλοντικούς παράγοντες, οι οποίοι πρέπει να ελέγχονται τακτικά, η έλλειψη εκλεκτικότητας, καθώς δεν ανιχνεύεται ένα μόνο συστατικό και η ανίχνευση του σήματος πρέπει να γίνεται σε αυστηρά καθορισμένες περιόδους σε συστήματα ροής.

Αυτό είναι απαραίτητο καθώς η εκπομπή δεν είναι διαρκής, αλλά μεταβάλλεται με την πάροδο του χρόνου (δημιουργείται φως ύστερα από την ανάμιξη των αντιδραστηρίων, η ισχύς της ακτινοβολίας φτάνει ένα μέγιστο και στη συνέχεια ελαττώνεται μέχρι τη βασική γραμμή) και αυτή η σχέση εκπομπής - χρόνου μπορεί να διαφέρει μεταξύ των συστημάτων χημειοφωταύγειας[17].

Το φαινόμενο της χημειοφωταύγειας μπορεί να λάβει χώρα με δύο μηχανισμούς(Σχήμα 1.2). Καθοριστικός παράγοντας για το ποια πορεία θα ακολουθηθεί είναι ο τρόπος σχηματισμού του διεγερμένου σωματιδίου. Έτσι, αν το σωματίδιο που εκπέμπει τελικά ακτινοβολία είναι ικανό να παράγεται σε διεγερμένη κατάσταση κατά τη διάρκεια της αντίδρασης χημειοφωταύγειας, τότε λαμβάνει χώρα ο άμεσος μηχανισμός. Στην περίπτωση που το σωματίδιο που ακτινοβολεί προϋπάρχει στο χώρο της αντίδρασης και διεγείρεται από την ενέργεια που εκλύεται από αυτήν, τότε ο μηχανισμός με τον οποίο λαμβάνει χώρα το φαινόμενο χαρακτηρίζεται ως έμμεσος. Τα αντιδρώντα είναι συνήθως ένα υπόστρωμα (αναγωγικό) και ένα οξειδωτικό και στην αντίδραση μπορεί να περιλαμβάνονται άλλοι συμπάροντες και κάποιος καταλύτης. Ο καταλύτης, που μπορεί να είναι κάποιο ένζυμο ή ιόντα μετάλλου, μειώνει την ενέργεια ενεργοποίησης και βοηθά στην αποτελεσματικότητα της αντίδρασης [17].

Η απόδοση του φαινομένου που περιγράφεται από τις αντιδράσεις (1.1) και (1.2), εξαρτάται από τις αποδόσεις των επιμέρους σταδίων της αντίδρασης χημειοφωταύγειας:

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

$$\Phi_{\text{ΔΙΕΓΕΡΣΗΣ}} = \frac{\text{Αριθμός μορίων } \Gamma^* \text{ που σχηματίζονται}}{\text{Αριθμός μορίων Α ή Β που αντιδρούν}}$$

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

Συνολικά η απόδοση της αντίδρασης χημειοφωταύγειας, $\Phi_{\text{ΧΗΜΕΙΟΦΩΤΑΥΓΕΙΑΣ}}$, εξαρτάται από το γινόμενο των αποδόσεων των τριών αυτών σταδίων, δηλαδή :

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

1.3.2 Έμμεσος μηχανισμός

Στον έμμεσο μηχανισμό (αντιδράσεις 1.3 έως 1.5 που ακολουθούν) το σωματίδιο που εκπέμπει ακτινοβολία δεν παράγεται εξ αρχής σε διεγερμένη κατάσταση κατά τη διάρκεια της αντίδρασης χημειοφωταύγειας.

Το σωματίδιο Γ^* μεταφέρει την ενέργειά του σε ένα άλλο σωματίδιο, E , το οποίο και διεγείρεται, με τελικό αποτέλεσμα το διεγερμένο σωματίδιο E^* να είναι αυτό που εκπέμπει την ακτινοβολία. Ακολουθούν οι αντιδράσεις που δείχνουν τα παραπάνω:



Στον υπολογισμό της απόδοσης για τον έμμεσο μηχανισμό θα πρέπει να ληφθεί υπ' όψη και η απόδοση της αντίδρασης μεταφοράς ενέργειας :

$$\Phi_{\text{ΜΕΤΑΦΟΡΑΣ}} = \frac{\text{Αριθμός σωματιδίων } E^* \text{ που σχηματίζονται}}{\text{Αριθμός σωματιδίων } \Gamma^*}$$

Η απόδοση της αντίδρασης αποδιέγερσης είναι ίση με :

$$\Phi_{\text{ΕΚΠΟΜΠΗΣ}} = \frac{\text{Αριθμός φωτονίων που εκπέμπονται}}{\text{Αριθμός μορίων } E^* \text{ που σχηματίζονται}}$$

Αύξηση της απόδοσης του σταδίου μεταφοράς ενέργειας μπορεί να επιτευχθεί όταν το σωματίδιο E είναι ικανό να δεχθεί την ενέργεια που απελευθερώνεται από την αντίδραση χημειοφωταύγειας. Κάτι τέτοιο μπορεί να συμβεί όταν το φάσμα διέγερσης του σωματιδίου E ταυτίζεται με το φάσμα εκπομπής του σωματιδίου Γ. Τελικά, η συνολική απόδοση της αντίδρασης της χημειοφωταύγειας είναι:

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

Σε κάθε περίπτωση, η συνολική απόδοση της αντίδρασης χημειοφωταύγειας δίνεται από τη σχέση :

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

Στην πράξη, οι αντιδράσεις χημειοφωταύγειας εμφανίζουν απόδοση από 0,01 ως 0,20 (1-20%) σε αντίθεση με τις αντιδράσεις βιοφωταύγειας των οποίων οι αποδόσεις πλησιάζουν το 1,0 (100%)[17].

1.4 Προϋποθέσεις πραγμάτωσης αντιδράσεων χημειοφωταύγειας

1.4.1 Ενεργειακές απαιτήσεις

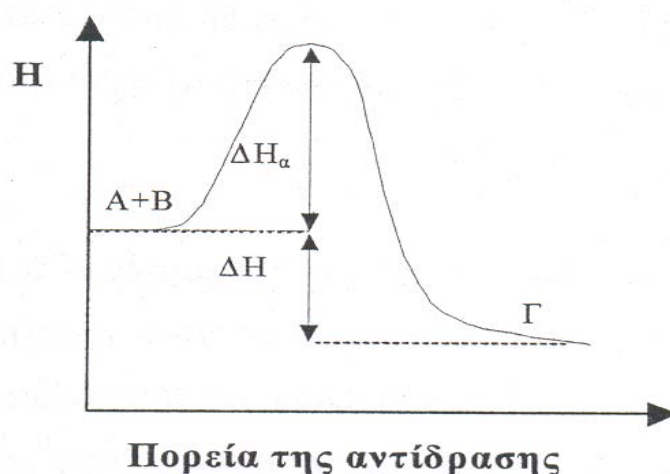
Για να παραχθεί φως από μια χημική αντίδραση, και να ανήκει στις αντιδράσεις χημειοφωταύγειας, θα πρέπει να ικανοποιούνται κάποιες απαιτήσεις:

- Η αντίδραση πρέπει να είναι εξώθερμη ώστε να παράγεται αρκετή ενέργεια για το σχηματισμό της διεγερμένης μορφής. Για να προβλεφθεί αν η αντίδραση θα πραγματοποιηθεί ή όχι, υπολογίζεται η ελεύθερη ενέργεια Gibbs(ΔG):

$$\Delta G = \Delta H - T \cdot \Delta S \quad (\text{Εξίσωση 1.1})$$

όπου T είναι η θερμοκρασία, ΔH η ενθαλπία και ΔS η εντροπία. Η ενέργεια που προκαλεί τη διέγερση του προϊόντος είναι η ενθαλπία. Για την εκκίνηση της αντίδρασης απορροφάται η ενέργεια ενεργοποίησης (ΔH_{α}). Η διαθέσιμη ενέργεια για την παραγωγή της διεγερμένης μορφής (ΔE_{ex}) πρέπει να ισούται με τη διαφορά μεταξύ της ενέργειας της αντίδρασης και της ενέργειας ενεργοποίησης. Αν αυτή η διαφορά είναι ίση ή μεγαλύτερη από την ενέργεια ΔE_{ex} , τότε είναι δυνατή μία αντίδραση χημειοφωταύγειας(Σχήμα 1.3):

$$\text{Διαθέσιμη ενέργεια} = \Delta H_{\alpha} - \Delta H \geq \Delta E_{ex} \quad (\text{Εξίσωση 1.2})$$



Σχήμα 1.3 Ενεργειακό διάγραμμα αντιδράσεων χημειοφωταύγειας

Στις αντιδράσεις χημειοφωταύγειας όπου η μεταβολή της εντροπίας είναι τόσο μικρή και οι παράμετροι ΔG και ΔH είναι παρόμοιες, θα πρέπει να επαληθεύεται η ακόλουθη αντίδραση:

$$-\Delta G \geq \frac{hc}{\lambda_{ex}} = \frac{2,86 \times 10^4}{\lambda_{ex}} \quad (\text{Εξίσωση 1.3})$$

όπου h είναι η σταθερά του Planck, c η ταχύτητα του φωτός και λ_{ex} το μήκος κύματος για την εκπομπή φωτονίου.

Οι πρόδρομες ενώσεις του μορίου που εκπέμπει το φως, πρέπει να συμμετέχουν σε μια αντίδραση η οποία απελευθερώνει μεγάλο ποσό ενέργειας. Το ποσό ενέργειας που παράγεται από το φθορισμό καθορίζει την ισχύ του φωτός που εκπέμπεται στις αντιδράσεις χημειοφωταύγειας.

Οι περισσότερες αντιδράσεις χημειοφωταύγειας παράγουν φωτόνια στην περιοχή του ορατού (400-750 nm) και για την πρόκληση διέγερσης απαιτούνται 40-70 kcal/mol. Αυτές οι εξώθερμες συνθήκες επιτυγχάνονται με τις οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις που χρησιμοποιούν οξυγόνο ή υπεροξείδιο του υδρογόνου ή οξειδωτικά παρόμοιων δυναμικών [17,18].

- Η πορεία της αντίδρασης πρέπει να ευνοεί το σχηματισμό της διεγερμένης κατάστασης. Αν η ενέργεια χαθεί με τη μορφή θερμότητας, για παράδειγμα, η αντίδραση δεν θα ανήκει στο είδος της χημειοφωταύγειας.
- Η εκπομπή φωτονίου πρέπει να είναι ευνοείται σε σχέση με άλλες ανταγωνιστικές διαδικασίες που μπορεί να εμφανιστούν σε χαμηλά ποσοστά [17].

1.4.2 Παράγοντες που επηρεάζουν την εκπομπή ακτινοβολίας

Η χημειοφωταύγεια εξαρτάται από διάφορους περιβαλλοντικούς παράγοντες και έτσι επηρεάζεται η απόδοση(ένταση εκπεμπόμενης ακτινοβολίας) και ο ρυθμός των αντιδράσεων. Οι παράγοντες αυτοί είναι οι ακόλουθοι:

- η θερμοκρασία στην οποία πραγματοποιείται η αντίδραση
- το pH της αντίδρασης
- η παρουσία ιόντων μετάλλων, ειδικά μετάλλων μετάπτωσης που επηρεάζουν την οξείδωση

- η χημική δομή των αντιδρώντων, όχι μόνο το τμήμα που περιέχει τη διεγερόμενη ομάδα αλλά και η πλευρική αλυσίδα
- η φύση και η συγκέντρωση άλλων υποστρωμάτων που επηρεάζουν την πορεία της αντίδρασης
- ο καταλύτης
- η υδροφοβικότητα του διαλύτη και η σύσταση του διαλύματος
- η παρουσία αποδεκτών μεταφοράς ενέργειας

Το περιβάλλον της αντίδρασης (π.χ. διαλύτες, ρυθμιστικά διαλύματα, συμπαράγοντες) θα πρέπει να επιδρά θετικά ενισχύοντας την εκπομπή ακτινοβολίας ή τουλάχιστον να μην ευνοεί τις αποσβέσεις.

Τα μήκη κύματος που φθορίζουν εξαρτώνται από τη δομή του μορίου. Τα μόρια που συμμετέχουν σε αντιδράσεις χημειοφωταύγειας έχουν ήδη αναχθεί και μπορούν να οξειδωθούν εύκολα, όπως για παράδειγμα, μόρια που περιέχουν αμινο-ομάδες και υδροξυ-ομάδες και πολυκυκλικά αρωματικά συστήματα. Φθορισμός παρατηρείται συχνότερα σε οργανικά μόρια με πολλαπλούς συζυγιακούς δεσμούς ή οργανικά αρωματικά μόρια με άκαμπτες διαμορφώσεις μορίων. Οι εναλλασσόμενοι διπλοί δεσμοί δίνουν δυσκαμψία στο μόριο και παρέχουν τα απαραίτητα ηλεκτρόνια για την εκπομπή της φωταύγειας. Αρωματικά μόρια με υποκαταστάτες που στρέφονται ελεύθερα τείνουν να φθορίζουν λιγότερο σε σχέση με αυτά χωρίς τέτοιους υποκαταστάτες, γιατί έτσι ευνοείται η απώλεια ενέργειας μέσω περιστροφικών ή δονητικών κινήσεων. Η μοριακή δομή έχει μεγάλη επίδραση στη θέση του φάσματος όπου θα εμφανιστεί ο φθορισμός, καθώς και στην ισχύ του φωτός.

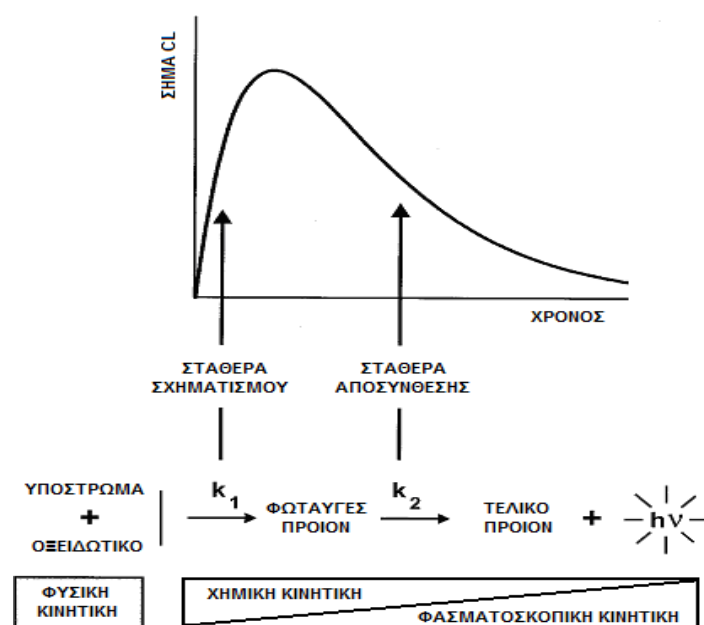
Φθοροφόρα σε διαλύτες που περιέχουν άτομα με μεγάλο ατομικό αριθμό φθορίζουν λιγότερο σε σχέση με αυτά χωρίς τέτοια άτομα [17,18].

1.4.3 Περιορισμοί κινητικής φύσεως

Η κάλυψη των ενεργειακών απαιτήσεων αποτελεί αναγκαία, όχι όμως και ικανή συνθήκη για τη δημιουργία σωματιδίων σε διεγερμένη κατάσταση. Εξίσου σημαντικό παράγοντα, για να μπορέσει ένα σωματίδιο να παραχθεί σε διεγερμένη κατάσταση, αποτελεί και ο ρυθμός με τον οποίο λαμβάνει χώρα η εξώθερμη αντίδραση. Σε αντιδράσεις που περιλαμβάνουν διάσπαση ή δημιουργία δεσμών, η ενέργεια απελευθερώνεται σταδιακά, με αργό ρυθμό, με πιθανό αποτέλεσμα να απορροφηθεί από μοριακές δονήσεις και συγκρούσεις κι έτσι να μην επαρκεί για τη διέγερση των σωματιδίων. Αντίθετα, σε αντιδράσεις που χαρακτηρίζονται από μεταφορά ηλεκτρονίων χωρίς διάσπαση ή δημιουργία δεσμών, η παραγόμενη ενέργεια προσλαμβάνεται γρήγορα από το προϊόν ή το ενδιάμεσο μόριο με τελικό αποτέλεσμα τη διέγερσή αυτού.

1.4.4 Κινητική της αντίδρασης χημειοφωταύγειας

Το τυπικό προφίλ του σήματος μιας αντίδρασης χημειοφωταύγειας (γραφική παράσταση ισχύος ακτινοβολίας – χρόνου) είναι μια κινητική καμπύλη απόκρισης που αντιστοιχεί σε δυο διαδοχικά στάδια εκ των οποίων το πρώτο είναι η δημιουργία του φωταυγούς προϊόντος με ανάμιξη των χημικών συστατικών (το υπόστρωμα και το οξειδωτικό) και το δεύτερο είναι ο σχηματισμός του τελικού προϊόντος (Σχήμα 1.4). Ο ρυθμός με τον οποίο πραγματοποιείται κάθε στάδιο εξαρτάται από τις σταθερές σχηματισμού και αποσύνθεσης της αντίδρασης, k_1 και k_2 , οι οποίες αντιστοιχούν στα τμήματα ανύψωσης και πτώσης του σήματος, αντίστοιχα. Η φυσική κινητική παίζει ρόλο στη διαδικασία πριν την ανάμιξη, ενώ η χημική και η φασματοσκοπική κινητική εμπλέκονται και στα δύο στάδια [19].



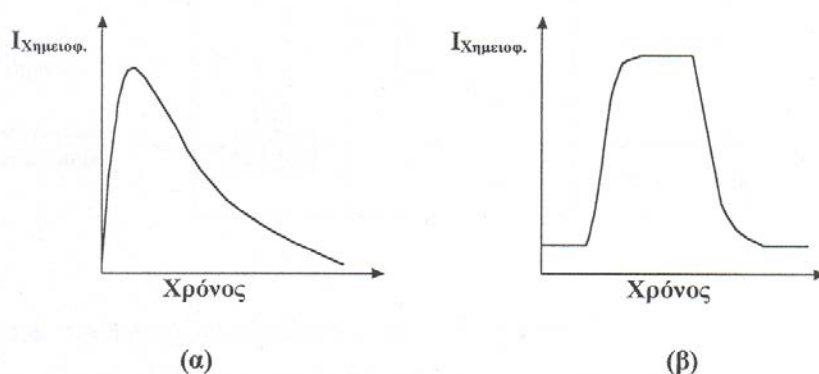
Σχήμα 1.4 Σχηματική απεικόνιση της κινητικής του λαμβανόμενου σήματος

Στις χημειοφωταυγείς αντιδράσεις, η μεταβολή της ισχύος της ακτινοβολίας, $I_{\text{χημειοφωταύγειας}}$, εξαρτάται από τη συνολική απόδοση της χημειοφωταυγούς αντίδρασης, $\Phi_{\text{χημειοφωταύγειας}}$, και από την ταχύτητα με την οποία καταναλώνεται το αντιδρών A, $-dA/dt$

$$I_{\text{χημειοφωταύγειας}} = \Phi_{\text{χημειοφωταύγειας}} \times \frac{-dA}{dt} \quad (\text{Εξίσωση 1.4})$$

Οι αντιδράσεις χημειοφωταύγειας είναι συνήθως ταχείες και η μέτρηση της ισχύος της ακτινοβολίας θα πρέπει να γίνεται κατά τη διάρκεια της εξέλιξης της αντίδρασης. Αυτό μπορεί να επιτευχθεί με δύο τρόπους:

1. Ταχεία ανάμιξη ορισμένης ποσότητας αντιδραστηρίων και μέτρηση της ισχύος της ακτινοβολίας ως συνάρτηση του χρόνου μετά την ανάμιξη. Όπως φαίνεται στο Σχήμα 1.5(α) που ακολουθεί, η ισχύς της ακτινοβολίας αυξάνει αμέσως μετά την ανάμιξη, φτάνει σε ένα μέγιστο και αρχίζει να μειώνεται έως ότου μηδενιστεί.
2. Συνεχής ανάμιξη των αντιδραστηρίων. Η ισχύς της ακτινοβολίας αυξάνεται με την πάροδο του χρόνου και λαμβάνει τη μέγιστη τιμή της, την οποία και διατηρεί κατά τη διάρκεια της ανάμιξης [Σχήμα 1.5(β)].



Σχήμα 1.5 Μεταβολή της ισχύος της εκπεμπόμενης ακτινοβολίας μιας αντίδρασης χημειοφωταύγειας ως προς το χρόνο, για ταχεία ανάμιξη ορισμένης ποσότητας των αντιδραστηρίων(α) και για συνεχή ανάμιξη των αντιδραστηρίων(β).

1.4.5 Επίδραση χημικής δομής

Στην περίπτωση που ικανοποιούνται οι παραπάνω συνθήκες, για να μπορέσει το ηλεκτρονικά διεγερμένο σωματίδιο να αποβάλλει την ενέργειά του υπό μορφή ακτινοβολίας, θα πρέπει επιπρόσθετα η χημική του δομή να ευνοεί την επαναφορά του στη θεμελιώδη κατάσταση με εκπομπή ακτινοβολίας και όχι με μη ακτινοβολούσες διαδικασίες ή τουλάχιστον να μπορεί να μεταφέρει την ενέργεια του (χημειοδιέγερση) σε άλλο φθορισμοφόρο σωματίδιο, ικανό να εκπέμψει ακτινοβολία.

- Δομική ακαμψία

Επιθυμητή είναι η ακαμψία του μορίου γιατί αποτρέπεται η απώλεια ενέργειας μέσω περιστροφικών ή δονητικών κινήσεων, ενώ παράλληλα καταλήγει σε σημαντικό διαχωρισμό της θεμελιώδους και της χαμηλότερης ενεργειακά διεγερμένης απλής κατάστασης, με αποτέλεσμα την αύξηση της κβαντικής απόδοσης της χημειοφωταύγειας. Οργανικές ενώσεις που περιέχουν πολλαπλούς συζυγιακούς δεσμούς, όπως είναι οι αρωματικές ενώσεις, είναι δυνατόν να εκπέμπουν ακτινοβολία σε χημειοφωταυγείς αντιδράσεις. Οι εναλλασσόμενοι διπλοί δεσμοί δίνουν δυσκαμψία στο μόριο και παρέχουν τα απαραίτητα ηλεκτρόνια για την εκπομπή της φωταύγειας.

- Υποκαταστάτες

Στις αρωματικές ενώσεις, η ισχύς της εκπεμπόμενης ακτινοβολίας ενισχύεται από ομάδες που δίνουν τα ηλεκτρόνια τους στο δακτύλιο (π.χ. αλκυλομάδες, $-NH_2$, $-OH$) και από υποκαταστάτη του αρωματικού δακτυλίου σε θέσεις όρθο- και πάρα-, ενώ σημαντική μείωση στην ένταση της χημειοφωταύγειας αναμένεται να επιφέρουν ομάδες δέκτες ηλεκτρονίων καθώς και μετα- (προσανατολισμένοι) υποκαταστάτες.

1.5 Χαρακτηριστικά της χημειοφωταύγειας ως αναλυτικής τεχνικής

Καθώς η ταχύτητα της αντίδρασης είναι μία συνάρτηση της συγκέντρωσης, οι τεχνικές της χημειοφωταύγειας είναι κατάλληλες για ποσοτική ανάλυση. Η χρησιμότητα των συστημάτων χημειοφωταύγειας στην αναλυτική χημεία βασίζεται σε κάποια χαρακτηριστικά, όπως καταγράφονται παρακάτω:

- Καθώς η τεχνική περιλαμβάνει ταυτόχρονα κινητικά χαρακτηριστικά και χαρακτηριστικά φωταύγειας, παρέχει υψηλή ευαισθησία. Επίσης, μπορούν να επιτευχθούν άριστα όρια ανίχνευσης, της τάξης των femtomoles, στην περίπτωση που η απόδοση της αντίδρασης (Φ_{CL}) είναι αρκετά υψηλή. Για παράδειγμα, στην αέρια φάση, τα τυπικά όρια ανίχνευσης είναι 10 pmol NO χρησιμοποιώντας όζον και 0,1 pmol για θεικές ενώσεις χρησιμοποιώντας φλόγα υδρογόνου ακολουθούμενη από όζον. Στην υγρή φάση μπορεί να ανιχνευθεί μέχρι και 1 fmol φθοροφόρου χρησιμοποιώντας σύστημα υπεροξαλικών, και 0,1 fmol υπεροξειδάσης χρησιμοποιώντας λουμινόλη. Συγκριτικά με άλλες φασματομετρικές μεθόδους, η χημειοφωταύγεια είναι 10^5 φορές περίπου πιο ευαίσθητη από τη φασματομετρία απορρόφησης και τουλάχιστον 10^3 φορές πιο ευαίσθητη από τη φθορισμομετρία.

- Συγκριτικά με τις διαδικασίες φωταύγειας, δεν απαιτείται εξωτερική πηγή φωτός, πράγμα που προσφέρει πλεονεκτήματα, όπως την απουσία σκέδασης του φωτός ή σημάτων φωταύγειας στο υπόβαθρο, την απουσία προβλημάτων που σχετίζονται με την αστάθεια της εξωτερικής πηγής, τη μείωση των παρεμποδίσεων εξαιτίας μιας μη εκλεκτικής διαδικασίας διέγερσης και τη χρήση απλής οργάνολογίας.
- Η εκλεκτικότητα και η γραμμικότητα εξαρτώνται κυρίως από την αντίδραση και τις συνθήκες αντίδρασης που έχουν επιλεγεί. Όσον αφορά τις διαδικασίες φωταύγειας, η απορρόφηση ή η εκπομπή ακτινοβολίας από τον αναλύτη ή τα προϊόντα μπορεί να προκαλέσει μη γραμμικότητα ή φασματικές παρεμποδίσεις. Η εκλεκτικότητα μπορεί να αυξηθεί με τεχνικές διαχωρισμού ή με την προκατεργασία του δείγματος.
- Η τεχνική είναι ευέλικτη για τον προσδιορισμό ποικιλίας ενώσεων, οι οποίες μπορεί να λάβουν μέρος σε μια διαδικασία χημειοφωταύγειας. Τέτοιες ενώσεις μπορούν να είναι υποστρώματα χημειοφωταύγειας ή πρόδρομες ενώσεις υπεύθυνες για την διεγερμένη κατάσταση, το απαιτούμενο αντιδραστήριο για την αντίδραση χημειοφωταύγειας (συνήθως κάποιο οξειδωτικό), ορισμένες ενώσεις που επηρεάζουν την ταχύτητα και την αποτελεσματικότητα των αντιδράσεων χημειοφωταύγειας, όπως είναι οι ενεργοποιητές, δηλαδή οι καταλύτες (ένζυμα ή ιόντα μετάλλων) ή οι παρεμποδιστές, δηλαδή οι αναγωγείς οι οποίοι αναστέλλουν την εκπομπή χημειοφωταύγειας.

Επιπροσθέτως, φθοροφόρα στην περίπτωση της ευαισθητοποιημένης χημειοφωταύγειας, κάποιες ενώσεις που δεν παρεμβαίνουν απευθείας στη αντίδραση χημειοφωταύγειας, αλλά μπορεί να αντιδράσουν με άλλα αντιδραστήρια σε αντιδράσεις σύζευξης και να δημιουργήσουν ένα προϊόν το οποίο να είναι αντιδρών στην αντίδραση χημειοφωταύγειας και ενώσεις που μπορούν να παραγωγοποιηθούν με κάποιες πρόδρομες ή φθοροφόρες ενώσεις.

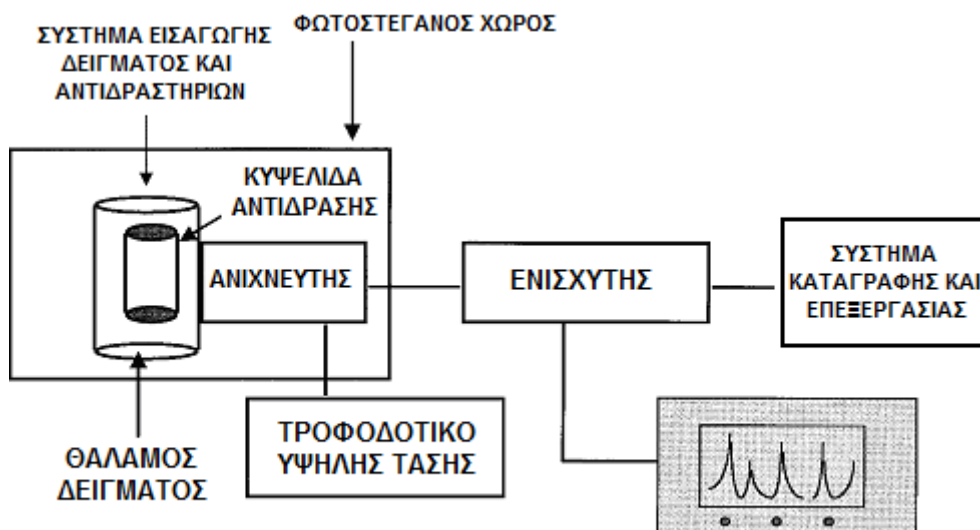
- Καθώς η τεχνική βασίζεται στη φύση του αναλύτη και της αντίδρασης χημειοφωταύγειας, η αύξηση ή μείωση της ισχύος της χημειοφωταύγειας είναι ευθέως ανάλογη της συγκέντρωσης του αναλύτη.

Οι αντιδράσεις χημειοφωταύγειας μπορεί να συζευχθούν και να χρησιμοποιηθούν ως τεχνική προσδιορισμού στη χρωματογραφία, την τριχοειδή ηλεκτροφόρηση ή την ανοσοανάλυση, παρέχοντας ποιοτικές και ποσοτικές πληροφορίες για ποικιλία ειδών σε αέρια ή υγρή φάση [17].

1.6 ΒΑΣΙΚΗ ΟΡΓΑΝΟΛΟΓΙΑ ΧΗΜΕΙΟΦΩΤΑΥΓΕΙΟΜΕΤΡΟΥ

Η μέτρηση του εκπεμπόμενου φωτός από χημικές ή βιολογικές αντιδράσεις σχετίζεται με τη συγκέντρωση των ειδών που λαμβάνουν μέρος. Ο ρυθμός παραγωγής φωτός είναι ευθέως ανάλογος με την ποσότητα του φωτός που εκπέμπεται οπότε, είναι ανάλογος και της συγκέντρωσης των συγκεκριμένων ειδών. Για αυτόν τον λόγο, η μέτρηση του φωτός είναι ένας δείκτης της ποσότητας του αναλύτη και το όργανο μέτρησης για αυτούς τους προσδιορισμούς λέγεται χημειοφωταυγειόμετρο.

Ένα από τα πιο σημαντικά πλεονεκτήματα της χημειοφωταύγειας ως αναλυτικής τεχνικής είναι η απλότητα της οργανολογίας αυτής, η οποία περιλαμβάνει κυρίως μια κυψελίδα αντίδρασης, ένα φωτοστεγανό χώρο, μια συσκευή εισαγωγής αντιδραστηρίων και δείγματος, όπου γίνεται ταυτόχρονα η ανάδευση αυτών, έναν ανιχνευτή φωτός και ένα σύστημα καταγραφής και επεξεργασίας σήματος (Σχήμα 1.6). Μέσα στο φωτοστεγανό χώρο ένας θάλαμος δείγματος συγκρατεί την κυψελίδα με το φωταυγές δείγμα μπροστά στον ανιχνευτή. Ο θάλαμος αυτός πρέπει να είναι σφραγισμένος και απομονωμένος από το περιβάλλον φως έτσι, ώστε να ελαχιστοποιηθούν οι πιθανές παρεμποδίσεις και να είναι τοποθετημένος όσο πιο κοντά γίνεται στον ανιχνευτή για τη μεγιστοποίηση της οπτικής αποτελεσματικότητας. Επιπλέον φακοί, καθρέφτες και άλλες συσκευές μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη βελτίωση της γωνίας συλλογής και την εξασφάλιση υψηλής οπτικής αποτελεσματικότητας, πράγμα που είναι επιθυμητό για τη βέλτιστη σχέση μεταξύ σήματος και θορύβου, επιτρέποντας ταχείες και ακριβείς μετρήσεις. Η ύπαρξη του φωτοστεγανού χώρου είναι απαραίτητη για τη διατήρηση του μίγματος που αποτελείται από το δείγμα και τα αντιδραστήρια της χημειοφωταύγειας σε μια συγκεκριμένη θερμοκρασία και σε απόλυτο σκοτάδι, ώστε να προσδιοριστεί από τον ανιχνευτή το εκπεμπόμενο φως. Συνήθως δεν απαιτείται μονοχρωμάτορας, καθώς η ισχύς της χημειοφωταύγειας που προκύπτει από τις ουσίες σπάνια επηρεάζει τη φασματική κατανομή του εκπεμπόμενου φωτός.



Σχήμα 1.6 Σχηματική αναπαράσταση ενός χημειοφωταυγειομέτρου.

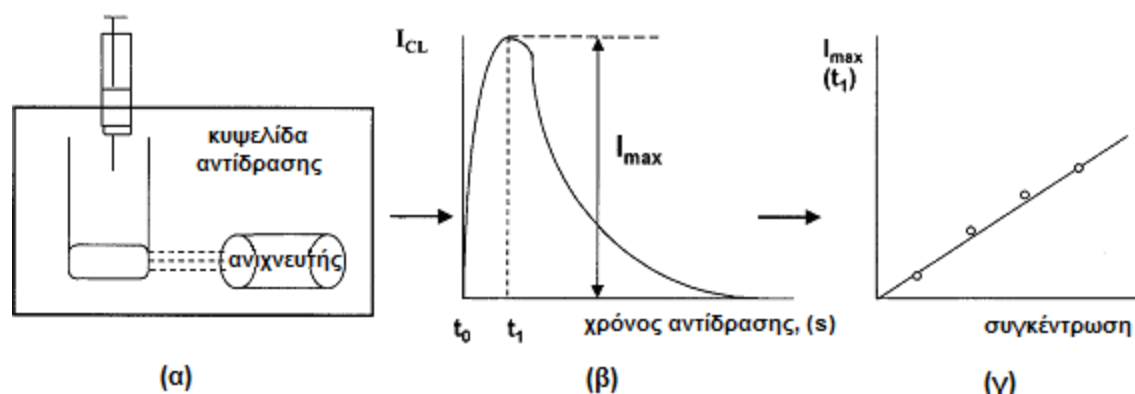
Στη χημειοφωταύγεια, έπειτα από την ανάμιξη των αντιδραστηρίων με το δείγμα, η αντίδραση ξεκινά τάχιστα και η ισχύς ακτινοβολίας που παράγεται, μειώνεται καθώς καταναλώνονται τα αντιδραστήρια. Αυτό δείχνει τον παροδικό χαρακτήρα της εκπομπής της χημειοφωταύγειας, της οποίας η κλίμακα του χρόνου εξαρτάται από τη συγκεκριμένη αντίδραση και μπορεί να ποικίλει από μία γρήγορη λάμψη έως μία συνεχή εκπομπή φωτός(συνεχής λάμψη). Το γεγονός αυτό είναι κρίσιμο για την επιλογή του πιο βολικού συστήματος εισαγωγής αντιδραστηρίων [17].

1.6.1 Σύστημα εισαγωγής δείγματος και αντιδραστηρίων

Το σύστημα εισαγωγής δείγματος και αντιδραστηρίων εξαρτάται από τη διαμόρφωση της συσκευής και τη μέθοδο της εισαγωγής τους. Τα συστήματα διακρίνονται σε στατικά (παρτίδων ή με ξεχωριστό σύστημα εισαγωγής δείγματος) και ροής, τα οποία κατανέμονται στη συνέχεια σε συστήματα συνεχούς ή διακεκομμένης ροής.

1.6.1.1 Στατικά χημειοφωταυγείόμετρα

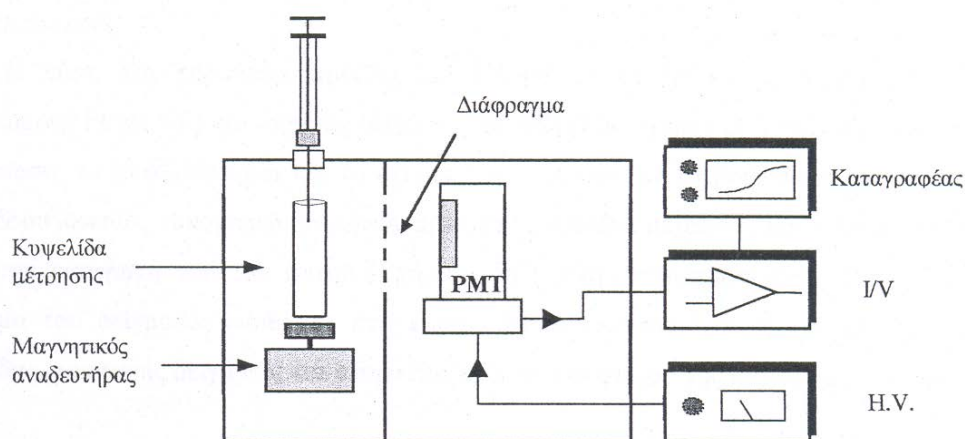
Στα στατικά συστήματα, συγκεκριμένες ποσότητες των αντιδραστηρίων και του δείγματος αναδεύονται ταχύτατα στην κυψελίδα, συχνά σε ελεγχόμενη θερμοκρασία. Συνήθως το τελικό αντιδραστήριο που εκκινεί την αντίδραση προστίθεται με σύριγγα ή χρησιμοποιώντας ένα σύστημα αυτόματης έγχυσης, ώστε να παρέχει καλύτερη επαναληψιμότητα στην τιμή της ταχύτητας, του όγκου έγχυσης και του συγχρονισμού των δεδομένων που λαμβάνονται σε σχέση με την εκκίνηση της αντίδρασης. Η ανάμιξη των αντιδραστηρίων με το δείγμα επιτυγχάνεται με την πίεση της έγχυσης, παρόλο που μπορεί να χρησιμοποιηθεί και μαγνητικός αναδευτήρας. Σ' αυτή την περίπτωση, καταγράφεται σε όλη την διάρκεια της αντίδρασης η σχέση ισχύος ακτινοβολίας - χρόνου αντίδρασης. Ανάλογα με την περίπτωση, ως αναλυτικό σήμα μπορεί να ληφθεί το μέγιστο της ισχύος, το σήμα μετά από καθορισμένο χρόνο αναμονής από το χρόνο ανάμιξης, το ολοκλήρωμα του σήματος για κάποιο χρονικό διάστημα ή το ολοκλήρωμα όλου του καταγεγραμμένου σήματος (Σχήμα 1.7).



Σχήμα 1.6 Βασικά στάδια μιας αντίδρασης χημειοφωταύγειας σε στατικό σύστημα: (α) το δείγμα και τα αντιδραστήρια εισάγονται στην κυψελίδα και το τελικό αντιδραστήριο εγχύεται ώστε να ξεκινήσει η εκπομπή ακτινοβολίας, έπειτα το φως ανιχνεύεται από τον ανιχνευτή, (β) η καμπύλη δείχνει την ισχύ της ακτινοβολίας συναρτήσει του χρόνου ύστερα από την ανάμιξη των αντιδραστηρίων (η φθίνουσα πορεία του σήματος οφείλεται στην κατανάλωση των αντιδραστηρίων και τις μεταβολές της αποδοτικότητας της ενέργειας της χημειοφωταύγειας με το χρόνο, (γ) κατασκευάζεται καμπύλη της ισχύος σε σχέση με τις αυξανόμενες συγκεντρώσεις του αναλύτη

Όλα αυτά συνδέονται με τη συγκέντρωση του αναλύτη. Αυτή η προσέγγιση χρησιμοποιείται σε εκλεκτικές αντιδράσεις στη φάση του διαλύματος δείχνοντας υψηλές ενεργειακές αποδόσεις ή εκπομπές μακράς διάρκειας, όπως σε αντιδράσεις βιοφωταύγειας, ανοσολογικής χημειοφωταύγειας ή σε ανάλυση νουκλεϊκών οξέων.

Η χρήση του στατικού χημειοφωταυγειομέτρου είναι προτιμότερη, από ότι του χημειοφωταυγειομέτρου ροής, όταν μία αντίδραση διερευνάται ώστε να βρεθούν πιθανές ιδιότητες της ως προς την χημειοφωταύγεια (Σχήμα 1.8). Το συγκεκριμένο σύστημα παρέχει το προφίλ εκπομπής της αντίδρασης καθώς και χρήσιμες πληροφορίες για την κινητική της. Είναι κατάλληλο για αντιδράσεις διαφόρων ρυθμών, αν και σε κάποιες περιπτώσεις πολύ γρήγορων αντιδράσεων η ανύψωση του σήματος στο προφίλ της αντίδρασης δεν είναι αντιπροσωπευτική του ρυθμού της. Χρησιμοποιώντας τα δεδομένα του στατικού χημειοφωταυγειομέτρου, μπορούν να προβλεφθούν με καλή ακρίβεια διάφορες παράμετροι για την εφαρμογή της ίδιας αντίδρασης σε ένα χημειοφωταυγειόμετρο ροής, σε λιγότερο χρόνο και με οικονομία διαλυτών. Γενικά, αν είναι διαθέσιμα και τα δύο συστήματα, το στατικό μπορεί να χρησιμοποιείται για την κατανόηση της αντίδρασης, ενώ το σύστημα ροής για την εφαρμογή της [17].



Σχ

ήμα 1.8 Σχηματική αναπαράσταση στατικού χημειοφωταυγειομέτρου. (I/V : μετατροπέας ρεύματος σε δυναμικό, H.V. : τροφοδοτικό υψηλής τάσης).

1.6.1.1.1 Πλεονεκτήματα στατικών χημειοφωταυγειομέτρων

Το βασικότερο πλεονέκτημα ενός στατικού χημειοφωταυγειομέτρου είναι ότι επιτρέπει την παρακολούθηση της αντίδρασης χημειοφωταύγειας από την έναρξη έως τον τερματισμό της, κάτι που αξιοποιείται για τη μελέτη της κινητικής των αντιδράσεων. Η διαδικασία αυτή επιτρέπει τη διερεύνηση νέων χημειοφωταυγών αντιδράσεων και τη μελέτη της αντίστοιχης κινητικής τους[17].

1.6.1.1.2 Μειονεκτήματα στατικών χημειοφωταυγειομέτρων

Τα στατικά συστήματα παρουσιάζουν κάποια βασικά μειονεκτήματα, όπως ακολουθούν παρακάτω:

- Μειωμένη ευαισθησία λόγω κατασκευαστικών περιορισμών. Είναι απαραίτητη η τοποθέτηση ενός διαφράγματος για να απομονώνει τον φωτοπολλαπλασιαστή κατά το άνοιγμα του χώρου για τον καθαρισμό και την πλήρωση της κυψελίδας (Σχήμα 1.8). Η απόσταση μεταξύ κυψελίδας και ανιχνευτή μειώνει σημαντικά την ευαισθησία της μέτρησης.
- Αύξηση του συνολικού χρόνου μέτρησης λόγω αναγκαιότητας καθαρισμού και νέας πλήρωσης της κυψελίδας.
- Μειωμένη επαναληψιμότητα μετρήσεων, η οποία εξαρτάται από τον όγκο του αντιδραστηρίου που εγχύεται στο σύστημα της αντίδρασης και από την ταχύτητα με την οποία γίνεται η εισαγωγή.

Έτσι, θα πρέπει η ένεση να γίνεται με την ίδια ταχύτητα κάθε φορά, πράγμα όχι τόσο εφικτό στην περίπτωση που μεσολαβεί ο ανθρώπινος παράγοντας. Ωστόσο, επαναλήψιμος όγκος και μεγαλύτερη ταχύτητα εισαγωγής αντιδραστηρίων μπορεί να επιτευχθεί με τη χρήση αυτόματου συστήματος εισαγωγής δείγματος.

- Δυσκολία μελέτης ταχέων αντιδράσεων ως άμεσο επακόλουθο της μέτρησης επαναληψιμότητας των μετρήσεων [17].

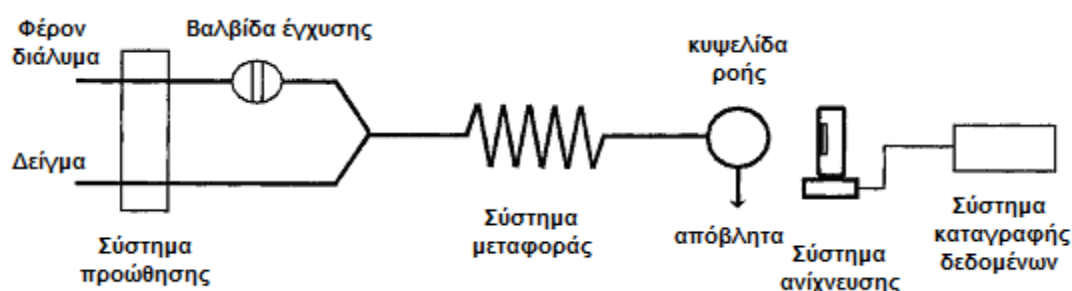
1.6.1.2 Χημειοφωταυγεία ροής

Η χημειοφωταύγεια προέρχεται συνήθως από γρήγορες αντιδράσεις, και για αυτόν τον λόγο το φαινόμενο μπορεί να πραγματοποιηθεί μόνο όταν η χημική αντίδραση ξεκινά μπροστά στον ανιχνευτή του φωτός. Έχουν γίνει πολλές αναλυτικές μελέτες για τη χημειοφωταύγεια, με χρήση τροποποιημένων φθορισμομέτρων τα οποία επιτρέπουν την ανάμιξη των αντιδραστηρίων και την έγχυση του δείγματος μέσω σύριγγας.

Με την μέθοδο ανάλυσης με έγχυση του δείγματος σε συνεχή ροή (Flow Injection Analysis, FIA) η ταχύτητα με την οποία τα διαλύματα των αντιδραστηρίων φτάνουν στον ανιχνευτή αποδείχθηκε ότι είναι η βέλτιστη δυνατή για αντιδράσεις χημειοφωταύγειας.

Οι κύριες διαφορές στην οργανολογία των συστημάτων χημειοφωταύγειας ροής είναι οι ακόλουθες:

- το σύστημα προώθησης, το οποίο ελέγχει με ακρίβεια τη ροή ενός ή περισσότερων διαλυμάτων που περιέχουν τα απαιτούμενα αντιδραστήρια για την εκκίνηση της αντίδρασης ή, σε ορισμένες περιπτώσεις, απλώς δρα ως φορέας του δείγματος, το οποίο εισάγεται στη συνέχεια στο σύστημα
- το σύστημα έγχυσης, το οποίο εισάγει το δείγμα στη ροή
- το σύστημα μεταφοράς, στο οποίο το δείγμα διασπείρεται στο φορέα και όπου μερικές φορές μπορεί να λάβουν μέρος και άλλες διαδικασίες, όπως εκχύλιση, όσμωση, αντιδράσεις ιονανταλλαγής, πριν να ξεκινήσει η αντίδραση χημειοφωταύγειας (Σχήμα 1.9).

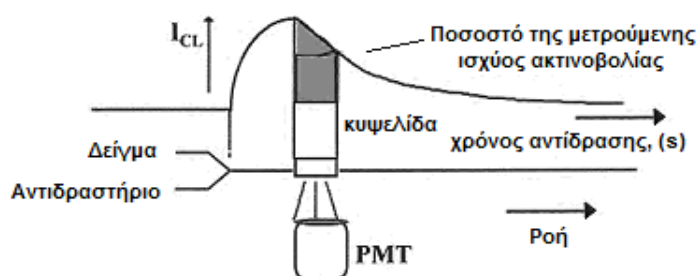


Σχήμα 1.9 Σχηματική αναπαράσταση χημειοφωταυγειομέτρου με έγχυση δείγματος εν ροή.

Τα συστήματα συνεχούς ροής χρησιμοποιούνται σε αντιδράσεις σε αέρια και υγρή φάση. Το δείγμα και τα αντιδραστήρια της χημειοφωταύγειας εγχύονται και αναμιγνύονται συνεχώς και προωθούνται προς κυψελίδα ροής ή αναμιγνύονται και παρατηρείται εκπομπή σε ενσωματωμένη κυψελίδα ροής όπου γίνεται η αντίδραση.

Το σήμα παρατηρείται όταν η κυψελίδα είναι γεμάτη με το μίγμα της αντίδρασης, σε καθορισμένο χρόνο μετά την ανάμιξη. Έτσι, είναι δυνατόν να ληφθεί συνεχές και επαναλήψιμο σήμα, που μετράται ευκολότερα, και το οποίο αντιπροσωπεύει το ολοκλήρωμα της απόδοσης προς το χρόνο παραμονής του μίγματος της αντίδρασης στην κυψελίδα. Η βέλτιστη ευαισθησία επιτυγχάνεται προσαρμόζοντας τον ρυθμό ροής και την παρατήρηση του όγκου της κυψελίδας, με στόχο το προφίλ του κλάσματος εκπομπής να απαντάται στο μέγιστο της σχέσης μεταξύ της ισχύος της ακτινοβολίας και του χρόνου.

Τα μειονεκτήματα αυτής της προσέγγισης αφορούν την υψηλή κατανάλωση αντιδραστηρίων, το γεγονός ότι δεν αποκτάται καμία πληροφορία σχετικά με την κινητική και στην περίπτωση των αργών αντιδράσεων μετράται μόνο ένα μικρό κλάσμα της συνολικής ισχύος. Η χημειοφωταυγής αντίδραση αρχίζει αμέσως μετά την ανάμιξη των αντιδραστηρίων, ενώ η μέτρηση της εκπεμπόμενης ακτινοβολίας αρχίζει τη στιγμή της εισόδου του διαλύματος στην κυψελίδα της αντίδρασης και διαρκεί όσο χρόνο το διάλυμα διέρχεται από αυτήν (Σχήμα 1.10).



Σχήμα 1.10 Σχηματική παράσταση ποσοστού μετρούμενης ακτινοβολίας σε σύστημα συνεχών μετρήσεων.

Στην περίπτωση της έγχυσης εν ροή, το ρεύμα που μεταφέρει τον αναλύτη και το ρεύμα των αντιδραστηρίων, ρέουν συνεχώς. Το δείγμα που περιέχει τον αναλύτη εγχύεται και μεταφέρεται στις ζώνες αντίδρασης και ανίχνευσης. Το σήμα λαμβάνεται ως οξεία κορυφή, η οποία αντιστοιχεί στο κλάσμα της ένωσης που περνά από την κυψελίδα. Ανάλογα με την περίπτωση, είναι δυνατή η εισαγωγή όχι μόνο του δείγματος, αλλά και άλλων αντιδραστηρίων, όπως πολύ ακριβών χημικών ουσιών. Αυτή η μεθοδολογία πλεονεκτεί ως προς τη χαμηλή κατανάλωση του αναλύτη και τον μικρότερο όγκο της κυψελίδας, οπότε αποφεύγεται η περαιτέρω αραιώση. Επιπλέον, πολύ καλή επαναληψιμότητα και ακρίβεια παρατηρούνται στις μετρήσεις του σήματος, διότι αντιστοιχούν στο ύψος της κορυφής, και είναι δυνατόν να γίνει προσαρμογή χημικών κατεργασιών σε σειρά, ώστε να βελτιωθεί η εκλεκτικότητα.

Οι προσεγγίσεις της διακεκομμένης ροής είναι ιδιαίτερα χρήσιμες για την καταγραφή πολύ γρήγορων αντιδράσεων χημειοφωταύγειας. Το δείγμα και τα αντιδραστήρια αναμιγνύονται σε θάλαμο αντίδρασης και μεταφέρονται σε κυψελίδα παρακολούθησης, στην οποία η ροή σταματά ξαφνικά, επιτρέποντας την καταγραφή της πλήρους καμπύλης της ισχύος ακτινοβολίας συναρτήσει του χρόνου στην κυψελίδα, καθώς επίσης και τη μελέτη της κινητικής της αντίδρασης. Οι μετρήσεις αυτές μπορεί να σχετίζονται με τη συγκέντρωση της ένωσης με μεγαλύτερη ακρίβεια και εκλεκτικότητα από ότι το ύψος ή το εμβαδόν της κορυφής (Σχήμα 1.10).

Σε περιπτώσεις όπου πραγματοποιείται διοχέτευση αέρα κατά διαστήματα, το σύστημα συνεχούς ροής δεν είναι κατάλληλο για τη χημειοφωταύγεια, καθώς ο χρόνος μεταξύ της ανάμιξης των αντιδραστηρίων και της διοχέτευσης του τελευταίου διαλύματος για απαέρωση πριν τη μέτρηση είναι μερικές φορές περισσότερος από τον χρόνο που απαιτείται για τη λήψη της μέγιστης ισχύος της ακτινοβολίας [20].

1.6.1.2.1 Πλεονεκτήματα χημειοφωταυγειομέτρων ροής

Τα χημειοφωταυγειόμετρα ροής πλεονεκτούν έναντι των στατικών χημειοφωταυγειομέτρων ως προς τα παρακάτω χαρακτηριστικά:

- Η κυψελίδα μέτρησης είναι τοποθετημένη πολύ κοντά στον ανιχνευτή, γεγονός που εξασφαλίζει την υψηλή ευαισθησία της μέτρησης.
- Οι μετρήσεις μπορεί να πραγματοποιηθούν πολύ γρήγορα και με ελάχιστη συμμετοχή του αναλυτή, αν το σύστημα ροής είναι προσεκτικά σχεδιασμένο και τα αντιδραστήρια εισέρχονται αυτόματα στο σύστημα στους κατάλληλους χρόνους για την επίτευξη μέγιστης ευαισθησίας.
- Με έγχυση του δείγματος σε συνεχή ροή ο χρόνος ανάλυσης είναι πολύ μικρός. Συνήθως απαιτούνται 60 s για μια πλήρη μέτρηση, πράγμα που καθιστά τη μέθοδο πολύ ελκυστική σε περιπτώσεις ανάλυσης πολλών δειγμάτων.

- Οι μετρήσεις με έγχυση δείγματος σε ροή παρουσιάζουν χαμηλές τιμές RSD για επαναλαμβανόμενες μετρήσεις, κυρίως εξαιτίας του καθορισμένου και επαναλήψιμου τρόπου εισαγωγής του δείγματος. Αυτό είναι πολύ σημαντικό για τη χημειοφωταύγεια, καθώς είναι πολύ ευαίσθητη σε διάφορους περιβαλλοντικούς παράγοντες και η ευαισθησία βασίζεται σε μεγάλο βαθμό στο ρυθμό της αντίδρασης.
- Επιτυγχάνεται μικρή κατανάλωση δείγματος. Αυτό οφείλεται στη χρήση της βαλβίδας εισαγωγής δείγματος, με την οποία προστίθεται μικρή και ελεγχόμενη ποσότητα δείγματος στο ρεύμα των υπόλοιπων αντιδραστηρίων.
- Ο συνδυασμός της μεθόδου έγχυσης δείγματος σε ροή με τη χημειοφωταύγεια παρέχει ευελιξία στη μέθοδο. Το γεγονός ότι τα αντιδραστήρια αναμιγνύονται μπροστά στον ανιχνευτή συνεχώς, έχει ως αποτέλεσμα τη δυνατότητα εφαρμογής της μεθόδου ακόμα και όταν τα αντιδραστήρια παράγουν χαμηλό σήμα στο υπόβαθρο, καθώς δεν επηρεάζουν το αναλυτικό σήμα που παράγεται από το δείγμα [20].

1.6.1.2.2 Μειονεκτήματα χημειοφωταυγειομέτρων ροής

Τα μειονεκτήματα του συνδυασμού των δύο μεθόδων συνίστανται στο ότι:

- Οι αντιδράσεις με περίπλοκη κινητική δεν είναι εύκολες στο χειρισμό, καθώς η συσχέτιση του ύψους της κορυφής με τη συγκέντρωση του αναλύτη δεν είναι πάντα γραμμική.

- Μπορεί να προκύψουν υδροδυναμικά προβλήματα και διατάραξη της ροής όταν εισάγονται διαλύματα διαφορετικών ιδιοτήτων (πυκνότητα και ιξώδες) στο σύστημα.
- Τα συστήματα εν ροή δεν είναι κατάλληλα για διερεύνηση συστημάτων χημειοφωταύγειας και κινητικές μελέτες αντιδράσεων, καθώς δεν επιτρέπουν παρατήρηση του ολικού προφίλ της εκπομπής μιας αντίδρασης, πράγμα που σημαίνει ότι σε περιπτώσεις πολύ γρήγορων ή πολύ αργών αντιδράσεων το σύστημα εν ροή μπορεί να οδηγήσει σε εσφαλμένα συμπεράσματα.
- Γίνεται μεγάλη κατανάλωση αντιδραστηρίων.

Παρόλα τα μειονεκτήματα, ο συνδυασμός της έγχυσης δείγματος σε ροή με τη χημειοφωταύγεια είναι ένα ισχυρό εργαλείο για την εκμετάλλευση των πλεονεκτημάτων και των δύο αυτών τεχνικών [20].

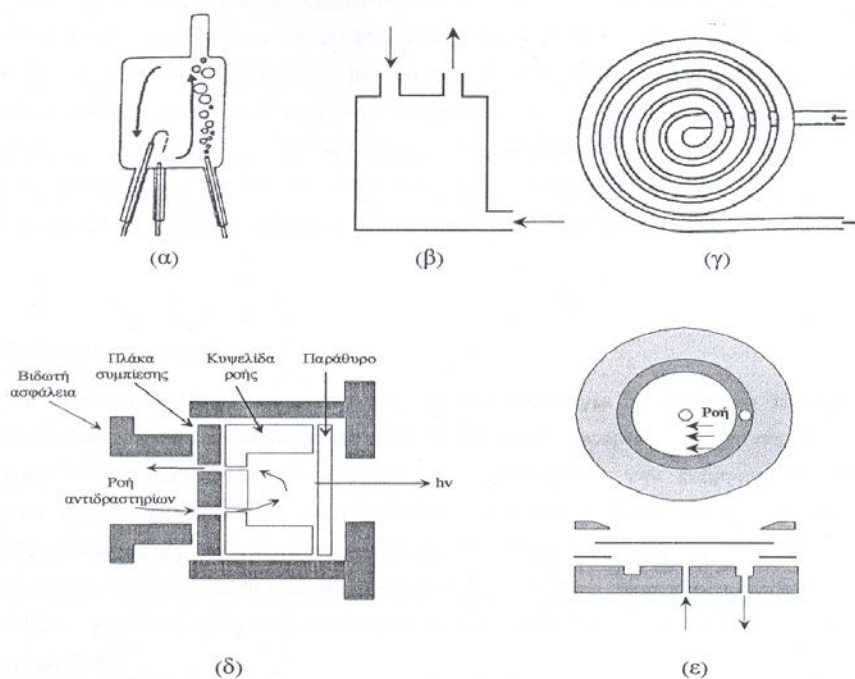
1.6.2 Κυψελίδα αντίδρασης

Ανάλογα με την αντίδραση χημειοφωταύγειας που πραγματοποιείται σε υγρή, αέρια ή στερεή φάση, είναι δυνατόν να χρησιμοποιηθούν διαφορετικές κυψελίδες. Η σημαντικότερη απαίτηση για το σχεδιασμό τους είναι ότι η μέγιστη τιμή ισχύος ακτινοβολίας πρέπει να επιτυγχάνεται, ενώ το ρεύμα που περιέχει τον αναλύτη και τα αντιδραστήρια της χημειοφωταύγειας, βρίσκονται μπροστά στον ανιχνευτή. Αποτελεί πολύ σημαντική μεταβλητή καθώς, και στις στατικές και στις εν ροή μεθόδους, το μέγεθος της ισχύος της ακτινοβολίας είναι ανάλογο του όγκου της κυψελίδας.

Είναι δυνατόν να χρησιμοποιηθεί οποιοδήποτε υλικό διαπερνάται από φως της ορατής περιοχής και είναι συμβατό με το δείγμα, όπως είναι το γυαλί, χαλαζίας, ακόμη και ακρυλικό ή άλλα πλαστικά. Το πολυστυρένιο δεν συνιστάται, διότι μπορεί να δημιουργήσει στατικό ηλεκτρισμό, ο οποίος πιθανόν να συνεισφέρει σε αυξημένα επίπεδα ακτινοβολίας υποβάθρου. Περισσότερο διαπερατά υλικά κυψελίδων επιτρέπουν διέλευση περισσότερου φωτός μέχρι τον ανιχνευτή κι έτσι καλύτερα όρια ανίχνευσης.

Στην περίπτωση των μετρήσεων στη χημειοφωταύγεια ροής σε υγρή φάση, η κυψελίδα που χρησιμοποιείται περισσότερο έχει σχήμα μακριάς σπείρας (1 cm) και τοποθετείται όσο γίνεται πιο κοντά στον ανιχνευτή. Απαιτείται μεγάλος όγκος εξαιτίας της ανάγκης να συλλέγεται μεγαλύτερη ποσότητα εκπεμπόμενου φωτός, κι επειδή το μικρό πάχος που απαιτείται (50-100 μm) ελαχιστοποιεί τη διεύρυνση ζώνης και παρέχει στενή οπτική διαδρομή, ώστε να μειωθούν οι επιδράσεις του εσωτερικού φιλτραρίσματος. Για τη μείωση της διασποράς του δείγματος, η βαλβίδα έγχυσης και η κυψελίδα συνήθως τοποθετούνται όσο πιο πλησιέστερα γίνεται. Είναι επίσης σημαντικός ο μικρός “νεκρός όγκος” της κυψελίδας ώστε να επιτυγχάνεται τόσο καλή έκπλυση της κυψελίδας μεταξύ των μετρήσεων, αλλά και καλή επαναληψιμότητα όσον αφορά την ανάμιξη των αντιδραστηρίων μέσα σε αυτή.

Σε ετερογενή δείγματα τα αντιδραστήρια μπορούν να δεσμευτούν πάνω σε μια στερεή επιφάνεια, είτε ομοιοπολικά, πίσω από μία μεμβράνη, είτε με απορρόφηση, και μπορούν να αλληλεπιδράσουν με τον αναλύτη μέσω διάχυσης ή συναγωγής. Σε αντιδράσεις σε υγρή φάση το δείγμα και τα αντιδραστήρια ρέουν στο σημείο αντίδρασης και η ακτινοβολία που παράγεται παρακολουθείται από τον ανιχνευτή μέσω οπτικού παραθύρου [17].



Σχήμα 1.11 Διαγράμματα κυψελίδων ροής: (α) κυψελίδα με ρεύμα αέρα για ανάδευση, (β) κυψελίδα με αντίρροπες εισόδους, (γ) κυκλικό σπείραμα, (δ) κυψελίδα μεταβλητού όγκου, (ε) κυψελίδα πίδακα.

Οι πρώτες κυψελίδες ροής ήταν τροποποιημένες κυψελίδες στατικών χημειοφωταυγειομέτρων με διαβίβαση φυσαλίδων αέρα για την επίτευξη πλήρους ανάμιξης των αντιδραστηρίων [Σχήμα 1.6(α)] [21]. Η ανάγκη τροποποίησης αυτού του τύπου κυψελίδας προήλθε από την παρεμπόδιση των μετρήσεων που προκαλούσε η παρουσία φυσαλίδων. Έτσι, προέκυψε η πρώτη κυψελίδα που χρησιμοποιήθηκε σε τεχνική έγχυσης δείγματος σε ροή [22], όπου η εισαγωγή των αντιδραστηρίων γινόταν από διαφορετικές πλευρές για καλύτερη ανάμιξη αυτών, ενώ ένα άνοιγμα στην επιφάνεια της κυψελίδας εξυπηρετούσε την απομάκρυνση των αποβλήτων από αυτήν [Σχήμα 1.6(β)] [22].

Πολύ γρήγορα χρησιμοποιήθηκε μια σχεδόν επίπεδη κυψελίδα ροής με δυνατότητα μεταβολής των διαστάσεων και του όγκου της. Οι κυψελίδες αυτές παρείχαν ομαλή ροή ενώ συγχρόνως εξάλειφαν φαινόμενα σκέδασης της ακτινοβολίας [Σχήμα 1.6(δ)] [10]. Η είσοδος των επιπέδων κυκλικών σπειραμάτων [Σχήμα 1.6(γ)] [22,24] έφερε την επανάσταση στην ανάπτυξη των συστημάτων έγχυσης δειγμάτων σε ροή για χημειοφωταύγεια. Χάρη στην διαμόρφωση τους, οι κυψελίδες αυτές μπορούν να τοποθετηθούν πολύ κοντά στον ανιχνευτή και να βελτιώσουν σημαντικά την ευαισθησία της μέτρησης. Εξ' αιτίας του κυλινδρικού σχήματος τους μόνο ένα μικρό ποσοστό της εκπεμπόμενης ακτινοβολίας προσπίπτει στον ανιχνευτή και μετρείται ενώ το υπόλοιπο χάνεται, εκπεμπόμενο προς άλλες κατευθύνσεις.

Η τελευταία ανακάλυψη στον χώρο των κυψελίδων ροής έγκειται στις κυψελίδες πίδακα, οι οποίες λόγω της μεγάλης τους επιφάνειας συμβάλλουν στην ανίχνευση περισσότερης ακτινοβολίας.

Κατασκευαστικοί περιορισμοί επιβάλλουν την οριζόντια τοποθέτηση αυτού του τύπου κυψελίδων προς αποφυγή προβλημάτων κατά την ανάμιξη και τη διασπορά του διαλύματος λόγω βαρύτητας [Σχήμα 1.6(ε)] [24].

1.6.3 Σύστημα ανίχνευσης

Τα συστήματα ανίχνευσης που χρησιμοποιούνται για τη μέτρηση της ακτινοβολίας που εκπέμπεται από μια χημειοφωταυγή αντίδραση βασίζονται κυρίως στη χρήση οπτικών ανιχνευτών. Οι οπτικοί ανιχνευτές είναι μεταλλάκτες που μετατρέπουν την ενέργεια της ακτινοβολίας σε ηλεκτρικό σήμα (μεταλλάκτες ακτινοβολίας σε ρεύμα). Στην κατηγορία αυτή ανήκουν οι φωτοπολλαπλασιαστές, οι ανιχνευτές ακτινοβολίας που η λειτουργία τους βασίζεται στη χρήση ημιαγωγών και οι φωτοδιόδοι κενού. Οι ανιχνευτές, ωστόσο, που χρησιμοποιούνται κυρίως στις αντιδράσεις χημειοφωταύγειας μονοπωλούνται από τους φωτοπολλαπλασιαστές (PMT, Photomultipliers). Η λειτουργία των τελευταίων βασίζεται στη χρήση ημιαγωγών, και είναι το είδος ανιχνευτών που χρησιμοποιείται στη χημειοφωταύγεια, εξαιτίας των μεγάλων αποδόσεών τους που τους κάνουν κατάλληλους για ανίχνευση ακτινοβολίας σε χαμηλά επίπεδα.

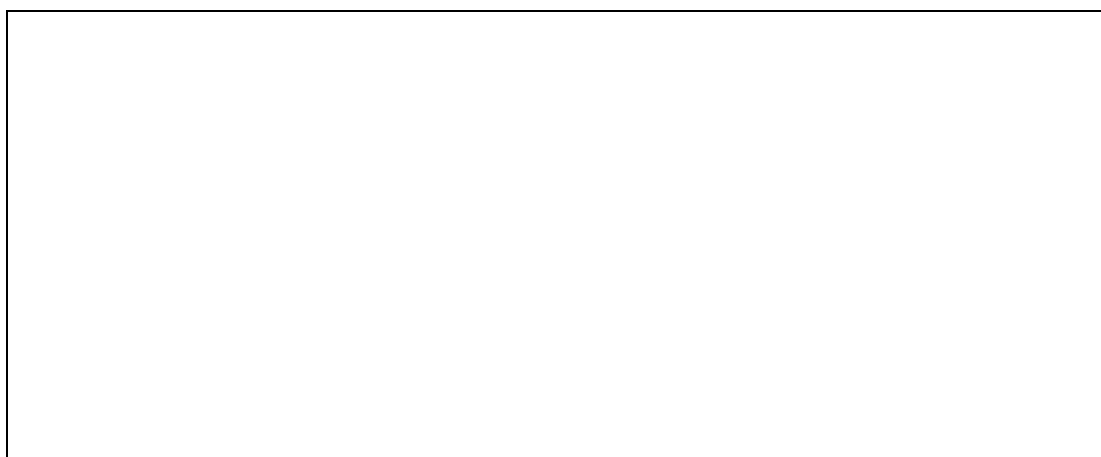
Υπάρχουν τέσσερις απαιτήσεις για τον ανιχνευτή:

- Πρέπει να μπορεί να ανιχνεύσει ένα σήμα ακτινοβολίας για αρκετές τάξεις μεγέθους ισχύος (από μερικά φωτόνια το δευτερόλεπτο μέχρι δεκάδες εκατομμύρια φωτόνια το δευτερόλεπτο).
- Πρέπει να είναι ευαίσθητος τουλάχιστον για το φάσμα των 400-600 nm και ιδανικά για το ολικό φάσμα του ορατού (380-750 nm), ακόμα και για τις περιοχές του υπεριώδους και του υπερύθρου. Όταν η ευαισθησία του διαφέρει ανάλογα με το μήκος κύματος, όπως συμβαίνει συνήθως, πρέπει να είναι δυνατό να διορθωθούν τα δεδομένα από αυτή την άποψη.
- Το σήμα που παράγεται και παρουσιάζεται από τον ανιχνευτή πρέπει να είναι ευθέως ανάλογο της ισχύος του φωτός που καταλήγει σε αυτόν, και ιδανικά η σχέση αυτή να είναι γραμμική σε όλο το εύρος ευαισθησίας.
- Η ταχύτητα της απόκρισης του ανιχνευτή πρέπει να είναι πολύ ταχύτερη από ότι ο ρυθμός της αντίδρασης [17].

1.6.3.1 Φωτοπολλαπλασιαστές

Κάθε φωτοπολλαπλασιαστής αποτελείται από μια φωτοευαίσθητη κάθοδο (φωτοκάθοδος) και μία άνοδο (δύνοδος εξόδου) μεταξύ των οποίων παρεμβάλλονται 9-16 ηλεκτρόδια που καλούνται δύνοδοι. Η λειτουργία του φωτοπολλαπλασιαστή βασίζεται στο φωτοηλεκτρικό φαινόμενο.

Έτσι, όταν ένα φωτόνιο προσπέσει στη φωτοκάθοδο αυτού, παρέχει ενέργεια σε ένα από τα ηλεκτρόνια της και προκαλεί την απόσπαση του από αυτήν. Το ηλεκτρόνιο αυτό επιταχύνεται από το πεδίο μεταξύ της καθόδου και της πλησιέστερης δυνόδου, και οδεύει προς αυτήν όπου και αποσπά πολλαπλάσιο αριθμό ηλεκτρονίων και αυτά με τη σειρά τους προκαλούν την απόσπαση ακόμη περισσότερων από τη δεύτερη δύνοδο, κι έτσι αυτή η διαδικασία επαναλαμβάνεται και πάλι. Επειδή, κάθε δύνodos βρίσκεται σε θετικότερο, κατά 30-100 V, δυναμικό από την προηγούμενη, η διαδικασία αυτή συνεχίζεται μέχρις ότου τα ηλεκτρόνια φτάσουν στην άνοδο. Έτσι, από ένα φωτόνιο που προσπίπτει στην φωτοκάθοδο παράγονται 10^4 - 10^7 ηλεκτρόνια που φτάνουν στην τελευταία άνοδο του φωτοπολλαπλασιαστή, αποτελώντας το σήμα εξόδου του, γνωστό ως φωτόρρευμα (Σχήμα 1.12).



Σχήμα 1.12 Σχηματική διάταξη φωτοπολλαπλασιαστή

1.6.3.1.1 Παράγοντες που επιδρούν στην απόκριση του φωτοπολλαπλασιαστή

Η συνολική απόδοση, K , σε ηλεκτρόνια ενός φωτοπολλαπλασιαστή δίνεται από την ακόλουθη σχέση: $K = (f)^n$

όπου, f είναι μία σταθερά, εξαρτώμενη από το υλικό των δυνόδων και τη διαφορά δυναμικού που εφαρμόζεται και n είναι ο αριθμός των δυνόδων [10,11,17,21-23,25].

- Τάση τροφοδοσίας

Το δυναμικό καθορίζει σε μεγάλο βαθμό την απόκριση του φωτοπολλαπλασιαστή. Αύξηση της διαφοράς δυναμικού επιφέρει αύξηση στην σταθερά f άρα και στην απόδοση αυτού. Υπερβολική αύξηση της τάσης τροφοδοσίας προκαλεί αύξηση του σκοτεινού ρεύματος που οφείλεται στη θερμική διέγερση και απόσπαση ηλεκτρονίων από τη φωτοκάθοδο. Επομένως, η επιλογή του κατάλληλου δυναμικού είναι υψίστης σημασίας προκειμένου να βελτιστοποιηθεί ο λόγος σήμα προς θόρυβο.

- Ισχύς προσπίπτουσας ακτινοβολίας

Οι φωτοπολλαπλασιαστές είναι ευαίσθητοι στην έκθεση σε φως δωματίου με αποτέλεσμα είτε να παρατηρείται μείωση του χρόνου απόκρισης τους είτε ακόμη και ολική καταστροφή τους. Έτσι, όταν ένας φωτοπολλαπλασιαστής, που τροφοδοτείται με υψηλή τάση, έρθει σε απ' ευθείας επαφή με φως δωματίου μπορεί να καταστραφεί, ενώ ακόμα και με χαμηλή τάση τροφοδοσίας απαιτείται αρκετός χρόνος προκειμένου να επανέλθει σε κανονική κατάσταση λειτουργίας.

- Θερμοκρασία [26-28]

Αύξηση της θερμοκρασίας κατά 10% προκαλεί διπλασιασμό του σκοτεινού ρεύματος, γεγονός που περιορίζει την χρήση του φωτοπολλαπλασιαστή σε χαμηλές θερμοκρασίες ή σε περιβάλλον ελεγχόμενης θερμοκρασίας.

1.6.4 Σύστημα καταγραφής και επεξεργασίας σήματος

Η έξοδος του φωτοπολλαπλασιαστή παρέχει ηλεκτρικό ρεύμα, το οποίο μετατρέπεται αρχικά σε διαφορά δυναμικού με τη βοήθεια ενός απλού μετατροπέα ρεύματος σε δυναμικό (I/V μετατροπέας). Μετά από ενίσχυση του δυναμικού, το αναλογικό σήμα είτε οδηγείται σε έναν απλό καταγραφέα όπου και καταγράφεται, είτε μετατρέπεται σε ψηφιακό γιατί έτσι μπορεί να επεξεργαστεί με ψηφιακές μεθόδους μεγαλύτερης ακρίβειας ή με ηλεκτρονικό υπολογιστή. Στην περίπτωση αυτή υπάρχει η δυνατότητα αυτοματοποίησης της μεθόδου ενώ παράλληλα επιτρέπεται η αποθήκευση της ψηφιακής πληροφορίας για περαιτέρω επεξεργασία του σήματος[17].

Συνοψίζοντας όσα αναφέρθηκαν στο υποκεφάλαιο 1.6, προκύπτει ότι η επιλογή της οργανολογικής διάταξης εξαρτάται από τον επιδιωκόμενο αναλυτικό σκοπό. Έτσι, όταν πρόκειται να γίνει θεωρητική μελέτη μιας αντίδρασης χημειοφωταύγειας ή να συλλεχθούν πληροφορίες για την κινητική αυτής, τότε προτιμάται η διάταξη του στατικού χημειοφωταυγειομέτρου, με την οποία μπορεί να καταγραφεί η μεταβολή της ισχύος της ακτινοβολίας ως συνάρτηση του χρόνου όλης της αντίδρασης, επιτρέποντας έτσι τη μελέτη ακόμα και ταχέων αντιδράσεων χημειοφωταύγειας.

Από την άλλη πλευρά, η διάταξη της τεχνικής έγχυσης δείγματος σε ροή ενδείκνυται για γρήγορους προσδιορισμούς ενός ή δύο ουσιών (μεταλλοϊόντα, οργανικές ενώσεις) σε ένα μεγάλο αριθμό δειγμάτων.

1.7 Εφαρμογές της χημειοφωταύγειας

Τα τελευταία χρόνια το ενδιαφέρον της αναλυτικής χημείας για τα συστήματα χημειοφωταύγειας αυξάνεται διαρκώς, κυρίως όμως για την αέρια και την υγρή φάση. Ο πίνακας 1.1, που παρατίθεται παρακάτω, παρουσιάζει μερικές από τις εφαρμογές των περισσότερο χρησιμοποιούμενων συστημάτων χημειοφωταύγειας.

Από την οξείδωση αρκετών στερεών οργανικών ενώσεων προκύπτει ασθενής εκπομπή ακτινοβολίας, και γι' αυτό η μέτρησή της μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως δείκτης μετατροπών στη σύσταση των υλικών, εξαιτίας των διαδικασιών οξείδωσης, και για την εκτίμηση σταθεροποιητών που προορίζονται για την παρεμπόδιση ή την καθυστέρηση αυτών των αλλοιώσεων, λόγω οξείδωσης. Μερικά παραδείγματα υλικών που μπορούν να χαρακτηριστούν από εκπομπή φωτός είναι τα πολυμερή που έχουν αλλοιωθεί εξαιτίας καιρικών συνθηκών, έκθεσης σε θερμότητα ή ιονική ακτινοβολία, καθώς και συστατικά τροφών που έχουν υποστεί γευστικές αλλοιώσεις [17].

Μελέτη Προ-οξειδωτικής Δράσης Αμινοαλκοολών με τη Μέθοδο της Χημειοφωταύγειας

Φάση	Αντιδραστήριο	Αναλύτης
Αέρια	Αιθυλένιο	O ₃
Αέρια	O ₃	Υδρογονάνθρακες, NO
Αέρια	O ₃ μετά από μετατροπή του αναλύτη προς NO	Νιτροζαμίνες
Αέρια	Φλόγα H ₂	Ενώσεις θείου
Αέρια	Φλόγα H ₂ ακολουθούμενη από O ₃	Ενώσεις θείου
Υγρή	Λουμινόλη και παράγωγα	Μεταλλικά ιόντα και σύμπλοκα (Co(II), Cu(II), Fe(III), Zn(II), Cd(II), Mn(II), Cr(III), Cr(IV), Pt(IV), ClO ⁻ , Fe(CN) ₆ ⁻³), ενώσεις αίμης, υπεροξειδάσες, οξειδωτικά (H ₂ O ₂ , O ₂ , I ₂ , κλπ), παρεμποδιστές (Ag(I), Ce(IV), Ti(IV), V(V)), ενώσεις που οξειδώνονται εύκολα και προσδιορίζονται έμμεσα (ασκορβικό οξύ, καρβοξυλικά οξέα, αμίνες, κλπ), ενώσεις που μετατρέπονται σε H ₂ O ₂ (γλυκόζη, κλπ), επισημασμένες ενώσεις με λουμινόλη και παράγωγά της
Υγρή	Εστέρες ακριδινίου	Επισημασμένες ενώσεις με εστέρες του ακριδινίου, ιόντα (Ag(I), Bi(III), Pb(II), Co(II), Cr(III), Cu(II), Fe(III), Mn(II), κλπ), οξειδωτικά (H ₂ O ₂ , O ₂ , κλπ), ενώσεις που μετατρέπονται σε H ₂ O ₂ , αναγωγικά (Cr(II), Fe(II), Mo(V), ασκορβικό οξύ, τετρακυκλίνες, σάκχαρα, κλπ)
Υγρή	τρεις (2,2'-διπυριδινό)-ρουθίνιο	Αλειφατικές αμίνες
Υγρή	Υπεροξοξαλικά	Οξειδωτικά (H ₂ O ₂ , κλπ), φθοροφόρα (πολυκυκλικοί αρωματικοί υδρογονάνθρακες, κλπ), ενώσεις παραγωγοποιημένες με φθοροφόρα (αμινοξέα, στεροειδή, αλειφατικές αμίνες, καρβοξυλικά οξέα, κατεχολαμίνες, κλπ)
Υγρή	Απευθείας οξείδωση με MnO ₄ ⁻ , ClO ⁻ , Ce(IV), IO ₄ ⁻ , κλπ	Διάφορα μόρια (για φαρμακευτικές εφαρμογές)
Στερεή	O ₂ και θέρμανση	Πολυμερή

Πίνακας 1.1 Κυριότερες εφαρμογές συστημάτων χημειοφωταύγειας

1.7.1 Χημειοφωταύγεια λουμινόλης σε ανόργανα συστήματα

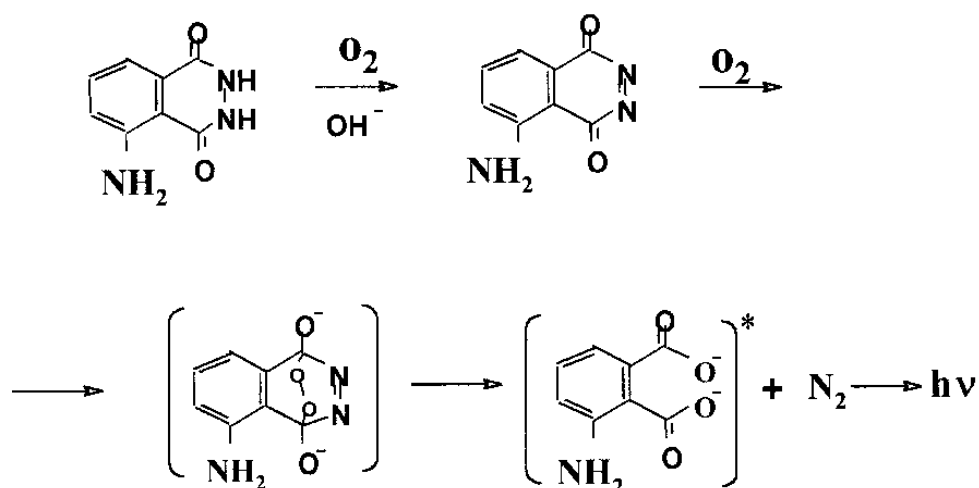
Οι ανόργανες ενώσεις προσδιορίζονται κυρίως βάσει της καταλυτικής τους επίδρασης στις αντιδράσεις χημειοφωταύγειας. Έτσι, έχει ερευνηθεί ο προσδιορισμός των ιόντων με βάση την παρεμπόδιση της κατάλυσης της αντίδρασης. Επιπλέον, έχουν προσδιοριστεί περισσότερα από 20 ιόντα μετάλλων και κάποιες μη μεταλλικές ενώσεις, με πολύ υψηλή ευαισθησία αλλά μικρή εκλεκτικότητα, καθώς διάφορα ιόντα μετάλλων μπορεί να καταλύουν την ίδια αντίδραση. Το πιο χρήσιμο, ευέλικτο και αποτελεσματικό σύστημα χημειοφωταύγειας για τον προσδιορισμό ανόργανων ιόντων είναι η αντίδραση λουμινόλης, παρόλο που το συγκεκριμένο σύστημα έχει το μειονέκτημα της μικρής εκλεκτικότητας για ορισμένα ιόντα μετάλλων. Παρόλα αυτά δεν υπάρχει ακόμα κανένα σύστημα χημειοφωταύγειας το οποίο να υπερέχει σε ευαισθησία, από το σύστημα της λουμινόλης για τα ιόντα των μετάλλων.

Πρέπει να αναφερθεί ότι με διάφορα συστήματα χημειοφωταύγειας λουμινόλης έχουν προσδιοριστεί ιόντα όπως Ag(I), As(V), As(III), Au(III), Co(II), Cr(III), Cu(II), Fe(III), Fe(II), Hg(II), Ir(III), Mn(II), Ni(II), Os(VIII), Pb(II), Ru(III), Rh(III), Si(IV), Cl₂, Br₂, I₂, NO₂ και CN⁻, με όρια ανίχνευσης μεταξύ 0,0015 ng/ml [για το Cr(III)] έως 1000 ng/ml [για το Pb(II)]. Επιπλέον, με χημειοφωταύγεια λουμινόλης βάσει αντίδρασης αναγωγής έχουν προσδιοριστεί ιόντα όπως Cr(VI), Fe(III), Mo(VI), Ti(IV), U(VI), V(V), W(VI) και Sn(IV) [17].

1.7.2 Χημειοφωταύγεια λουμινόλης και άλλων ακυλδραζιδίων σε οργανικά συστήματα

Η εκπομπή ακτινοβολίας στη χημειοφωταύγεια μπορεί να χαρακτηριστεί από τις ακόλουθες τέσσερις παραμέτρους, το χρώμα, την ισχύ, τον ρυθμό παραγωγής και την απόσβεση ισχύος της ακτινοβολίας.

Η οξείδωση της λουμινόλης (5-αμινο-2,3-διυδρο-1,4-φθαλαζινοδίωνη) είναι πιθανώς η πιο γνωστή και η ευκολότερα εκτελέσιμη αντίδραση. Παρόλο που η λουμινόλη ήταν γνωστή από το 1902, μόλις το 1913 οι Curtuis και Semper ανακάλυψαν ότι η ουσία αυτή ήταν χημειοφωταυγής. Διαπίστωσαν ότι όταν η λουμινόλη διαλυθεί σε διάλυμα υδροξειδίου του νατρίου και οξειδωθεί από διάλυμα υποχλωριώδους νατρίου ή υπεροξειδίου του υδρογόνου, εκπέμπει έντονο πρασινωπό φως, φωτεινότερο από το φως οποιασδήποτε προηγουμένως γνωστής αντίδρασης (Σχήμα 1.13). Η αντίδραση χημειοφωταύγειας συχνά εμφανίζεται παρουσία καταλύτη (ή συμπαραγόντα) όπως $\text{Fe}(\text{CN})_6^{-3}$, $\text{Cu}(\text{II})$, ή $\text{Co}(\text{II})$. Η εκπομπή φωτός έχει μπλε χρώμα σε νερό, και κίτρινο - πράσινο σε DMSO. Πρέπει να τονιστεί ότι η χημειοφωταύγεια της λουμινόλης οφείλεται στο σχηματισμό του διεγερμένου 3-αμινοφθαλικού οξέος (3-APA), το οποίο αποδιεγείρεται και εκπέμπει ακτινοβολία.



Σχήμα 1.13 Μηχανισμός της χημειοφωταυγούς αντίδρασης της οξείδωσης της λουμινόλης για την παραγωγή φωτός

Η οξείδωση της λουμινόλης σε αλκαλικές συνθήκες είναι μία από τις πιο γνωστές, και περισσότερο αποτελεσματικές αντιδράσεις χημειοφωταύγειας. Έπειτα από μελέτες της συγκεκριμένης αντίδρασης, βρέθηκε ότι η παραγωγή φωταύγειας από τη λουμινόλη ακολουθεί το σχηματισμό ιόντος λουμινόλης (L^{2-}), το οποίο αντιδρά με οξυγόνο ή άλλο οξειδωτικό παράγοντα και έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία του διεγερμένου αμινοφθαλικού ιόντος, το οποίο είναι υπεύθυνο για την εκπομπή του φωτός, όπως φάνηκε και στο παραπάνω σχήμα. Ο Πίνακας 1.2, που ακολουθεί, δείχνει διάφορα οξειδωτικά συστήματα τα οποία αντιδρούν με τη λουμινόλη και παράγουν φως.

Οξειδωτικός παράγοντας	Καταλύτης/Συμπαράγοντας
H_2O_2	$H_2S_2O_8$, υπεροξειδάση, σιδηροκυανιούχα ιόντα, ενώσεις αίμης, ιόντα μετάλλων μετάπτωσης (Co^{+2} , Cu^{+2} , Cr^{+3} , Ni^{+2} , Fe^{+2} , VO^{+2}), υποχλωριώδη
O_2	Σιδηροκυανιούχα ιόντα, Fe^{+2}
OCI^-	-
I_2	-
MnO_4	-
NO_2	-

Πίνακας 1.2 Οξειδωτικά συστήματα που αντιδρούν με τη λουμινόλη και εκπέμπουν φως

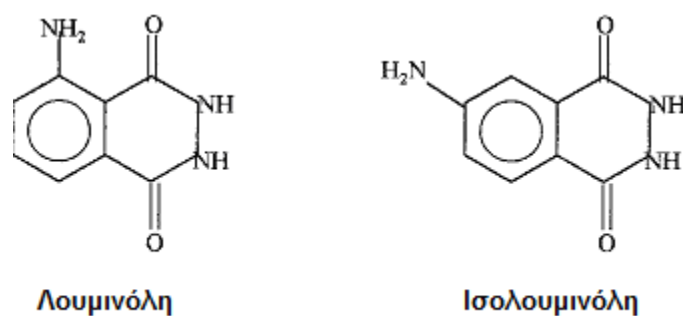
Στην χημειοφωταύγεια λουμινόλης, το πιο συνηθισμένο οξειδωτικό μέσον είναι το υπεροξείδιο του υδρογόνου, καθώς ο σχετικά ασθενής δεσμός του τελευταίου διασπάται εύκολα και ελευθερώνει μεγάλα ποσά ενέργειας. Έχουν χρησιμοποιηθεί και άλλα οξειδωτικά όπως υπερβορικά, υπερμαγγανικά[29], υποχλωριώδη[30], ιώδιο[31], διάφορα ένζυμα[32], καθώς και οργανικά υπεροξείδια[33].

Η παρουσία ενός καταλύτη είναι κυρίαρχη σε αυτήν τη χημειοφωταυγή αντίδραση. Πολλά κατιόντα μετάλλων καταλύουν την αντίδραση της λουμινόλης με H_2O_2 . Υπάρχουν, όμως, και άλλα κατιόντα, τα οποία καταστέλλουν τη χημειοφωταύγεια[34].

Πρόσφατες έρευνες αποδεικνύουν την ευρεία χρήση της χημειοφωταύγειας της λουμινόλης ως μία ευαίσθητη, γρήγορη και απλή μέθοδο για την ανίχνευση ελεύθερων ριζών και ενεργών μεταβολιτών, καθώς και για τη μελέτη αντιοξειδωτικής δράσης[31,35-50]. Ο μηχανισμός της αντίδρασης της λουμινόλης φαίνεται στο Σχήμα 1.13[46]. Η λουμινόλη αντιδρά με το οξειδωτικό, που στην προκειμένη περίπτωση είναι το υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2), παρουσία μιας βάσης και ενός μεταλλικού καταλύτη, προκειμένου να παραχθεί ένα διεγερμένο σωματίδιο, το οποίο εκπέμπει φως.

Η αντίδραση της λουμινόλης λαμβάνει μέρος κάτω από ποικίλες συνθήκες. Συγκεκριμένη ανάλυση που χρησιμοποιεί λουμινόλη, απαιτεί έλεγχο της χημείας, ώστε η ισχύς της χημειοφωταύγειας να είναι ανάλογη με τη συγκέντρωση των ενώσεων προς ανάλυση. Σε μεταγενέστερες μελέτες πάνω στη λουμινόλη και σε άλλα υδραζίδια, τα συστήματα περιείχαν είτε υδροξείδιο του νατρίου, είτε υδροξείδιο του καλίου(ως βάση), υπεροξείδιο του υδρογόνου(ως οξειδωτικό παράγοντα), και κάποιο είδος εκκινητή ή ενεργοποιητή. Αυτός ο ενεργοποιητής ήταν συνήθως υποχλωριώδη, υπεροξείδια του θείου, σύμπλοκα μετάλλου μετάπτωσης(όπως σιδηροκυανιούχα ή αίμη), ή ιόντα μετάλλου[όπως $Co(II)$, $Cu(II)$, $Cr(III)$, $Ni(II)$, $Fe(II)$ ή VO^{+2}]. Ορισμένες αλκοόλες, καθώς και μίγματα νερού και άλλων υδατοδιαλυτών οργανικών ενώσεων, έχουν χρησιμοποιηθεί ως διαλύτες αντί για το νερό. Ενώ, στη θέση του ενεργοποιητή έχει χρησιμοποιηθεί ραδιόλυση και υπέρηχοι. Σε κάποια απρωτικά μέσα δεν είναι απαραίτητη η χρήση ενεργοποιητή, παρά μόνο οξυγόνο και ισχυρή βάση.

Η αντίδραση χημειοφωταύγειας μπορεί να εμποδιστεί αποτελεσματικά με μετατροπές στο ετεροκυκλικό κομμάτι του υδραζιδικού συστήματος. Οι Ο- και Ν-μεθυλ-ομάδες, τα Ν-αμινο-ιμίδια και η αντίστοιχη αμινοκιναζολινο-2,3-διόνη δεν ήταν χημειοφωταυγείς υπό τις συνθήκες που χρησιμοποιούνται στην οξείδωση. Το μη υποκατεστημένο υδραζιδικό φθαλικό οξύ και διάφορα μη αρωματικά κυκλικά υδραζίδια, όπως το υδραζιδικό μηλεϊνικό οξύ ή το υδραζιδικό ηλεκτρικό οξύ, είναι είτε μη χημειοφωταυγή ή δίνουν πολύ χαμηλές αποκρίσεις/εκπομπές. Όμως, το 6-αμινο ισομερές της λουμινόλης, το οποίο καλείται ισολουμινόλη, είναι εξίσου χημειοφωταυγές με τη λουμινόλη. Η ισολουμινόλη έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως σε πολλές έρευνες, κι επειδή η αμινομάδα της παρεμποδίζεται στερεοχημικώς λιγότερο από αυτήν της λουμινόλης, παραγωγοποιείται για την χημειοφωταύγεια, συχνότερα σε σχέση με τη λουμινόλη.



Σχήμα 1.14 Χημικές δομές λουμινόλης και ισολουμινόλης

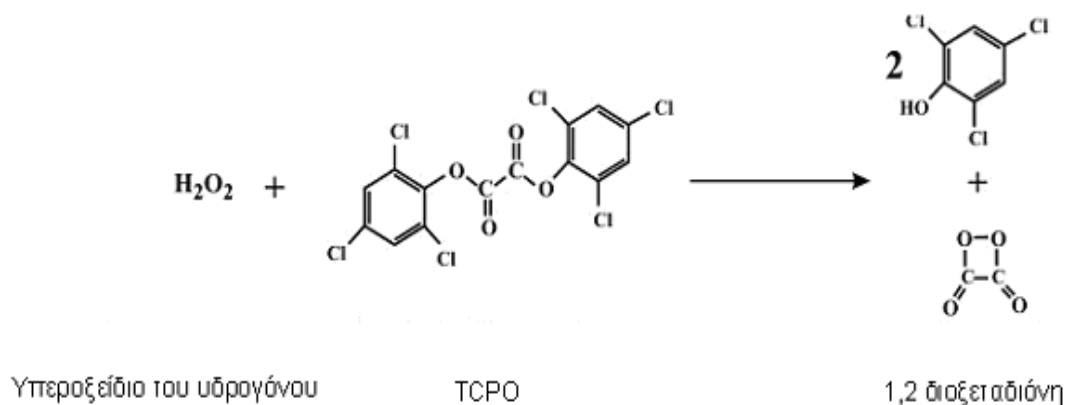
Περισσότερο εκτεταμένη έρευνα, έδειξε ότι η αλκυλίωση της αμινομάδας, αυξάνει την αποτελεσματικότητα, υπό την προϋπόθεση ότι η στερεοχημεία της αλκυλομάδας δεν παρεμβαίνει στο επίπεδο του αζώτου και του δακτυλίου. Επίσης, η αποτελεσματικότητα της χημειοφωταύγειας αυξάνεται με την αύξηση του μεγέθους του αρωματικού δακτυλίου.

Η χημειοφωταύγεια λουμινόλης έχει χρησιμοποιηθεί για τον προσδιορισμό οξειδωτικών παραγόντων(όπως υπεροξειδίου του υδρογόνου), ενζύμων(όπως υπεροξειδάσης και οξειδάσης ξανθίνης), και μεταλλικών ιόντων(όπως χαλκού ή κοβαλτίου), τα οποία καταλύουν την αντίδραση χημειοφωταύγειας [34].

1.7.3 Χημειοφωταύγεια υπεροξαλικών εστέρων

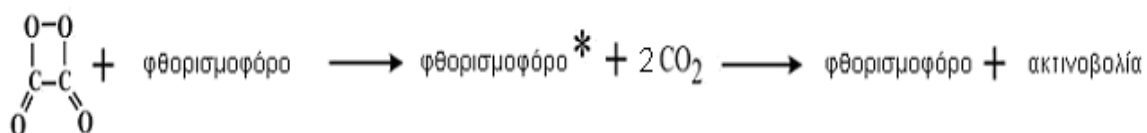
Η χημειοφωταύγεια των υπεροξαλικών εστέρων (Peroxyoxalate chemiluminescence, PO-CL) χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό ιχνών υπεροξειδίου του υδρογόνου σε κλινικές και περιβαλλοντολογικές αναλύσεις[51].

Συγκεκριμένα, στη χημειοφωταυγή αντίδραση συμμετέχει ένας υπεροξαλικός εστέρας, για παράδειγμα οξαλικός δι(2,4,6-τριχλωροφαινυλεστέρας)-(TCPO), που αντιδρά με το υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2) και παράγεται η 1,2-διοξετανοδιόνη (Σχημα 1.15) [52,53].



Σχήμα 1.15 Αντίδραση χημειοφωταύγειας TCPO με υπεροξείδιο του υδρογόνου

Η 1,2-διοξετανοδιόνη είναι ιδιαίτερα ασταθής, καθώς διασπάται σε δύο μόρια διοξειδίου του άνθρακα και η ενέργεια που απελευθερώνεται μεταφέρεται σε μια φθορισμοφόρο ένωση, όπως είναι για παράδειγμα το 9,10-διφαινυλανθρακένιο. Το φθορισμοφόρο διεγείρεται και κατά την αποδιέγερση αποβάλλεται ενέργεια με την μορφή εκπεμπόμενης ακτινοβολίας (Σχημα 1.10).



Σχήμα 1.16 Αντίδραση διάσπασης της 1,2 διοξετανοδιόνης –

Μεταφορά ενέργειας σε φθορισμοφόρο

Η διαδικασία της μεταφοράς ενέργειας από την αρχική αντίδραση (αντίδραση του υπεροξειδίου του υδρογόνου με TCPO) έως την τελική εκπομπή φωτός από το διεγερμένο φθορισμοφόρο (φθορισμοφόρο*), χαρακτηρίζεται από απώλειες σε κάθε βήμα της. Τα βήματα της διαδικασίας αυτής είναι τα εξής:

- a. Η αρχική οξείδωση για την παραγωγή του ενδιάμεσου
- b. Μεταφορά ενέργειας από το ενδιάμεσο στο φθορισμοφόρο
- c. Αποδιέγερση του φθορισμοφόρου και παραγωγή φωτός[54]

Η απόδοση παραγωγής του διοξετανίου είναι αρκετά υψηλή, εκτός αν το TCPO χρησιμοποιείται σε υδατικά διαλύματα, όπου και υδρολύεται. Ως εκ τούτου, το αντιδραστήριο μπορεί να χρησιμοποιηθεί μόνο σε μη υδατικούς διαλύτες. Το υψηλής ενέργειας ενδιάμεσο μπορεί να αντιδράσει προκειμένου να διεγείρει το φθορισμοφόρο. Εκτός από αυτή την αντίδραση, όμως, υπάρχει η πιθανότητα να συμβεί και κάτι από τα ακόλουθα:

- Το ενδιάμεσο μπορεί να αντιδράσει με έναν αποσβέστη (quencher) ο οποίος οξειδώνεται ευκολότερα από το φθορισμοφόρο
- Το ενδιάμεσο και το φθορισμοφόρο μπορούν να αντιδράσουν χωρίς να παραχθεί το διεγερμένο ενδιάμεσο
- Το ενδιάμεσο μπορεί να αποσυντεθεί
- Το ενδιάμεσο μπορεί να οξειδωθεί περαιτέρω από το H_2O_2 που δεν έχει αντιδράσει

- Τελικά το διεγερμένο φθορισμοφόρο μπορεί να χάσει ενέργεια με εκπομπή ακτινοβολίας ή να αποδιεγερθεί με παραγωγή θερμότητας αντί για ακτινοβολία

Η χημειοφωταύγεια των υπεροξαλικών εστέρων βρίσκει εφαρμογή στην υγροχρωματογραφία υψηλής απόδοσης. Η δυνατότητα της ως μέσο ανίχνευσης ενώσεων με HPLC προέρχεται από την ανάγκη να ανιχνευθούν οι ενώσεις με μεγάλη ευαισθησία (πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις) και/ή με μεγάλη εκλεκτικότητα. Εντούτοις, στις κανονικές χρωματογραφικές διαδικασίες, μπορούν να επιτευχθούν εναλλακτικές πορείες μηχανισμού της αντίδρασης ρυθμίζοντας ανάλογα τον διαλύτη, τα ρυθμιστικά διαλύματα[55,56], το pH[57], τον καταλύτη[57,58], το οξειδωτικό[59] και τη συγκέντρωση του φθορισμοφόρου.

Οι σημαντικότεροι παράγοντες για τους υγροχρωματογράφους που μπορούν να επηρεάσουν την παραγωγή φωτός είναι η ροή έκλουσης των αντιδραστηρίων[60], ο όγκος και η γεωμετρία των ανιχνευτών[61] και οι παράμετροι μίξης[62].

1.7.4 Παλαιότερες εφαρμογές της χημειοφωταύγειας

Κατά καιρούς, έχουν χρησιμοποιηθεί και άλλες εφαρμογές της χημειοφωταύγειας στον ερευνητικό τομέα. Στον Πίνακα 1.3, που παρατίθεται παρακάτω, φαίνονται συνοπτικά μερικές από αυτές.

Υπόστρωμα	Αντιδρώντα
Οίνος και άλλα αλκοολικά σκευάσματα[63]	υπεροξειδάση αγριοραφανίδων, υπερβορικό νάτριο
Αντιοξειδωτική δράση κουανιδίνης, αμινο-κουανιδίνης και μεθυλο-κουανιδίνης[64]	Fe(II), H ₂ O ₂ ή HOCl
Ολεϋροπεΐνη[65]	H ₂ O ₂ , υπεροξειδάση αγριοραφανίδων
Προπολίνη[66]	H ₂ O ₂

Πίνακας 1.3 Παλαιότερες εφαρμογές της χημειοφωταύγειας

Κεφάλαιο 2: Αμινοαλκοόλες

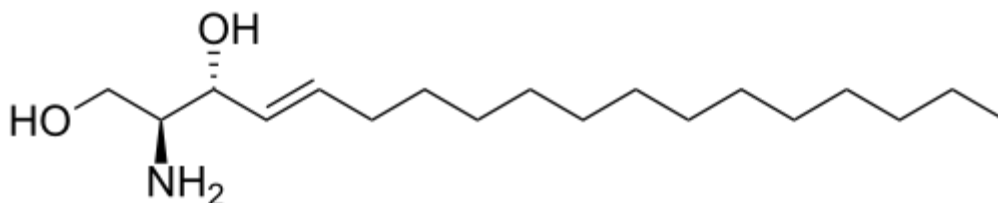
2.1 Ορισμός - Γενικά

Ως αμινοαλκοόλες ορίζονται οι οργανικές χημικές ενώσεις που φέρουν ταυτόχρονα στο μόριό τους, μία λειτουργική ομάδα υδροξυλίου (-OH) και μία αμινομάδα(-NH₂).

Πρόκειται για παχύρρευστα υγρά με βασικές ιδιότητες και υψηλό σημείο βρασμού. Ένας από τους τρόπους παρασκευής τους είναι η επίδραση αμμωνίας και αμινών σε οξείδια ολεφινών. Χρησιμοποιούνται στην παραγωγή απορρυπαντικών, καλλυντικών, αντινευραλγικών και αναισθητικών φαρμάκων. Η απλούστερη αμινοαλκοόλη είναι η αιθανολαμίνη (ή μονοαιθανολαμίνη, HOCH₂CH₂NH₂), η οποία αποτελεί συστατικό των λιπιδίων. Άλλες γνωστές αμινοαλκοόλες είναι η διαιθανολαμίνη NH(CH₂CH₂OH)₂ και η τριαιθανολαμίνη N(CH₂CH₂OH)₃, οι οποίες χρησιμοποιούνται κυρίως στη βιομηχανία. Ακόμη, στις αμινοαλκοόλες ανήκουν μόρια όπως η χολίνη, μερικά αλκαλοειδή(όπως η εφεδρίνη), και η ορμόνη αδρεναλίνη. Ο εστέρας της χολίνης, η ακετυλοχολίνη, συναντάται στους ζωικούς οργανισμούς και συμμετέχει στη μετάδοση των νευρικών ερεθισμάτων[67].

2.1.1 Σφιγγοσίνη

Η οικογένεια αυτή των απλών λιπιδίων, βρίσκεται κυρίως ως ομόλογη της πιο διαδεδομένης βάσης, της σφιγγοσίνης (Εικόνα 2.1).



Εικόνα 2.1 Σφιγγοσίνη [68]

Η σφιγγοσίνη ανακαλύφθηκε γύρω στο 1880 από Thudichum J., αλλά η δομή της διευκρινίστηκε το 1947 [69]. Η φυτοσφιγγοσίνη είναι το αντίστοιχο της σφιγγοσίνης για τον κόσμο των φυτών. Αυτή η ένωση απομονώθηκε από ζυμομύκητες, από τον Reindel το 1930, και το 1940 η δομή της είχε μερικώς διευκρινιστεί. Η παρουσία της δεν είναι αποκλειστική στα φυτά, καθώς ανιχνεύθηκε και σε ζωικούς ιστούς το 1964 [70].

2.1.2 Δομή και προέλευση

Όλες αυτές οι αμινοαλκοόλες βρίσκονται σε μεγάλο βαθμό σε σύνθετης μορφής αμίδια λιπαρών οξέων, όπως τα σφιγγολιπίδια (κεραμίδια, σφιγγομυελίνη, σύνθετα γλυκολιπίδια). Περισσότερες από 60 βάσεις μακριάς αλυσίδας ανιχνεύονται σε βακτήρια, φυτά και ζώα, με 12 έως 20 άτομα άνθρακα, 2 έως 3 υδροξυλομάδες και 0 έως 2 διπλούς δεσμούς, ενώ μερικές εκ των οποίων ίσως είναι φωσφορυλιωμένες ή θειωμένες.

Σύνθετες πολύ-αμινοαλκοόλες με μακριά ανθρακική αλυσίδα, ανεξάρτητες ενώσεων του τύπου της σφιγγοσίνης, βρέθηκαν σε θαλάσσια σφουγγάρια.

Οι απλές αμινοαλκοόλες συχνά παρουσιάζονται με μία απλοποιημένη ονοματολογία, παρόμοια με εκείνη των λιπαρών οξέων, με τη διαφορά ότι με τα προθέματα διευκρινίζεται ο αριθμός των λειτουργικών ομάδων[71].

Οι πιο κοινές αμινοαλκοόλες είναι η αιθανολαμίνη, η επταμινόλη, η ισοεταρίνη, η νορεπινεφρίνη, η προπανολαμίνη, η σφιγγοσίνη και η μεθανολαμίνη (που είναι και η απλούστερη αμινοαλκόλη)[72].

2.1.3 Κατηγορίες αμινοαλκοολών

Οι αμινοαλκοόλες θα μπορούσαν να διακριθούν σε πέντε κατηγορίες:

α)Αιθανολαμίνη. Οι αμινοαλκοόλες που περιέχουν την ομάδα της αιθανολαμίνης ($-NH_2CH_2CHOH$) και των παραγώγων της.

β)Επταμινόλη. Μία αμινοαλκόλη που έχει χρησιμοποιηθεί ως τονωτικό του μυοκαρδίου και αγγειοδιασταλτικό, ώστε να ανακουφίσει από βρογχοσπασμούς. Η συνηθέστερη θεραπευτική χρήση της είναι ενάντια της ορθοστατικής υπότασης. Ο μηχανισμός της θεραπευτικής δράσης της επταμινόλης δεν είναι απόλυτα κατανοητός, ωστόσο πιστεύεται ότι επηρεάζει την απελευθέρωση κατεχολαμινών ή τον μεταβολισμό του ασβεστίου.

γ)Ισοεταρίνη. β -2 αδρενεργικός αγωνιστής που χρησιμοποιείται για τη θεραπεία ασθενειών όπως το εμφύσημα, η βρογχίτιδα και το άσθμα. Ως β -αδρενεργικός αγωνιστής καλείται μία τάξη φαρμάκων που στοχεύουν τους β -δέκτες. Οι τελευταίοι βρίσκονται σε κύτταρα των καρδιακών μυών, λείων μυών, αρτηριών και άλλων ιστών που αποτελούν μέρος του νευρικού συστήματος και οδηγούν σε νευρικές αποκρίσεις, ειδικά όταν διεγείρονται από την επινεφρίνη(ανδρεναλίνη)[73].

δ) Προπανολαμίνη. Οι αμινοαλκοόλες που περιέχουν την ομάδα της προπανολαμίνης ($\text{NH}_2\text{CH}_2\text{CHOHCH}_2$) και των παραγώγων της.

ε) Σφίγγοσίνη. Αμινοαλκοόλη με μακριά ακόρεστη υδρογονανθρακική αλυσίδα. Η σφίγγοσίνη και η παράγωγη ένωση αυτής, η σφίγγανίνη, είναι οι κύριες βάσεις σφίγγολιπιδίων στα θηλαστικά.

2.2 β-Αμινοαλκοόλες

2.2.1 Ορισμός και Ταξινόμηση

Η χαρακτηριστική ομάδα της β-αμινοαλκοόλης, που ονομάζεται επίσης γειτονική χαρακτηριστική ομάδα, βρίσκεται σε πολλές φυσικές ενώσεις, και βρίσκεται συχνά σε μόρια που παρουσιάζουν έντονη βιολογική δραστηριότητα. Για παράδειγμα, η λειτουργικότητα της αμινοαλκοόλης είναι παρούσα σε πολλές κατηγορίες ενώσεων με χημειοθεραπευτικές ιδιότητες[74]. Η πλειοψηφία των βιοενεργών αμινοαλκοολών είναι χειρόμορφες, ενώ συχνά περιέχουν χειρόμορφες αμινικές και υδροξυλικές λειτουργικές ομάδες[75]. Η υπομονάδα είναι επίσης παρούσα σε πολλά συνθετικά φαρμακολογικά δραστικά μόρια.

Τα υδροξυαμινοξέα αποτελούν μία κύρια ομάδα ανάμεσα στις φυσικά προερχόμενες αμινοαλκοόλες. Τα λιπίδια, και οι ενώσεις που θυμίζουν λιπίδια, συχνά περιέχουν τμήματα αμινοαλκοολών, όπως η σφίγγοσίνη, που αναφέρθηκε παραπάνω, η οποία είναι η κύρια “ραχοκοκαλιά” των γλυκοσφίγγολιπιδίων. Τα τελευταία είναι μόρια ζωτικής σημασίας για την αναγνώριση γεγονότων στα κύτταρα, όπως η ανάπτυξη, η διαφοροποίηση και η ανοσολογική απόκριση.

Οι κυκλικές αμινοαλκοόλες αποτελούν μία τρίτη ομάδα, από φυσικώς προερχόμενες αμινοαλκοόλες, όπου το κατάλοιπο αμίνης περιέχεται μέσα στον δακτύλιο. Είναι γνωστές για τη θεραπευτική δυναμική τους, εξαιτίας της χαμηλής κυτταρικής τοξικότητάς τους. Για παράδειγμα, η κινίνη χρησιμοποιείται ως φάρμακο ενάντια της ελονοσίας, του υψηλού πυρετού και άλλων ασθενειών[76].

Ανάμεσα στις συνθετικές ενώσεις, τα πεπτιδομιμητικά είναι η πιο κοινή, καθώς αποτελεί φαρμακολογικά δραστικό είδος ενώσεων που περιέχουν β-αμινοαλκοόλες[76].

2.2.2 Σύνθεση των β-Αμινοαλκοολών

Πολλές μέθοδοι και διαδικασίες αναπτύχθηκαν για την σύνθεση και την παραγωγή των “γειτονικών” αμινοαλκοολών έτσι, ώστε να είναι ένα σημαντικό δομικό στοιχείο στην οργανική χημεία.

Οι τρέχουσες μέθοδοι για τη σύνθεση στερεο-ειδικών αμινοαλκοολών βασίζεται, κυρίως, στην οξείδωση της ολεφίνης, είτε μέσω απευθείας αμίνωσης-υδροξυλίωσης, είτε μέσω της προσθήκης άλλων λειτουργικών αντιδραστηρίων, όπως εποξειδία ή αζιριδίνες[77]. Η δικυκλική αζιριδίνη παρασκευάζεται σε τρία βήματα, από αλδεΐδη και βινυλικό βρωμιούχο μαγνήσιο. “Ανοίγοντας” την αζιριδίνη με μεθανόλη, οδηγούμαστε στην παραγωγή μιας οξαζολιδινόνης, η οποία μπορεί να υδρολυθεί προς την “γειτονική” αμινοαλκοόλη[78].

Σε προηγούμενες μελέτες, οι Katz και Bergmeier(2000) εργάστηκαν πάνω στις 2-οξαζολιδινόνες, τόσο ως ένα χρήσιμο ενδιάμεσο στη σύνθεση των αμινοαλκοολών, όσο ως μία πιθανή προστατευτική ομάδα για β-αμινοαλκοόλες. Τυπικές συνθήκες αντίδρασης για την μετατροπή του δακτυλίου οξαζολιδινόνης σε μια αμινοαλκοόλη, περιλαμβάνουν την χρήση μιας βάσης υδροξειδίου, νερού και κάποιου είδους οργανικού συν-διαλύτη.

Όπως αναφέρθηκε νωρίτερα, η πλειοψηφία των βιοδραστικών αμινοαλκοολών είναι χειρόμορφες ενώσεις, επειδή είναι σημαντικά ενδιάμεσα στη σύνθεση ποικίλων φαρμακευτικών προϊόντων, αλλά η σύνθεση αυτών των ενώσεων παραμένει μία σημαντική πρόκληση για τους χημικούς.

Ο ταυτόχρονος έλεγχος της στερεοχημείας των χειρόμορφων κέντρων, τόσο της αλκοόλη και όσο και της αμίνης, σε λογικό κόστος είναι το κλειδί για την επιτυχή παραγωγή αυτών των σημαντικών χημικών ενδιάμεσων. Σημαντικά μόρια τα οποία περιέχουν χειρόμορφες αμινοαλκοόλες αποτελούν η εφεδρίνη, ψευδοεφεδρίνη, νορεφεδρίνη, ψευδο-νορεφεδρίνη, επινεφρίνη, νορεπινεφρίνη, ισοσερινόλης, ισολευκινόλης και ιστιδινόλη.

Η παρούσα εφεύρεση περιγράφει μία αποτελεσματική μέθοδο για την παραγωγή χηλικών “γειτονικών” αμινοαλκοολών. Μια σημαντική άποψη της παρούσας εφεύρεσης είναι η γενικότητα με την οποία μπορεί να χρησιμοποιηθεί αυτή η μέθοδος που περιγράφεται εδώ, για να παράγει μια σειρά χηλικών “γειτονικών” αμινοαλκοολών, τόσο κυκλικών όσο και μη κυκλικών, με την ικανότητα να παράγουν οποιοδήποτε από τα 4 πιθανά στερεοϊσομερή, σε υψηλή στερεοχημική καθαρότητα[79].

Παρεμφερής με αυτήν την εφεύρεση, αποτελεί ένας νέος συνδυασμός δύο σταδίων, καθένα από τα οποία καταλήγει σε ένα καλά καθορισμένο κι ελεγχόμενο στερεοχημικό αποτέλεσμα. Το πρώτο στάδιο είναι η στερεοειδική αναγωγή της κετο-ομάδας ενός β-κετο-οξέος, β-κετο-εστέρα, β-κετο-καρβοξαμιδίου, β-κετο-καρβοξυλι-υδροξαμικού οξέος ή β-κετο-καρβοξυλι-υδραζιδίου. Η αντίδραση αυτή παράγει ένα προϊόν που έχει δύο χειρόμορφα κέντρα. Το δεύτερο βήμα είναι η στερεοειδική αναδιάταξη του προκύπτοντος 2-υποκατεστημένου-3-υδροξυκαρβοξαμιδίου, καρβοξυλικού υδραζιδίου ή καρβοξυλικού υδροξαμικού οξέος, προς την αντίστοιχη αμινοαλκοόλη, με αποτέλεσμα μία χειρόμορφη γειτονική αλκοόλη με έλεγχο της στερεοχημείας και στα δύο χειρόμορφα κέντρα[79].

Σε πιο πρόσφατη έρευνα από τον Guillermo N.S., περιγράφηκε η ενισχυμένη με μικροκύματα θεική ζirkονία και η τοποεκλεκτική σύνθεση των β-αμινοαλκοολών, υπό συνθήκες χωρίς διαλύτες και με sz/mcm-41 κατάλυση[80].

Όντας μία πολύ σημαντική κατηγορία ενώσεων, που χρησιμοποιείται για πολλούς και ποικίλους σκοπούς, οδήγησε στην περαιτέρω μελέτη και διεξαγωγή έρευνας στις μέρες μας, με σκοπό τη θέσπιση πιο αποτελεσματικών και πρακτικών τεχνικών για τη σύνθεση και επεξεργασία των β-αμινοαλκοολών.

2.2.3 Σημασία και Χρήση β-Αμινοαλκοολών

Οι εναντιομερώς “καθαρές” αμινοαλκοόλες διαδραματίζουν έναν ολοένα και πιο σημαντικό ρόλο, τόσο στη θεραπεία μίας ευρείας ποικιλίας διαταραχών του ανθρώπου, όσο και ως χειρόμορφα βοηθητικά στην οργανική σύνθεση. Η σημασία της εναντιομερούς “καθαρότητας” σε φαρμακευτικά προϊόντα έχει αποδειχθεί ευρέως, με την παρουσία εξουθενωτικών και μερικές φορές τραγικών παρενεργειών, που προκαλούνται από την ύπαρξη μη θεραπευτικών εναντιομερών, ενός κατά τα άλλα ευεργετικού φαρμάκου. Επιπλέον, έχει αποδειχθεί ότι οι εναντιομερώς “καθαρές” αμινοαλκοόλες είναι εξαιρετικά χειρομορφικά βοηθητικά, σε ασύμμετρους δεσμούς άνθρακα-άνθρακα, που οδηγούν σε αντιδράσεις όπως προσθήκες διαιθυλοψευδαργύρου προς αλδεΐδες ή συζυγές προσθήκες οργανοχαλκικών αντιδραστηρίων σε ακόρεστες ενώσεις καρβονυλίου.

Έχουν διεξαχθεί πολλές μελέτες κι έρευνες για την χρήση των β-αμινοαλκοολών για θεραπευτικούς και φαρμακευτικούς σκοπούς, και ως σημαντικά “επικουρικά” σε πολλές χημικές αντιδράσεις.

Ο Ghosal κατόρθωσε με επιτυχία να συνθέσει τον αντικαρκινικό παράγοντα (+)-σπισουλοσίνη σε εννέα βήματα από την αλδεΐδη S-Garner. Η χαρακτηριστική ομάδα της β-αμινοαλκοόλης με αντιδιαμόρφωση, επετεύχθη με μια ιδιαίτερη διαστερεοεκλεκτική προσθήκη βινυλικού βρωμιούχου μαγνησίου προς σχηματισμό αλδεΐδης Garner.

Η μακριά υδρογονανθρακική αλυσίδα του αντικαρκινικού φυσικού προϊόντος εδραιώθηκε μέσω ολεφινικής εγκάρσιας μετάθεσης της προστατευμένης από βενζύλιο αλλυλικής αλκοόλης με ένα κατάλληλο ολεφινικό ομόλογο, με επακόλουθη υδρογόνωση[81].

Ο Chavez εργάστηκε πάνω στην ανάπτυξη παραγώγων β-αμινοαλκοόλης, που αναστέλλουν τους Toll-like receptors, για τη μεσολάβηση φλεγμονώδους απόκρισης ως πιθανά αντισηπτικά[82]. Toll-like receptors (TLR) είναι μία τάξη πρωτεϊνών-υποδοχέων που έχουν καθοριστικό ρόλο στο φυσικό ανοσοποιητικό σύστημα, καθώς και το πεπτικό σύστημα[83]. Επιπλέον, ερευνήθηκε η σχέση δομής-δραστικότητας και η προκαταρκτική μελέτη του μεταβολισμού του φαρμάκου και της φαρμακοκινητικής, των παραγώγων της β-αμινοαλκοόλης που αναστέλλουν το μονοπάτι που σηματοδοτεί η TLR4. Επιπροσθέτως, αξιολογήθηκαν η τοξικολογία, η εκλεκτικότητα, η διαλυτότητα, η διαπερατότητα αρτηριών και ο μεταβολισμός φαρμάκων αρκετών ενώσεων. Παρόλο που απαιτούνται περαιτέρω βελτιστοποιήσεις, τα μέχρι τώρα “ευρήματα” έχουν θέσει τις βάσεις για τη μελλοντική ανάπτυξη των φαρμάκων, αυτής της κατηγορίας των μικρών μοριακών παραγόντων για τη θεραπεία σοβαρών περιστατικών σήψης[82].

Ο Fullam μελέτησε τη σύνθεση και την ανασταλτική ικανότητα μίας νέας σειράς β-αμινοαλκοολών των μυκητοβακτηριακών ενζύμων της N-ακετυλοτρανσφεράσης. Ακόμη, καθορίστηκαν οι επιδράσεις των συντιθέμενων ενώσεων επί του “mycobacterium tuberculosis”[84].

Από την άλλη πλευρά, ο Malkon έδειξε ότι ορισμένες β-αμινοαλκοόλες λειτουργούν ως οργανοκαταλύτες σε ασύμμετρη σύνδεση αλδολικής αντίδρασης κετονών, όπως η ισατίνη και τα παράγωγα αυτής με ακετόνη. Ασυνήθιστες ιδιότητες στον μηχανισμό παρατηρήθηκαν και χρησιμοποιήθηκαν κατά τη σύνθεση της μεταβατικής κατάστασης της αντίδρασης, κι εφαρμόστηκαν στη σύνθεση της “convolutamydine”[85].

Ο Chen έδειξε ότι η ταυρίνη και υποκατεστημένες ταυρίνες, οι οποίες ποικίλουν δομικώς, μπορούν να συντεθούν ξεκινώντας από β-αμινοαλκοόλες ή αζιριδίνες και διθειάνθρακα, με οξείδωση του περοξυφορμικού οξέος των ενδιαμέσων της θειαζολιδινο-2-θειόνης ως το βασικό βήμα της αντίδρασης[86].

Επιπρόσθετα με τα παραπάνω, οι β-αμινοαλκοόλες εισήχθησαν και στη βιομηχανία καλλυντικών. Ο Yang εργάστηκε στη σύνθεση παραγώγων αμινοαλκοόλης, από αρωματικές, πτητικές αλδεΐδες και κετόνες, σε μία αντίδραση ενός δοχείου, με διαδοχικό σχηματισμό κυανιούχου, με κυανιούχο τριμεθυλοσιλύλιο και αναγωγή με υδρίδιο αργιλίου λιθίου, ή με αμμωνόλυση των πρόδρομων ενώσεων εποξειδίου. Οι αμινοαλκοόλες είναι μη πτητικές, σταθερές προ-αρωματικές, και απελευθερώνουν αρωματικά καρβονύλια με οξείδωση με υπεριοδικό νάτριο ή βισμούθιακό νάτριο. Παραδείγματα αποτελούν αμινοαλκοόλες, προ-αρωματικά της κιτρονελλάλης, λαυρυλο αλδεΐδης, μενθόνης, βενζαλδεΐδης, και ανισαλδεΐδης[87].

2.2.4 Αμινοαλκοόλες και Οξείδωση

Στην παρούσα έρευνα, προσπαθήσαμε να εξερευνήσουμε την προ-οξειδωτική δράση των αμινοαλκοολών και τον τρόπο-μηχανισμό που αυτές αλληλεπιδρούν κατά τη διάρκεια της οξείδωσης.

Μερικές μελέτες συζητούν τον ρόλο των αμινοαλκοολών ως χημικοί δείκτες, τονίζοντας τον μηχανισμό αυτοάμυνας των φυτών ενάντια στο οξειδωτικό στρες(το οποίο θα αναλυθεί εκτενέστερα παρακάτω).

Επιπτώσεις των δυσμενών περιβαλλοντικών συνθηκών(στρες) επάγουν στρεσογόνους παράγοντες και αόριστες βραχυπρόθεσμες και μακρυπρόθεσμες αποκρίσεις στα φυτά.

Οι μακροπρόθεσμες αντιδράσεις εξαρτώνται από την ένταση και τη διάρκεια του στρες. Στις βραχυπρόθεσμες αποτελέσματα ανήκουν η συσσώρευση των δραστικών ειδών του οξυγόνου, βλάβη των μεμβρανών με την οξείδωση των λιπαρών οξέων και απελευθέρωση αμινοαλκοολών. Μπορούν να υποκινήσουν μεγαλύτερη ανοχή του στρες στα φυτά.

Σε μία μελέτη που διεξήχθη από τον Mascher, οι βλαστοί του κριθαριού (*Hordeum vulgare*) προκατεργάστηκαν με 2-amino-ethanol, και δύο μέρες αργότερα, υπέστησαν επεξεργασία με το ζιζανιοκτόνο (paraquat), το οποίο προκαλεί οξειδωτικό στρες. Η προκατεργασία με 2-amino-ethanol αύξησε την ανοχή του κριθαριού στο στρες, με τη σταθεροποίηση των κυτταρικών μεμβρανών, την αυξημένη παραγωγή υπεροξειδίου δισμουτάσης και καταλάσης, και τη διέγερση του μεταβολισμού γλουταθειόνης (GSH, GST)[88]. Σε μία άλλη έρευνα που διεξήχθη από τους Horváth και Hasselt, μελετήθηκε το αποτέλεσμα της προεπεξεργασίας ριζών αγγουριού (*Cucumis sativus* L.) με χλωριούχα χολίνη ή ethanolamine (αιθανολαμίνη), στη σύνθεση φωσφολιπιδίων στα φύλλα και του φωτός που προκύπτει από τη βλάβη των φύλλων, ενώ αυτά ψύχονται[89]. Οι δύο παραπάνω αμινοαλκοόλες αναστέλλουν την φωτο-οξειδωτική αποικοδόμηση της χλωροφύλλης. Η μείωση της αναλογίας (χλωροφύλλη A/χλωροφύλλη B) και η αύξηση της αποικοδόμησης πολυακόρεστων λιπαρών οξέων, κατά τη διάρκεια της ψύξης με φως, αναστέλλονται εξίσου με προεπεξεργασία με χλωριούχα χολίνη ή αιθανολαμίνη, οδηγώντας έτσι στην αύξηση των περιεχόμενων φωσφολιπιδίων στα φύλλα. Η συγκέντρωση της χλωροφύλλης αυξήθηκε λιγότερο από το συγκέντρωση των φωσφολιπιδίων, με αποτέλεσμα τη μειωμένη αναλογία (χλωροφύλλης/φωσφολιπιδίου) στα κατεργασμένα φύλλα.

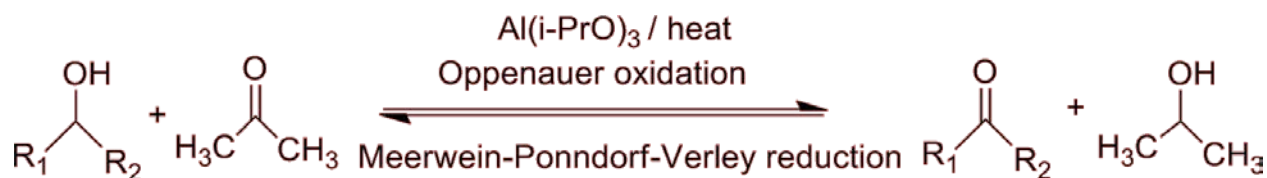
Από την άλλη πλευρά, η οξείδωση των αμινοαλκοολών χρησιμοποιήθηκε για την επισήμανση και την παραγωγή καινοτόμων πεπτιδίων. Η πολύ γρήγορη οξείδωση με υπεριοδικό, της ομάδας της αμινοαλκοόλης που βρίσκεται στις πρωτεΐνες, στα άμινο-τελικά άκρα των πεπτιδίων Σερίνη και Θρεονίνη και στην υδροξυλυσίνη, παράγει μία αλδεΰδη στο πεπτίδιο. Είναι το πρώτο βήμα σε μια μέθοδο για την τοπο-εκλεκτική σήμανση με βιοτίνη, που επιτρέπει στις πρωτεΐνες να διαχωριστούν, να ποσοτικοποιηθούν και να ακινητοποιούνται, ή ένα φθορίζον ανταποκριτή να παράγει βιολειτουργικώς νέα, τροποποιημένα πεπτίδια[90].

Οι Chrisman και Singaram μελέτησαν την επίδραση διαφορετικών βάσεων αμίνης στην οξείδωση Swern των β-αμινοαλκοολών, περιλαμβάνοντας α-αμινο καρβονυλικές ενώσεις σε ικανοποιητική έως εξαιρετική απόδοση[91].

Η οξείδωση των 1,2-αμινοαλκοολών και των α-αμινοκετονών μελετήθηκε ακόμη από τον Valverde. Ο τελευταίος έδειξε ότι αυτή η οξείδωση μπορεί να εκτελεστεί αποτελεσματικά χρησιμοποιώντας υδροξείδιο του καλίου, παρουσία αέρα[92]. Ο Gosain μελέτησε τη λειτουργικότητα των ελεύθερων ριζών από τις β-αμινοαλκοόλες, στα α-άτομα άνθρακα, στο άζωτο σε διαστεροεοκλεκτικό α-άνθρακα, μία αλκυλίωση των 1,3-οξαζιλιδινών[93].

Ορισμένες μελέτες επικεντρώθηκαν στις μεταβλητές, επικεντρώνοντας στην Oppenauer οξείδωση των αμινοαλκοολών (Εικόνα 2.2). Διαπιστώθηκε ότι, όμοια με την κινίνη, πολλές τυπικές 1,2-αμινοαλκοόλες δεν ακολουθήσαν την Oppenauer οξείδωση, με αλουμίνιο τριτ-βουτοξείδιο και βενζοφαινόνη ή κυκλοεξανόνη. Τα φαινόμενα μπορούν να εξηγηθούν, από την άποψη των σταθερών κυκλικών συμπλόκων, τα οποία αν σχηματιστούν προκαλούν την απότομη μετατόπιση της ισορροπίας υπέρ της αμινοαλκοόλης, και θα αναμενόταν να παρεμβαίνουν σοβαρά με μεταφορά υδρογόνου. Οι αμινοαλκοόλες μπορούν να χωριστούν σε τρεις κατηγορίες:

- Τύπου 1,2, οι οποίες μπορούν να λαμβάνουν μέρος σε οξειδώσεις Oppenauer.
- Τύπου 1,4 , 1,5 και μεγαλύτερες αμινοαλκοόλες, οι οποίες θα έπρεπε να οξειδώνονται χωρίς δυσκολία.
- Τύπου 1,3, όπου μία λιγότερη προβλέψιμη αντίδραση μπορεί να εξαρτάται από δομικές και στερεικές επιδράσεις[94].



Εικόνα 2.2 Οξείδωση Oppenauer[95]

Η θεραπεία-ωρίμανση μέσω UV βρίσκει εφαρμογή στην κατασκευή μίας ευρείας ποικιλίας προϊόντων, όπως ψηφιακών δίσκων, οπτικών ινών, εκτυπωτών, την παραγωγή ηλεκτρονικών εξαρτημάτων, πλακιδίων δαπέδου, κτλ. Η επιλογή του σωστού εκκινητή του συστήματος είναι πολύ σημαντική, προκειμένου να επιτευχθεί η σωστή ταχύτητα ωρίμανσης-σκλήρυνσης και η σταθερότητα της επικάλυψης στο φως. Από την άλλη πλευρά, η αναστολή οξυγόνου μειώνει την ταχύτητα της διαδικασίας κι έχει επιβλαβή αποτελέσματα στις ιδιότητες της επιφανειακής μεμβράνης. Η αμινοαλκοόλη (2-(N-Methyl-N-phenylamino)-1-phenyl-ethanol) χρησιμοποιήθηκε στη σύνθεση, ώστε να βοηθήσει στη μείωση της επίδρασης από την έλλειψη οξυγόνου, και να δράσει συνεργατικά ως ένας εκκινητής τύπου-II[96].

Επιπλέον, μία μελέτη έγινε από τον Scheers, όπου επικεντρώθηκε στην κυτταροτοξικότητα των αμινοαλκοολών, που χρησιμοποιούνται ως παράγοντες γαλακτοματωποίησης σε σαπούνια στεγνού καθαρίσματος, σε προϊόντα αφαίρεσης κεριού, καλλυντικά, βαφές κι εντομοκτόνα. Προσδιορίστηκε με τη διαδικασία αναστολής πρόσληψης ουδέτερων κόκκινων, με κανονικώς καλλιεργημένα, απεμπλουτισμένα από γλουταθειόνη ή εμπλουτισμένα με ^{32}F ηπατικά κύτταρα αρουραίου. Διεξήχθη το συμπέρασμα ότι η θέση της αμινομάδας έχει μικρή επίδραση στην κυτταροτοξικότητα των αμινοαλκοολών. Αντίθετα, η θέση της ομάδας του υδροξυλίου φαίνεται να παίζει σημαντικό ρόλο στην τοξικότητα της ένωσης και η πρόσθετη ομάδα φαινυλίου αυξάνει σημαντικά την κυτταροτοξικότητα της 2-αμινο-1,3-προπανοδιόλη.

Επιπρόσθετα με τα προηγούμενα, κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι οι περισσότερες από τις χημικές ουσίες που ελέγχθηκαν, αντιδρούν με GSH, είτε άμεσα είτε έμμεσα, με διαδικασίες που παράγουν ελεύθερες ρίζες οξυγόνου. Μειωμένη τοξικότητα βρέθηκε στις περισσότερες από τις χημικές ενώσεις που έχουν χορηγηθεί σε κύτταρα τα οποία είναι εμπλουτισμένα με βιταμίνη E, υποδεικνύοντας ότι τα δραστικά είδη του οξυγόνου θα μπορούσαν να εμπλέκονται στην τοξικότητα των αμινοαλκοολών[97].

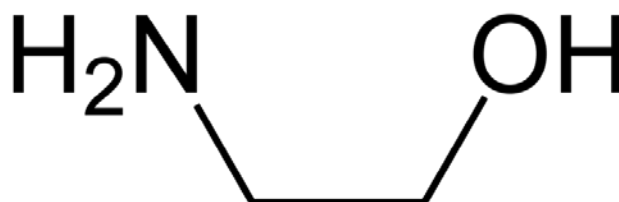
2.2.5 Αμινοαλκοόλες που μελετήθηκαν

Σε αυτό το υποκεφάλαιο παρουσιάζονται οι αμινοαλκοόλες που μελετήθηκαν για την προ-οξειδωτική τους δράση. Συγκεκριμένα, οι αμινοαλκοόλες είναι οι εξής:

- 1) Ethanolamine
- 2) 1-amino-2-propanol
- 3) 2-amino-1-phenylethanol

- 4) 2-amino-2-methyl-1-propanol
- 5) 2-amino-3-phenyl-1-propanol
- 6) Serinol
- 7) Tyramine
- 8) 2-aminophenol
- 9) 4-aminophenol
- 10) 4-methyl-amino-phenol sulfate

2.2.5.1 Ethanolamine - Αιθανολαμίνη



Εικόνα 2.3 Ethanolamine [98]

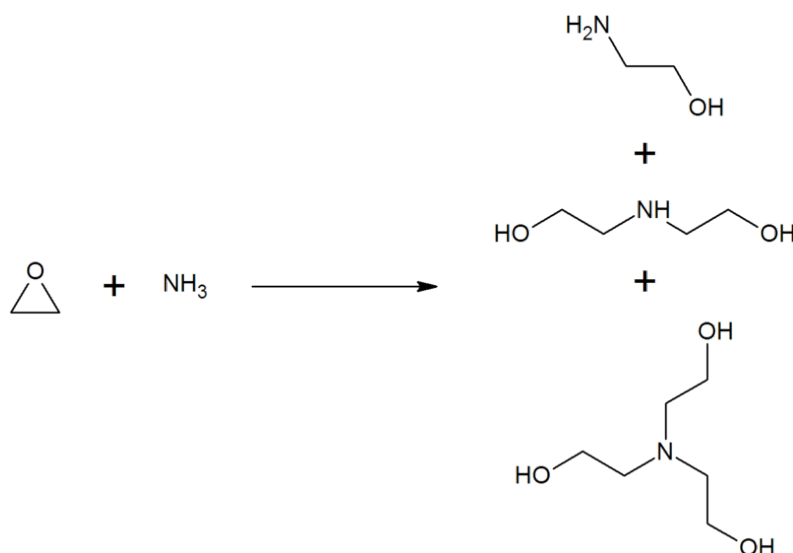
Η αιθανολαμίνη (ethanolamine, ETA), γνωστή επίσης και ως 2-αμινοαιθανόλη (2-aminoethanol) ή μονοαιθανολαμίνη (monoethanolamine, MEA), είναι μία οργανική χημική ένωση που είναι ταυτόχρονα μία στοιχειώδης αμίνη και μία στοιχειώδης αλκοόλη (λόγω της υδροξυλικής ομάδας). Όπως άλλες αμινοαλκοόλες, η αιθανολαμίνη είναι μία ασθενής βάση. Η αιθανολαμίνη είναι ένα τοξικό, εύφλεκτο, διαβρωτικό, άχρωμο, κολλώδες υγρό, με μυρωδιά παρόμοια της αμμωνίας.

Η αιθανολαμίνη ονομάζεται κοινώς ως μονοαιθανολαμίνη (monoethanolamine, MET) έτσι, ώστε να διαχωρίζεται από τη διαιθανολαμίνη (diethanolamine, DEA) ή την τριαιθανολαμίνη (triethanolamine, TEA). Η αιθανολαμίνη είναι η δεύτερη πιο άφθονη ένωση με “κεφαλή” για φωσφολιπίδια, ενώσεις που βρίσκονται σε βιολογικές μεμβράνες και χρησιμοποιούνται επίσης ως αγγελιαφόρα μόρια [99].

Ο όρος “αιθανολαμίνες” (πληθυντικός της αιθανολαμίνης) είναι μια ομάδα αμινο-αλκοολών. Μια τάξη των αντισταμινικών προσδιορίζεται ως αιθανολαμίνες, η οποία περιλαμβάνει τις ενώσεις καρβινοξαμίνη, κλεμαστίνη, διμενυδρινάτη, διφαινυδραμίνη, και δοξυλαμίνη [100].

2.2.5.1.1 Σύνθεση

Η ένωση αυτή παράγεται από την αντίδραση του οξειδίου του αιθυλενίου με υγρή αμμωνία. Από την αντίδραση προκύπτουν ακόμη διαιθανολαμίνη και τριαιθανολαμίνη. Η αναλογία των προϊόντων μπορεί να ελεγχθεί αλλάζοντας τη στοιχειομετρία των αντιδρώντων [101].

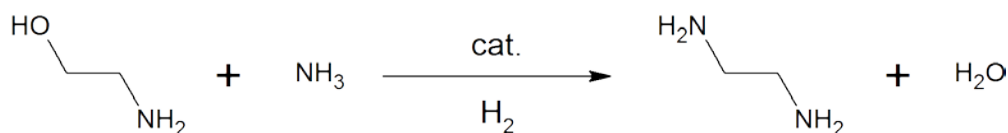


Αντίδραση 2.1 Αντίδραση σύνθεσης της Αιθανολαμίνης

Η παραπάνω αντίδραση είναι εξώθερμη, επομένως απαιτούνται έλεγχοι ώστε να αποτραπεί μία ανεξέλεγκτη αντίδραση.

2.2.5.1.2 Εφαρμογές

Η αιθανολαμίνη χρησιμοποιείται σε υδατικά διαλύματα για τον καθαρισμό ορισμένων όξινων αερίων. Χρησιμοποιείται ως πρώτη ύλη για την παραγωγή απορρυπαντικών, γαλακτοματοποιητών, γυαλιστικών, φαρμακευτικών προϊόντων, αναστολέων διάβρωσης και χημικών ενδιάμεσων [101,102]. Για παράδειγμα, η αντίδραση της αιθανολαμίνης με την αμμωνία δίνει τον ευρέως χρησιμοποιούμενο χηλικό παράγοντα, αιθυλενοδιαμίνη [101].



Αντίδραση 2.2 Αντίδραση αιθανολαμίνης προς παραγωγή αιθυλενοδιαμίνης

Σε φαρμακευτικές συνθέσεις, η αιθανολαμίνη χρησιμοποιείται κυρίως για την παραγωγή ή την αποθήκευση των γαλακτωμάτων. Επιπλέον, μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη ρύθμιση του pH στα καλλυντικά [103].

2.2.5.1.2.1 Καθαρισμός ροής αερίου

Υδατικά διαλύματα αιθανολαμίνης (διαλύματα αιθανολαμίνης σε νερό) χρησιμοποιούνται ως υγρά “καθαρισμού” ροής αερίων σε μία διαδικασία όπου αλκυλαμίνες (ή ουσιαστικά μόρια αμινών) χρησιμοποιούνται για την απομάκρυνση επικίνδυνων αερίων, όπως H₂S και CO₂.

Για παράδειγμα, υγρή μονοαιθανολαμίνη χρησιμοποιείται για να απομακρύνει το διοξείδιο του άνθρακα (CO₂) από καπναέρια. Υδατικά διαλύματα μπορούν να διαλύσουν ασθενώς ορισμένα είδη αερίων από ένα μικτό ρεύμα αερίων. Η μονοαιθανολαμίνη σε τέτοια διαλύματα, ενεργεί ως ασθενής βάση, εξουδετερώνοντας στη συνέχεια όξινες ενώσεις που διαλύονται στο διάλυμα έτσι, ώστε τα μόρια να αποκτήσουν μία ιονική μορφή, καθιστώντας τα πολικά και περισσότερο διαλυτά σε κρύα διαλύματα μονοαιθανολαμίνης, κι έτσι διαλύονται τα όξινα αέρια σε διαλύματα “καθαρισμού” αερίων. Ως εκ τούτου, η επαφή μιας μεγάλης επιφάνειας με ένα τέτοιο ψυχρό διάλυμα έκπλυσης, σε μια μονάδα καθαρισμού, μπορεί να αφαιρέσει εκλεκτικά όξινα συστατικά υδρόθειο και διοξείδιο του άνθρακα, από μερικά μικτά ρεύματα αερίου. Για παράδειγμα, βασικά διαλύματα όπως η υδατική μονοαιθανολαμίνη ή υδατικό ανθρακικό κάλιο, μπορούν να μετατρέψουν το H₂S σε HS⁻, ή το CO₂ σε HCO₃⁻.

Το υδρόθειο και το διοξείδιο του άνθρακα είναι ασθενώς όξινα αέρια. Ένα υδατικό διάλυμα μιας ισχυρής βάσης, όπως το καυστικό νάτριο, δε θα μπορεί να “ελευθερώσει” τα αέρια αυτά, από τη στιγμή που θα έχουν διαλυθεί. Ωστόσο, η μονοαιθανολαμίνη είναι αρκετά ασθενής βάση και ελευθερώσει πάλι υδρόθειο ή διοξείδιο του θείου, όταν το διάλυμα πλύσεως θερμαίνεται. Ως εκ τούτου, το διάλυμα πλύσεως της μονοαιθανολαμίνης ανακυκλώνεται δια μέσου μιας μονάδας αναγεννήσεως, η οποία θερμαίνει το διάλυμα μονοαιθανολαμίνης από τη μονάδα καθαρισμού, για να απελευθερώσει μόνο αυτά τα ελαφρώς όξινα αέρια, σε μία “καθαρότερη” μορφή, κι επιστρέφει το αναγεννημένο διάλυμα μονοαιθανολαμίνης στη μονάδα καθαρισμού και πάλι για επόμενες χρήσεις.

2.2.5.1.2.2 Έλεγχος της αλκαλικότητας

Η αιθανολαμίνη χρησιμοποιείται συχνά για την αλκαλοποίηση του νερού, σε κύκλους νερού των σταθμών παραγωγής ενέργειας, συμπεριλαμβανομένων των πυρηνικών σταθμών με αντιδραστήρες πεπιεσμένου ύδατος. Αυτή η αλκαλοποίηση γίνεται για τον έλεγχο της διάβρωσης των μεταλλικών εξαρτημάτων-στοιχείων. Η αιθανολαμίνη επιλέγεται επειδή δε συσσωρεύεται σε αντλίες ατμού και ρωγμές μετάλλων, λόγω της πτητικότητάς της, αλλά κατανέμεται σχετικά ομοιόμορφα σε ολόκληρο τον κύκλο ατμού. Σε μία τέτοια εφαρμογή, η αιθανολαμίνη αποτελεί σπουδαίο συστατικό των υλικών που ονομάζονται “all-volatile treatment of water”.

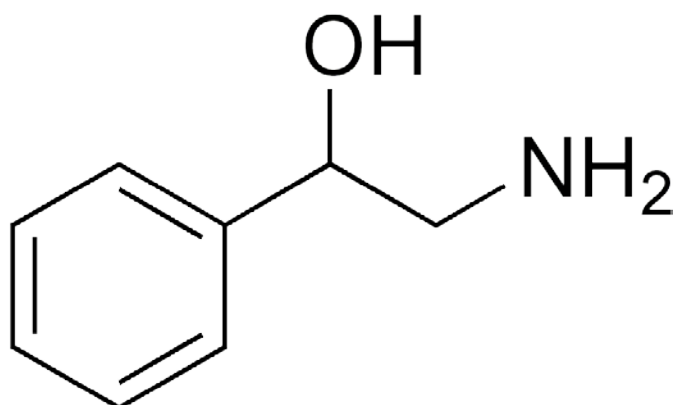
2.2.5.1.2.3 Άλλες εφαρμογές

Οι αντιδράσεις ριζών υδροξυλίου με αιθανολαμίνη, καθώς και η παραγωγή αναγωγικών και οξειδωτικών ριζών μελετήθηκαν από τον Kishore και την ερευνητική του ομάδα. Κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι παράγονται δύο είδη, μία αναγωγική ρίζα κι ένα οξειδωτικό είδος. Η απόδοση των οξειδωτικών ειδών βρέθηκε ότι είναι περισσότερη από εκείνη των αναγωγικών, υποδεικνύοντας υψηλότερη δραστηριότητα στη θέση της αμίνης[104].

Σε μία άλλη μελέτη που διεξήχθη, σχετικά με την οξείδωση των λιπιδίων της σάρκας του μπακαλιάρου του Ειρηνικού, ο Roubal συμπέρανε ότι τα ελαφριά λιπίδια της σάρκας, που αποτελούνται κυρίως από φωσφατιδυλοαιθανολαμίνη και φωσφατιδυλοχολίνη, περιέχουν λιπαρά οξέα, πλούσια σε ακόρεστα και σε μοντελικά συστήματα χωρίς καθόλου προ-οξειδωτικά. Χαρακτηριστικό είναι ότι τα παράγωγα της αιθανολαμίνης δέχθηκαν κατά ένα μεγάλο ποσοστό οξειδώσεις[105].

Τέλος, οι Wang μελέτησαν τον ρόλο του πλασμαλογόνου της αιθανολαμίνης που εκχυλίζεται από τον εγκέφαλο βοοειδών, στη διατήρηση της οξειδωτικής σταθερότητας μεγάλου μέρους ελαίου σόγιας και λιποσώματος, προερχόμενα από φωσφολιπίδια αυγών. Συμπέραναν ότι η αιθανολαμίνη πλασμαλογόνου δεν δρα ως αντιοξειδωτικό, αλλά μάλλον ως προ-οξειδωτικό, σε ένα σύστημα λιπιδίων, και δεν έχει σημαντική αντιοξειδωτική δράση για την οξείδωση των φωσφολιπιδίων στο λιπόσωμα[106].

2.2.5.2 2-amino-1-phenylethanol – Φαινυλαιθανολαμίνη



Εικόνα 2.4 Phenylethanolamine [107]

Η φαινυλαιθανολαμίνη (Phenylethanolamine, συντετμημένα αναφέρεται ως ΡΕΟΗ), ή β-υδροξυφαινηθλαμίνη(β-hydroxyphenethylamine), είναι μία βιογενής αμίνη που σχετίζεται δομικά με τον μείζονα νευροδιαβιβαστή νορεπινεφρίνη, και τη βιογενή αμίνη οκτοπαμίνη(octopamine). Ως οργανική ένωση, η φαινυλαιθανολαμίνη είναι μία υδροξυλιωμένη β-φαινηθλαμίνη, που επιπρόσθετα σχετίζεται δομικά με έναν αριθμό συνθετικών φαρμάκων όπως η φαινυλοπροπανολαμίνη(β-hydroxyphenethylamine), και με την οικογένεια των αλκαλοειδών της εφεδρίνης(ephedrine, φάρμακα - ναρκωτικά).

Σε σχέση με τις ενώσεις αυτές, η φαινυλαιθανολαμίνη έχει ισχυρή καρδιαγγειακή δραστηριότητα[107], και, με την ονομασία “Arophenadrin”, έχει χρησιμοποιηθεί ως φάρμακο για την πρόκληση τοπικής αγγειοσυστολής[108]. Στην όψη, η φαινυλαιθανολαμίνη, είναι ένα άχρωμο στερεό, με απαλό κίτρινο χρώμα.

Η φαινυλαιθανολαμίνη είναι ίσως ευρύτερα γνωστή στο πεδίο των βιοαισθήσεων, ως μέρος του ονόματος του ενζύμου “φαινυλαιθανολαμίνη N-μεθυλ τρανσφεράση”(phenylethanolamine N-methyl transferase), που αναφέρεται σε ένα ένζυμο το οποίο είναι υπεύθυνο για τη μετατροπή της νορεπινεφρίνης(norepinephrine) σε επινεφρίνη, καθώς και άλλων συναφών μετασχηματισμών[109].

2.2.5.2.1 Ύπαρξη

Η φαινυλαιθανολαμίνη έχει βρεθεί να υφίσταται φυσικά σε αρκετά είδη ζώων, συμπεριλαμβανομένων των ανθρώπων[110,111].

2.2.5.2.2 Χημεία

2.2.5.2.2.1 Σύνθεση

Μία πρώιμη σύνθεση της ένωσης, προκύπτει από την αναγωγή της 2-nitro-1-phenyl-ethanol [112]. Άλλες μεταγενέστερες μέθοδοι σύνθεσης της ένωσης, συνοψίζονται στην εργασία των Hartung και Munch[113]. Μία πιο πρόσφατη μέθοδος σύνθεσης, η οποία παρέχει καλύτερη απόδοση, είναι αυτή της αναγωγής του κυανιδίου του βενζοϋλίου με LiAlH_4 [114].

2.2.5.2.2.2 Ιδιότητες

Από χημικής άποψης, η φαινυλαιθανολαμίνη είναι μία αρωματική ένωση, μία αμίνη και μία αλκοόλη. Η αμινο-ομάδα καθιστά αυτήν την ένωση, ασθενή βάση ικανή, ωστόσο, να αντιδρά με οξέα και να παράγει άλατα.

Δύο κοινά άλατα που προέρχονται από τη φαινυλαιθανολαμίνη, είναι το υδροχλωρικό $C_8H_{11}NO \cdot HCl$, με σημείο τήξης $212^{\circ}C$, και το θειικό $(C_8H_{11}NO)_2 \cdot H_2SO_4$, με σημείο τήξης $239-240^{\circ}C$ [108,115].

Η τιμή της σταθεράς pK_a της υδροχλωρικής φαινυλαιθανολαμίνης, στους $25^{\circ}C$ και σε συγκέντρωση $10mM$, έχει καταγραφεί $8,9$ [116].

Η παρουσία της υδροξυλο-ομάδας επί του βενζυλικού άνθρακα στο μόριο της φαινυλαιθανολαμίνης, δημιουργεί ένα χειρόμορφο κέντρο έτσι, ώστε η ένωση να υφίσταται υπό τη μορφή δύο εναντιομερών, *d*- και *l*-φαινυλαιθανολαμίνη, ή ως ρακεμικό μίγμα *d,l*-φαινυλαιθανολαμίνη. Το δεξιόστροφο ισομερές[117] αντιστοιχεί στην *S* διαμόρφωση, ενώ το αριστερόστροφο ισομερές[118] αντιστοιχεί στην *R* διαμόρφωση[119].

2.2.5.2.3 Φαρμακολογία

Στα προηγούμενα χρόνια, κλασικές φαρμακολογικές μελέτες της φαινυλαιθανολαμίνης διεξήχθησαν από τον Tainter, ο οποίος παρατήρησε τις επιδράσεις έπειτα από χορήγησή της σε κουνέλια, γάτες και σκύλους. Το φάρμακο προκαλεί ταχεία αύξηση της αρτηριακής πίεσης όταν χορηγείται *in vivo*, αλλά παρουσιάζει μικρές ή δεν παρουσιάζει καθόλου επιδράσεις όταν χορηγείται μέσω οποιασδήποτε άλλης οδού. Δόσεις τόσο υψηλές, όσο 200 mg χορηγούμενα υποδορίως σε κουνέλια, δε μεταβάλλουν την αρτηριακή πίεση, ούτε υπήρχαν οποιεσδήποτε επιδράσεις όταν το φάρμακο διασωληνώθηκε μέσα στο στομάχι.

Στον άνθρωπο, μία συνολική δόση $1gr$ από το στόμα, δεν έφερε καθόλου επιδράσεις.

2.2.5.2.4 Βιοχημεία

Η φαινυλαιθανολαμίνη η οποία βρέθηκε ότι αποτελεί ένα εξαιρετικό υπόστρωμα για το ένζυμο “phenylethanolamine N-methyl transferase” (PNMT), απομονώθηκε αρχικά από τον Julius Axelrod από επινεφρίδιους αδένες πιθήκων, οι οποίοι το μετατρέπουν σε N-methylphenylethanolamine [120].

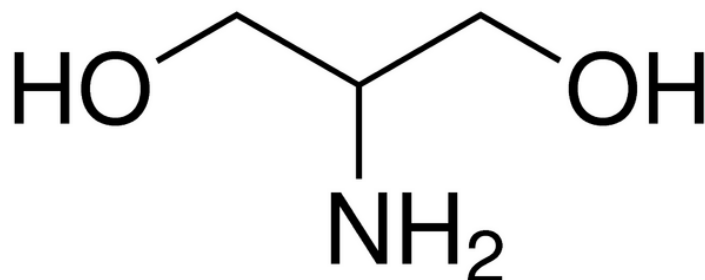
Μεταγενέστερες μελέτες από τον Rafferty και συνεργάτες έδειξαν ότι η επιλεκτικότητα του υποστρώματος της PNMT από επινεφρίδιους αδένες βοδινών για τα διάφορα εναντιομερή της φαινυλαιθανολαμίνης ακολουθεί τη διάταξη [121]:



2.2.5.2.5 Τοξικολογία

Η ελάχιστη θανατηφόρος δόση κατόπιν υποδόριας ένεσης σε ινδικά χοιρίδια ήταν περίπου 1000 mg/kg, η ενδοφλέβια σε κουνέλια ήταν 25-30 mg/kg [112], ενώ σε αρουραίους κατόπιν ενδοφλέβιας χορήγησης ήταν 140 mg/kg [115].

2.2.5.3 Serinol – Σερινόλη



Εικόνα 2.5 Σερινόλη [122]

Η σερινόλη, ή διαφορετικά, 2-αμινο-1,3-προπανοδιόλη, ανήκει στην κατηγορία των διαλκοολαμινών και είναι δομικό ανάλογο της γλυκερόλης. Στη φύση απαντάται σε προϊόντα μεταβολισμού μικροοργανισμών (σερινολιπίδια), τα οποία εμφανίζουν ενδιαφέρουσες βιολογικές δράσεις όπως κυτταροτοξικότητα και αντιβακτηριακή δράση[123,124].

2.2.5.3.1 Σύνθεση

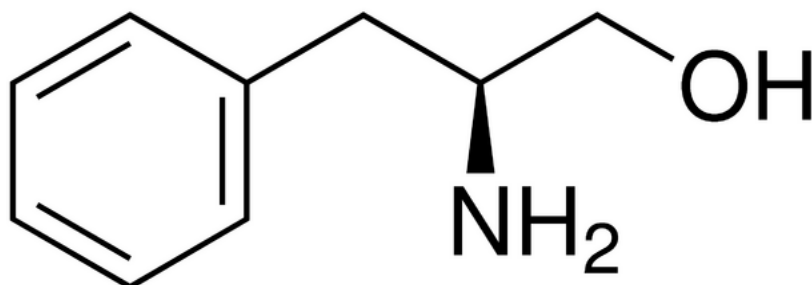
Μπορεί να ληφθεί από χημικές διαδικασίες που βασίζονται στις 2-νιτρο-1,3-προπανοδιόλη, διυδροξυακετόνη και αμμωνία, διυδροξυακετονοξίμη ή 5-αμινο-1,3-διοξάνη, καθώς και στη βιοτεχνολογική εφαρμογή των δεϋδρογενασών ή τρανσαμινασών των αμινοαλκοολών[126]. Οι έρευνες που αναζητούν τη σχέση σερινόλης και οξειδώσεων είναι σπάνιες.

2.2.5.3.2 Εφαρμογές

Η σερινόλη χρησιμοποιείται για τη σύνθεση κατιοντικών λιπιδίων για συστήματα μεταφοράς φαρμάκων όπως επίσης και νέων υλικών, πολυμερών και δενδριμερών, με ποικιλία εφαρμογών στη βιοϊατρική, τη χημεία και την τεχνολογία των υλικών[125]. Η σερινόλη επιλέχθηκε ως δομικό ανάλογο της γλυκερόλης γιατί προσφέρει δύο ομάδες υδροξυλίου οι οποίες επιτρέπουν περαιτέρω χημική τροποποίηση στο μόριο.

Η αμινοαλκοόλη σερινόλη έχει γίνει ένα συνηθισμένο ενδιάμεσο σε διάφορες χημικές διεργασίες. Από το 1940, η σερινόλη χρησιμοποιείται ως πρόδρομη ένωση για τη σύνθεση αντιβιοτικών. Πρόσφατα, ανακαλύφθηκαν νέα πεδία εφαρμογών. Η σερινόλη χρησιμοποιείται στις παραμέτρους αντίθεσης ακτίνων x, για φαρμακευτική ή χημική σύνθεση σφιγγοσίνης/κεραμιδίου.

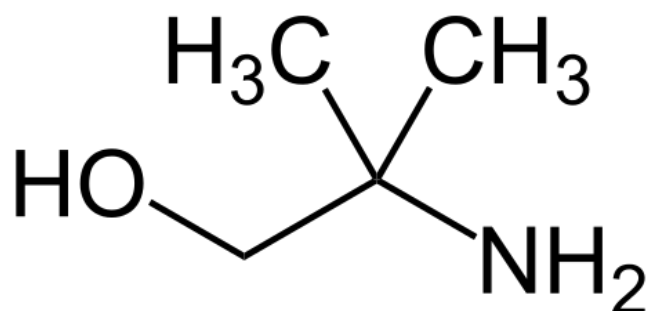
2.2.5.4 2-amino-3-phenyl-1-propanol



Εικόνα 2.6 2-amino-3-phenyl-1-propanol [127]

Η 2-αμινο-3-φαινυλο-1-προπανολη θεωρείται ισχυρό ligand. Η δομή του μορίου είναι παρεμφερής με τη δομή κάποιων ορμονών και αλκαλοειδών, όπως η αδρεναλίνη, η νοραδρεναλίνη και η εφεδρίνη, τα οποία διαφέρουν το ένα από το άλλο στον αριθμό και τη σχετική θέση της αλκοολικής και φαινυλικής ομάδας. Η σύγκριση των τιμών που λαμβάνονται με τις αντίστοιχες που είχαν προηγούμενα καθοριστεί για ορισμένες αλειφατικές β-αμινοαλκοόλες με τις ίδιες πολικές κεφαλές, επέτρεψε να αποδειχθεί η επίδραση του αρωματικού δακτυλίου στις ιδιότητες συντονισμού των ligand, η οποία είναι διαφορετική ανάλογα με το εξεταζόμενο μεταλλικό ιόν. Ειδικότερα, αποδεικνύονται οι δύο αντικρουόμενες επιδράσεις. Το φαινόμενο της έλξης ηλεκτρονίων από τον αρωματικό δακτύλιο οδηγεί στη μείωση της βασικότητας της αμίνης, η οποία αντανακλά στην αναγωγή του δεσμού συντονισμού του μετάλλου με την αμινομάδα. Η επίδραση αυτή επικρατεί στην περίπτωση συμπλόκων ψευδαργύρου(II), και προκαλεί αναγωγή της σταθερότητας του συμπλόκου, η οποία είναι ευθέως ανάλογη της βασικότητας της αμινομάδας. Από την άλλη πλευρά, στην περίπτωση συμπλόκων αργύρου(I) και καδμίου(II), η ομάδα φαινυλίου φαίνεται να συμβάλλει άμεσα στον συντονισμό του μεταλλικού ιόντος, προκαλώντας σταθεροποίηση των συμπλόκων[128].

2.2.5.5 2-amino-2-methyl-1-propanol



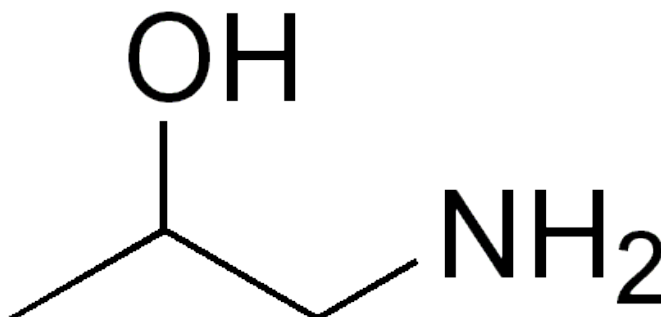
Εικόνα 2.7 2-amino-2-methyl-1-propanol [129]

Η 2-αμινο-2-μεθυλο-1-προπανολη, ή διαφορετικά αμινο-μεθυλοπροπανολη ή Isobutanol-2-amine, είναι ένα καθαρό, άχρωμο υγρό που εξουδετερώνει τα οξέα, ώστε να παράγει άλατα και νερό. Είναι αδιάλυτη στο νερό, κι έχει την ίδια πυκνότητα με αυτό.

2.2.5.5.1 Εφαρμογές

Η συγκεκριμένη αμινοαλκοόλη χρησιμοποιείται κυρίως για την παραγωγή ρυθμιστικών διαλυμάτων. Επιπρόσθετες χρήσεις της αμινοαλκοόλης είναι η παραγωγή καλλυντικών, για την περιποίηση ματιών, μαλλιών, προσώπου και δέρματος[130-132]. Άλλες χρήσεις της αμινοαλκοόλης είναι η παρασκευή σκευμασμάτων ελαίου, βερνικιών και προϊόντων καθαρισμού[133].

2.2.5.6 1-amino-2-propanol



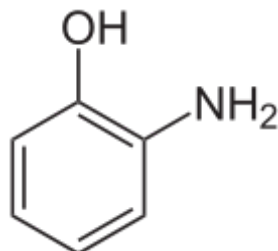
Εικόνα 2.8 1-amino-2-propanol [134]

Η αμινοαλκοόλη 1-αμινο-2-προπανολη, ή διαφορετικά Ισοπροπανολαμίνη ή μονο-ισοπροπανολαμίνη ή θρεαμίνη, παρασκευάζεται με την προσθήκη υδατικής αμμωνίας σε οξύδιο του προπυλενίου.

2.2.5.6.1 Εφαρμογές

Οι ισοπροπανολαμίνες είναι βασικές χημικές ουσίες που βρίσκουν εφαρμογή στην επίτευξη βασικότητας, αλκαλικότητας και στον έλεγχο ρυθμιστικών διαλυμάτων. Είναι καλοί διαλύτες λιπαρών και ελαίων, οπότε θεωρούνται ιδανικές χημικές ουσίες για την εξουδετέρωση λιπαρών οξέων και επιφανειοδραστικών σουλφονικών οξέων. Άλλες χρήσεις της συγκεκριμένης αμινοαλκοόλης είναι για υγρά επεξεργασίας μετάλλων, επικάλυψη πλωτών, προϊόντα προσωπικής φροντίδας, παραγωγή διοξειδίου του τιτανίου και πολυορεθάνης. Επιπλέον, η 1-amino-2-propanol λειτουργεί ως ενδιάμεσο για τη σύνθεση μίας ποικιλίας φαρμακευτικών προϊόντων και αποτελεί βασικό δομικό συστατικό της οπιοειδούς μεθαδόνης. Το χημικό παράγωγο 1-διμεθυλαμινο-2-προπανόλη μπορεί να συντεθεί μέσω μεθυλίωσης τύπου Eschweiler-Clarke, της 1-αμινο-2-προπανόλη με χρήση μυρμηκικού οξέος και φορμαλδεΐδης[135-137].

2.2.5.7 2-Aminophenol – 2-Αμινοφαινόλη



Εικόνα 2.9 2-Αμινοφαινόλη [138]

Η 2-αμινοφαινόλη είναι μία οργανική ουσία, όπου μαζί με το ισομερές 4-αμινοφαινόλη, είναι ένα επαμφοτερίζον μόριο και δρα ως αναγωγικός παράγοντας. Είναι χρήσιμος παράγοντας για τη σύνθεση χρωστικών ουσιών και ετεροκυκλικών ενώσεων[139]. Αντανακλώντας τον ελαφριά υδρόφιλο χαρακτήρα της, η μορφή της λευκής σκόνης που έχει η 2-αμινοφαινόλη είναι μέτρια διαλυτή σε αμινοαλκοόλες και μπορεί να ανακρυσταλλωθεί με καυτό νερό.

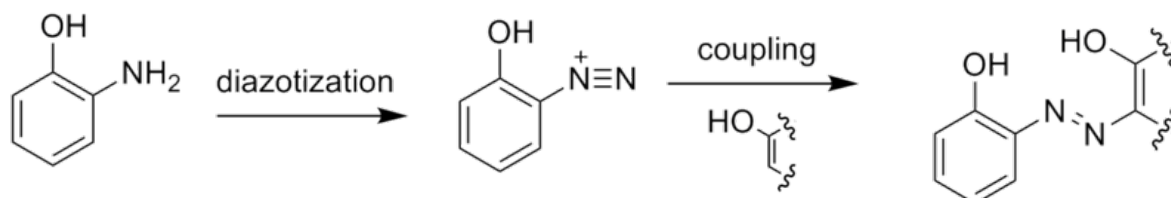
2.2.5.7.1 Σύνθεση και Δομή

Η 2-αμινοφαινόλη συντίθεται βιομηχανικώς με αναγωγή της αντίστοιχης νιτροφαινόλης από υδρογόνο παρουσία, διαφόρων καταλυτών. Οι νιτροφαινόλες μπορούν, ακόμη, να αναχθούν με σίδηρο[139]. Η ένωση εμφανίζει ενδομοριακό και διαμοριακό δεσμό υδρογόνου, περιλαμβάνοντας τις γειτονικές αμινομάδες και υδροξυλομάδες. Σαν αποτέλεσμα, η 2-αμινοφαινόλη έχει ένα αρκετά υψηλό σημείο τήξης, σε σύγκριση με άλλες ενώσεις με παρόμοιο μοριακό βάρος, όπως το μόριο της μεθυλοφαινόλης[140].

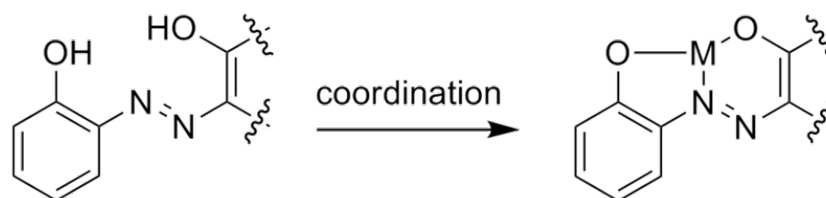
2.2.5.7.2 Εφαρμογές

Η 2-αμινοφαινόλη έχει μία ευρεία ποικιλία χρήσεων κι εφαρμογών. Ως αναγωγικός παράγοντας, διατίθεται στο εμπόριο με τις ονομασίες “Atomal” και “Ortol” για την εκτύπωση ασπρόμαυρων φωτογραφιών[139]. Επιπλέον, η 2-αμινοφαινόλη λειτουργεί ως ενδιάμεσο στη σύνθεση χρωστικών ουσιών και βαφών. Είναι ιδιαίτερα χρήσιμη στην παροχή βαφών με μεταλλικά σύμπλοκα, όταν υφίσταται διαζώτωση και συζευγνύεται με μία φαινόλη, ναφθόλη, ή άλλα αρωματικά ή συντονιστικά είδη βαφών(Αντιδράσεις 2.3 και 2.4 που ακολουθούν παρακάτω).

Βαφές μεταλλικών συμπλόκων, οι οποίες χρησιμοποιούν χαλκό ή χρώμιο, χρησιμοποιούνται συνήθως για την παραγωγή “άτονων” χρωμάτων. Βαφές με τριδοτικά ligand είναι χρήσιμα, καθώς είναι πιο σταθερά από τα μονοδοτικά ή διδοτικά[141,142].

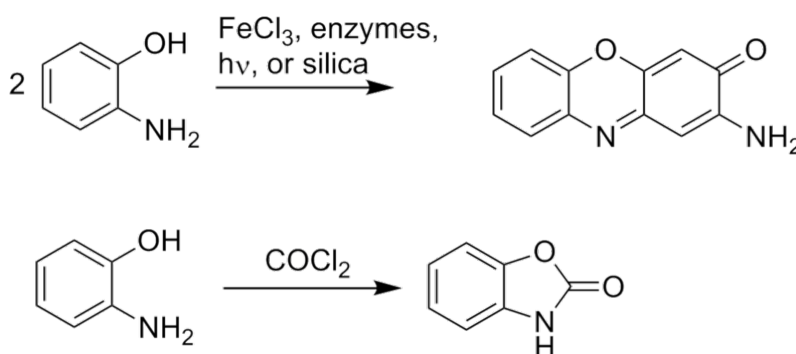


Αντίδραση 2.3



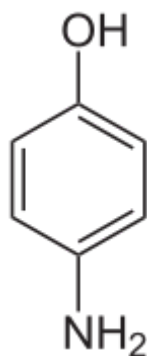
Αντίδραση 2.4

Λόγω της γειτνίασης της υδροξυλικής με την αμινική ομάδα, σχηματίζει εύκολα ετεροκυκλικές ενώσεις (Αντίδραση 2.5). Οι τελευταίες, όπως για παράδειγμα τα βενζοξαζόλια, μπορούν να είναι βιολογικώς δραστικά και χρήσιμα στην φαρμακευτική βιομηχανία [139,143].



Αντίδραση 2.5

2.2.5.8 4-Aminophenol – 4-Αμινοφαινόλη



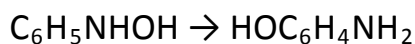
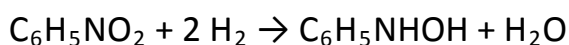
Εικόνα 2.10 4-Αμινοφαινόλη

Η 4-αμινοφαινόλη, ή διαφορετικά para-aminophenol ή p-aminophenol), είναι μία οργανική ένωση με τη μορφή λευκής σκόνης, που χρησιμοποιείται συνήθως για την εμφάνιση ασπρόμαυρων φωτογραφιών, και διατίθεται στο εμπόριο με την ονομασία “Rodinal” [144].

Ομοίως με την 2-αμινοφαινόλη, είναι μετρίως διαλυτή σε αλκοόλες και ανακρυσταλλώνεται με καυτό νερό. Ακόμη, παρουσία βάσης οξειδώνεται εύκολα, ενώ τα παράγωγα N-methyl and N,N-dimethyl, παρουσιάζουν μεγάλη εμπορική αξία.

2.2.5.8.1 Σύνθεση

Η 4-αμινοφαινόλη παράγεται από φαινόλη με νίτρωση, ακολουθούμενη από αναγωγή με σίδηρο. Εναλλακτικά, η μερική υδρογόνωση νιτροβενζολίου δίδει φαινυλδροξυλαμίνη, το οποίο αναδιατάσσεται κυρίως σε 4-αμινοφαινόλη(Αντίδραση 2.6)[145].

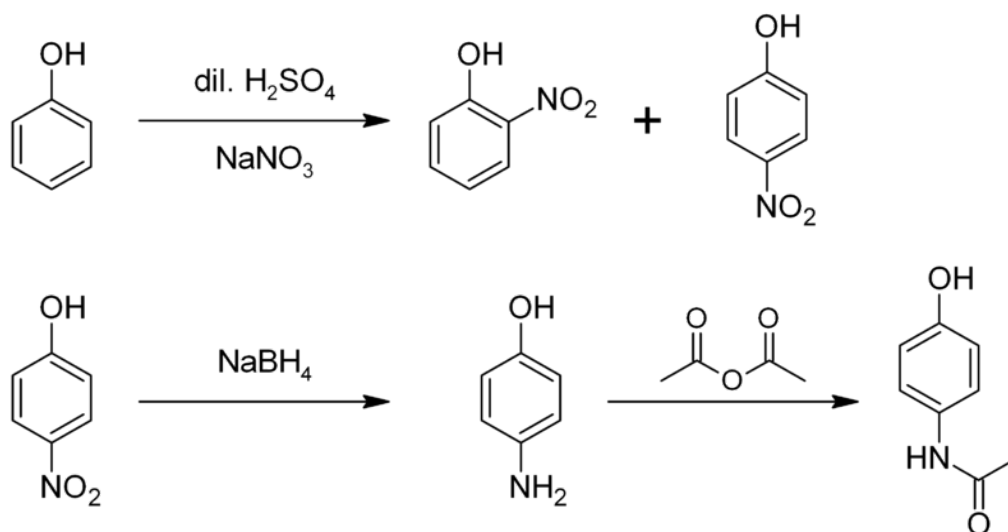


Αντίδραση 2.6 Σύνθεση 4-Αμινοφαινόλης

Μία ακόμη εναλλακτική πορεία σύνθεσης 4-αμινοφαινόλης, είναι η αναγωγή νιτροβενζολίου με ρινίσματα σιδήρου σε οξύ, ή με καταλυτική υδρογόνωση.

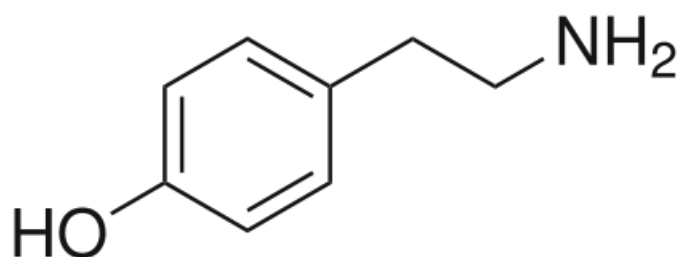
2.2.5.8.2 Εφαρμογές

Η 4-αμινοφαινόλη είναι μία χημική ένωση που δρα ως δομικό στοιχείο για τη σύνθεση ενώσεων. Πρέπει να τονιστεί ότι είναι το τελικό ενδιάμεσο στη βιομηχανική σύνθεση της παρακεταμόλης, καθώς η κατεργασία αυτής με οξικό ανυδρίτη δίνει την παρακεταμόλη(Αντίδραση 2.7)[146-149].



Αντίδραση 2.7

2.2.5.9 Tyramine – Τυραμίνη



Εικόνα 2.11 Τυραμίνη [150]

Η τυραμίνη, ή διαφορετικά 4-υδροξυφαινηθλαμίνη, para-τυραμίνη, tydril ή uteramin, είναι μία φυσικά προερχόμενη ένωση μονοαμίνης και ιχνοστοιχείων αμίνης, η οποία προέρχεται από το αμινοξύ τυροσίνη[151]. Η τυραμίνη δρα ως παράγοντας απελευθέρωσης κατεχολαμίνης. Είναι αξιοσημείωτο το γεγονός ότι δεν είναι ικανή να διασχίσει το αιματοεγκεφαλικό “φράγμα”, με αποτέλεσμα τις μη ψυχοενεργές, περιφερειακές συμπαθομιμητικές επιδράσεις. Η εκδήλωση υπερτασικής κρίσης μπορεί να προκύψει από την κατανάλωση τροφών πλούσιων σε τυραμίνη, σε συνδυασμό με αναστολείς της μονοαμινοξειδάσης.

2.2.5.9.1 Ύπαρξη

Η τυραμίνη εμφανίζεται ευρέως σε φυτά[152] και ζώα, και μεταβολίζεται από το ένζυμο οξειδάση της μονοαμίνης. Στα τρόφιμα, συχνά παράγεται με την αποκαρβοξυλίωση της τυροσίνης, κατά τη διάρκεια της ζύμωσης ή της αποσύνθεσης.

Τα τρόφιμα που περιέχουν σημαντικές ποσότητες τυραμίνης είναι το κρέας που είναι δυνητικά χαλασμένο ή αλατισμένο(προορίζεται για παστό), μπαγιάτικο, καπνιστό, που έχει υποστεί ζυμώσεις, ή μαριναρισμένο(ψάρι, πουλερικά ή βοδινό). Επιπλέον, περιέχεται στα περισσότερα χοιρινά κρέατα(εκτός από το χοιρομέρι), στη σοκολάτα, στα αλκοολούχα ποτά και σε τρόφιμα που έχουν υποστεί ζυμώσεις, όπως τα περισσότερα τυριά(εκτός ricotta, cottage, cream και Neufchâtel), κρέμα γάλακτος, γιαούρτι, πάστα γαρίδας, σάλτσα και καρυκεύματα σόγιας, σάλτσα τεριγιάκι, λάχανο τουρσί, ο λοβός πράσινων φασολιών, επίπεδα φασόλια, μπιζέλια χιονιού, αβοκάντο, μπανάνα, ανανά, μελιτζάνες, σύκα, δαμάσκηνα κόκκινα, τα σμέουρα, τα φιστίκια, καρύδια Βραζιλίας, καρύδες, επεξεργασμένο κρέας, μαγιά, και μια σειρά από κάκτους.

2.2.5.9.2 Φυσικά φαινόμενα και Φαρμακολογία

Η τυραμίνη μεταβολίζεται φυσιολογικά από αναστολείς της μονοαμινοξειδάσης. Στον άνθρωπο, αν ο μεταβολισμός της μονοαμίνης παρεμποδίζεται από την χρήση αναστολέων της μονοαμινοξειδάσης, κι αν έχουν καταναλωθεί τροφές πλούσιες σε τυραμίνη, μπορεί να προκληθεί μία κρίση υπέρτασης, καθώς η τυραμίνη μπορεί να προκαλέσει την απελευθέρωση των αποθηκευμένων μονοαμινών, όπως η ντοπαμίνη, νορεπινεφρίνη κι επινεφρίνη.

Τα πρώτα σημάδια αυτού ανακαλύφθηκαν από έναν νευρολόγο, ο οποίος παρατήρησε την γυναίκα του, η οποία εκείνη την περίοδο κατανάλωνε φάρμακα με αναστολείς της μονοαμινοξειδάσης, και υπέφερε από κεφαλαλγίες όσο κατανάλωνε τυρί[153]. Για τον λόγο αυτό, η κρίση ονομάζεται “φαινόμενο τυριού” ή “κρίση τυριού”, παρόλο που και άλλα τρόφιμα μπορεί να προκαλέσουν το ίδιο πρόβλημα[154]. Τα περισσότερα επεξεργασμένα τυριά δεν περιέχουν αρκετή ποσότητα τυραμίνης, ώστε να προκαλέσουν αυτό το φαινόμενο, αν και ορισμένα παλαιωμένα τυριά μπορούν[155,156].

Η μεγάλη διατροφική πρόσληψη της τυραμίνης, ή διαφορετικά η πρόσληψη τυραμίνης με ταυτόχρονη κατανάλωση αναστολέων μονοξειδάσης, μπορεί να προκαλέσει απόκριση της υπέρτασης, που ορίζεται ως αύξηση της συστολικής αρτηριακής πίεσης κατά 30mmHg ή περισσότερο. Η μετατόπιση της νορεπινεφρίνης από τα νευρωνικά κυστίδια αποθήκευσης, λόγω οξείας κατανάλωσης τυραμίνης, πιστεύεται ότι προκαλεί αγγειοσυστολή, αύξηση των καρδιακών παλμών και αρτηριακής πίεσης. Σε σοβαρές περιπτώσεις, ίσως προκληθεί και αδρενεργική κρίση.

Ωστόσο, εάν κάποιος έχει επαναλαμβανόμενη “έκθεση” σε τυραμίνη, τότε υπάρχει μειωμένη απόκριση της πίεσης. Η τυραμίνη μετατρέπεται σε οκτοπαμίνη, η οποία στη συνέχεια πακετάρεται σε συνοπτικά κυστίδια με τη νορεπινεφρίνη. Ως εκ τούτου, μετά από επαναλαμβανόμενη χρήση τυραμίνης, τα κυστίδια αυτά περιέχουν αυξημένη ποσότητα οκτοπαμίνης και μία σχετικά μειωμένη ποσότητα νορεπινεφρίνης. Όταν αυτά τα κυστίδια εκκρίνονται έπειτα από κατάποση τυραμίνης, υπάρχει μία μειωμένη απόκριση της πίεσης, καθώς επίσης εκκρίνεται λιγότερη νορεπινεφρίνη, και η οκτοπαμίνη δεν ενεργοποιεί τους α- ή β-αδρενεργικούς παράγοντες.

Κατά τη χρήση ενός αναστολέα της αμινοξειδάσης, απαιτείται η πρόσληψη περίπου 10 με 25mg τυραμίνης για μία έντονη αντίδραση, συγκριτικά με τα 6 έως 10mg που απαιτούνται για μία ήπια αντίδραση.

Η πιθανότητα ότι η τυραμίνη δρα απευθείας ως νευροδιαβιβαστής διαπιστώθηκε από την ανακάλυψη ενός υποδοχέα συζευγμένου με G πρωτεΐνη, ο οποίος έχει υψηλή συγγένεια με την τυραμίνη, και ονομάζεται TAAR1. Ο υποδοχέας TAAR1 βρίσκεται στον εγκέφαλο, καθώς επίσης και στους περιφερικούς ιστούς, συμπεριλαμβανομένων των νεφρών. Η ύπαρξη ενός υποδοχέα με υψηλή συγγένεια για την τυραμίνη, υποστηρίζει την υπόθεση ότι η τυραμίνη μπορεί επίσης να επηρεάσει άμεσα την ρύθμιση της πίεσης του αίματος.

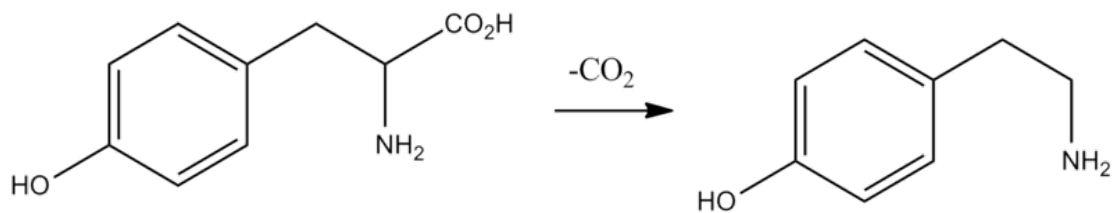
Η διατροφική πρόσληψη της τυραμίνης, έχει επίσης συσχετιστεί με την ημικρανία σε επιλεγμένους πληθυσμούς, οδηγώντας πολλούς ασθενείς στην απόφαση να μειώσουν τη διατροφική πρόσληψη της τυραμίνης[157]. Αναφορές σχετικές με τη σχέση τυραμίνης-ημικρανιών έχουν επικυρωθεί και διαψευθεί. Μία αναφορά του 2007 που δημοσιεύθηκε στις “Νευρολογικές Επιστήμες”[158], παρουσίασε στοιχεία που δείχνει ότι οι ημικρανίες και οι αθροιστικές κεφαλαλγίες χαρακτηρίζονται από αύξηση των κυκλοφορούντων νευροδιαβιβαστών και νευρορυθμιστών (συμπεριλαμβανομένων της τυραμίνης, οκτοπαμίνης και νορεπινεφρίνης) στον υποθάλαμο, την αμυγδαλή και το σύστημα ντοπαμινεργικών.

2.2.5.9.3 Βιοσύνθεση

Βιοχημικώς, η τυραμίνη από την αποκαρβοξυλίωση της τυροσίνης, μέσω της δράσης του ενζύμου αποκαρβοξυλάση της τυροσίνης[159]. Η τυραμίνη, με τη σειρά της, μπορεί να μετατραπεί σε μεθυλιωμένα παράγωγα αλκαλοειδών N-methyltyramine, N,N-dimethyltyramine (hordenine), και N,N,N-trimethyltyramine (candicine).

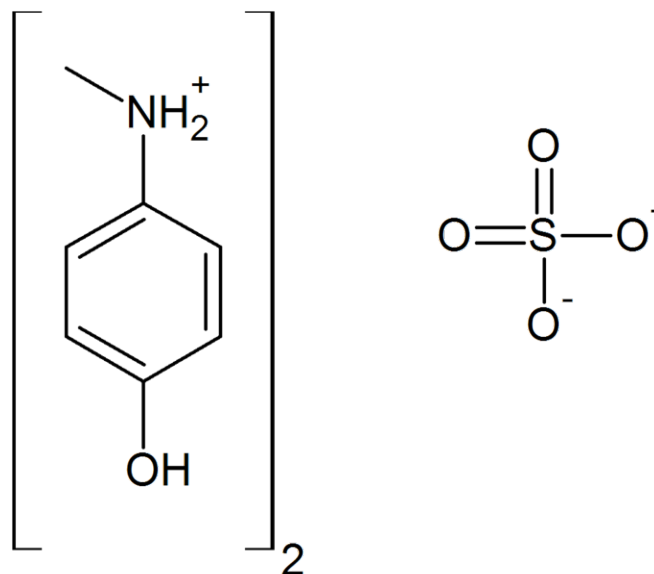
2.2.5.9.4 Χημεία

Στο εργαστήριο, η τυραμίνη μπορεί να συντεθεί με διάφορους τρόπους, κυρίως με την αποκαρβοξυλίωση της τυροσίνης(Αντίδραση 2.8)[160-163].



Αντίδραση 2.8 Σύνθεση τυραμίνης

2.2.5.10 4-(methylamino)phenol sulfate



Εικόνα 2.12 4-(methylamino)phenol sulfate [164]

Metol είναι η χημική ένωση με την ονομασία ημιθειϊκό μονομεθυλ-p-αμινοφαινόλη. Εναλλακτικές ονομασίες είναι N-methyl-p-aminophenol sulfate, p-(methylamino)phenol sulfate, monomethyl-p-aminophenol hemisulfate, Metol, Elon, Rhodol, Enel, Viterol, Scalol, Genol, Satrapol. Είναι ένας παράγοντας ανάπτυξης που χρησιμοποιείται στις ασπρόμαυρες φωτογραφίες από προγραμματιστές. Σε καθαρή μορφή, είναι μία στερεή, αρκετά φωτοευαίσθητη χημική ένωση, η οποία είναι κατά το ήμισυ το θειϊκό άλας του N-methyl-p-aminophenol.

2.2.5.10.1 Σύνθεση

Η σύνθεση της συγκεκριμένης αμινοαλκοόλης πραγματοποιείται με την αντίδραση της υδροκινόνης με μεθυλαμίνη, ακολουθούμενη από εξουδετέρωση με θειϊκό οξύ[165].

2.2.5.10.2 Εφαρμογές

Η 4-(methylamino)phenyl sulfate είναι ένας εξαιρετικός παράγοντας ανάπτυξης για τις περισσότερες εφαρμογές ανάπτυξης συνεχόμενου τόνου-ήχου, και έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως σε αναπτυσσόμενες έρευνες, καθώς και σε εμπορικά προϊόντα. Ωστόσο, είναι δύσκολη η παραγωγή υψηλής συγκέντρωσης διαλυμάτων χρησιμοποιώντας την αμινοαλκοόλη, και ως εκ τούτου οι περισσότεροι παρέχονται σε ξηρό χημικό δείγμα. Ένας προγραμματιστής που περιέχει Metol και υδροκινόνη ονομάζεται προγραμματιστής MQ. Αυτός ο συνδυασμός παραγόντων παρέχουν μεγαλύτερη δραστηριότητα για την ανάπτυξη, δεδομένου ότι ο ρυθμός ανάπτυξης και από τους δύο παράγοντες μαζί, είναι μεγαλύτερος από το άθροισμα των ρυθμών ανάπτυξης από κάθε παράγοντα που χρησιμοποιείται μόνος του (υπερπροσθετικότητα).

Αυτός ο συνδυασμός είναι πολύ ευέλικτος, καθώς μεταβάλλοντας τις ποσότητες της Metol, της υδροκινόνης, του μέσου συγκράτησης, και ρυθμίζοντας το pH, μπορεί να γίνει όλο το φάσμα των προγραμματιστών συνεχόμενου τόνου. Ως εκ τούτου, η Metol αντικατέστησε τους περισσότερους άλλους παράγοντες ανάπτυξης, εκτός από την υδροκινόνη, τη φαινιδόνη και τα παράγωγα της φαινιδόνης. Χρησιμοποιείται για παραγωγή φιλμ, μέσω εκτύπωσης και “αρνητικών” φωτογραφίας[166].

2.3 Οξείδωση

2.3.1 Οξειδωτικό στρες

Όλοι οι οργανισμοί είναι μόνιμα εκτεθειμένοι σε εξωγενώς κι ενδογενώς παραγόμενα δραστικά είδη οξυγόνου και αζώτου (ROS/RNS). Χρησιμεύουν ως σηματοδοτικά μόρια σε χαμηλές συγκεντρώσεις, αλλά προκαλούν βλαβερές κι επιζήμιες συνέπειες εάν παράγονται σε μεγάλες ποσότητες[167]. Παρόλο που τα κύτταρα έχουν έναν πολύπλοκο “δίχτυ” αντιοξειδωτικής άμυνας, η τελευταία δεν είναι αρκετά αποτελεσματική, και ως εκ τούτου μπορεί να προκληθεί μοριακή βλάβη. Η μη ισορροπία προ-οξειδωτικών και αντιοξειδωτικών, σε όφελος των προ-οξειδωτικών προκαλεί αύξηση του οξειδωτικού στρες. Η οξειδωτική βλάβη των βιομορίων μπορεί να συσσωρεύεται[168], και η έκφραση του γονιδίου μπορεί να μεταβληθεί με την αύξηση της ηλικίας. Μερικές από τις οξειδωτικές βλάβες μπορεί να λειτουργήσουν ως μια βάση της λειτουργικής φθοράς και ανεπάρκειας που σχετίζονται με το γήρας και τις ασθένειες[169].

Η οξειδωτική τροποποίηση του DNA, των πρωτεϊνών, των λιπιδίων και των μικρών κυτταρικών μορίων, από ενεργά είδη οξυγόνου(ROS) διαδραματίζει έναν σπουδαίο ρόλο σε ένα ευρύ φάσμα των κοινών ασθενειών και με τις εκφυλιστικές συνθήκες που σχετίζονται με την ηλικία. Αυτές περιλαμβάνουν καρδιαγγειακές παθήσεις, φλεγμονώδεις καταστάσεις, και νευροεκφυλιστικές ασθένειες, όπως η νόσος Alzheimer, μεταλλάξεις και καρκίνος. Οι οξειδωτικές βλάβες από ROS σχετίζονται με τη φωτογήρανση, την τοξικότητα της ακτινοβολίας, η πρόκληση καταρράκτη και ο εκφυλισμός της ώχρας. Αυτό εμπλέκεται με την ισχαιμία/επαναιμάτωση ιστών που έχουν υποστεί βλάβη, και πιστεύεται ότι παίζουν ένα ρόλο στην μειωμένη λειτουργία κάποιων κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος. Οι αντιοξειδωτικές ουσίες που προστατεύουν από την οξειδωτική βλάβη, μειώνουν τον κίνδυνο τραυματισμού σε ζωτικά μόρια, και σε διάφορους βαθμούς μπορεί να βοηθήσουν στην πρόληψη της εμφάνισης και εξέλιξης της νόσου.

2.3.2 Οξείδωση τροφών

Η οξείδωση είναι μια μη αναστρέψιμη διαδικασία, με την οποία το μοριακό οξυγόνο συνδυάζεται με θρεπτικά συστατικά στα τρόφιμα, μία διαδικασία που μειώνει την ποιότητα των τροφίμων, δημιουργώντας τάγγιση. Υπάρχουν δύο είδη τάγγισης, η υδρολυτική και η οξειδωτική. Η υδρολυτική τάγγιση προκαλείται είτε από την αντίδραση λιπιδίων και νερού, παρουσία ενός καταλύτη, είτε με τη δράση ενζύμων λιπάσης. Το οξειδωτικό τάγγισμα προκαλείται από μία πιο σύνθετη οξειδωτική διαδικασία τριών σταδίων, που περιλαμβάνει οξυγόνο και λιπίδια. Η οξείδωση των τριών σταδίων μπορεί να περιγραφεί από τα στάδια της έναρξης, της διάδοσης και του τερματισμού των αντιδράσεων. Στη φάση έναρξης, παράγονται ιδιαίτερα δραστικές ελεύθερες ρίζες, υπό την επίδραση θερμοκρασίας, φωτός ή μεταλλικών ιόντων. Το δεύτερο βήμα της οξειδωτικής διαδικασίας ονομάζεται φάση πολλαπλασιασμού, εφόσον σε κάθε αντίδραση παράγονται νέες δραστικές ρίζες και αρχίζει μία αλυσιδωτή αντίδραση.

Κατά τη διάρκεια της φάσης τερματισμού, δύο ρίζες θα συνδυαστούν και θα εξουδετερώσουν η μία την άλλη, με αποτέλεσμα τη δημιουργία πιο σταθερών προϊόντων οξείδωσης. Από αυτά τα σταθερά προϊόντα προέρχεται η έντονη οσμή του ταγγίσματος, στα τρόφιμα που έχουν υποστεί οξείδωση.

2.3.3 Αντιοξειδωτικά

Το οξειδωτικό στρες είναι η κατάσταση η οποία εμφανίζεται, όταν η σταθεροποιημένη κατάσταση ισορροπίας μεταξύ προ-οξειδωτικών και αντιοξειδωτικών μετατοπίζεται στην κατεύθυνση του πρώτου, δημιουργώντας την πιθανότητα για οργανική βλάβη[170].

Για να προστατευθούν τα κύτταρα και τα συστήματα οργάνων του σώματος ενάντια στις ROS, οι άνθρωποι ανέπτυξαν ένα ιδιαίτερα εξελιγμένο και πολύπλοκο σύστημα αντιοξειδωτικής προστασίας. Περιλαμβάνει μία ποικιλία συστατικών, τόσο ενδογενών όσο και εξωγενών ως προς την προέλευση, τα οποία λειτουργούν διαδραστικά και σε συνεργεία για την εξουδετέρωση των ελεύθερων ριζών[171].

Επιπρόσθετα με αυτό, οι αντιοξειδωτικές ενώσεις στις τροφές, διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο, ως παράγοντες που προστατεύουν την υγεία. Επιστημονικά στοιχεία δείχνουν ότι τα αντιοξειδωτικά μειώνουν τον κίνδυνο χρόνιων ασθενειών, συμπεριλαμβανομένου του καρκίνου και των καρδιακών παθήσεων. Πρωτογενείς πηγές των φυσικών αντιοξειδωτικών είναι τα δημητριακά ολικής αλέσεως, φρούτα και λαχανικά[172].

Διαφορετικοί τύποι αντιοξειδωτικών είναι φυσικώς διαθέσιμα. Τα διαιτητικά αντιοξειδωτικά, όπως η βιταμίνη C, θεωρούνται τα πιο σημαντικά υδατοδιαλυτά αντιοξειδωτικά στα εξωκυττάρια υγρά. Αυτά είναι ικανά να εξουδετερώνουν ROS στην υδατική φάση πριν από την έναρξη της υπεροξειδωσης των λιπιδίων. Η βιταμίνη E προστατεύει τα μεμβρανικά λιπαρά οξέα από την υπεροξειδωση των λιπιδίων[173]. Τέλος, το β-καροτένιο και άλλα καροτενοειδή, πιστεύεται επίσης ότι παρέχουν αντιοξειδωτική προστασία σε ιστούς οι οποίοι είναι πλούσιοι σε λιπίδια[171].

Ακόμη, φυτικές ουσίες, που συλλογικά ονομάζονται φυτοθεραπευτικά ή φυτοχημικά, γίνονται όλο και περισσότερο γνωστές για την αντιοξειδωτική τους δράση. Τα флаβονοειδή έχει αποδειχθεί ότι έχουν αντι-φλεγμονώδη, αντι-αλλεργική, αντι-ιική, αντι-γηραντική και αντικαρκινική δράση. Εκτός από την αντιοξειδωτική τους δράση, μπορούν να προσφέρουν προστασία ενάντια στις καρδιακές παθήσεις[174].

Εκτός από τα διατροφικά αντιοξειδωτικά, το σώμα εξαρτάται από πολλούς ενδογενείς μηχανισμούς άμυνας για να βοηθήσει στην προστασία κατά των κυτταρικών βλαβών που προκαλούνται από ελεύθερες ρίζες, όπως η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης, καταλάση και υπεροξειδική δισμουτάση, γλουταθειόνη, λιποϊκό οξύ κλπ[175].

Μπορούμε, επίσης, να κάνουμε διάκριση μεταξύ πρωτογενών αντιοξειδωτικών, όπως флаβονοειδή, τοκοφερόλη και ασκορβικό οξύ, τα οποία είναι σε θέση να δωρίσουν άτομα υδρογόνου ταχέως σε μία ρίζα λιπιδίου, σχηματίζοντας μία νέα ρίζα, πιο σταθερή από την αρχική, και δευτερευόντων αντιοξειδωτικών, που μπορούν να επιβραδύνουν τον ρυθμό αντιδράσεων παραγωγής, μέσω της κατάργησης του εκκινήτη. Αυτό μπορεί να επιτευχθεί με απενεργοποίηση των ειδών υψηλής ενέργειας, όπως το μονήρες οξυγόνο, με απορρόφηση υπεριώδους φωτός, με παγίδευση του οξυγόνου, μειώνοντας έτσι τη συγκέντρωσή του, χηλικοί παράγοντες μετάλλων να καταλύουν αντιδράσεις ελεύθερων ριζών, ή με αναστολή των υπεροξειδασών,

όπως είναι η οξειδάση του NADPH, οξειδάση ξανθίνης, ντοπαμίνη-υδροξυ-LASE ή λιποξυγενάσες. Τα αντιοξειδωτικά μπορούν επίσης να επηρεάζουν, άμεσα ή έμμεσα, την έκφραση των γονιδίων σε ιστούς. Ένας αριθμός γονιδίων ρυθμίζεται από τις αλλαγές στην οξειδωτική κατάσταση των κυττάρων[176].

Ως ένας από τους πιο σημαντικούς παράγοντες για την προστασία της ανθρώπινης υγείας και τη συντήρηση των τροφίμων, έχουν γίνει αναρίθμητες μελέτες για τα αντιοξειδωτικά και την αντιοξειδωτική δράση. Όμως, λίγες μελέτες συζήτησαν την προ-οξειδωτική δραστηριότητα και τις δυνατότητες των προ-οξειδωτικών ουσιών. Σε αυτή την έρευνα θα επικεντρωθούμε στους παράγοντες διέγερσης και την πρόκληση της οξείδωσης, σχετικά με την προ-οξειδωτική δράση των αμινοαλκοολών.

2.4 Προ-οξειδωτική δράση

2.4.1 Οξειδωτικοί καταλύτες

2.4.1.1 Ένζυμα

Το οξειδωτικό στρες είναι μία κατάσταση που χαρακτηρίζεται από αυξημένα επίπεδα των ενδοκυτταρικών δραστικών ειδών του οξυγόνου(Reactive Oxygen Species). Τα τελευταία είτε είναι, είτε “σπάνε” για να σχηματίσουν, ελεύθερες ρίζες. Σε αυτά περιλαμβάνονται το ανιόν του υπεροξειδίου($O_2^{\cdot-}$), το υπεροξείδιο του υδρογόνου(H_2O_2), και ρίζες υδροξυλίου(OH^{\cdot}), που είναι ικανά να αντιδρούν, και να προκαλούν βλάβες στο DNA, σε πρωτεΐνες και σε λιπίδια. Πολλά ένζυμα που σχετίζονται με τη μελέτη του οξειδωτικού στρες συμπεριλαμβανομένων της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης, συνθάσης νιτρικού οξειδίου, peroxiredoxins, υπεροξείδιο δισμουτάσης, θειορεδοξίνης και αρκετά άλλα, μπορούν να χρησιμοποιηθούν.

Μερικά από αυτά τα ένζυμα συμμετέχουν στη δημιουργία δηλητηριωδών ειδών ελεύθερων ριζών, ενώ άλλα έχουν αντιοξειδωτικές ιδιότητες. Για παράδειγμα, η συνθάση του νιτρικού οξειδίου παράγει νιτρικό οξύ, το οποίο είναι ένα πλειοτροπικό μόριο σηματοδότησης, που εμπλέκεται σε ποικίλες βιολογικές διεργασίες, συμπεριλαμβανομένης της αναστολής της συσσωμάτωσης των αιμοπεταλίων, τη ρύθμιση της νευροδιαβίβασης, αγγειοδιαστολή, ανοσοαποκρίσεις, και φλεγμονή. Αντίθετα, τα αντιοξειδωτικά ένζυμα, όπως η οικογένεια της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης, προστατεύουν τις κυτταρικές επιφάνειες, τα συστατικά του εξωκυτταρικού υγρού, καθώς επίσης και άλλα ένζυμα από το οξειδωτικό στρες, που καταλύουν την αναγωγή του υπεροξειδίου του υδρογόνου, υπεροξειδία λιπιδίων, και οργανικά υδροϋπεροξειδία, χρησιμοποιώντας ανηγμένη γλουταθειόνη.

2.4.1.2 Μέταλλα

Τα οξειδοαναγωγικά δραστικά μέταλλα, είναι οι υποκινητές της ίσως μεγαλύτερης σημασίας οξείδωσης των λιπιδίων, στα έλαια, το φαγητό, και τα βιολογικά συστήματα, επειδή βρίσκονται παντού και είναι ενεργά σε πολλές μορφές, ενώ ακόμα και ιχνοποσότητες από αυτά είναι ικανές για αποτελεσματικές καταλύσεις. Μόνο τα μέταλλα που συμμετέχουν σε μεταφορές ενός ηλεκτρονίου, φαίνεται να είναι ενεργοί καταλύτες. Τέτοια παραδείγματα είναι το κοβάλτιο, ο σίδηρος, ο χαλκός, το μαγγάνιο, το μαγνήσιο και το βανάδιο. Μέταλλα που οξειδώνουν με μεταβάσεις δύο ηλεκτρονίων φαίνεται να μην είναι ενεργά.

Οι μηχανισμοί και τα ποσοστά των λειτουργικών εκκινήσεων που καταλύονται από μέταλλα, σε επιμέρους συστήματα αντιδράσεων, προσδιορίζονται από ένα σύνθετο μίγμα παραγόντων. Τέτοιοι είναι το μέταλλο και το είδος του συμπλόκου που σχηματίζει, ο χηλικός παράγοντας ή ο παράγοντας συμπλοκοποίησης, το δυναμικό οξειδοαναγωγής του μετάλλου και τα σύμπλοκά του, οι διαλύτες, ο εντοπισμός της φάσης του μετάλλου, η διαθεσιμότητα του οξυγόνου ή των προσχηματισμένων υδροϋπεροξειδίων[177].

2.4.1.3 Φως

Το ορατό φως δεν έχει την ενέργεια για την παραγωγή ριζών άμεσα. Εντούτοις, όταν το χαμηλό επίπεδο κβαντικής ενέργειας του ορατού φωτός συλλέγεται από ειδικά μόρια απορρόφησης, μετατρέπεται σε χημική ενέργεια που μπορεί να οδηγήσει σε αντιδράσεις. Αυτή η διαδικασία, που ονομάζεται φωτοευαισθητοποίηση, περιλαμβάνει διέγερση του ευαισθητοποιητή, ακολουθούμενη μεταφορά της ενέργειας διέγερσης σε ομόλογα, προς σχηματισμό ελευθέρων ριζών άμεσα ή στο οξυγόνο για να σχηματίσει μονήρες οξυγόνο[178].

Οι φωτοευαισθητοποιητές στα τρόφιμα και τα βιολογικά υλικά είναι συνήθως, αλλά όχι αποκλειστικά, χρωστικές ουσίες. Η χλωροφύλλη, ειδικότερα, δρα ως συλλέκτης φυσικού φωτός, συλλέγοντας χαμηλής ενέργειας ορατού φωτός και μετατρέποντάς το σε χημική ενέργεια στα φυτά. Άλλοι φωτοευαισθητοποιητές είναι οι φλαβίνες(και ιδιαίτερα οι ριφοφλαβίνες), πορφυρίνες, αρωματικά αμινοξέα, και οποιαδήποτε μόρια με καρβονύλια ή με εκτεταμένο σύστημα συζευγμένου διπλού δεσμού[179].

2.4.1.4 Θερμότητα

Το οξειδωτικό στρες που προκαλεί θερμικό σοκ των γονιδίων, παρουσίασε στοιχεία που δηλώνουν πως η θερμότητα προκαλεί επίσης θερμικό σοκ. Αποδείχθηκε, επίσης, ότι προκαλείται θερμοανοχή από ενώσεις που επάγουν οξειδωτικές “εκρήξεις”, και ότι οι πολύ σύντομοι παλμοί θερμότητας μπορούν να προκαλέσουν τέτοιες “εκρήξεις” υπεροξειδίου του υδρογόνου, ή του ανιόντος αυτού. Αυτό δείχνει ότι υπάρχει σημαντική διασύνδεση μεταξύ της θερμότητας και των αποκρίσεων του οξειδωτικού στρες[180].

Στα τρόφιμα, και ειδικά στην οξείδωση των λιπιδίων, οι υψηλές θερμοκρασίες (για παράδειγμα θερμοκρασίες τηγανίσματος) έχουν επαρκή ενέργεια για να σπάσουν ομοιοπολικούς δεσμούς C-C ή C-H στον ακυλικό σκελετό, για να παράγει μία ποικιλία ριζών από ακυλιωμένα λιπίδια, τα οποία έπειτα θα αρχίσουν τις “αλυσίδες” ριζών από τις οξειδώσεις. Οι ενδιάμεσες/μέτριες θερμοκρασίες έχουν χαμηλότερη ενέργεια, οπότε δρουν κατά κύριο λόγο σπάζοντας τους δεσμούς O-O, σε ίχνη από ROOH ή LOOH, που προκύπτουν από άλλες αντιδράσεις κυρίως μετάλλων, λιποξυγενάσης ή φωτοευαισθησίας. Έτσι, το RO, LO και OH που δημιουργούνται αφαιρούν υδρογόνα από τα γειτονικά λιπίδια, για τον σχηματισμό L, ώστε να ξεκινήσουν αλυσίδες ριζών[181].

2.4.2 Προ-οξειδωτικά

Ως προ-οξειδωτική χαρακτηρίζεται μία ουσία, η οποία μπορεί να προκαλέσει στοχευμένη οξειδωτική βλάβη σε όλα τα συστατικά του κυττάρου, συμπεριλαμβανομένων λιπιδίων, πρωτεϊνών, νουκλεϊκών οξέων και υδατανθράκων, οδηγώντας έτσι σε διάφορες παθολογικές ασθένειες.

Είναι ιδιαίτερα δραστικά είδη, που περιλαμβάνουν όχι μόνο τις ελεύθερες ρίζες, αλλά και μερικά δραστικά μόρια που δεν είναι ρίζες, όπως το υπεροξείδιο του υδρογόνου(H_2O_2), το οξυγόνο(O_2) και το όζον(O_3). Είδη που μπορούν να αντιδράσουν είναι αυτά του οξυγόνου, του αζώτου και άλλα[182].

2.4.2.1 Ελεύθερες ρίζες

Ως ελεύθερη ρίζα θεωρείται το χημικό είδος που διαθέτει ένα ασύζευκτο ηλεκτρόνιο, και μπορεί να θεωρηθεί ως θραύσμα μορίου που είναι γενικά πολύ δραστικό. Παράγονται συνεχώς στα κύτταρα, είτε τυχαία ως παραπροϊόντα μεταβολισμού, είτε σκόπιμα κατά τη διάρκεια διεργασιών όπως η φαγοκυττάρωση. Τα πιο σημαντικά αντιδραστήρια στη βιοχημεία ελεύθερων ριζών, στα αερόβια κύτταρα, είναι το οξυγόνο και οι παράγωγες ρίζες του, το υπεροξείδιο του υδρογόνου και μέταλλα μεταπτώσεως. Τα κύτταρα έχουν αναπτύξει μία σειρά από αντιοξειδωτικές άμυνες, για να εμποδίσουν την παραγωγή ελεύθερων ριζών ή να περιορίσουν τα επιβλαβή αποτελέσματα που αυτές επιφέρουν. Οι δραστικές ελεύθερες ρίζες που σχηματίζονται μέσα στα κύτταρα, μπορούν να οξειδώσουν βιομόρια, να οδηγήσουν το κύτταρο στον θάνατο και να βλάψουν τους ιστούς. Η θέσπιση της συμμετοχής των ελεύθερων ριζών στην παθογένεση κάποιας νόσου, είναι εξαιρετικά δύσκολη, εξαιτίας της μικρής διάρκειας ζωής που έχουν αυτά τα είδη[184].

2.4.3 Παραδείγματα ενώσεων με προ-οξειδωτική δράση και ο μηχανισμός δράσης τους

Πολλά συστατικά τροφίμων, φυτών και καθαρές ενώσεις βρέθηκαν ότι έχουν προ-οξειδωτική δράση, και κάθε ένωση έχει τον δικό της μηχανισμό δράσης και παρεμβολής στην οξειδωτική διαδικασία.

Ανηγμένες μορφές φαινολικών ενώσεων που βρίσκονται στα φυτά είναι ισχυρά αντιοξειδωτικά ισοδύναμα με το ασκορβικό. Αντίθετα, η ρίζα φαινοξυλίου που παράγεται μέσω αντιοξειδωτικών αντιδράσεων και στη βιοσύνθεση λιγνίνης, είναι ένα ισχυρό προ-οξειδωτικό. Υπό κανονικές συνθήκες ανάπτυξης, οι ρίζες φαινοξυλίου συνήθως δε δείχνουν επιβλαβή προ-οξειδωτική δράση, επειδή μετατρέπονται ραγδαία σε ενώσεις που δεν είναι ρίζες, μέσω αντιδράσεων πολυμερισμού ή ενζυματικών(καθώς και μη ενζυματικών) αναγωγών των ριζών. Ωστόσο, οι ρίζες φαινοξυλίου θα υποδεικνύουν κυτταροτοξική προ-οξειδωτική δραστηριότητα, όταν ο χρόνος ζωής των ριζών παρατείνεται από παράγοντες σταθεροποίησης του spin. Τα φυτοφαινολικά έχουν τη δυνατότητα να δρουν ως προ-οξειδωτικά σε συστήματα που περιέχουν δραστικά οξειδοαναγωγικά μέταλλα. Παρουσία οξυγόνου, μέταλλα μετάπτωσης, όπως ο χαλκός και ο σίδηρος, καταλύουν τον οξειδοαναγωγικό κύκλο των φαινολικών, οδηγώντας στην παραγωγή δραστικών ειδών οξυγόνου, και άλλων οργανικών ριζών, που μπορούν να βλάψουν το DNA, τα λιπίδια και άλλα βιολογικά μόρια. Η προ-οξειδωτική δράση των φαινολικών εξαρτάται από τις ιδιότητες του αναγωγικού μετάλλου, τη συμπεριφορά των χηλικών παραγόντων, και την αναγωγική ικανότητα του οξυγόνου. Η τελευταία ιδιότητα εξαρτάται από το δυναμικό οξειδοαναγωγής των οξειδωμένων ειδών, και τον χρόνο ζωής των ριζών φαινοξυλίου.

Η ομάδα των φλαβονοειδών είναι από τις πιο σημαντικές πολυφαινόλες, γνωστές ως αντιοξειδωτικά, και ταυτόχρονα επιδεικνούν μία προ-οξειδωτικά δραστηριότητα κάτω από κατάλληλες συνθήκες. Συγκεκριμένα, μπορούν να δρουν ως προ-οξειδωτικά με διαφορετικό μηχανισμό.

Αρχικά, υπάρχει η άμεση προ-οξειδωτική λειτουργία των φλαβονοειδών, που είναι ευθέως ανάλογη του αριθμού των υδροξυλομάδων που υπάρχουν στα μόρια των φλαβονοειδών. Μία σειρά από μονο- και διυδροξυ-φλαβονοειδή δεν έδειξαν ανιχνεύσιμη προ-οξειδωτική δραστηριότητα, ενώ πολλαπλές υδροξυλομάδες, ειδικά στον β δακτύλιο, αύξησαν σημαντικά την παραγωγή ριζών υδροξυλίου σε μία αντίδραση Fenton. Η προ-οξειδωτική δράση ορισμένων φλαβονοειδών μπορεί επίσης να οφείλεται στα τελικά προϊόντα της παγίδευσης ROS από φλαβονοειδή, ρίζες φλαβονοειδών φαινοξυλίου. Είναι εξαιρετικά δραστικά και υποβάλλονται σε περαιτέρω οξείδωση(οι πιο σταθερές είναι οι φλαβονοειδείς κινόνες). Οι φλαβονοειδείς κινόνες παραμένουν δραστικά μόρια, αλλά μπορούν να σταθεροποιηθούν μέσω σύζευξης με πυρηνόφιλα, όπως η κυστεΐνη και τα νουκλεϊκά οξέα. Αυτή η αντίδραση είναι υπεύθυνη για μία από τις προ-οξειδωτικές επιδράσεις των φλαβονοειδών. Μερικά φλαβονοειδή είναι σε θέση να προκαλέσουν μία αναπνευστική καύση σε απομονωμένα μιτροχόνδρια που υφίσταται οξείδωση, ανεξάρτητη υποστρώματος κι ευαίσθητη στα κυανίδια, και η οποία συνδέεται με την παραγωγή ROS. Άλλα φλαβονοειδή δρουν ως προ-οξειδωτικά, οξειδώνοντας χαμηλού μοριακού βάρους αντιοξειδωτικά. Παρουσία δραστικών ειδών αζώτου, τα φλαβονοειδή επάγουν τη θραύση μονόκλωνου DNA. Επίσης, το σύμπλοκο φλαβονοειδών με σίδηρο(III) επάγει την οξειδωτική διάσπαση του DNA[185].

Πρόσφατα αναφέρθηκε ότι η βιταμίνη C χορηγείται ως συμπλήρωμα διατροφής σε υγιείς ανθρώπους, κι εμφανίζει μια προ-οξειδωτική, καθώς και αντιοξειδωτική δράση ίν νίνο. Μια μελέτη που διεξήχθη από τον Raolini[186] έδειξε ότι η υψηλή πρόσληψη βιταμίνης C από αρουραίο είναι σε θέση επάγει σημαντικά hepaticcytochrome P4502E1 που είναι συνδεδεμένο με μονοοξυγενάσες. Επιπλέον, χρησιμοποιώντας φασματοσκοπία παραμαγνητικού συντονισμού ηλεκτρονίων(EPR), συζευγμένη με μία τεχνική παγίδευσης του spin, βρέθηκε ότι αυτή η διέγερση επάγει την παραγωγή μεγάλων ποσοτήτων της ανιοντική ρίζας του υπεροξειδίου.

Ως εκ τούτου, κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι τα ανεπιθύμητα προ-οξειδωτικά αποτελέσματα που σχετίζονται με τα συμπληρώματα βιταμίνης C, συνδέονται με ένα τυπικά αναστρέψιμο παράγοντα ενίσχυσης, και μπορούν να ελεγχθούν εύκολα με ασυνεχή ανεφοδιασμό[186].

Πρόσφατες κλινικές μελέτες διερευνούν την ενδεχόμενη προ-οξειδωτική συμπεριφορά ορισμένων καροτενοειδών. Ακόμη, μελετήθηκε ένα πρότυπο σύστημα που χρησιμοποιεί την οξείδωση των τριγλυκεριδίων παρουσία λυκοπενίου. Τα αποτελέσματα έδειξαν αυξημένο σχηματισμό υδροϋπεροξειδίων υπό την παρουσία του λυκοπενίου σε σχέση με το πείραμα ελέγχου (χωρίς λυκοπένιο). Ο ενισχυμένος σχηματισμός οργανικών υδρουπεροξειδίων είναι ιδιαίτερα επικίνδυνος, όταν βρίσκονται στην περιοχή σχηματισμού μεταλλικά ιόντα. Αυτό έχει τεκμηριωθεί από πολλές πειραματικές μελέτες, που περιγράφουν τον εκτεταμένο σχηματισμό ελευθέρων ριζών από υδρουπεροξείδια των λιπιδίων που καταλύεται από μέταλλα μετάπτωσης. Τα υδρουπεροξείδια των λιπιδίων μπορούν να αντιδράσουν γρήγορα με Fe^{2+} , για να παράγουν λιπιδικές ρίζες αλκοξυλίου, ή με πολύ αργό ρυθμό με Fe^{3+} , ώστε να παράγουν λιπιδικές ρίζες περοξυλίου[187].

Μία προ-οξειδωτική επίδραση των α-τοκοφερολών, βρέθηκε επίσης κάτω από ήπιες οξειδωτικές συνθήκες, σε πολύ αραιωμένο πλάσμα και σε απομονωμένη LDL. Τα επίπεδα του οξειδωτικού στρες και η συγκέντρωση των συνεργούντων αντιοξειδωτικών, όπως το ασκορβικό, είναι ικανά για την “αναγέννηση” των α-τοκοφερολών, στο οξειδωτικό λιποπρωτεϊνικό σωματίδιο, και φαίνεται να αποτελούν σημαντικούς παράγοντες στον καθορισμό της δραστηριότητας των τοκοφερολών, έναντι της οξείδωσης τόσο του ανθρώπινου πλάσματος, όσο και της LDL. In vivo, υπό την παρουσία υψηλών συγκεντρώσεων των συνεργούντων αντιοξειδωτικών και κάτω από ήπιες οξειδωτικές συνθήκες, οι α-τοκοφερόλες θα έπρεπε να συμπεριφέρονται ως αντιοξειδωτικά. Αυτή η αντιοξειδωτική δραστηριότητα αναμένεται, επίσης, να επικρατήσει και κάτω από ισχυρές οξειδωτικές συνθήκες, ανεξάρτητα από την παρουσία των συνεργούντων αντιοξειδωτικών, αλλά μπορεί να εξελιχθεί σε προ-οξειδωτικά, όταν αυτοί οι συνεργατικοί παράγοντες εξαντληθούν κάτω από ήπιες οξειδωτικές συνθήκες[188].

Επιπροσθέτως, το ξανθουρενικό οξύ, ένα προϊόν του κύκλου της τρυπτοφάνης-NAD, και ενώσεις της κινολίνης, παρήγαγαν ROS ως σύμπλοκα σιδήρου. Τα ξανθουρενικό οξύ και η 8-κινολινόλη ως χηλικά σύμπλοκα μετάλλων, μπορούν να επιφέρουν διάφορες κυτταροτοξικές επιδράσεις, παράγοντας ROS μέσω του δισθενούς σιδήρου ή του ανιόντος του τρισθενούς χαλκού, με εξαρτώμενη ενεργοποίηση από το μόριο του οξυγόνου[189]. Η μαλτόλη, η φουρανόνη και το ροσμαρικό οξύ παράγουν επίσης ROS, ως ένα σύμπλοκο με μέταλλα μετάπτωσης. Το σύμπλοκο μαλτόλης-σιδήρου αδρανοποιεί την ακοτινάση, το πιο ευαίσθητο ένζυμο στο οξειδωτικό στρες. Οι κυτταροτοξικές επιδράσεις της μαλτόλης, μπορεί να εξηγηθεί από τις προ-οξειδωτικές της ιδιότητες. Το σύμπλοκο της μαλτόλης με το μέταλλο μετάπτωσης παράγει ROS, προκαλώντας την αδρανοποίηση της ακοτινάσης, και την παραγωγή ριζών υδροξυλίου, προκαλώντας την παραγωγή βάσεων του DNA[189-191].

Επιπλέον, το γαλλικό οξύ και οι αλκυλεστέρες του, πολυφαινολικές ενώσεις με αντιοξειδωτική δράση, δρουν ως προ-οξειδωτικά, προκαλώντας βλάβες στο DNA που εξαρτάται από τον χαλκό. Στην πραγματικότητα, ιόντα μονοσθενούς χαλκού που ανάγονται από παράγωγα γαλλικού οξέος, παίζουν σημαντικό ρόλο στην οξειδωτική διάσπαση του DNA και στην παραγωγή βασικών ενώσεων προσθήκης. Οι κυτταροτοξικές επιδράσεις των ενώσεων του γαλλικού οξέος μπορούν να εξηγηθούν από την προ-οξειδωτική τους δράση, εξαρτώμενες από την αναγωγική δραστηριότητα[192].

Τέλος, αρκετά εκχυλίσματα φυτών, όπως το μπαμπού, δεντρολίβανο και ο βασιλικός, καθώς και διάφορα μπαχαρικά, όπως το εστραγκόν, εμφανίζουν προ-οξειδωτική δράση[193].

2.4.4 Προ-οξειδωτική δράση και καρκίνος

Όπως αναφέρθηκε ήδη, τα προ-οξειδωτικά είναι σε θέση να βλάψουν άμεσα κι εύκολα βιολογικά μόρια, συμπεριλαμβανομένου του DNA, καθώς επίσης στη σύλληψη της κυτταρικής ανάπτυξης, ενεργοποιώντας τις αποκρίσεις σημείων ελέγχου διαφορετικών κυκλικών διεργασιών[194]. Η διακοπή ενός κυτταρικού κύκλου μπορεί να οδηγήσει σε γονιδιακές μεταλλάξεις, ιδιαίτερα όσον αφορά την πιθανή βλάβη του DNA[195]. Σε αυτήν την περίπτωση, μία προ-οξειδωτική ουσία θεωρείται ως οξειδωτική παθολογικής σημασίας.

Αν και τα προ-οξειδωτικά θεωρούνται επιβλαβή μόρια, που μπορεί να σχετίζονται με τον καρκίνο και διάφορες εκφυλιστικές ασθένειες του ανθρώπου, συμπεριλαμβανομένων του Parkinson, Alzheimer, κλπ, μπορούν να διαδραματίσουν έναν ευεργετικό ρόλο ως αγγελιαφόρα κύτταρα μεταγωγής σήματος κι έχουν τη φυσιολογική λειτουργία στα μη φαγοκυτταρικά κύτταρα να μεσολαβούν για τη μεταγωγή σήματος ορισμένων παραγόντων ανάπτυξης και κυτοκινών, για την επίτευξη ορισμένων κυτταρικών λειτουργιών, που ονομάζεται ως “σηματοδοτικές οξειδοαναγωγές”.

Επιπλέον, θεωρούνται ισχυροί βιολογικοί “δείκτες” οξειδωτικού στρες, κι έχουν αποδειχθεί σε πολλές περιπτώσεις ως χημικοί παράγοντες πρόληψης ενάντια στον καρκίνο.

Μία από τις πιο αντιφατικές ιδιότητες των προ-οξειδωτικών ουσιών, που θεωρούνται ως επί το πλείστον επιβλαβείς, είναι προωθητικός και προληπτικός ρόλος τους ενάντια στον καρκίνο.

2.4.4.1 Θρεπτικά αντιοξειδωτικά και προ-οξειδωτικά, και η επίδρασή τους στην κυτταρική απόκριση

Η ανάπτυξη μίας ωφέλιμης ή επιζήμιας κυτταρικής απόκρισης από μία θρεπτική ουσία, θα εξαρτηθεί από τα αντιοξειδωτικά ή προ-οξειδωτικά χαρακτηριστικά που έχει η τελευταία, τα οποία με τη σειρά τους αποτελούν απόρροια του κυτταρικού οξυγόνου του περιβάλλοντος. Θρεπτικές ουσίες, όπως καροτενοειδή, τοκοφερόλες ή παράγωγα ασκορβικού, θα καταδείξουν ένα αντιοξειδωτικό ή προ-οξειδωτικό χαρακτηριστικό, ανάλογα με το δυναμικό οξειδοαναγωγής του επιμέρους μορίου και της ανόργανης χημείας του κυττάρου. Οι θρεπτικές ουσίες που δρουν ως χημειο-προληπτικές παρεμποδίζουν τη συνεχή ανάπτυξη των μετασχηματισμένων κλώνων των κυττάρων, μέσω της προ-οξειδωτικής τους δραστηριότητας. Αντίθετα, όταν μία προ-οξειδωτική δραστηριότητα λαμβάνει χώρα σε μετασχηματισμένα κύτταρα, θα οδηγήσει σε μία βελτιωμένη ανάπτυξη. Επιπρόσθετα, όταν μία ακατάλληλη προ-οξειδωτική δραστηριότητα συμβαίνει σε φυσιολογικά υγιή κύτταρα, οι μεταβολήτες του δραστικού οξυγόνου που παράγονται, θα μπορούσαν να βλάψουν το DNA και τις κυτταρικές μεμβράνες. Η κυτταρική απόκριση είναι, συνήθως, μια απώλεια της κανονικής ρυθμιστικής λειτουργίας και των δραστηριοτήτων, καταθλίβοντας την κυτταρική ακεραιότητα. Ως εκ τούτου, ο ασταθής οξειδοαναγωγικός χαρακτήρας κάθε θρεπτικού συστατικού, πρέπει να εξεταστεί από την άποψη του ενδοκυτταρικού κι εξωκυτταρικού οξυγόνου του περιβάλλοντος[196].

2.4.4.2 Προ-οξειδωτική δράση και καρκίνος

Υπάρχουν πειστικές αποδείξεις ότι η προ-οξειδωτική κατάσταση του κυττάρου, δηλαδή οι αυξημένες συγκεντρώσεις ενεργού οξυγόνου, οργανικών υπεροξειδίων και ριζών, μπορεί να προωθήσει τα κύτταρα σε νεοπλασματική ανάπτυξη. Οι προ-οξειδωτικές καταστάσεις μπορούν να προληφθούν ή να κατασταλούν, μέσω ενζύμων της αντιοξειδωτικής άμυνας των κυττάρων και από σαρωτικά μόρια χαμηλού μοριακού βάρους, καθώς επίσης πολλά αντιοξειδωτικά είναι αντι-υποκινητές και αντι-καρκινογόνα. Τέλος, προ-οξειδωτικές καταστάσεις μπορούν να ρυθμίζουν την έκφραση μίας οικογένειας προ-οξειδωτικών γονιδίων, που σχετίζονται με την κυτταρική ανάπτυξη και διαφοροποίηση, επάγοντας μεταβολές στη δομή του DNA[197].

2.4.4.3 Προ-οξειδωτική δραστηριότητα και χημειοθεραπεία

Από την άλλη πλευρά, τα προ-οξειδωτικά χρησιμοποιούνται ως ένα χρήσιμο εργαλείο για τη θεραπεία του καρκίνου. Όπως αναφέρθηκε ήδη, μία ελεύθερη ρίζα είναι ένα δραστικό μόριο που τείνει να καταστρέψει κομμάτια κυττάρων. Η καταστροφή του DNA σημαίνει και κατεστραμμένα γονίδια. Αν τα γονίδια που ελέγχουν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό ζημιωθούν, η ανάπτυξη των κυττάρων μπορεί να γίνει ανεξέλεγκτη, με αποτέλεσμα τον ανεξέλεγκτο πολλαπλασιασμό των κυττάρων, δηλαδή την πρόκληση καρκίνου.

Ένα από τα παραπροϊόντα της ανεξέλεγκτης αυτής διαδικασίας, είναι η αύξηση των ελεύθερων ριζών εντός των καρκινικών κυττάρων. Τα καρκινικά κύτταρα δεν είναι κατάλληλα για τον χειρισμό πολλών περισσότερων ελεύθερων ριζών, από αυτά που υπάρχουν ήδη στα υγιή κύτταρα. Δεδομένου ότι οι προ-οξειδωτικές στρατηγικές αυξάνουν τις ελεύθερες ρίζες, φαίνεται ότι ο τρόπος για να σκοτώσεις τα καρκινικά κύτταρα είναι “βομβαρδίζοντάς” τα με προ-οξειδωτικά. Αυτό θα οδηγούσε σε αύξηση των ελεύθερων ριζών εντός των καρκινικών κυττάρων, με αποτέλεσμα τη βλάβη αυτών. Ο μηχανισμός πολλών αντικαρκινικών φαρμάκων, αλλά και ακτινοβολιών που σχετίζονται με την ασθένεια, είναι να καταστρέφονται τα καρκινικά κύτταρα με την αύξηση των ελεύθερων ριζών μέσα σε αυτά. Την ίδια στιγμή, τα υγιή κύτταρα υποφέρουν από την παρουσία περίσσειας ελεύθερων ριζών. Το μόνο που συμβαίνει είναι ότι στο εσωτερικό τους βρίσκεται περισσότερο ρυθμιστικό διάλυμα από ότι πριν, που είχε γεμίσει με ελεύθερες ρίζες, και προκύπτει ο ανεξέλεγκτος πολλαπλασιασμός των κυττάρων. Αν τα φυσικά ρυθμιστικά του σώματος εξαντλούνται, αυτό μπορεί να οδηγήσει σε έλλειψη της συνολικής υγείας του σώματος για την καταπολέμηση του καρκίνου. Αυτός είναι ο λόγος για τον οποίο τα επίπεδα συντήρησης των συγκεκριμένων αντιοξειδωτικών, στην πραγματικότητα βοηθούν στη μάχη ενάντια του καρκίνου.

2.4.4.4 Προ-οξειδωτικοί χημειοθεραπευτικοί παράγοντες

Η θεραπεία του καρκίνου μπορεί να στοχεύσει στον κυτταρικό κύκλο, ο οποίος αποτελείται από 4 φάσεις: G1, S, G2 και M. Με βάση την εξειδίκευσή τους, τα φάρμακα χημειοθεραπείας μπορούν να κατηγοριοποιηθούν ως κυτταροειδικοί παράγοντες(αποτελεσματικοί κατά τη διάρκεια συγκεκριμένων φάσεων του κυτταρικού κύκλου), και ως μη ειδικοί του κυτταρικού κύκλου(εξειδικευμένοι σε όλη τη διάρκεια του κυτταρικού κύκλου).

Με βάση τα ειδικά χαρακτηριστικά τους και της φύσης της θεραπείας, οι χημειοθεραπευτικοί παράγοντες μπορούν να ταξινομηθούν ως αλκυλιωτικούς παράγοντες, αντι-μεταβολίτες, ανθρακυκλίνες, αντιβιοτικά κατά του όγκου, μονόκλωνα αντισώματα, platinum ή φυτικά αλκαλοειδή[198].

2.4.5 Μέθοδοι μέτρησης της προ-οξειδωτικής δράσης

Όπως φαίνεται, τα προ-οξειδωτικά έχουν σαφή αντίκτυπο στη θρεπτική αξία των τροφίμων, για την επιβίωση και το μεταβολισμό των φυτών, και ο πιο σημαντικός παράγοντας στην ανθρώπινη υγεία είναι ότι αποτελεί πρωταρχικό παράγοντα για τη διαδικασία της γήρανσης. Επιπλέον, αποτελεί διεγερτικό δείκτη πολλών ασθενειών, ενώ ταυτόχρονα χρησιμοποιείται ως βιολογικής δείκτης του οξειδωτικού στρες και στη θεραπεία επικίνδυνων ασθενειών όπως ο καρκίνος. Αυτός είναι ο λόγος για τον οποίο είναι πολύ σημαντικό για την ανάλυση της προ-οξειδωτικής δράσης των συστατικών των τροφών, των φυσικών και συνθετικών ενώσεων που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την ανίχνευση ασθενειών, και την κατανόηση του τρόπου δράσης αυτών, καθώς μπορούν να χρησιμοποιηθούν για φαρμακευτικούς και θεραπευτικούς σκοπούς. Πολλές αναλυτικές τεχνικές έχουν αναπτυχθεί για τη μέτρηση της προ-οξειδωτικής δράσης διαφόρων ουσιών.

Στην παρούσα ερευνητική διαδικασία, χρησιμοποιήθηκε η χημειοφωταύγεια λουμινόλης, πρωτόκολλα της οποίας ακολουθούν στο επόμενο κεφάλαιο, ενώ η αρχή της χημειοφωταύγειας έχει ήδη αναλυθεί.

Κεφάλαιο 3: Όργανα και Αντιδραστήρια

3.1 Όργανα – Συσκευές

3.1.1 Χημειοφωταυγείομετρο

Οι εντάσεις χημειοφωταύγειας μετρήθηκαν σε χημειοφωταυγείομετρο LS 55, Perkin Elmer (Waltham, Massachusetts, U.S.), με κλειστή λυχνία και χρήση μόνο του φωτοπολλαπλασιαστή του οργάνου(Εικόνα 3.1). Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν σε μήκος κύματος 420 nm.



Εικόνα 3.1 Χημειοφωταυγείομετρο LS 55, Perkin Elmer

3.1.2 Άλλα όργανα

Επιπρόσθετα χρησιμοποιήθηκαν:

- Ηλεκτρονικός ζυγός, Mettler AT 261 Delta Range (ακρίβειας $\pm 0,0001$ g), (Greifensee, Switzerland)
- Συσκευή υπερήχων, BANDELIN, SONOREX TK 52H, (Berlin, Germany)

- Πεχάμετρο, pH plus, LaMotte (με ηλεκτρόδιο συνδυασμού υάλου/αναφοράς αποτελούμενο από Ag/AgCl), (Chestertown, Maryland, USA)

3.2 Αντιδραστήρια – Διαλύματα

3.2.1 Αντιδραστήρια

Όλα τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν για την παρασκευή των διαλυμάτων ήταν αναλυτικού βαθμού καθαρότητας, εκτός και αν αναφέρεται διαφορετικά.

- EDTA (Sigma Chemical Co)
- Λουμινόλη (3-aminophthalylhydrazide) (Sigma Aldrich)
- Βορικό οξύ (Sigma Chemical Co)
- Χρησιμοποιήθηκε απιονισμένο και δις απιοντισμένο ύδωρ, το οποίο καθαρίζεται με σύστημα Labconco Water Pro (Kansas City, Missouri, USA)
- Υπεροξείδιο του υδρογόνου (30% w/v, medical, extra pure) (Merck KGaA)
- DMSO
- NaOH
- Co(II): $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$
- t-BuOOH(Merck)

- ethanolamine
- serinol
- 1-amino-2-propanol
- 2-amino-2-methyl-1-propanol
- 2-aminophenol
- 4-aminophenol
- 4-(methylamino)phenol sulfate
- 2-amino-3-phenyl-1-propanol
- 2-amino-1-phenyl ethanol
- Tyramine

Οι αμινοαλκοόλες που χρησιμοποιήθηκαν προέρχονται από Sigma Chemical Co και Sigma Aldrich.

3.2.2 Διαλύματα

3.2.2.1 Διαλύματα παρακαταθήκης

- Ρυθμιστικό διάλυμα Βορικού οξέος

Διαλύουμε 3,1gr βορικού οξέος σε 800ml απιονισμένου H₂O. Στη συνέχεια, σταθεροποιούμε το pH στο 9(ή στο 8, ή στο 10, ανάλογα με τα πειράματα που εκτελούνται) με την προσθήκη NaOH 1M. Τέλος, συμπληρώνουμε με απιονισμένο νερό έως ότου ο τελικός όγκος του διαλύματος φθάσει το 1lt. Έτσι, παρασκευάζεται το ρυθμιστικό διάλυμα βορικού οξέος με το pH της επιλογής μας.

- Διάλυμα Co(II) – EDTA

Διαλύουμε 200mg $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ και 1gr EDTA σε 100ml ρυθμιστικού διαλύματος βορικού οξέος(του οποίου το pH εξαρτάται από τα πειράματα που θέλουμε να εκτελέσουμε).

- Διάλυμα Λουμινόλης

Διαλύουμε 25mg λουμινόλης σε 250ml ρυθμιστικού διαλύματος βορικού οξέος.

- Διάλυμα Υπεροξειδίου του Υδρογόνου

Διαλύουμε 6,12ml H_2O_2 σε απιονισμένο νερό έτσι, ώστε ο τελικός όγκος του διαλύματος να φθάσει τα 10ml.

3.2.2.2 Διαλύματα εργασίας

1) Tyramine

Για τη συγκεκριμένη αμινοαλκοόλη ισχύει: $M_r = 137,179\text{g/mol}$ και $d=1,103\text{g/cm}^3$. Θέλουμε η συγκέντρωση της ουσίας να είναι 50mM.

Είναι:

$$x = [(50\text{mM} \cdot 137,179\text{g/mol}) / 1000\text{mM}] = 6,859\text{gr ουσίας απαιτούνται για τα } 1000\text{ml.}$$

Οπότε στα 10ml που θέλουμε να είναι το δικό μας διάλυμα χρησιμοποιούμε 68,59mgr.

Συνεπώς, διαλύουμε 68,59mgr σε DMSO ούτως ώστε ο τελικός όγκος του διαλύματος να είναι 10ml.

Ακόμη, θέλουμε να παρασκευάσουμε διάλυμα της συγκεκριμένης αμινοαλκοόλης με συγκέντρωση 25mM και 5mM.

Είναι

$$C_1 * V_1 = C_2 * V_2 \Leftrightarrow 25\text{mM} * 5\text{ml} = 50\text{mM} * x \Leftrightarrow x = 2,5\text{ml}$$

Οπότε παίρνουμε 2,5ml από το αρχικό διάλυμα της συγκέντρωσης των 50mM και προσθέτουμε 2,5ml DMSO έτσι, ώστε ο τελικός όγκος να είναι 5ml.

Ομοίως, διαλύουμε 0,5ml διαλύματος αμινοαλκοόλης, το οποίο έχει συγκέντρωση 50mM σε 4,5ml DMSO, με σκοπό να φτιάξουμε διάλυμα της ίδιας αμινοαλκοόλης με συγκέντρωση 5mM.

2) Ethanolamine(>99%)

Το μοριακό βάρος της αιθανολαμίνης είναι 61,08g/l και η πυκνότητα της συγκεκριμένης 1,015kg/l.

Στα 100gr έχουμε 99gr ethanolamine

Στα 1000gr έχουμε x gr ethanolamine

Άρα x=990gr της αμινοαλκοόλης

$$d = m/V \Leftrightarrow V = m/d = 1\text{kg}/(1,015\text{kg/l}) = 0,9852\text{l}$$

οπότε στα 1000gr διαλύματος έχουμε 0,9852lt ethanolamine

$$c = n/V = m/(MW * V) = 990\text{gr}/(61,08\text{gr/l} * 0,9852\text{lt}) = 16,45\text{M}$$

$$C_1 * V_1 = C_2 * V_2 \Leftrightarrow 16,45 * 1000\text{mM} * V_1 = 50\text{mM} * 10\text{ml} \Leftrightarrow$$

$$V_1 = 0,0341296\text{ml} = \underline{34,13\mu\text{l}} \text{ σε τελικό όγκο } 10\text{ml DMSO}$$

$$d = m/V \Leftrightarrow m = d \cdot V = (1,015 \text{ kg/l}) \cdot 34,1296 \cdot 10^{-6} \text{ lt} = \underline{34,64 \text{ mg}}$$

διαλύονται σε DMSO έως ότου το διάλυμα αποκτήσει τελικό όγκο 10ml

Θέλουμε να παρασκευάσουμε διαλύματα της ίδιας αμινοαλκοόλης, αλλά με συγκέντρωση 25mM και 5mM.

$$C_1 \cdot V_1 = C_2 \cdot V_2 \Leftrightarrow 25 \text{ mM} \cdot 5 \text{ ml} = 50 \text{ mM} \cdot V_2 \Leftrightarrow$$

$V_2 = 2,5 \text{ ml}$ από το διάλυμα που έχει συγκέντρωση 50mM και τα διαλύουμε σε 2,5ml DMSO, ώστε το διάλυμα να έχει τελικό όγκο 5ml.

Ομοίως, διαλύουμε 0,5ml διαλύματος αμινοαλκοόλης, το οποίο έχει συγκέντρωση 50mM σε 4,5ml DMSO, με σκοπό να φτιάξουμε διάλυμα της ίδιας αμινοαλκοόλης με συγκέντρωση 5mM.

3) 2-amino-1-phenyl-ethanol

Ισχύει ότι MW = 137,181g/mol

Θέλουμε να παρασκευάσουμε διάλυμα τελικού όγκου 10ml και συγκέντρωσης 50mM.

$$x = (50 \text{ mM} \cdot 137,181 \text{ g/mol}) / 1000 \text{ mM} = 6,86 \text{ gr της ουσίας για τα } 1000 \text{ ml}$$

Οπότε για τα 10ml θα χρειαστούμε 68,59mg, τα οποία θα διαλυθούν σε DMSO, μέχρι ο τελικός όγκος του διαλύματος γίνει 10ml.

Ομοίως με τις προηγούμενες αμινοαλκοόλες, θέλουμε να παρασκευάσουμε διαλύματα της αμινοαλκοόλης με συγκέντρωση 25mM και 5mM.

$$C_1 \cdot V_1 = C_2 \cdot V_2 \Leftrightarrow 25 \text{ mM} \cdot 5 \text{ ml} = 50 \text{ mM} \cdot V_2 \Leftrightarrow$$

$V_2 = 2,5 \text{ ml}$ από το διάλυμα που έχει συγκέντρωση 50mM και τα διαλύουμε σε 2,5ml DMSO, ώστε το διάλυμα να έχει τελικό όγκο 5ml.

Ομοίως, διαλύουμε 0,5ml διαλύματος αμινοαλκοόλης, το οποίο έχει συγκέντρωση 50mM σε 4,5ml DMSO, με σκοπό να φτιάξουμε διάλυμα της ίδιας αμινοαλκοόλης με συγκέντρωση 5mM.

4) 2-amino-3-phenyl-1-propanol

Η παραπάνω αμινοαλκοόλη έχει μοριακό βάρος 151,21g/mol, οπότε ακολουθούμε της εξής διαδικασία:

Θέλουμε να παρασκευάσουμε διάλυμα τελικού όγκου 10ml και συγκέντρωσης 50mM.

$$x = (50\text{mM} \cdot 151,21\text{g/mol}) / 1000\text{mM} = 7,56\text{gr της ουσίας για τα } 1000\text{ml}$$

Οπότε για τα 10ml θα χρειαστούμε 75,60mg, τα οποία θα διαλυθούν σε DMSO, μέχρι ο τελικός όγκος του διαλύματος γίνει 10ml. Στη συγκεκριμένη περίπτωση, όμως, διαλύουμε 7,56mg αμινοαλκοόλης σε DMSO έως τελικού όγκου 1ml.

Ομοίως με τις προηγούμενες αμινοαλκοόλες, , θέλουμε να παρασκευάσουμε διαλύματα της αμινοαλκοόλης με συγκέντρωση 25mM και 5mM.

$$C_1 \cdot V_1 = C_2 \cdot V_2 \Leftrightarrow 25\text{mM} \cdot 250\mu\text{l} = 50\text{mM} \cdot V_2 \Leftrightarrow$$

$V_2 = 125\mu\text{l}$ από το διάλυμα που έχει συγκέντρωση 50mM και τα διαλύουμε σε 125μl DMSO, ώστε το διάλυμα να έχει τελικό όγκο 250μl.

Ομοίως, διαλύουμε 25μl διαλύματος αμινοαλκοόλης, το οποίο έχει συγκέντρωση 50mM σε 225μl DMSO, με σκοπό να φτιάξουμε διάλυμα της ίδιας αμινοαλκοόλης με συγκέντρωση 5mM.

5) 4-(methylamino)phenol sulfate

Ισχύει ότι MW = 137,181g/mol

Θέλουμε να παρασκευάσουμε διάλυμα τελικού όγκου 10ml και συγκέντρωσης 50mM.

$$x = (50\text{mM} \cdot 344,39\text{g/mol}) / 1000\text{mM} = 17,22\text{gr της ουσίας για τα } 1000\text{ml}$$

Οπότε για τα 10ml θα χρειαστούμε 172,195mg, τα οποία θα διαλυθούν σε DMSO, μέχρι ο τελικός όγκος του διαλύματος γίνει 10ml.

6) 4-aminophenol και 2-aminophenol

Ισχύει ότι MW = 109,13g/mol

Θέλουμε να παρασκευάσουμε διάλυμα τελικού όγκου 10ml και συγκέντρωσης 50mM.

$$x = (50\text{mM} \cdot 109,13\text{g/mol}) / 1000\text{mM} = 0,054565\text{gr της ουσίας για τα } 1000\text{ml}$$

Οπότε για τα 10ml θα χρειαστούμε 54,56mg, τα οποία θα διαλυθούν σε DMSO, μέχρι ο τελικός όγκος του διαλύματος γίνει 10ml.

Ομοίως με τις προηγούμενες αμινοαλκοόλες, θέλουμε να παρασκευάσουμε διαλύματα της αμινοαλκοόλης με συγκέντρωση 25mM και 5mM.

$$C_1 * V_1 = C_2 * V_2 \Leftrightarrow 25\text{mM} * 250\mu\text{l} = 50\text{mM} * V_2 \Leftrightarrow$$

$V_2 = 125\mu\text{l}$ από το διάλυμα που έχει συγκέντρωση 50mM και τα διαλύουμε σε 125μl DMSO , ώστε το διάλυμα να έχει τελικό όγκο 250μl.

Ομοίως, διαλύουμε 25μl διαλύματος αμινοαλκοόλης, το οποίο έχει συγκέντρωση 50mM σε 225μl DMSO, με σκοπό να φτιάξουμε διάλυμα της ίδιας αμινοαλκοόλης με συγκέντρωση 5mM.

7) 2-amino-2-methyl-1-propanol(95%)

Το μοριακό βάρος της αμινοαλκοόλης είναι 89,14g/l και η πυκνότητα της συγκεκριμένης 0,934kg/l.

Στα 100gr έχουμε 95gr αμινοαλκοόλης

Στα 1000gr έχουμε x gr αμινοαλκοόλης

Άρα $x=950\text{gr}$ της αμινοαλκοόλης

$$d = m/V \Leftrightarrow V = m/d = 1\text{kg}/(0,934\text{kg/l}) = 1,071\text{lt}$$

οπότε στα 1000gr διαλύματος έχουμε 1,071lt αμινοαλκοόλης

$$c = n/V = m/(MW * V) = 950\text{gr}/(89,14\text{gr/l} * 1,071\text{lt}) = 9,95\text{M}$$

$$C_1 * V_1 = C_2 * V_2 \Leftrightarrow 9,95 * 1000\text{mM} * V_1 = 50\text{mM} * 10\text{ml} \Leftrightarrow$$

$$V_1 = 0,05024681\text{ml} = \underline{50,25\mu\text{l}} \text{ σε τελικό όγκο } 10\text{ml DMSO}$$

$$d = m/V \Leftrightarrow m = d * V = (0,934\text{kg/l}) * 50,24681 * 10^{-6}\text{lt} = \underline{46,93\text{mg}}$$

διαλύονται σε DMSO έως ότου το διάλυμα αποκτήσει τελικό όγκο 10ml

Θέλουμε να παρασκευάσουμε διαλύματα της ίδιας αμινοαλκοόλης, αλλά με συγκέντρωση 25mM και 5mM.

$$C_1 * V_1 = C_2 * V_2 \Leftrightarrow 25\text{mM} * 5\text{ml} = 50\text{mM} * V_2 \Leftrightarrow$$

$V_2 = 2,5\text{ml}$ από το διάλυμα που έχει συγκέντρωση 50mM και τα διαλύουμε σε 2,5ml DMSO, ώστε το διάλυμα να έχει τελικό όγκο 5ml.

Ομοίως, διαλύουμε 0,5ml διαλύματος αμινοαλκοόλης, το οποίο έχει συγκέντρωση 50mM σε 4,5ml DMSO, με σκοπό να φτιάξουμε διάλυμα της ίδιας αμινοαλκοόλης με συγκέντρωση 5mM.

8) 1-amino-2-propanol(93%)

Το μοριακό βάρος της αμινοαλκοόλης είναι 75,11g/l και η πυκνότητα της συγκεκριμένης 0,975kg/l.

Στα 100gr έχουμε 93gr αμινοαλκοόλης

Στα 1000gr έχουμε x gr αμινοαλκοόλης

Άρα $x=930\text{gr}$ της αμινοαλκοόλης

$$d = m/V \Leftrightarrow V = m/d = 1\text{kg}/(0,973\text{kg/l}) = 1,028\text{lt}$$

οπότε στα 1000gr διαλύματος έχουμε 1,028lt αμινοαλκοόλης

$$c = n/V = m/(MW * V) = 930\text{gr}/(75,11\text{gr/l} * 1,028\text{lt}) = 12,045\text{M}$$

$$C_1 * V_1 = C_2 * V_2 \Leftrightarrow 12,045 * 1000\text{mM} * V_1 = 50\text{mM} * 10\text{ml} \Leftrightarrow$$

$$V_1 = 0,041651047\text{ml} = \underline{41,65\mu\text{l}} \text{ σε τελικό όγκο } 10\text{ml DMSO}$$

$$d = m/V \Leftrightarrow m = d \cdot V = (0,973 \text{kg/l}) \cdot 41,65 \cdot 10^{-6} \text{lt} = \underline{40,53 \text{mg}}$$

διαλύονται σε DMSO έως ότου το διάλυμα αποκτήσει τελικό όγκο 10ml

Θέλουμε να παρασκευάσουμε διαλύματα της ίδιας αμινοαλκοόλης, αλλά με συγκέντρωση 25mM και 5mM.

$$C_1 \cdot V_1 = C_2 \cdot V_2 \Leftrightarrow 25 \text{mM} \cdot 5 \text{ml} = 50 \text{mM} \cdot V_2 \Leftrightarrow$$

$V_2 = 2,5 \text{ml}$ από το διάλυμα που έχει συγκέντρωση 50mM και τα διαλύουμε σε 2,5ml DMSO, ώστε το διάλυμα να έχει τελικό όγκο 5ml.

Ομοίως, διαλύουμε 0,5ml διαλύματος αμινοαλκοόλης, το οποίο έχει συγκέντρωση 50mM σε 4,5ml DMSO, με σκοπό να φτιάξουμε διάλυμα της ίδιας αμινοαλκοόλης με συγκέντρωση 5mM.

9) Serinol

Ισχύει ότι $MW = 91,11 \text{g/mol}$

Θέλουμε να παρασκευάσουμε διάλυμα τελικού όγκου 10ml και συγκέντρωσης 50mM.

$$x = (50 \text{mM} \cdot 91,11 \text{g/mol}) / 1000 \text{mM} = 0,045555 \text{gr της ουσίας για τα } 1000 \text{ml}$$

Οπότε για τα 10ml θα χρειαστούμε 45,56mg, τα οποία θα διαλυθούν σε DMSO, μέχρι ο τελικός όγκος του διαλύματος γίνει 10ml.

Ομοίως με τις προηγούμενες αμινοαλκοόλες, θέλουμε να παρασκευάσουμε διαλύματα της αμινοαλκοόλης με συγκέντρωση 25mM και 5mM.

$$C_1 * V_1 = C_2 * V_2 \Leftrightarrow 25\text{mM} * 250\mu\text{l} = 50\text{mM} * V_2 \Leftrightarrow$$

$V_2 = 125\mu\text{l}$ από το διάλυμα που έχει συγκέντρωση 50mM και τα διαλύουμε σε 125μl DMSO , ώστε το διάλυμα να έχει τελικό όγκο 250μl.

Ομοίως, διαλύουμε 25μl διαλύματος αμινοαλκοόλης, το οποίο έχει συγκέντρωση 50mM σε 225μl DMSO, με σκοπό να φτιάξουμε διάλυμα της ίδιας αμινοαλκοόλης με συγκέντρωση 5mM.

Κεφάλαιο 4: Αποτελέσματα – Παρατηρήσεις

4.1 Εισαγωγή

Η χημειοφωταύγεια λουμινόλης σε ρυθμιστικό διάλυμα βορικού οξέος με pH 9 παρουσία του συμπλόκου Co(II)/EDTA, έχει μελετηθεί στο παρελθόν. Η λουμινόλη αντιδρά με το οξειδωτικό, που στην προκειμένη περίπτωση είναι το υπεροξείδιο του υδρογόνου, παρουσία μιας βάσης και ενός μεταλλικού καταλύτη προκειμένου να παραχθεί ένα διεγερμένο σωματίδιο το οποίο εκπέμπει ακτινοβολία. Η μέθοδος αυτή βασίζεται στη σταθεροποίηση του σήματος εκπομπής, η οποία εκφράζεται με τη δημιουργία πλατό διάρκειας από μερικά δευτερόλεπτα έως και 45 λεπτά, αναλόγως με τις συνθήκες της αντίδρασης, και αυτό της δίνει το πλεονέκτημα ότι δεν εξαρτάται πλέον από το χρόνο. Στην περίπτωση αυτή, το Co(II) δρα ως καταλύτης και το EDTA σταθεροποιεί την ακτινοβολία ώστε να καταγραφεί σταθερό σήμα (πλατό).

4.2 Πορεία εργασίας

Σε γυάλινη κυψελίδα τοποθετούνται 1 mL διαλύματος Co(II)/EDTA σε ρυθμιστικό διάλυμα βορικού οξέος, 100μl διαλύματος λουμινόλης σε ρυθμιστικό διάλυμα βορικού οξέος και 25μl διαλύματος υπεροξειδίου του υδρογόνου. Όταν θέλουμε να μετρήσουμε το “τυφλό”, δηλαδή όλες τις ουσίες μας αλλά χωρίς την προστιθέμενη αμινοαλκοόλη, τοποθετούμε όλες τις ουσίες στην κυψελίδα, και αντί να προσθέσουμε το δείγμα μας(δηλαδή την αμινοαλκοόλη) προσθέτουμε το διαλύτη αυτής.

Οπότε, για να μετρήσουμε το “τυφλό”, τοποθετούμε στην κυψελίδα τις τρεις ουσίες που αναφέραμε αρχικά μαζί με 25μl DMSO. Με αυτόν τον τρόπο, μετράται η ένταση της ακτινοβολίας, η οποία θα αφαιρεθεί στη συνέχεια από την μετρούμενη ένταση που προκύπτει εφόσον έχουμε προσθέσει το δείγμα μας έτσι, ώστε να προκύψει ως καθαρό αποτέλεσμα η ένταση της ακτινοβολίας που προκύπτει αποκλειστικά από την αμινοαλκοόλη. Πριν από οποιαδήποτε μέτρηση “τυφλού” ή δείγματος, μετράται η ένταση της ακτινοβολίας, χωρίς καθόλου κυψελίδα. Η μέτρηση αυτή ονομάζεται “σκοτεινό υπόβαθρο” και αποτελεί τον θόρυβο του μηχανήματος, και αφαιρείται από την μέτρηση του “τυφλού” και του δείγματος.

Η κυψελίδα τοποθετήθηκε στο χημειοφωταυγείομετρο, όπου γινόταν συνεχής ανάδευση με τη βοήθεια μικροσκοπικού μαγνητικού αναδευτήρα, και μετρήθηκε η ισχύς της παραγόμενης ακτινοβολίας από την κάθε αντίδραση.

Η ισχύς της ακτινοβολίας καταγράφεται ως μια γραμμή, η οποία μεταβάλλεται σε σχέση με το χρόνο και η μεταβολή αυτή της ισχύος παρουσιάζει ένα πλατό στο μέγιστο της εκπομπής, το οποίο μπορεί να διαρκεί από μερικά δευτερόλεπτα έως αρκετά λεπτά ανάλογα με την αντίδραση που πραγματοποιείται στην κυψελίδα. Ως εκπεμπόμενη ακτινοβολία από μια συγκεκριμένη αντίδραση λαμβάνεται η διαφορά της ακτινοβολίας του υποβάθρου από την τιμή της ακτινοβολίας που αντιστοιχεί στο πλατό της μέτρησης.

4.3 Αποτελέσματα

4.3.1 Ethanolamine

Μετράμε τον θόρυβο(σκοτεινό υπόβαθρο) και βρίσκουμε $I=0,44$. Αυτή η τιμή της ακτινοβολίας θα αφαιρεθεί από τη μέτρηση του “τυφλού”, αλλά και από αυτήν του δείγματος για όλη τη διάρκεια της συγκεκριμένης πειραματικής διαδικασίας.

Κατόπιν, πραγματοποιούνται τουλάχιστον τρεις μετρήσεις της έντασης από το “τυφλό” διάλυμα, για καλύτερη επαναληψιμότητα, και υπολογίζουμε τον μέσο όρο αυτών. Το “τυφλό” αποτελείται από 1ml $Co(II)/EDTA$, 100μl λουμινόλης, 25μl $DMSO$ και 25μl H_2O_2 . Το υπεροξείδιο του υδρογόνου προστίθεται τελευταίο ώστε να μην ξεκινήσει η αντίδραση πριν την προσθήκη όλων των αντιδραστηρίων, με σκοπό να προλάβουμε τη μέτρηση της έντασης της ακτινοβολίας. Αφού μετρήσουμε την ένταση του “τυφλού”, αντικαθιστούμε το $DMSO$, με 25μl ethanolamine, ξεκινώντας από την μικρότερη συγκέντρωση(5mM). Υπολογίζουμε πάλι τον μέσο όρο των εντάσεων που έδωσε το δείγμα μας. Το πηλίκο των μέσων όρων της έντασης του τυφλού, διά τον μέσο όρο των εντάσεων του δείγματος μας δίνει μία τιμή στον κάθετο άξονα του διαγράμματος που θα φτιάξουμε. Το διάγραμμα αυτό, θα έχει στον κάθετο άξονα τα πηλίκα των μέσων όρων των εντάσεων και στον οριζόντιο τις τιμές των συγκεντρώσεων. Ο συνδυασμός αυτών θα μας δώσει τρία σημεία, που ενώνοντας τα προκύπτει μία ευθεία γραμμή. Ανάλογα με την κλίση της ευθείας έχουμε προ-οξειδωτική ή αντιοξειδωτική αμινοαλκοόλη.

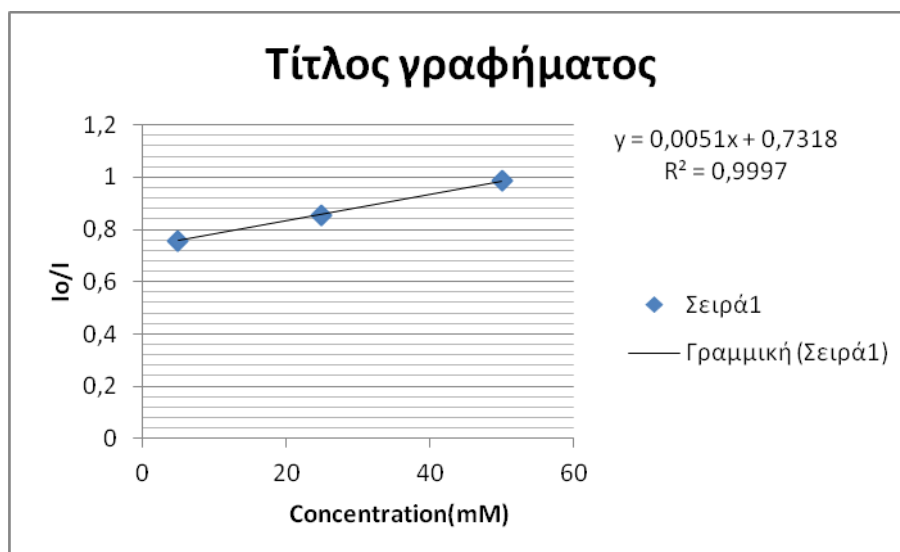
Επαναλαμβάνουμε τις μετρήσεις του “τυφλού”, υπολογίζοντας πάλι τον μέσο όρο αυτών, και στη συνέχεια μετρούμε την ένταση του δείγματος έχοντας αυξήσει αυτή τη φορά τη συγκέντρωση(25mM). Το ίδιο συμβαίνει άλλη μία έχοντας ως τελική συγκέντρωση τα 50mM. Το pH στο συγκεκριμένο πείραμα είναι 9.

Υπάρχουν περιπτώσεις αντιδράσεων όπου αυξήσαμε περισσότερο της συγκέντρωση του δείγματος.

Μετρήσεις	I _o	I(5mM)	I _o	I(25mM)	I _o	I(50mM)
1 ^η	269,89	371,81	274,25	323,68	299,99	309,5
2 ^η	285,68	362,68	293,92	354,16	286,21	303,8
3 ^η	276,89	359,25	293,96	342,47	314,91	326,88
4 ^η		367,68	293,29	335,77	302,08	318,91
5 ^η		368,3		336,71	296,13	314,95
6 ^η				328,87	306,62	284,58
7 ^η				341,13	319,18	312,86
8 ^η					320,1	
Μέσος όρος	277,4867	365,944	288,855	337,5414	305,6525	310,2114
I_o/I	<u>0,758276</u>		<u>0,855762</u>		<u>0,985304</u>	

Πίνακας 4.1 Ethanolamine pH=9(1)

Από τα πηλικά των μέσων όρων των εντάσεων της ακτινοβολίας που εκπέμπεται από τις αντιδράσεις, συναρτήσεως των συγκεντρώσεων της αμινοαλκοόλης σε κάθε αντίδραση, προκύπτει το ακόλουθο διάγραμμα(Διάγραμμα 4.1).



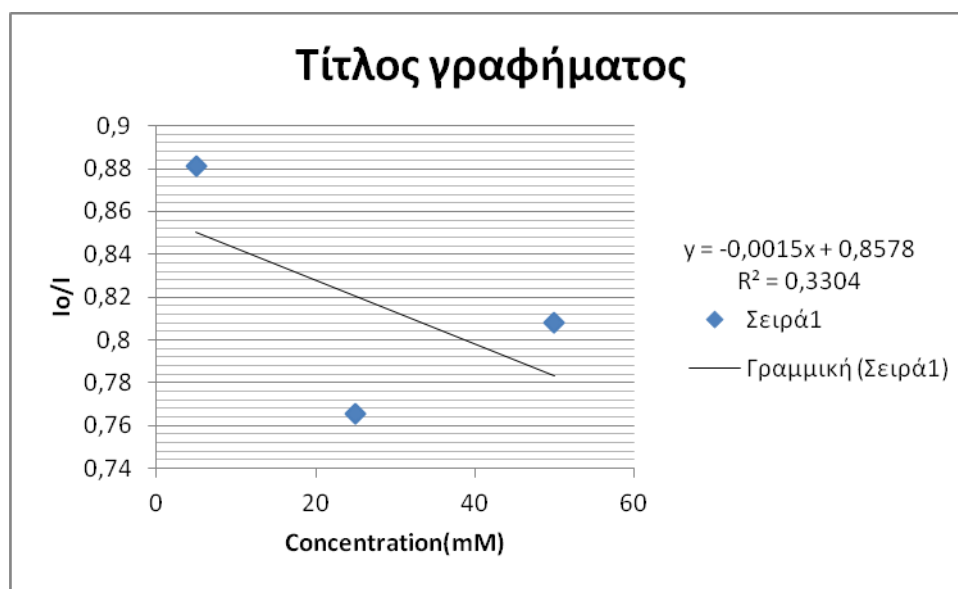
Διάγραμμα 4.1

Με βάση το διάγραμμα που προκύπτει η αιθανολαμίνη σε pH=9, δρα ως αντιοξειδωτική. Το παράδοξο της υπόθεσης είναι ότι τα πειράματα επαναλήφθηκαν, με αποτέλεσμα να παρατηρηθεί διαφορετική ένταση στη συγκέντρωση 5mM, προκαλώντας αλλαγή των αποτελεσμάτων, χωρίς όμως να έχει τόσο καλή τιμή η κλίση της ευθείας μας, και τα σημεία να μην βρίσκονται πάνω σε αυτήν.

Μετρήσεις	I_0	$I(5mM)$	I_0	$I(25mM)$	I_0	$I(50mM)$
1 ^η	105,25	120,61	110,44	138,53	109,38	137,43
2 ^η	105,28	115,59	113,34	146,72	106,48	130,37
3 ^η	105,32	122,31	106,79	146,58	105,86	130,44
Μέσος όρος	105,2833	119,5033	110,19	143,9433	107,24	132,7467
I_0/I	<u>0,881008</u>		<u>0,76551</u>		<u>0,807855</u>	

Πίνακας 4.2 Ethanolamine pH=9(2)

Από τα πηλικά των μέσων όρων των εντάσεων της ακτινοβολίας που εκπέμπεται από τις αντιδράσεις, συναρτήσκει των συγκεντρώσεων της αμινοαλκοόλης σε κάθε αντίδραση, προκύπτει το ακόλουθο διάγραμμα(Διάγραμμα 4.2).



Διάγραμμα 4.2

Με βάση το διάγραμμα που προκύπτει η αιθανολαμίνη σε pH=9, δρα ως προ-οξειδωτική. Όμως, η κλίση της ευθείας δεν είναι το ίδιο καλή με πριν, οπότε μπορούμε να υποθέσουμε πως από κάποιο πειραματικό σφάλμα, θα προέκυψαν αυτές οι τιμές.

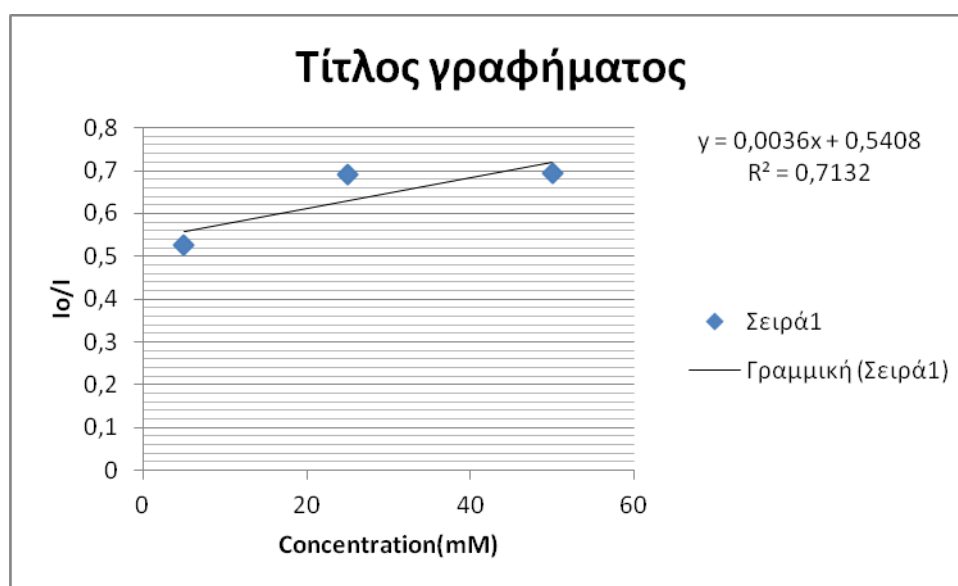
Συνεπώς, η Ethanolamine σε pH=9 δρα ως μία αντιοξειδωτική αμινοαλκοόλη.

Ακολουθεί ακριβώς η ίδια διαδικασία, με τη διαφορά ότι τώρα το pH στο οποίο πραγματοποιείται η αντίδραση είναι 8.

Μετρήσεις	I_0	$I(5mM)$	I_0	$I(25mM)$	I_0	$I(50mM)$
1 ^η	6,66	13,07	10,24	14,85	10,45	17,34
2 ^η	7,16	14,37	10,24	14,85	10,89	14,85
3 ^η	8,19	14,41	10,24	14,85	11,3	14,85
Μέσος όρος	7,336667	13,95	10,24	14,85	10,88	15,68
I_0/I	<u>0,525926</u>		<u>0,689562</u>		<u>0,693878</u>	

Πίνακας 4.3 Ethanolamine pH=8(1)

Από τα πηλίκα των μέσων όρων των εντάσεων της ακτινοβολίας που εκπέμπεται από τις αντιδράσεις, συναρτήσει των συγκεντρώσεων της αμινοαλκοόλης σε κάθε αντίδραση, προκύπτει το ακόλουθο διάγραμμα(Διάγραμμα 4.3).



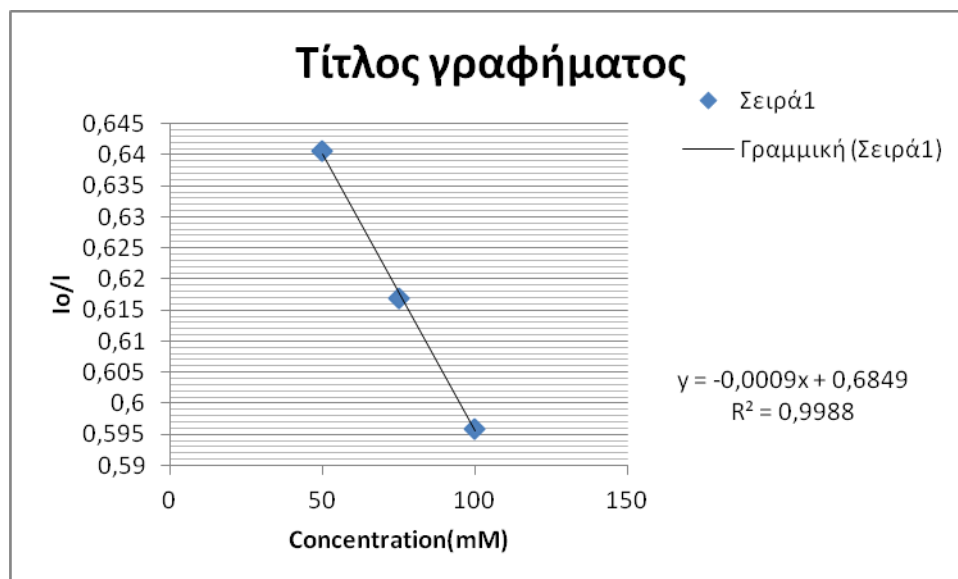
Διάγραμμα 4.3

Με βάση το διάγραμμα που προκύπτει η αιθανολαμίνη σε pH=9, δρα ως αντιοξειδωτική. Το παράδοξο της υπόθεσης είναι ότι τα πειράματα επαναλήφθηκαν, αυξάνοντας τις συγκεντρώσεις σε 50mM, 75mM και 100mM.

Μετρήσεις	I ₀	I(<u>50mM</u>)	I ₀	I(<u>75mM</u>)	I ₀	I(<u>100mM</u>)
1 ^η	8,19	12,8	8,84	16,89	10,75	19,15
2 ^η	8,22	12,8	10,82	16,89	12,28	20,48
3 ^η	8,19	12,8	10,61	16,89	12,27	20
4 ^η			11,41		12,52	20,48
5 ^η						20,2
Μέσος όρος	8,2	12,8	10,42	16,89	11,955	20,062
I₀/I	<u>0,640625</u>		<u>0,616933</u>		<u>0,595903</u>	

Πίνακας 4.4 Ethanolamine pH=8(2)

Από τα πηλίκα των μέσων όρων των εντάσεων της ακτινοβολίας που εκπέμπεται από τις αντιδράσεις, συναρτήσκει των συγκεντρώσεων της αμινοαλκοόλης σε κάθε αντίδραση, προκύπτει το ακόλουθο διάγραμμα(Διάγραμμα 4.4).



Διάγραμμα 4.4

Με βάση τα παραπάνω διαγράμματα, καταλήγουμε στο συμπέρασμα ότι η Ethanolamine σε pH=8 δρα ως αντιοξειδωτική για χαμηλές συγκεντρώσεις της αμινοαλκοόλης, ενώ αν αυξηθούν οι συγκεντρώσεις τότε η αμινοαλκοόλη δρα ως προ-οξειδωτική. Γενικά, παρατηρείται, όμως, ότι οι τιμές των εντάσεων είναι πολύ χαμηλές, ενώ και τα ίδια τα πειράματα είχαν διάρκεια αρκετή ώρα.

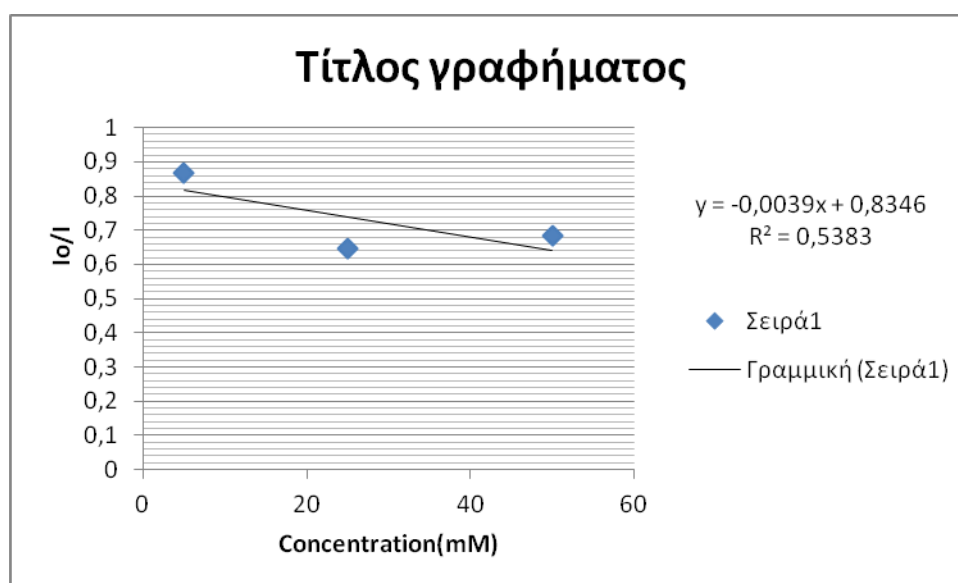
Το γεγονός ότι η αμινοαλκοόλη δρα ως προ-οξειδωτική σε υψηλές συγκεντρώσεις, με οδήγησε να επαναλάβω τα πρώτα πειράματα των χαμηλών συγκεντρώσεων. Από τα αποτελέσματα προκύπτει ότι και στις χαμηλές συγκεντρώσεις δρα ως προοξειδωτική αλλά με όχι τόσο καλή κλίση της ευθείας.

Αυτές οι εναλλαγές με τις επαναλήψεις των πειραμάτων επιβεβαιώνουν κάποιες παραδοχές πως ορισμένες αμινοαλκοόλες δεν έχουν καθόλου κλίση και δρουν ως προ-οξειδωτικές και αντιοξειδωτικές ταυτόχρονα.

Μετρήσεις	I_0	$I(5mM)$	I_0	$I(25mM)$	I_0	$I(50mM)$
1 ^η	6,66	7,31	8,12	12,94	9,96	14,85
2 ^η	6,66	7,63	8,16	12,73	10,24	14,85
3 ^η	6,73	8,19	9,29	13,93	10,24	14,85
Μέσος όρος	6,683333	7,71	8,523333	13,2	10,14667	14,85
I_0/I	<u>0,86684</u>		<u>0,645707</u>		<u>0,683277</u>	

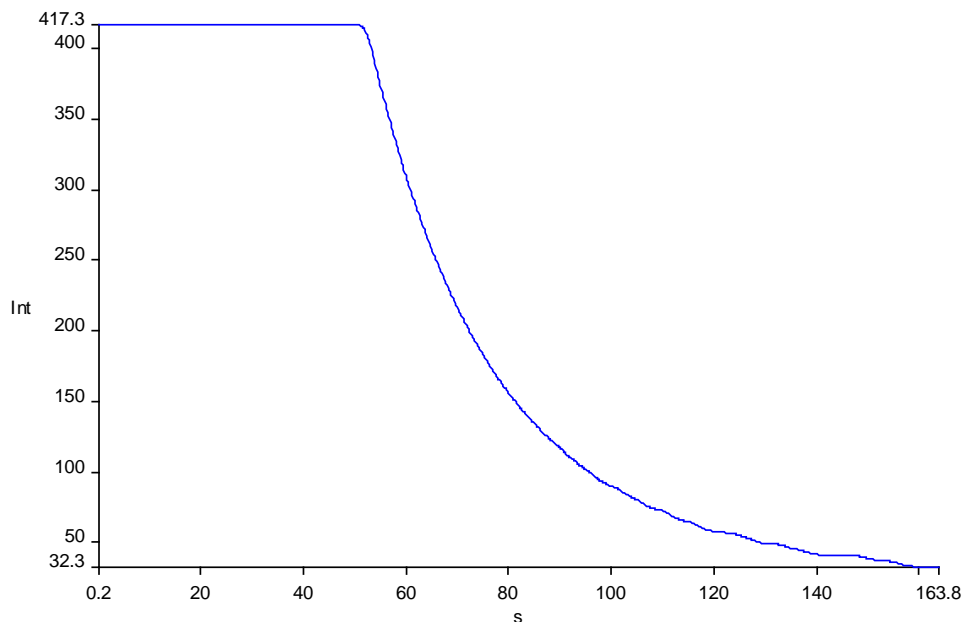
Πίνακας 4.5 Ethanolamine pH=8(3)

Από τα πηλικά των μέσων όρων των εντάσεων της ακτινοβολίας που εκπέμπεται από τις αντιδράσεις, συναρτήσκει των συγκεντρώσεων της αμινοαλκοόλης σε κάθε αντίδραση, προκύπτει το ακόλουθο διάγραμμα(Διάγραμμα 4.5).

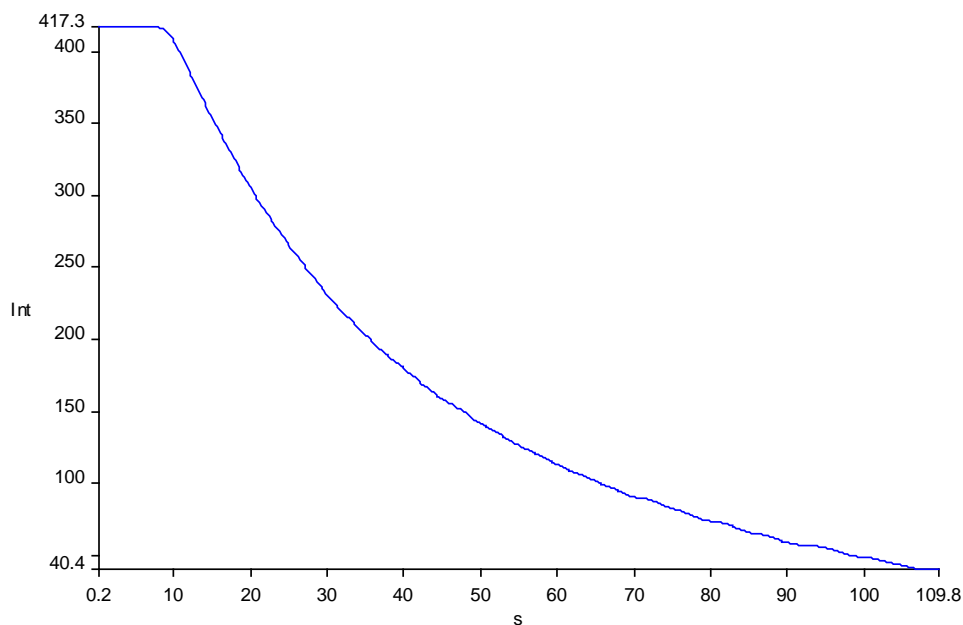


Πίνακας 4.5

Μελετώντας την προξειδωτική δράση της συγκεκριμένης αμινοαλκοόλης σε $\text{pH}=10$, παρατηρείται ότι η αντίδραση είναι τόσο γρήγορη που δεν εμφανίζεται σωστά το πλατώ.



Διάγραμμα 4.6 Ethanolamine $\text{pH}=10(1)$



Διάγραμμα 4.7 Ethanolamine $\text{pH}=10(2)$

4.3.2 2-amino-1-phenyl ethanol

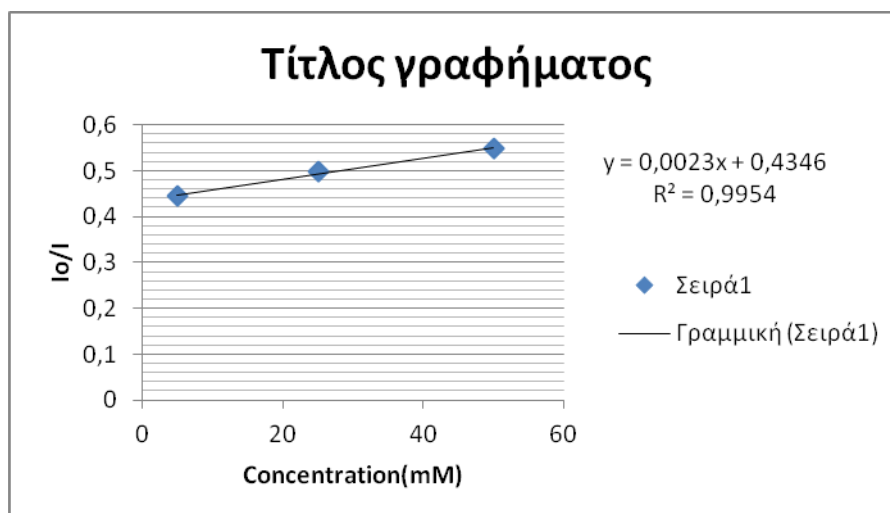
Ακολουθούμε ακριβώς την ίδια διαδικασία με προηγουμένως και προκύπτουν οι εντάσεις των ακτινοβολιών ως εξής:

Μετρήσεις	I_0	$I(5mM)$	I_0	$I(25mM)$	I_0	$I(50mM)$
1 ^η	3,58	7,68	3,58	7,3	3,58	7,1
2 ^η	3,58	7,68	3,58	7,23	3,58	5,83
3 ^η	3,58	9,21	3,58	7,16	3,58	6,65
4 ^η		7,68		7,16		6,48
5 ^η				7,16		
Μέσος όρος	3,58	8,0625	3,58	7,202	3,58	6,515
I_0/I	<u>0,444031</u>		<u>0,497084</u>		<u>0,549501</u>	

Πίνακας 4.6 2-amino-1-phenyl ethanol pH=9(1)

Η μέτρηση του σκοτεινού υποβάθρου είναι $I=0,51$, τιμή που αφαιρείται από όλες τις συγκεντρώσεις.

Από τα πηλικά των μέσων όρων των εντάσεων της ακτινοβολίας που εκπέμπεται από τις αντιδράσεις, συναρτήσκει των συγκεντρώσεων της αμινοαλκοόλης σε κάθε αντίδραση, προκύπτει το ακόλουθο διάγραμμα(Διάγραμμα 4.8).



Διάγραμμα 4.8

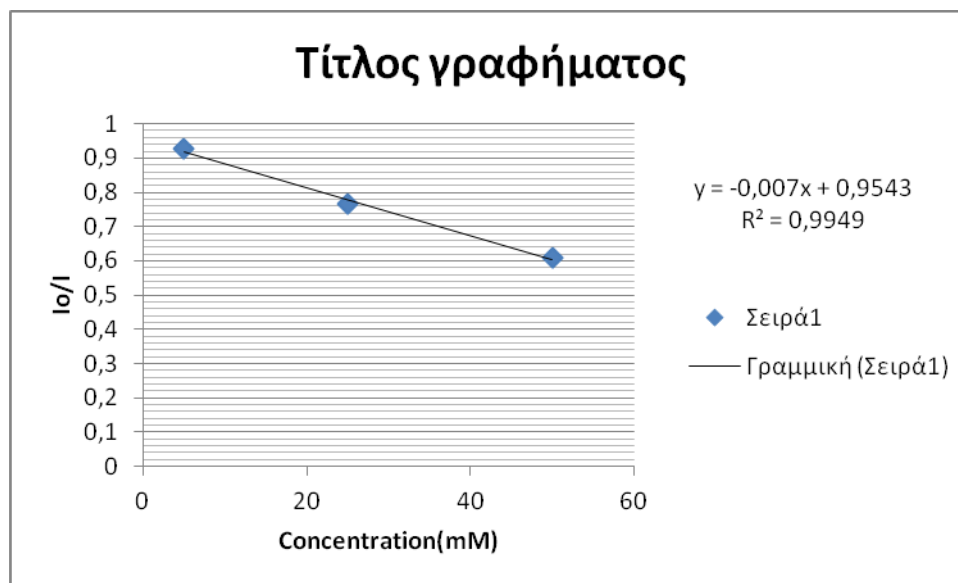
Από το διάγραμμα παρατηρείται πως η συγκεκριμένη αμινοαλκοόλη σε pH=9 δρα ως αντιοξειδωτική και μάλιστα σε υψηλό επίπεδο, μιας και η κλίση της ευθείας μας δίνει μία πολύ καλή τιμή.

Επαναλαμβάνω τα πειράματα με το ίδιο pH, ώστε να επιβεβαιωθεί αν η αμινοαλκοόλη είναι αντιοξειδωτική, ή να επιβεβαιωθεί η προηγούμενη άποψη ότι ορισμένες αμινοαλκοόλες δρουν άλλωτε ως αντιοξειδωτικές και άλλωτε ως προ-οξειδωτικές.

Μετρήσεις	I_0	$I(5mM)$	I_0	$I(25mM)$	I_0	$I(50mM)$
1 ^η	38,77	39,32	38,77	47,27	39,32	63,35
2 ^η	34,78	41,09	35,46	47,48	39,07	59,25
3 ^η	38,77	40,82	38,77	52,8	39,66	67,85
4 ^η						67,89
Μέσος όρος	37,44	40,41	37,66667	49,18333	39,35	64,585
I_0/I	<u>0,926503</u>		<u>0,765842</u>		<u>0,609275</u>	

Πίνακας 4.7 2-amino-1-phenyl ethanol pH=9(2)

Από τα πηλικά των μέσων όρων των εντάσεων της ακτινοβολίας που εκπέμπεται από τις αντιδράσεις, συναρτήσκει των συγκεντρώσεων της αμινοαλκοόλης σε κάθε αντίδραση, προκύπτει το ακόλουθο διάγραμμα(Διάγραμμα 4.9).



Διάγραμμα 4.9

Από το παραπάνω διάγραμμα φαίνεται ότι η συγκεκριμένη αμινοαλκοόλη δρα και ως προ-οξειδωτική και μάλιστα σε ικανοποιητικό βαθμό, αφού η κλίση της ευθείας έχει σχεδόν την βέλτιστη τιμή για να θεωρηθεί η αμινοαλκοόλη προ-οξειδωτική.

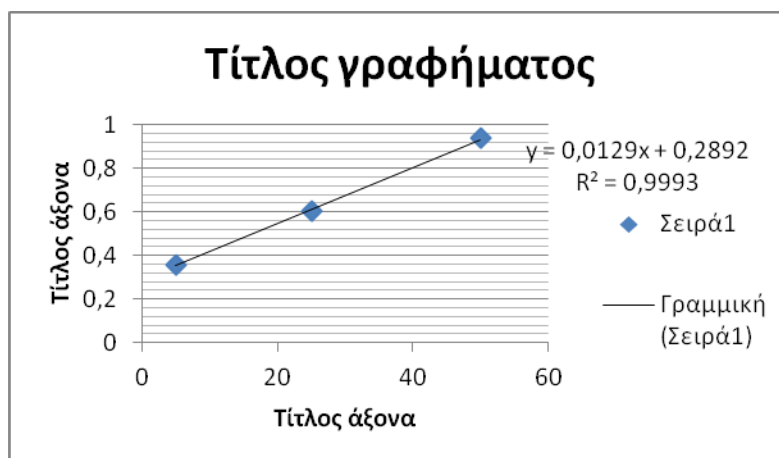
Σε αυτό το σημείο, επιβεβαιώνονται πλήρως οι απόψεις πως ορισμένες αμινοαλκοόλες έχουν διτή φύση, δηλαδή δρουν ως προ-οξειδωτικές και αντιοξειδωτικές σε ίδιες συνθήκες pH.

Ακολουθούμε ακριβώς την ίδια διαδικασία ώστε να βρούμε τον τρόπο δράσης της αμινοαλκοόλης σε pH=10. Το σκοτεινό υπόβραθρο έχει ένταση $I = 0,06$.

Μετρήσεις	I_0	$I(5mM)$	I_0	$I(25mM)$	I_0	$I(50mM)$
1 ^η	81	220,81	88	147,39	110,46	81,86
2 ^η	71	228,97	81,86	138,82	3,66	80,8
3 ^η	89,74	224,48	90,46	149	96,76	90,05
4 ^η				141,04	77,28	85,95
5 ^η					108,51	
Μέσος όρος	80,58	224,7533	86,77333	144,0625	79,334	84,665
I_0/I	<u>0,358526</u>		<u>0,602331</u>		<u>0,937034</u>	

Πίνακας 4.8 2-amino-1-phenyl ethanol pH=10

Από τα πηλίκα των μέσων όρων των εντάσεων της ακτινοβολίας που εκπέμπεται από τις αντιδράσεις, συναρτήσκει των συγκεντρώσεων της αμινοαλκοόλης σε κάθε αντίδραση, προκύπτει το ακόλουθο διάγραμμα(Διάγραμμα 4.10).



Διάγραμμα 4.10

Από το διάγραμμα παρατηρείται πως η συγκεκριμένη αμινοαλκοόλη σε pH=10 δρα ως αντιοξειδωτική και μάλιστα σε υψηλό επίπεδο, μιας και η κλίση της ευθείας μας δίνει μία πολύ καλή τιμή.

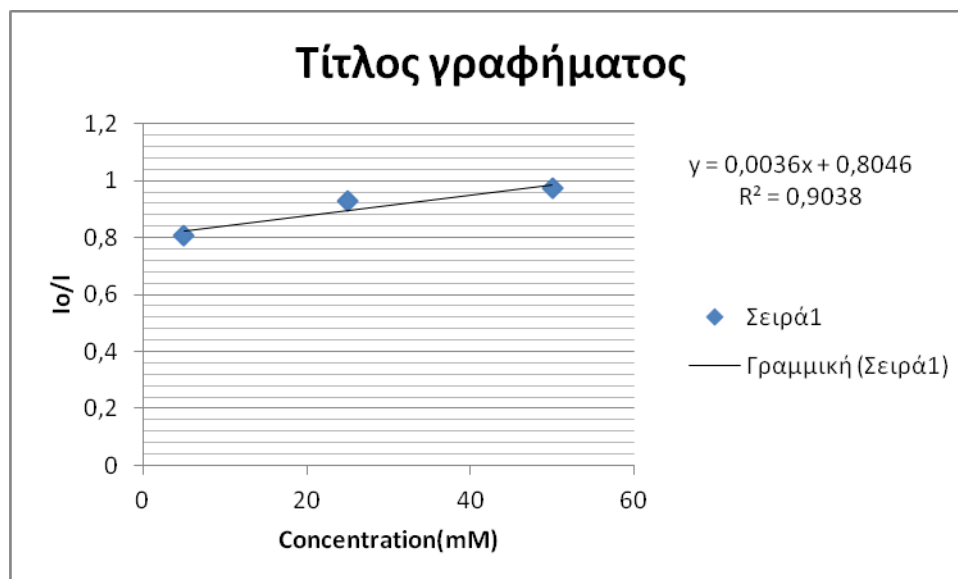
Σε επαναληπτικά πειράματα με το ίδιο pH, το πλατώ εμφανιζόταν πολύ γρήγορα και η αλκοόλη δε δούλεψε, όπως συμβαίνει συνήθως σε pH=10.

Ακολουθούμε ακριβώς την ίδια διαδικασία ώστε να βρούμε τον τρόπο δράσης της αμινοαλκοόλης σε pH=8. Το σκοτεινό υπόβραθρο έχει ένταση $I = 1,67$.

Μετρήσεις	I_0	$I(5mM)$	I_0	$I(25mM)$	I_0	$I(50mM)$
1 ^η	6,66	7,31	8,12	12,94	9,96	14,85
2 ^η	6,66	7,63	8,16	12,73	10,24	14,85
3 ^η	6,73	8,19	9,29	13,93	10,24	14,85
Μέσος όρος	6,683333	7,71	8,523333	13,2	10,14667	14,85
I_0/I	<u>0,86684</u>		<u>0,645707</u>		<u>0,683277</u>	

Πίνακας 4.9 2-amino-1-phenyl ethanol pH=8

Από τα πηλίκα των μέσων όρων των εντάσεων της ακτινοβολίας που εκπέμπεται από τις αντιδράσεις, συναρτήσει των συγκεντρώσεων της αμινοαλκοόλης σε κάθε αντίδραση, προκύπτει το ακόλουθο διάγραμμα(Διάγραμμα 4.11).



Διάγραμμα 4.11

Από το παραπάνω διάγραμμα παρατηρείται πως η συγκεκριμένη αμινοαλκοόλη, παρουσιάζει αντιοξειδωτική δράση σε pH=8 και σύμφωνα με την τιμή της κλίσης της ευθείας, σε μεγάλο ποσοστό.

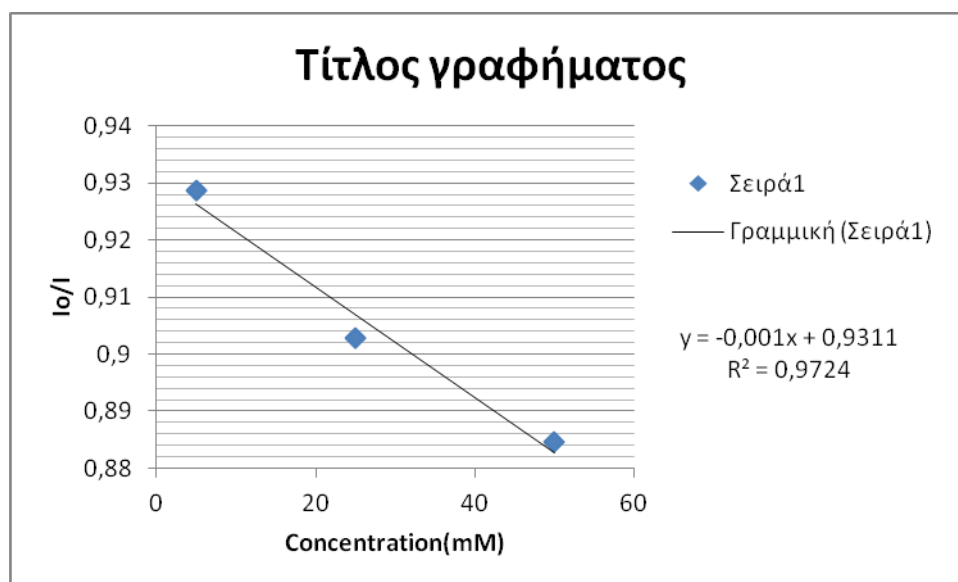
4.3.3 1-amino-2-propanol

Ομοίως με τις προηγούμενες πειραματικές διαδικασίες ελέγχουμε την προ-οξειδωτική δράση της αμινοαλκοόλης σε pH=9. Το σκοτεινό υπόβαθρο για τα πειράματα αυτά είναι $I=2,35$, τιμή που αφαιρείται από όλες τις τιμές των εντάσεων.

Μετρήσεις	I_0	$I(5mM)$	I_0	$I(25mM)$	I_0	$I(50mM)$
1 ^η	74,55	94,93	79,16	88,4	85,16	95,03
2 ^η	86,62	87,35	77,86	92,36	87,35	103,08
3 ^η	83,39	79,16	86,28	88,76	86,84	95,06
4 ^η	79,16					
Μέσος όρος	80,93	87,14667	81,1	89,84	86,45	97,72333
I_0/I	<u>0,928664</u>		<u>0,902716</u>		<u>0,88464</u>	

Πίνακας 4.10 1-amino-2-propanol pH=9

Από τα πηλίκα των μέσων όρων των εντάσεων της ακτινοβολίας που εκπέμπεται από τις αντιδράσεις, συναρτήσει των συγκεντρώσεων της αμινοαλκοόλης σε κάθε αντίδραση, προκύπτει το ακόλουθο διάγραμμα(Διάγραμμα 4.12).



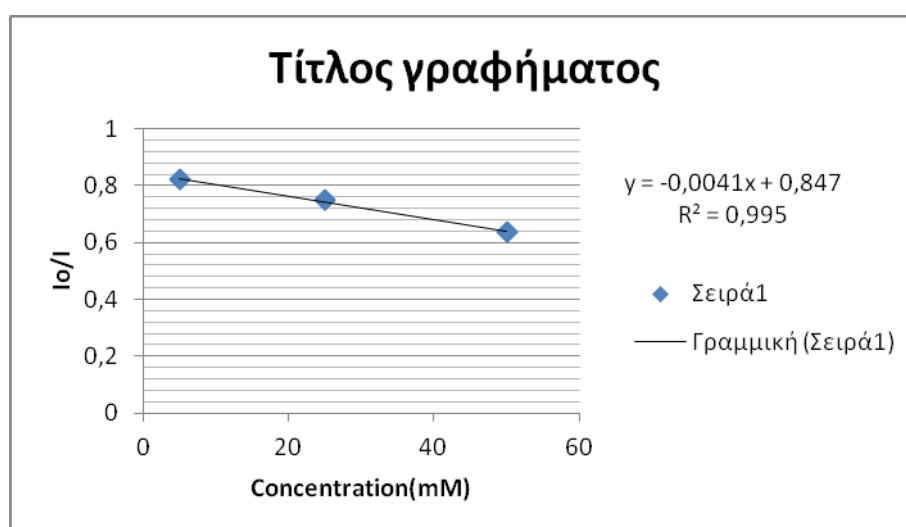
Διάγραμμα 4.12

Από το παραπάνω διάγραμμα φαίνεται πως η αμινοαλκοόλη εκδηλώνει έντονη προ-οξειδωτική δράση σε pH=9. Ακολουθείται η ίδια πορεία για pH=8.

Μετρήσεις	I ₀	I(<u>5mM</u>)	I ₀	I(<u>25mM</u>)	I ₀	I(<u>50mM</u>)
1 ^η	5,63	7,24	6,14	9,01	7,37	12,77
2 ^η	6,96	6,96	6,95	8,57	6,96	10,34
3 ^η	6,01	9,01	6,88	9,01	6,96	11,16
4 ^η		6,96				10,33
Μέσος όρος	6,2	7,5425	6,656667	8,863333	7,096667	11,15
I₀/I	<u>0,822009</u>		<u>0,751034</u>		<u>0,636472</u>	

Πίνακας 4.11 1-amino-2-propanol pH=9

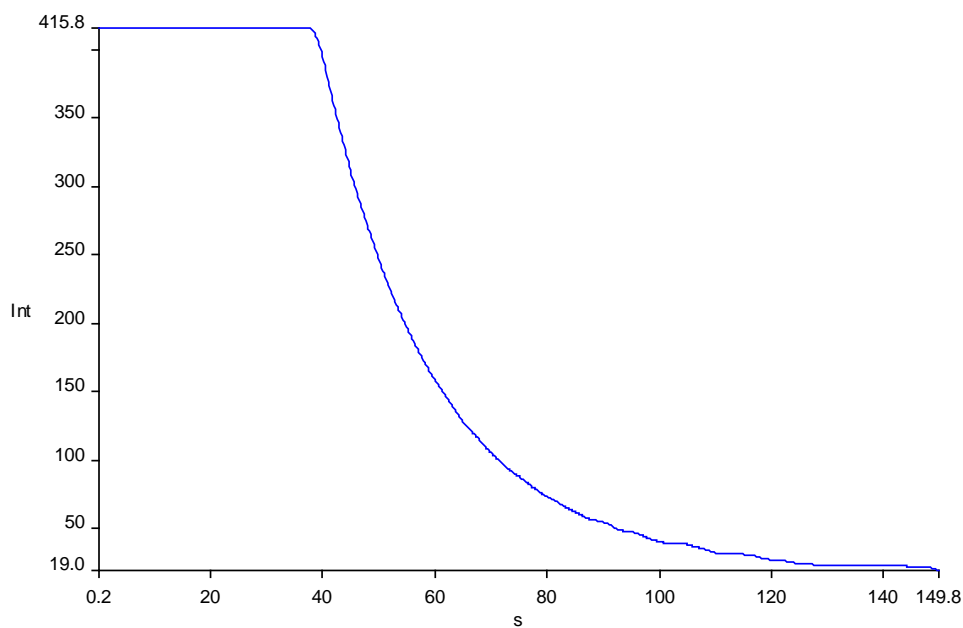
Από τα πηλίκα των μέσων όρων των εντάσεων της ακτινοβολίας που εκπέμπεται από τις αντιδράσεις, συναρτήσει των συγκεντρώσεων της αμινοαλκοόλης σε κάθε αντίδραση, προκύπτει το ακόλουθο διάγραμμα(Διάγραμμα 4.13).



Διάγραμμα 4.13

Από το παραπάνω διάγραμμα παρατηρείται πως αντίθετα με το πώς εκφράζεται η αμινοαλκοόλη σε $\text{pH}=9$, σε $\text{pH}=8$ δρα ως προ-οξειδωτική, και με ικανοποιητική κλίση της ευθείας.

Δοκιμάζοντας να αλλάξουμε το pH του διαλύματος για να ελέγξουμε τη δράση της αμινοαλκοόλης και σε αυτό, παρατηρούμε, πως για άλλη μία φορά η αμινοαλκοόλη μας δεν φαίνεται να εκδηλώνει κάποια δράση σε αυτό το pH , καθώς το πλατώ της αντίδρασης εμφανίζεται πολύ γρήγορα(Διάγραμμα 4.14).



Διάγραμμα 4.14

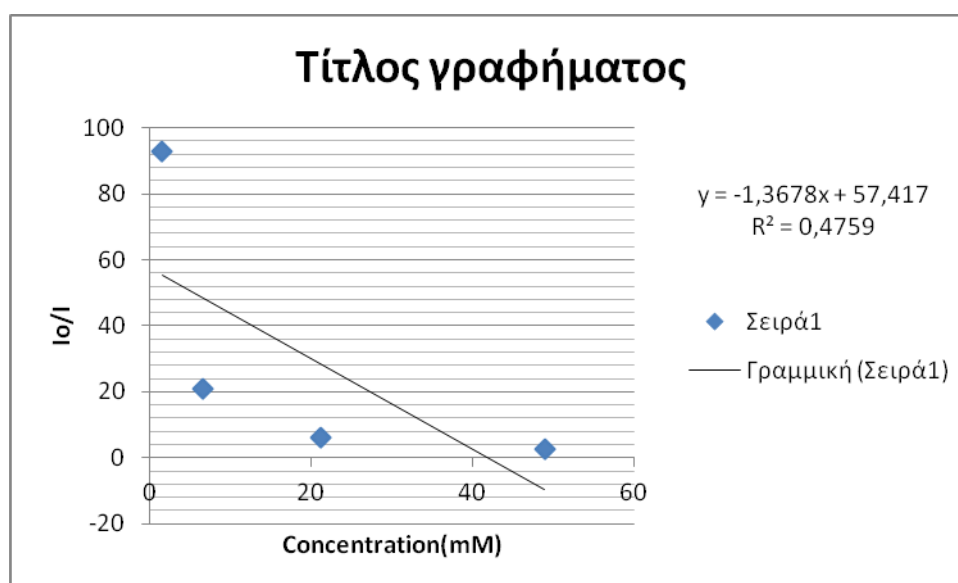
4.3.4 Tyramine

Το σκοτεινό υπόβαθρο είναι μηδέν. Οπότε για pH=9 προκύπτουν οι ακόλουθες εντάσεις της ακτινοβολίας:

Μετρήσεις	I _o	I(<u>5mM</u>)	I _o	I(<u>10mM</u>)	I _o	I(<u>25mM</u>)	I _o	I(<u>50mM</u>)
1 ^η	131,44	48,57	130,62	20,48	139,26	6,41	139,26	1,43
2 ^η	130,25	49,15	130,96	22,59	137,45	6,14	138,43	1,53
3 ^η	131,17	49,08	127,31	20,48	138,23	7,16	139,33	1,53
Μέσος όρος	130,9533	48,93333	129,63	21,18333	138,3133	6,57	139,0067	1,496667
I_o/I	<u>2,676158</u>		<u>6,119434</u>		<u>21,05226</u>		<u>92,87751</u>	

Πίνακας 4.12 Tyramine pH=9

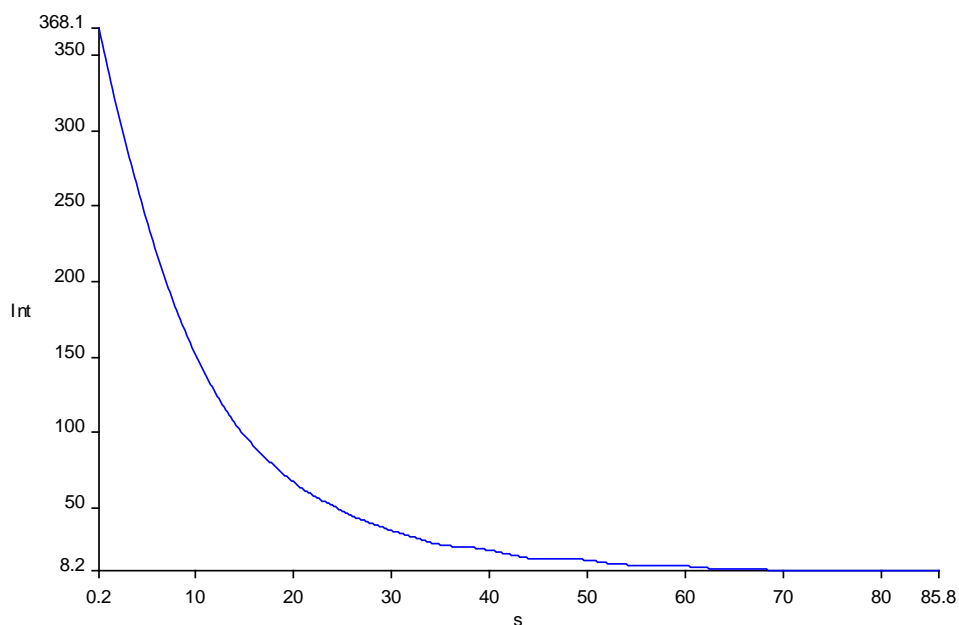
Από τα πηλίκα των μέσων όρων των εντάσεων της ακτινοβολίας που εκπέμπεται από τις αντιδράσεις, συναρτήσεϊ των συγκεντρώσεων της αμινοαλκοόλης σε κάθε αντίδραση, προκύπτει το ακόλουθο διάγραμμα(Διάγραμμα 4.15).



Διάγραμμα 4.15

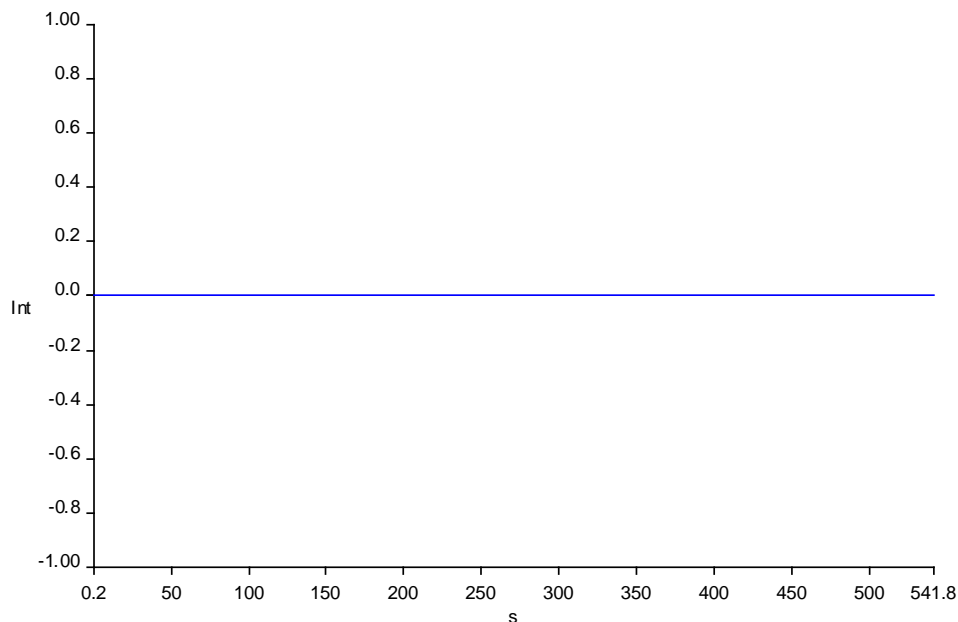
Από το παραπάνω διάγραμμα παρατηρούμε πως η Tyramine δρα ως προ-οξειδωτική σε pH=9, αλλά με μεγάλες αποκλίσεις καθώς η κλίση της ευθείας δεν έχει ικανοποιητική τιμή, τα σημεία που προκύπτουν αποκλίνουν πολύ από την ευθεία και οι τιμές της έντασης του δείγματος ήταν πολύ μικρές σε σχέση με αυτές του καθαρού διαλύτη.

Διερευνώντας τη δράση της τυραμίνης σε pH=10, παρατηρούμε ότι η εκπεμπόμενη ακτινοβολία δίνει ένταση με φθίνουσα πορεία(που θυμίζει παραβολή). Συνεπώς, η αμινοαλκοόλη Tyramine δεν ανταποκρίνεται σε αυτό το pH(Διάγραμμα 4.16).



Διάγραμμα 4.16

Όμοια ανταπόκριση έχει το σύστημα σε $\text{pH}=8$, καθώς η αμινοαλκοόλη δε δουλεύει, με τη διαφορά ότι δεν παρουσιάζει ένταση σε αυτό το pH (Διάγραμμα 4.17).



Διάγραμμα 4.17

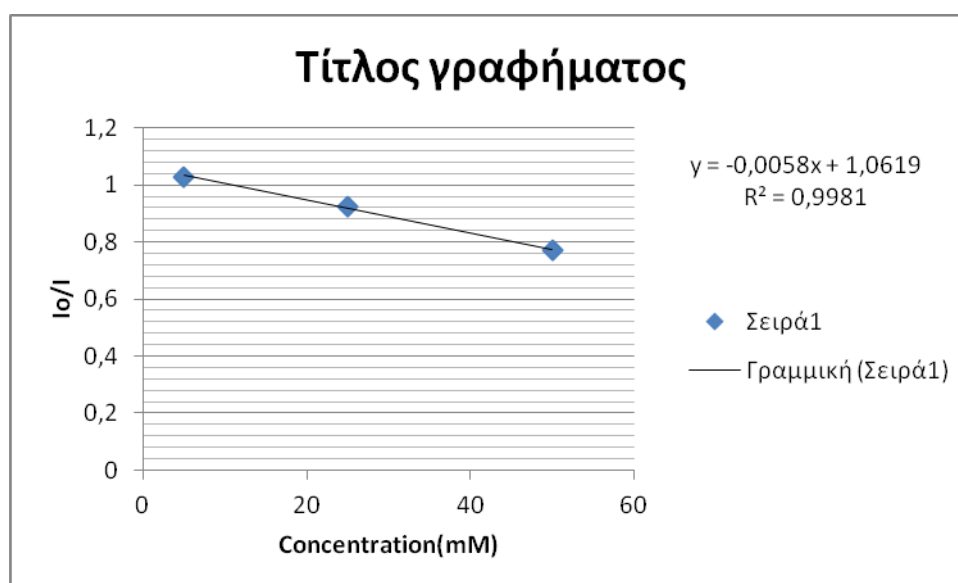
4.3.5 2-amino-2-methyl-1-propanol

Ακολουθούμε την ίδια πειραματική διαδικασία, και οι μετρήσεις των εντάσεων παρουσιάζονται στον Πίνακα 4.13. Η ένταση για το σκοτεινό υπόβαθρο είναι $I=2,04$.

Μετρήσεις	I_0	$I(5mM)$	I_0	$I(25mM)$	I_0	$I(50mM)$
1 ^η	49,56	69,33	78,34	85,78	84,35	98,04
2 ^η	104,04	62,35	82,44	86,53	84,82	94,21
3 ^η	70,15	73,59	78,34	86,43	88,89	152,03
4 ^η	70,15	73,83				102,4
5 ^η	70,15	74,58				
Μέσος όρος	72,81	70,736	79,70667	86,24667	86,02	111,67
I_0/I	<u>1,02932</u>		<u>0,924171</u>		<u>0,770305</u>	

Πίνακας 4.13 2-amino-2-methyl-1-propanol pH=9

Από τα πηλίκα των μέσων όρων των εντάσεων της ακτινοβολίας που εκπέμπεται από τις αντιδράσεις, συναρτήσκει των συγκεντρώσεων της αμινοαλκοόλης σε κάθε αντίδραση, προκύπτει το ακόλουθο διάγραμμα(Διάγραμμα 4.18).



Διάγραμμα 4.18

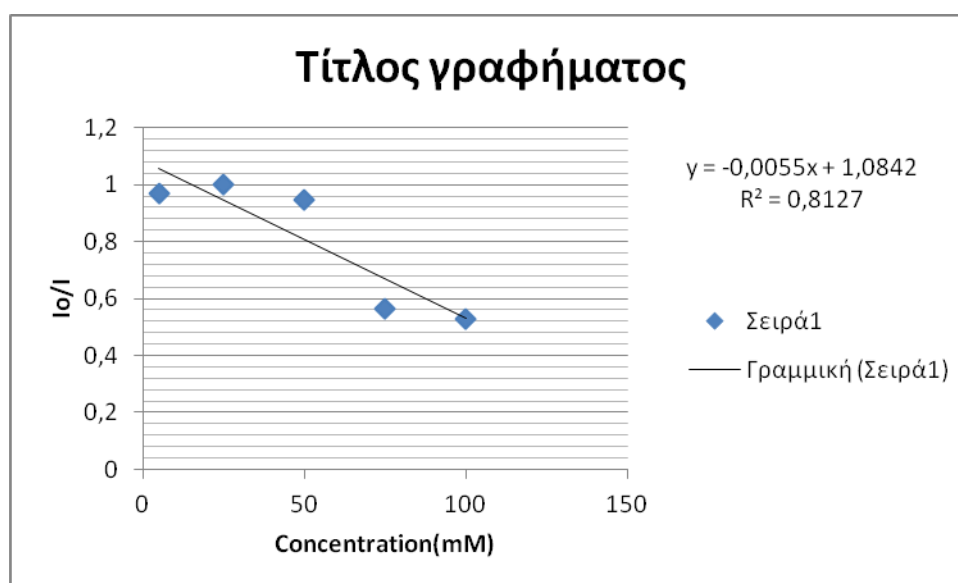
Από το παραπάνω διάγραμμα παρατηρείται πως η 2-amino-2-methyl-1-propanol παρουσιάζει έντονη προ-οξειδωτική δράση σε pH=9.

Ακολουθούν οι εντάσεις στην περίπτωση που αλλάξαμε το pH σε 8.

Μετρήσεις	I ₀	I(5mM)	I ₀	I(25mM)	I ₀	I(50mM)	I ₀	I(75mM)	I ₀	I(100mM)
1 ⁿ	4,16	4,6	4,16	4,6	4,16	4,6	4,16	8,19	4,16	8,63
2 ⁿ	4,6	4,6	4,6	4,6	4,6	4,64	4,6	8,05	4,6	8,7
3 ⁿ	4,6	4,6	4,6	4,6	4,6	5,35	4,6	8,19	4,6	8,7
Μέσος όρος	4,6	4,6	4,6	4,6	4,6	4,863333	4,6	8,143333	4,6	8,676667
I ₀ /I	0,968116		1		0,945853		0,564879		0,530158	

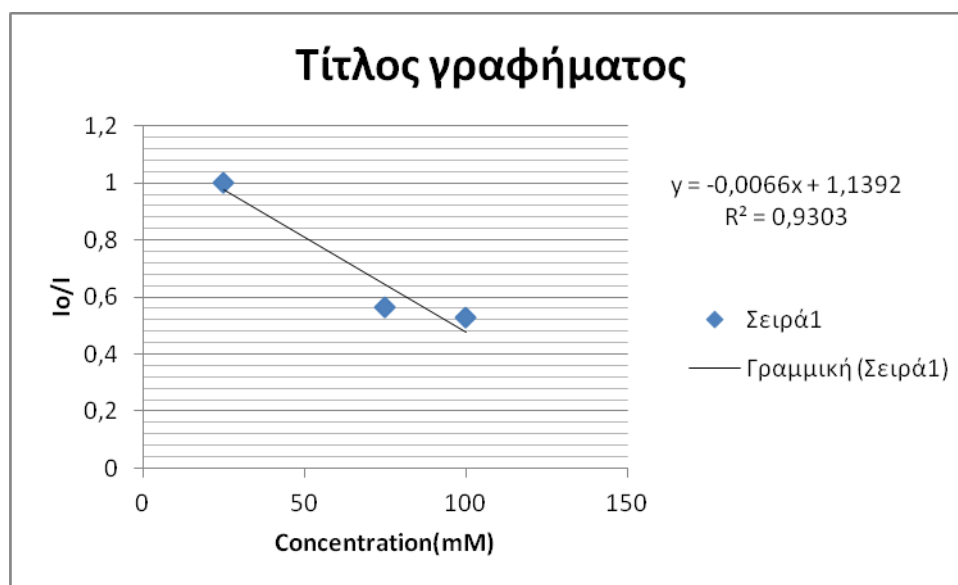
Πίνακας 4.14 2-amino-2-methyl-1-propanol pH=8

Στην παρούσα πειραματική διαδικασία πείραμε μετρήσεις εντάσεων για περισσότερες συγκεντρώσεις της ίδιας αμινοαλκοόλης. Το διάγραμμα που προκύπτει είναι το εξής(Διάγραμμα 4.19).



Διάγραμμα 2.19

Παρόλο που υπάρχουν αποκλίσεις των σημείων από την ευθεία του διαγράμματος, παρατηρούμε την έντονη προ-οξειδωτική δράση της αμινοαλκοόλης, έχοντας παράλληλα μία πολύ ικανοποιητική τιμή κλίσης της ευθείας. Το ίδιο θα παρατηρούσαμε στην περίπτωση που λαμβάναμε υπόψη μόνο τρεις από τις συγκεντρώσεις με τις οποίες πραγματοποιήθηκε το πείραμα(Διάγραμμα 4.20).



Διάγραμμα 4.20

Ακόμη, πρέπει να παρατηρηθεί πως οι εντάσεις στο pH=8 είναι το ίδιο υψηλές με αυτές στο pH=9, πράγμα που μέχρι πρότινος δεν ίσχυε.

Ακόμη, δεν ήταν δυνατόν να μελετηθεί η προ-οξειδωτική δράση της αμινοαλκοόλης στο pH=10, καθώς οι αντιδράσεις ήταν εξαιρετικά δύσκολες, με αποτέλεσμα την μη ύπαρξη ικανοποιητικών πλατών.

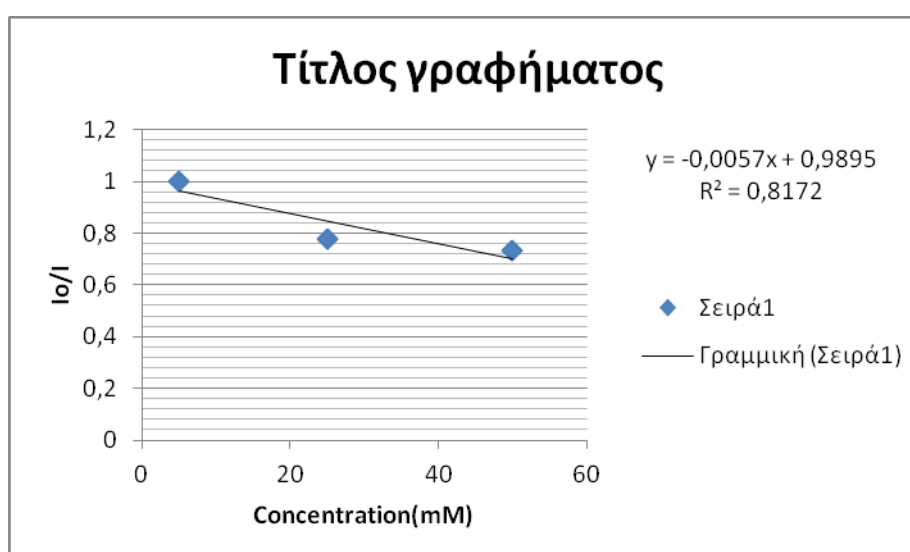
4.3.6 2-amino-3-phenyl-1-propanol

Τα στοιχεία που συλλέχθηκαν για τις εντάσεις της συγκεκριμένης αμινοαλκοόλης σε pH=9 ακολουθούν στον Πίνακα 4.15. Το σκοτεινό υπόβαθρο είναι I=1,67.

Μετρήσεις	I _o	I(5mM)	I _o	I(25mM)	I _o	I(50mM)
1 ^η	30,58	30,58	30,58	38,77	37,91	46,75
2 ^η	30,58	30,58	30,58	40,5	31,5	47,51
3 ^η	30,58	30,58	30,58	39,01	37,51	51,4
Μέσος όρος	30,58	30,58	30,58	39,42667	35,64	48,55333
I _o /I	<u>1</u>		<u>0,775617</u>		<u>0,734038</u>	

Πίνακας 4.15 2-amino-3-phenyl-1-propanol pH=9

Από τα πηλικά των μέσων όρων των εντάσεων της ακτινοβολίας που εκπέμπεται από τις αντιδράσεις, συναρτήσεϊ των συγκεντρώσεων της αμινοαλκοόλης σε κάθε αντίδραση, προκύπτει το ακόλουθο διάγραμμα(Διάγραμμα 4.21).



Διάγραμμα 4.21

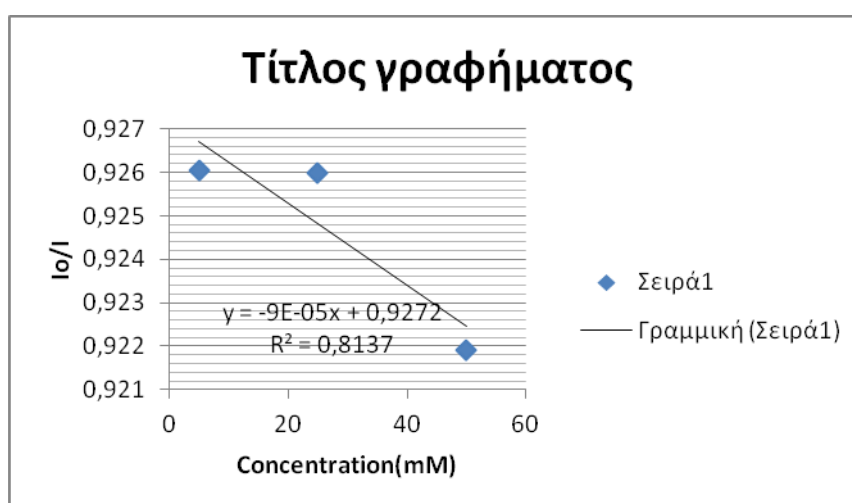
Από το παραπάνω διάγραμμα φαίνεται ξεκάθαρα η προξειδωτική δράση της αμινοαλκοόλης αυτής σε pH=9.

Τα στοιχεία που συλλέχθηκαν για τις εντάσεις της συγκεκριμένης αμινοαλκοόλης σε pH=8 ακολουθούν στον Πίνακα 4.16. Το σκοτεινό υπόβαθρο είναι I=1,53.

Μετρήσεις	I ₀	I(<u>5mM</u>)	I ₀	I(<u>25mM</u>)	I ₀	I(<u>50mM</u>)
1 ^η	5,67	6,11	5,74	6,18	6,14	6,66
2 ^η	5,63	6,14	6,1	6,21	6,14	6,66
3 ^η	5,73	6,14	5,8	6,66	6,14	6,66
Μέσος όρος	5,676667	6,13	5,88	6,35	6,14	6,66
I₀/I	<u>0,926047</u>		<u>0,925984</u>		<u>0,921922</u>	

Πίνακας 4.16 2-amino-3-phenyl-1-propanol pH=8

Από τα πηλικά των μέσων όρων των εντάσεων της ακτινοβολίας που εκπέμπεται από τις αντιδράσεις, συναρτήσσει των συγκεντρώσεων της αμινοαλκοόλης σε κάθε αντίδραση, προκύπτει το ακόλουθο διάγραμμα(Διάγραμμα 4.22).



Διάγραμμα 4.22

Παρόμοια με το pH=9, έτσι και στο pH=8, η 2-amino-3-phenyl-1-propanol παρουσιάζει προ-οξειδωτική δράση. Μπορεί να αποκλίνουν τα σημεία από την ευθεία, όμως η κλίση της ευθείας έχει μία πολύ ικανοποιητική τιμή, δηλώνοντας ξεκάθαρα πως αυτή η αμινοαλκοόλη είναι ως επί το πλείστον προ-οξειδωτική.

Διερευνήθηκε η τάση της 2-amino-3-phenyl-1-propanol και σε pH=10, αλλά όπως συμβαίνει συνήθως σε αυτήν την τιμή του pH, η αντίδραση προχωρούσε πολύ γρήγορα, χωρίς να προλαβαίνουμε την μέγιστη τιμή του διαγράμματος.

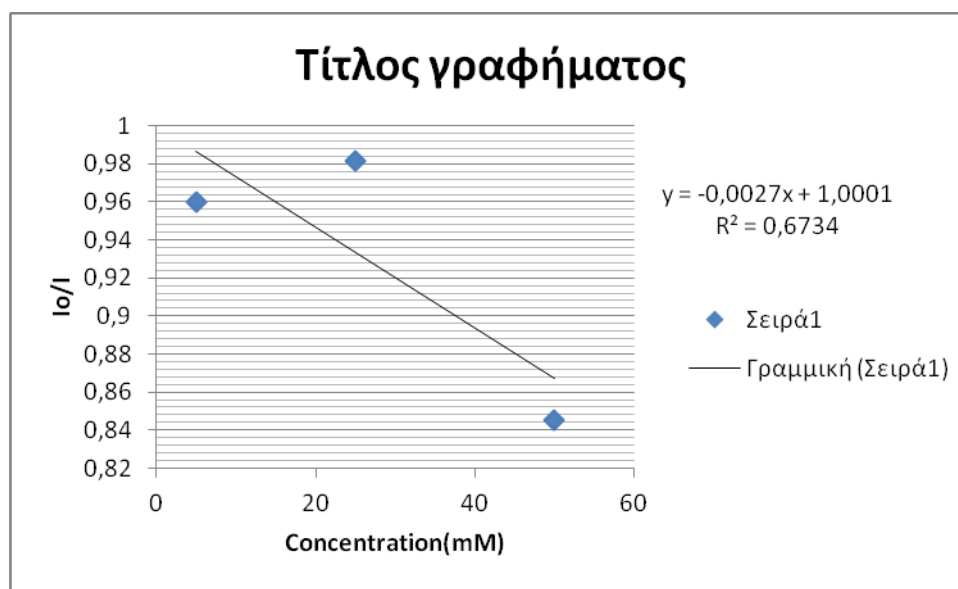
4.3.7 Serinol

Τα στοιχεία που συλλέχθηκαν για τις εντάσεις της συγκεκριμένης αμινοαλκοόλης σε pH=8 ακολουθούν στον Πίνακα 4.17. Το σκοτεινό υπόβαθρο είναι I=1,68.

Μετρήσεις	I _o	I(<u>5mM</u>)	I _o	I(<u>25mM</u>)	I _o	I(<u>50mM</u>)
1 ^η	18,54	18,54	22,12	22,6	22,19	26,22
2 ^η	18,54	18,81	22,12	22,36	22,12	26,22
3 ^η	18,54	20,59	22,12	22,64	22,19	26,22
Μέσος όρος	18,54	19,31333	22,12	22,53333	22,16667	26,22
I_o/I	<u>0,959959</u>		<u>0,981657</u>		<u>0,845411</u>	

Πίνακας 4.17 Serinol pH=8

Από τα πηλίκα των μέσων όρων των εντάσεων της ακτινοβολίας που εκπέμπεται από τις αντιδράσεις, συναρτήσκει των συγκεντρώσεων της αμινοαλκοόλης σε κάθε αντίδραση, προκύπτει το ακόλουθο διάγραμμα(Διάγραμμα 4.23).



Διάγραμμα 4.23

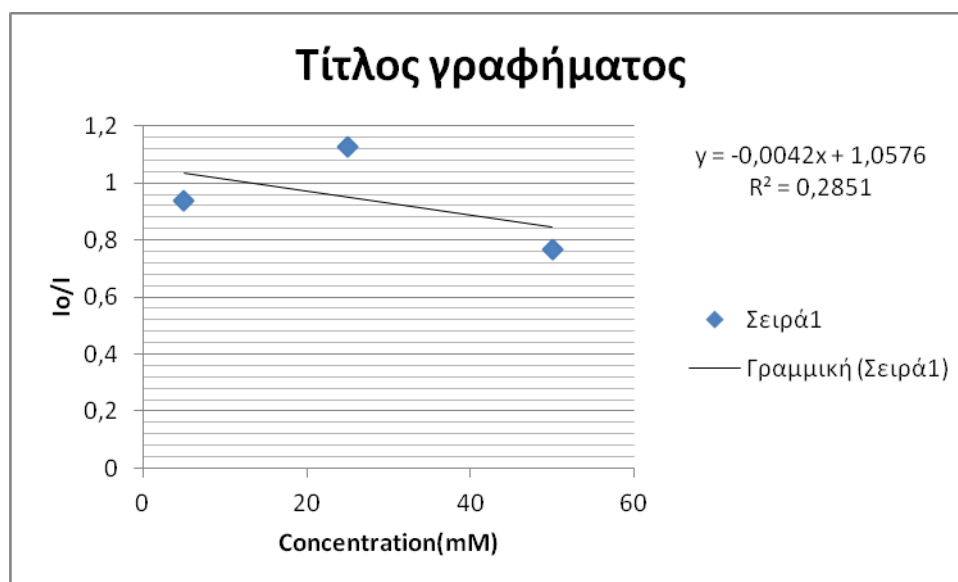
Μπορεί τα σημεία του διαγράμματος να αποκλίνουν από την ευθεία, ωστόσο η κλίση αυτής προδίδει τον προ-οξειδωτικό χαρακτήρα της αμινοαλκοόλης για pH=8.

Τα στοιχεία που συλλέχθηκαν για τις εντάσεις της συγκεκριμένης αμινοαλκοόλης σε pH=9 ακολουθούν στον Πίνακα 4.18. Το σκοτεινό υπόβαθρο είναι I=3,07.

Μετρήσεις	I_0	$I(5mM)$	I_0	$I(25mM)$	I_0	$I(50mM)$
1 ^η	338,7	373,01	356,38	413,63	216,3	287,51
2 ^η	348,67	373,52	413,69	395,87	221,44	288,86
3 ^η	356,38	364,53	413,69	254,46	225,28	287,06
4 ^η			413,69			
Μέσος όρος	347,9167	370,3533	399,3625	354,6533	221,0067	287,81
I_0/I	<u>0,939418</u>		<u>1,126064</u>		<u>0,767891</u>	

Πίνακας 4.18 Serinol pH=9

Από τα πηλικά των μέσων όρων των εντάσεων της ακτινοβολίας που εκπέμπεται από τις αντιδράσεις, συναρτήσκει των συγκεντρώσεων της αμινοαλκοόλης σε κάθε αντίδραση, προκύπτει το ακόλουθο διάγραμμα(Διάγραμμα 4.24).



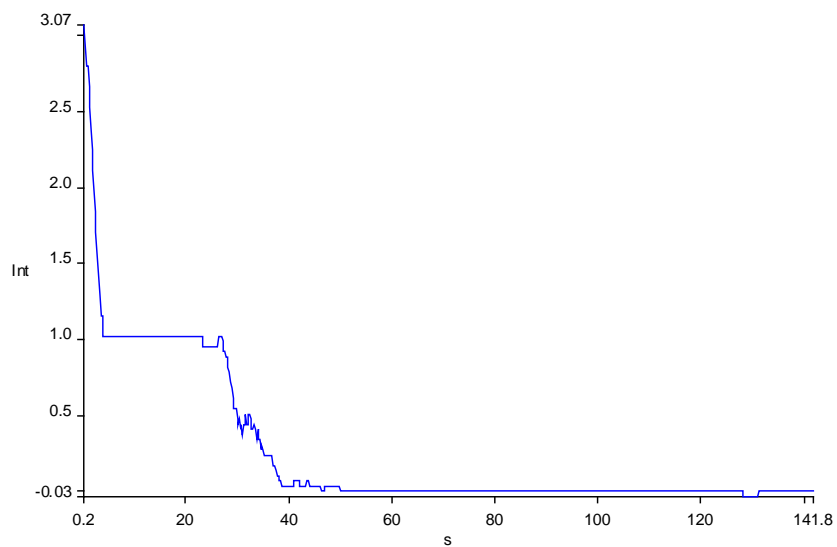
Διάγραμμα 4.24

Μπορεί οι τιμές της έντασης για το συγκεκριμένο pH να είναι πολύ υψηλές, ωστόσο η αμινοαλκόλη σε pH=9 είναι οριακά προξειδωτική με μία τάση να γίνει αντιοξειδωτική. Τέτοιες είναι οι περιπτώσεις των αμινοαλκοολών που λειτουργούν και ως αντιοξειδωτικές και ως προ-οξειδωτικές, σχηματίζοντας σχεδόν μηδενική κλίση στο διάγραμμα.

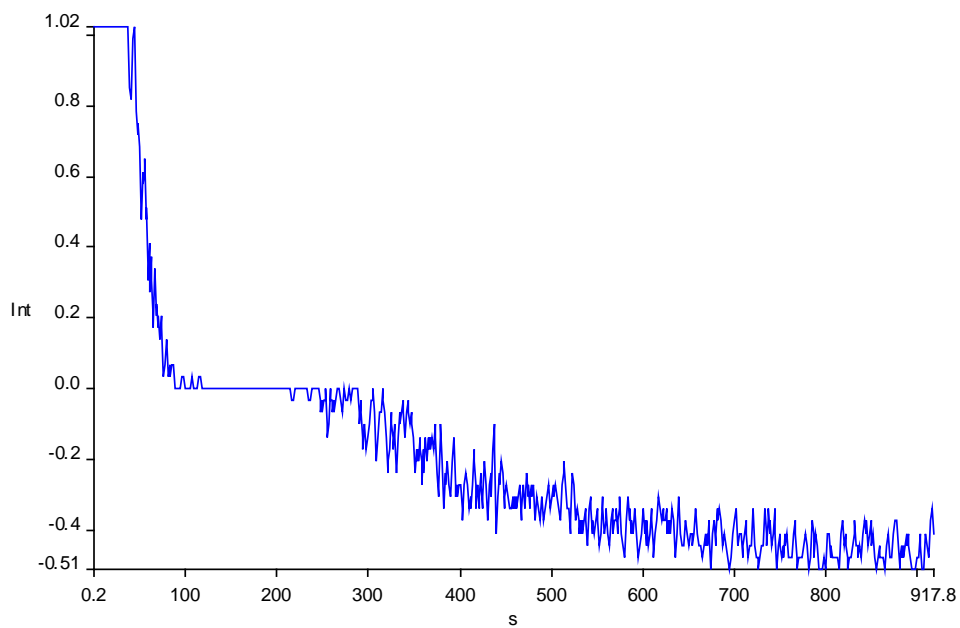
4.3.8 Λοιπές αμινοαλκοόλες

Στην παρούσα ερευνητική διαδικασία μελετήθηκε η προ-οξειδωτική δράση κι άλλων αμινοαλκοολών, οι οποίες δεν επέδειξαν κάποια ορισμένη δράση, καθώς η ταχύτητα των αντιδράσεων αυτών ήταν τόσο γρήγορη, που δεν απεικονιζόταν με σωστό τρόπο το πλατώ στο διάγραμμα.

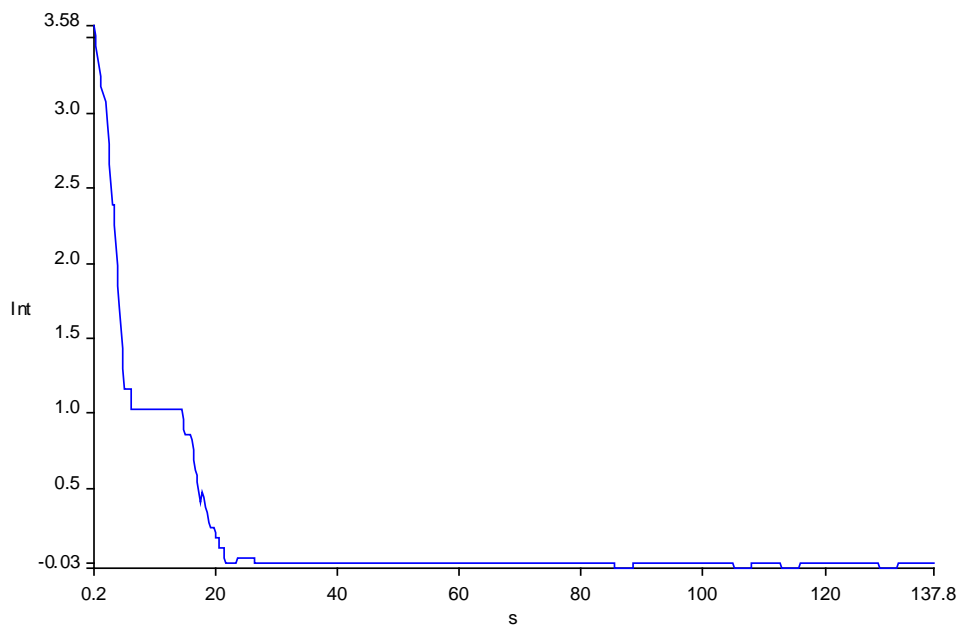
Τέτοιες αμινοαλκοόλες είναι η 2-aminophenol, 4-aminophenol και 4-(methylamino)phenol sulfate. Από την άποψη της εμφάνισης, πρέπει να τονισθεί πως και οι τρεις ενώσεις είχαν έντονο σκούρο καφέ χρώμα και δε δούλεψε καμία από αυτές σε καμία πιθανή τιμή από τις τρεις που ερευνήθηκαν. Συγκεκριμένα, ήταν τόσο γρήγορες οι αντιδράσεις που εμφανιζόταν μία ευθεία γραμμή, μην γνωρίζοντας σε ποια θέση είναι η μέγιστη τιμή της έντασης.



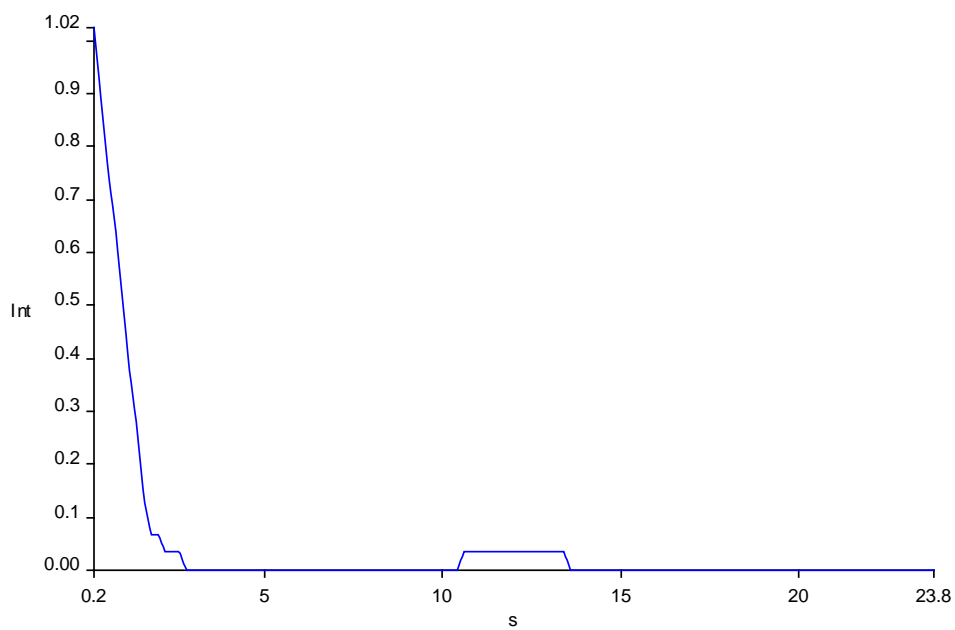
Διάγραμμα 4.24 2-aminophenol pH=9



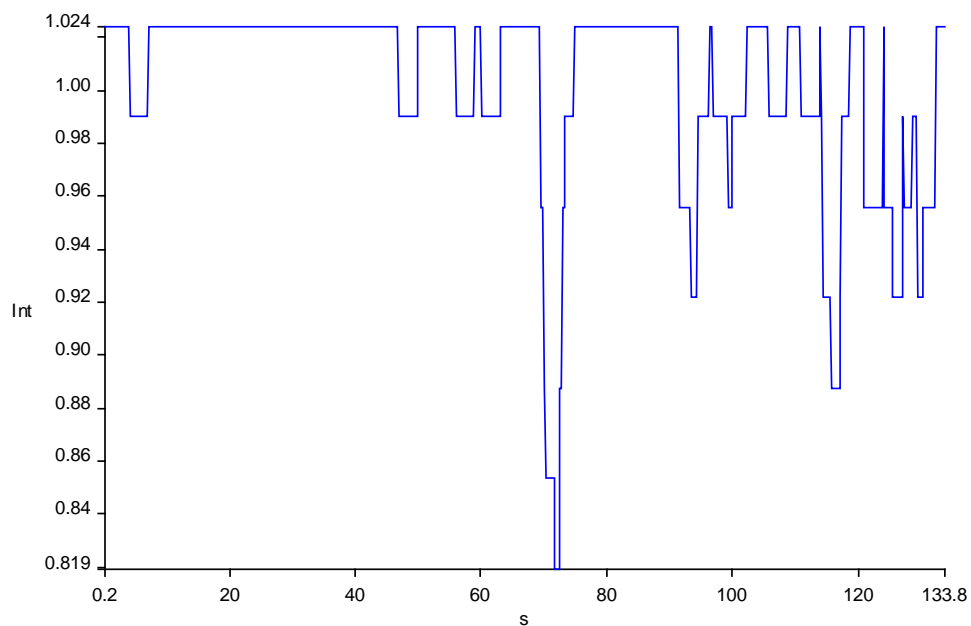
Διάγραμμα 4.25 2-aminophenol pH=8



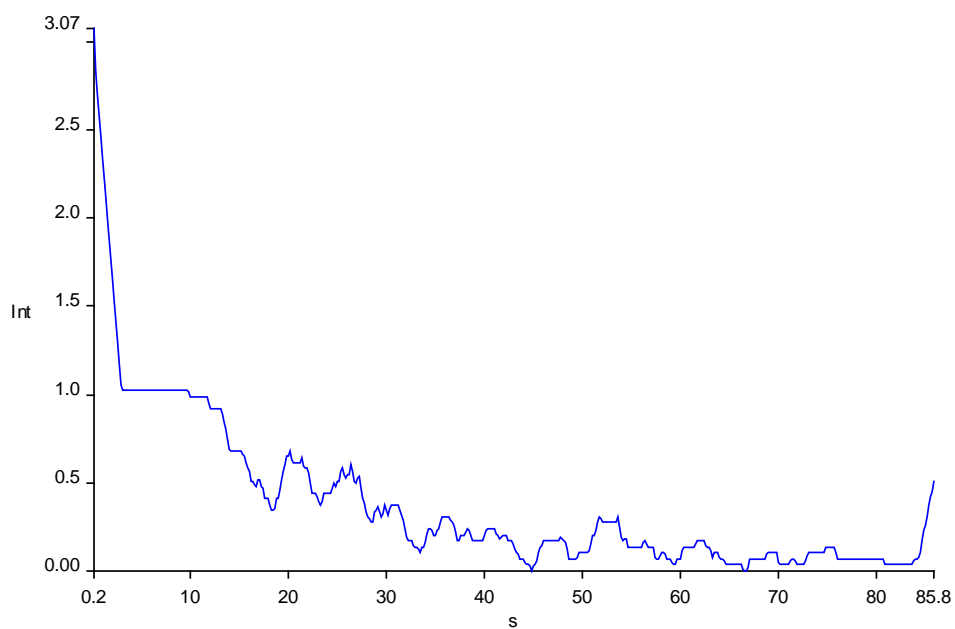
Διάγραμμα 4.26 2-aminophenol pH=10



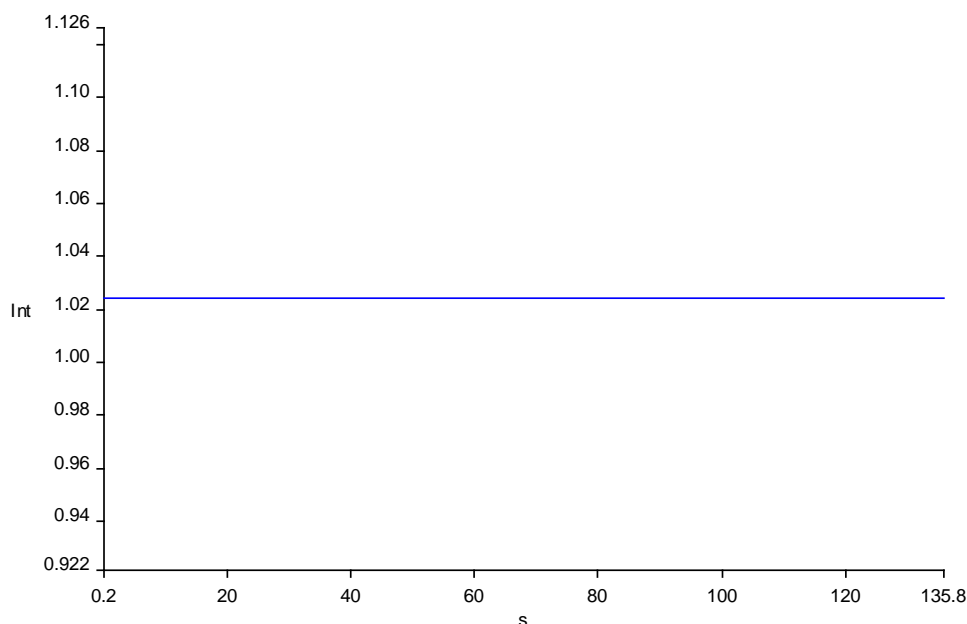
Διάγραμμα 4.27 4-aminophenol pH=9



Διάγραμμα 4.28 4-aminophenol pH=8



Διάγραμμα 4.29 4-aminophenol pH=10



Διάγραμμα 4.30 4-(methylamino)phenol sulfate pH=9

4.3.9 Συμπεράσματα

Κατόπιν ενδεδειγμένης έρευνας, για τη μελέτη της προ-οξειδωτικής δράσης των αμινοαλκοολών είμαστε σε θέση να απαντήσουμε, πως υπάρχουν προ-οξειδωτικές, αντιοξειδωτικές, αλλά και αμινοαλκοόλες που λειτουργούν ταυτόχρονα ως τα δύο παραπάνω, ανάλογα το pH του διαλύματος. Συγκεκριμένα, από όλες τις αμινοαλκοόλες που μελετήθηκαν, μόνο η 2-amino-1-phenyl-ethanol δρα ως αντιοξειδωτική αμινοαλκοόλη σε pH=10, ενώ όλες οι υπόλοιπες αμινοαλκοόλες ακολουθούν αντιδράσεις τόσο γρήγορες σε pH=10 που δεν είναι εφικτό να εντοπίσουμε το υψηλότερο σημείο/πλατώ του προκύπτοντος διαγράμματος. Ειδικότερα, η 2-amino-2-methyl-1-propanol, η serinol, η 1-amino-2-propanol και η 2-amino-3-phenyl-1-propanol είναι οι μόνες που δρουν ως αντιοξειδωτικές και σε pH=9 και σε pH=8.

Επιπροσθέτως, η 2-aminophenol, η 4-aminophenol και η 4-(methylamino)phenol sulfate είναι οι τρεις μοναδικές ενώσεις που δεν ανταποκρίθηκαν στις αντιδράσεις με τέτοιο ρυθμό ώστε να αναγνωρίζεται η ένταση της ακτινοβολίας, σε οποιοδήποτε pH και να δοκιμάστηκαν.

Η tyramine βρέθηκε ως προ-οξειδωτική αλλά μόνο σε pH=9, ενώ στις υπόλοιπες τιμές pH δεν υπήρχε ικανοποιητική ανταπόκριση. Τέλος, η ethanolamine και η 2-amino-1-phenyl-ethanol, βρέθηκαν να δρουν και ως αντιοξειδωτικές και ως προ-οξειδωτικές σε pH=9, πράγμα το οποίο ίσχυσε για την ethanolamine και για pH=8, ενώ η 2-amino-1-phenyl-ethanol σε pH=8 δρα ως αντιοξειδωτική.

Ακόμη, πρέπει να αναφερθεί ότι ο μέσος όρος της μίας αντίδρασης που πραγματοποιούνταν σε pH=8 ήταν περίπου 30-45min, ενώ σε pH=9 η αντίδραση διαρκούσε έως 5min. Επιπλέον, οι εντάσεις της ακτινοβολίας σε pH=8 ήταν πάντα πολύ μικρές σε σχέση με τις αντίστοιχες σε pH=9, πέραν ελαχίστων εξαιρέσεων. Μία ακόμη σημαντική παράμετρος είναι το μέσον της οξείδωσης, που στη συγκεκριμένη περίπτωση είναι H_2O_2 . Στην αρχή των πειραμάτων χρησιμοποιήθηκε έναντι του τελευταίου t-BuOOH, το οποίο οδηγούσε τις αντιδράσεις απότομα στον τερματισμό τους και δε διευκόλυνε τη μελέτη, για αυτό αντικαταστήθηκε από υπεροξείδιο του υδρογόνου.

Τέλος, καταλήγουμε στο συμπέρασμα πως για να μελετηθεί σωστά η προ-οξειδωτική δράση των αμινοαλκοολών, πρέπει το pH του διαλύματος να είναι 9 ώστε να έχουμε έναν ικανοποιητικό χρόνο αντίδρασης, ενώ το αν θα είναι προ-οξειδωτική ή αντιοξειδωτική μία αμινοαλκοόλη εξαρτάται τόσο από το pH, όσο και από τη δομή του μορίου της. Συνιστάται περαιτέρω έρευνα ώστε να διευκρινιστεί ο ρόλος της θέσης της υδροξυλομάδας και της αμινομάδας στο μόριο, για την οξειδωτική πορεία αυτού.

Βιβλιογραφία

1. E. N. Harvey, A History of Luminescence from the Earlier Times until 1900, Am. Philosophy. Soc., Philadelphia, 1957
2. R. Boyle, Phil. Trans. Roy. Soc., **2**, 211, 1668
3. B. Radziszewski, Bericjie Chemischen Gesellschaft, **10**, 70, 1877
4. http://www.isbc.unibo.it/Files/10_SE_BoStone.htm
5. J. M. Eder, Phot. Mitt., **24**, 1877.
6. H. Kautski, H. Zochar, Z. Phys, **9**, 267, 1922.
7. H. O. Albrecht, Z. Phys. Chem., **136**, 321, 1928.
8. K. Gleu, W. Petsch, Angew. Chem., **48**, 57, 1935.
9. J. L. Burguera, A. Townshend, Talanta, **26**, 795, 1979
10. S. Stieg, T. A. Nieman, Anal. Chem., **50**, 401, 1978.
11. J. L. Burguera, A. Townshend, Greenfield S., Anal. Chim. Acta, **114**, 209, 1980
12. <http://el.wikipedia.org/wiki/%CE%A6%CF%89%CF%84%CE%B1%CF%8D%CE%B3%CE%B5%CE%B9%CE%B1>
13. <http://el.wikipedia.org/wiki/%CE%92%CE%B9%CE%BF%CF%86%CF%89%CF%84%CE%B1%CF%8D%CE%B3%CE%B5%CE%B9%CE%B1>
14. http://el.wikipedia.org/wiki/%CE%91%CF%84%CE%BC%CE%BF%CF%83%CF%86%CE%B1%CE%B9%CF%81%CE%B9%CE%BA%CE%AE_%CF%86%CF%89%CF%84%CE%B1%CF%8D%CE%B3%CE%B5%CE%B9%CE%B1
15. <http://en.wikipedia.org/wiki/Triboluminescence>
16. http://www.chem.uoa.gr/courses/instrumental2/Spectro/7h-8h_SPECTR.pdf
17. Garcia-Campana, A. M., Baeyens, W. R.,(eds). *Chemiluminescence in Analytical Chemistry*. Marcel Dekker Inc, New York-Bassel, 2001.
18. Schulman, S.G., Schulman, J.M., and Raklcloglu, Y., in *Chemiluminescence in Analytical Chemistry*, eds Garcia-Campana, A.M., and Baeyens, W.R.G., Marcel Dekker, New York, 2001, ch. 3, pp 68-81.
19. Perez-Bendito, D., and Silva, M., in *Chemiluminescence in Analytical Chemistry*, eds Garcia-Campana, A.M., and Baeyens, W.R.G., Marcel Dekker, New York, 2001, ch. 8, pp 175-179.
20. Calokerinos, A.C., and Pallis, L.P., in *Chemiluminescence in Analytical Chemistry*, eds Garcia-Campana, A.M., and Baeyens, W.R.G., Marcel Dekker, New York, 2001, ch. 12, pp 322-341.
21. W. R. Seitz, D. M. Hercules, Anal. Chem., **44**, 2143, 1972.
22. J. L. Burguera, A. Townshend, Greenfield S., Proc. Anal. Div. Chem. Soc., **16**, 262, 1979.
23. J. Ruzicka, E. H. Hansen, Anal. Chim. Acta, **78**, 145, 1975.

24. K. M. Scudder, C. H. Pollema, J. Ruzicka, *Anal. Chem.*, **64**, 2657, 1992.
25. Ν. Πινότσης, «Χημειοφωταυγειομετρικός προσδιορισμός ινδολικών αλκαλοειδών με υπερμαγγανικό κάλιο και πολυφωσφωρικό οξύ», Διατριβή Ειδίκευσης, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα, 1998.
26. Θ. Π. Χατζηϊωάννου, «Εργαστηριακές Ασκήσεις Ποσοτικής Ανάλυσης Χημείας», Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα, 1996.
27. E. L. Whery, "Modern Fluorescence Spectroscopy", Plenum Press, NY., 1976.
28. K. Van Dyke, "Bioluminescence and Chemiluminescence, Instruments and Applications", **1**, CRC Press Inc., Florida, 1985.
29. Chasteen, T.G., The Chemiluminescence of Luminol and Bis (2, 4, 6-trichlorophenyl) Oxalate (TCPO). Internet Conference on Photochemistry and Photobiology, July 16-September 7, 1999.
30. Cunningham, C., Tipton, K. F., Dixon, H. B. F., *J. Biochem.* **330**, 939, 1998.
31. Araujo, F.B., Barbosa, D.S., Hsin, C.Y., Maranhao, R.C., Abdalla, D.S.P., *Atherosclerosis*. **117**, 61, 1995.
32. Miyazawa, I., Fujimoto, K., Suzuki, T., Yasuda, K., *Meth. Enzymol.* **34**, 324, 1994.
33. Miyazawa, I., Suzuki, T., Fujimoto, K., Yasuda, K., *J. Lipid Res.* **33**, 1051, 1992.
34. Schulman, S.G., Schulman, J.M., and Raklcloglu, Y., in *Chemiluminescence in Analytical Chemistry*, eds Garcia-Campana, A.M., and Baeyens, W.R.G., Marcel Dekker, New York, 2001, ch. 5, pp 105-110.
35. Yuan, J., Shiller, A.M., *Anal. Chem.* **71**. 1975, 1999.
36. White, E.H., Bursey, M.M., *J. Am. Chem. Soc.* **86**, 940, 1964.
37. Krol, W., Czuba, Z., Scheler, S., Gabrys, J., Grabiec, S., Shani, J., *Bio-chem Int.* **21**, 593, 1990.
38. Yasaei, P.M., Yang, G.C., Wamer, C.R., Daniels, D.H., Ku, Y., *J. Am. Oil Chem Soc.* **73**, 1177, 1996
39. Yildiz, G., Demiryürek, A. T., *J. Pharm. Tox. Meth.* **39 (3)**, 179, 1998.
40. Puntarulo, S., Galleano, M., Sanchez, R.A., Boveris, A., *Biochim. Bioph. Acta.* **1074**, 277, 1991.
41. Afanas'ev, I.B., Ostrachovitch, E.A., Abramova, N.F., Korkina, L.G., *J. Biochem Pharmacol.* **50**, 627, 1995.
42. Liss, E., Salim-Hanna, M., Pascual, C., Del Castillo, M. D., *Free Rad. Biol. Med.* **18**, 153, 1995.
43. Kondo, Y., Ohnishi, M., Kawaguchi, M., *J. Agr. Food Chem.* **47**, 1781, 1999.
44. Demiryürek, A. T., Wainwright, C. L., Wadsworth, R. M., Kane, K. A., *J. Pharmacol. Toxicol. Meth.* **32**, 35, 1994.
45. Archer, S.L., Nelson, D.P., Weir, E., *J. Appl. Physiol.* **67**, 1912, 1989.
46. Parejo, I., Codina, C., Petrakis, C., Kefalas, P, *J. Pharm. Tox. Meth.* **44**, 507, 2000.

47. Whitehead, T.P., Thrope, G.H.G., Maxwell, S.R.J., *Anal. Chim. Acta.* **28**, 277. 1992.
48. Maxwell, S.R.J., Cruickshank, A, Thrope, G., *Lancet.* **344**, 193, 1994.
49. Arnous, A., Makris, D. P., Kefalas, P., *J. Agr. Food Chem.* **49 (12)**, 5736 2001.
50. Kefalas, P., Kallithraka, S., Parejo, I., Makris, D.P., *J. Food Sci. Technol Intern.*, **383**, 2003.
51. Givens, R.S., Schowen, R. L., Birks, J. W. Ed., New York. **291**, 1989.
52. Milofsky, R.E., Birks, J.W., *JACS.* **113**, 9715, 1991.
53. Chokshi, H.P., Barbush, M., Carlson, R.G., Givens, R.S., Kuwana, T., Schowen, R. L., *Biomed. Chromatogr.* **4(3)**, 96, 1990.
54. Orosz, G., Givens, R.S., Schowen, R.L., *Crit. Rev. Anal. Chem.* **26**, 1, 1996.
55. Orosz, G., *Crit. Rev. Anal. Chem.* **45(11)**, 3493, 1989
56. Jennings, R.N., Capomacchia, A.C., *Anal. Chim. Acta.* **205**, 207, 1988.
57. Chasteen, T.G., Internet Conference on Photochemistry and Photobiology, July 16-September 7, 1999.
58. Orlovic, M., Schowen, R. L., Givens, R. S., Alvarez, F., Matuszewski, B., Parekh, N., *J. Org. Chem.* **54**, 3606, 1989.
59. Alvarez, F.J., Parekh, N.J., Matuszewski, B., Givens, R.S., Higuchi, T., Schowen, R.L., *J. Am. Chem. Soc.* **103**, 6435, 1986.
60. Kwakman, P. J. M., Brinkman, U. A., *Anal. Chim. Acta.* **266**, 175, 1992.
61. Grayeski, M.L., Weber, A.J, *Anal. Lett.* **17(13)**, 1539, 1984.
62. Sugiura, M., Kanda, S., Imai, K., *Biomed Chromatogr.* **7(3)**, 149, 1993.
63. Navas, M.J., Jimenez, A.M. *J. Agr. Food Chem.* **47**,183, 1999.
64. G. Yildiz, *British J. of Pharm.* **124**, 905, 1998.
65. E. Speroni, *Phytotherapy Research.* **12**, 598, 1998.
66. Krol, W., Czuba, Zz., Scheler, S., Gabrys, J., Grabiec, S., Shani, J. (1990). *Biochem Int.* **21**, 593, 1990.
67. http://www.ygeiaonline.gr/index.php?option=com_k2&view=item&id=6336:aminoalkooles
68. http://en.wikipedia.org/wiki/File:Sphingosine_structure.svg
69. Carter HE et al., **1947**. Aminoalcohols family and categories. *J. Biol. Chem.*, 7:170-285.
70. Reindel F., **1930**. Phytosphingosine origin and structure. *Ann Chem* , 480, 76.
71. Pruett S.T. *et al.*, 2008. Evidence for *Hox*-specified positional identities in adult vasculature.
72. <http://en.wikipedia.org/wiki/Alkanolamine>
73. http://en.wikipedia.org/wiki/Beta_blocker
74. Thomas G, Lukacs G and Ohno M, **1990**. Recent progress in the chemical synthesis of antibiotics. *Springler Verlag*, Berlin, p.468.

75. Rubinstein H. and Svendsen J.S., **1994**. Enantioselective aminohydroxylation of alkenes. *Acta Chem. Scand.*, 48: 439-444.
76. Olofsson B., **2002**. Doctoral thesis: A region and stereodivergent route to all isomers of vic-amino alcohols. Royal Institute of Technology, Department of Chemistry Organic Chemistry, Stockholm.
77. Keinicke L., Fristreep P., Norrby P.O., Madsen R., **2005**. Nonradical Zinc-Barbier reaction for diastereoselective synthesis of vicinal amino alcohols. *Am. Chem. Soc.*, 127 (45), 15756-15761.
78. Bobofchak N. and Frick E., **2000**. The synthesis of vicinal amino alcohols through a bicyclic aziridine intermediate. The John Wesley Powell Student Research Conference, Poster Presentation 5, Department of Chemistry, Illinois Wesleyan University. *Tetrahedron Letters*, 43 (2002) 557–559.
79. Rozzell J.D. **1997**. Method for the production of chiral vicinal aminoalcohol. United states patent, patent No.5,834,261, Date of patent: Nov.10,1988.
80. Guillermo N.S., Hernández-Reyes C.X., Deyanira A.B., Lomas-Romero L. and González-Zamora E., **2007**. Microwave-Enhanced Sulphated Zirconia and SZ/MCM-41 Catalyzed Regioselective Synthesis of β -Amino Alcohols Under Solvent-Free Conditions. *Molecules*, Vol.13, issue 4, P:977-985.
81. Ghosal, Shaw P. and A.K., **2010**. An efficient total synthesis of the anticancer agent (+)-spisulosine (ES-285) from Garner's aldehyde. *Tetrahedron Letters*, 27:4140–4142.
82. Chavez S.A., Martinko A.J., Lau C., Pham M.N., Cheng K., Bevan D.E., Mollnes T.E., and Yin H., **2011**. Development of β -Amino Alcohol Derivatives That Inhibit Toll-like Receptor 4 Mediated Inflammatory Response as Potential Antiseptics. *J. Med. Chem.*, 54(13), 4659–4669.
83. http://en.wikipedia.org/wiki/Toll-like_receptor
84. Fullam E., Abuhammad A., Wilson D.L., Anderton M.C., Davies S.G., Russel A.J., Sim E., **2010**. Analysis of Beta-aminoalcohols as inhibitors of the potential anti-tubercular target N-acetyltransferase. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 21(4), 1185-1190.
85. Malkov A.V., Kabeshov M.A., Bella M., Kysilka O, Malyshev D.A, luháková K. and Kovsk., **2007**. Vicinal Amino Alcohols as Organocatalysts in Asymmetric Cross-Aldol Reaction of Ketones: Application in the Synthesis of Convolutamydine. *Org. Lett.*, 9 (26), 5473–5476.
86. Chen N., Jia W., Xu. J. **2009**. A Versatile Synthesis of Various Substituted Taurines from Vicinal Amino Alcohols and Aziridines. *European Journal of Organic Chemistry*, 2009(30), 5841–5846.
87. Yang Y., Wahler D., Reymond J.L., **2003**. β -Amino Alcohol Properfumes. *Helvetica Chimica Acta*, 86(8), 2928–2936.

88. Mascher R., Fischer S., Scheiding W., Neagoe A. and Bergmann H., **2005**. Exogenous 2-aminoethanol can diminish paraquat induced oxidative stress in barley (*Hordeumvulgare* L.). *Plant growth regulation*, 45(2), 103-112.
89. Horváth I. and Hasselt P.R., **1985**. Inhibition of chilling-induced photooxidative damage to leaves of *Cucumis sativus* L. by treatment with amino alcohols. *Planta*, 164(1), 83-88.
90. Geoghegan K.F. and Stroh J.G., **1992**. Site-directed conjugation of nonpeptide groups to peptides and proteins via periodate oxidation of a 2-amino alcohol. Application to modification at N-terminal serine. *Bioconjugate Chem.*, 3(2), 138–146.
91. Chrisman W. and Singaram B., **1997**. Effect of different amine bases in the Swern oxidation of Beta-aminoalcohols. *Chem. Inform.*, 28(33), 125-137.
92. Valverde M.G., Pedrosa R. and Vicente M., **2002**. A Novel and Efficient Oxidation of 1,2-AminoAlcohols to Dialkylamides. *ThiemeSynlett*, 12: 2092-2094.
93. Gosain R., A.M.Norrish and Wood M.E., **1999**. Free radical functionalization of beta-aminoalcohols via 1.5-Hydrogen atom subtraction in 1,3-oxazolidines. *Elsevier*, 4(36), 6673-6676.
94. Lutz R.E., Jordan R.H. and Truett W.L., **1950**. Factors interfering with the Oppenauer oxidation of aminoalcohols. *J. Am. Chem. Soc.*, 72 (9), 4085-4089.
95. http://en.wikipedia.org/wiki/File:Oppenauer_oxidation_reaction_scheme.png
96. Arsu N., **2002**. Use of 2-(N-methyl-N-phenylamino)-1-phenylethanol as synergist in UV-curing applications. *Journal of Photochemistry and Photobiology. A: Chemistry*, 153: 129–133.
97. Scheers E.M. et al. 2002. Clinical review: Complications and risk factors of peripheral arterial catheters used for haemodynamic monitoring in anaesthesia and intensive care medicine. *Critical care*. 6:198-204.
98. <http://en.wikipedia.org/wiki/File:Ethanolamine-2D-skeletal-B.png>
99. Calignano, A; La Rana, G; Piomelli, D (2001). "Antinociceptive activity of the endogenous fatty acid amide, palmitylethanolamide". *European Journal of Pharmacology* 419 (2–3): 191–8.
100. <http://emedicine.medscape.com/article/812828-overview#showall>

101. Klaus Weissermel, Hans-Jürgen Arpe, Charlet R. Lindley, Stephen Hawkins (2003). "Chap. 7. Oxidation Products of Ethylene". *Industrial Organic Chemistry*. [Wiley-VCH](#). pp. 159–161. [ISBN 3-527-30578-5](#).
102. ["Ethanolamine"](#). [Occupational Safety & Health Administration](#).
103. Carrasco, F. (2009). "Ingredientes Cosméticos". *Diccionario de Ingredientes Cosméticos 4ª Ed.* [www.imagenpersonal.net](#). p. 306. [ISBN 978-84-613-4979-1](#).
104. Kishore K., Dey G.R. and Mukherjee T., **2004**. OH radical reactions with ethanalamines: formation of reducing as well as oxidizing radicals. *Res. Chem. Intermed.*, 30 (9), 837 – 845.
105. Roubal W.T., **2005**. Oxidative deterioration of flesh lipids of pacific cod (*Gadus macrocephalus*). *Journal of the American oil Chemist` society*, 44(5), 325-327.
106. Wang G., Wang T., **2010**. The role of plasmalogen in the oxidative stability of neutral lipids and phospholipids. *J. Agric. Food Chem.*, 58 (4), 2554-61.
107. <http://en.wikipedia.org/wiki/File:Phenylethanamine.png>
108. W. H. Hartung (1945). "Beta-phenethylamine derivatives." *Ind. Eng. Chem.* **37** 126-136.
109. *The Merck Index, 10th Ed.* (1983), p. 1051, Merck & Co., Rahway.
110. J. Axelrod (1966). "Methylation reactions in the formation and metabolism of catecholamines and other biogenic amines. *Pharmacol. Rev.* **18** 95-113.
111. E. E. Inwang, A. D. Mosnaim and H. C. Sabelli (1973). "Isolation and characterization of phenethylamine and phenylethanamine from human brain." *J. Neurochem.* **20** 1469-1473.
112. H. E. Shannon and C. M. Degregorio (1982). "Self-administration of the endogenous trace amines beta-phenylethylamine, N-methyl phenylethylamine and phenylethanamine in dogs." *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **222** 52-60.
113. G. A. Alles (1927). "The comparative physiological action of phenylethanamine." *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **32** 121-133.

114. W. H. Hartung and J. C. Munch (1929). "Amino alcohols. I. Phenylpropanolamine and para-tolylpropanolamine." *J. Am. Chem. Soc.* **51** 2262-2266.
115. A. Burger and E. D. Hornbacker (1952). "Reduction of acyl cyanides with lithium aluminum hydride." *J. Am. Chem. Soc.* **74** 5514.
116. M. L. Tainter (1929). "Pharmacological actions of phenylethanolamine." *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **36** 29-54.
117. J. Armstrong and R. B. Barlow (1976). "The ionization of phenolic amines, including apomorphine, dopamine and catecholamines and an assessment of zwitterion constants." *Br. J. Pharmacol.* **57** 501–516.
118. CAS # 56613-81-1
119. CAS # 2549-14-6
120. J. Axelrod (1962). "Purification and properties of phenylethanolamine-N-methyl transferase." *J. Biol. Chem.* **237** 1657-1660.
121. M. F. Rafferty , D. S. Wilson , J. A. Monn , P. Krass , R. T. Borchardt , and G. L. Grunewald (1982). "Importance of the aromatic ring in adrenergic amines. 7. Comparison of the stereoselectivity of norepinephrine N-methyltransferase for aromatics. Nonaromatic substrates and inhibitors." *J. Med. Chem.* **25** 1198–1204.
122. <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/fluka/40362?lang=en®ion=GR>
123. **Gonzalez N., Rodriguez J., Jimenez C.** Didemniserinolipids A-C, Unprecedented Serinolipids from the Tunicate Didemnum. *Journal of Organic Chemistry.* 1999, 5705-5707.
124. **Mitchell S. S., Rhodes D., Bushman F. D., Faulkner D.J.** Cyclodidemniserinol Trisulfate, a sulfated Serinolipid from the Palauan Ascidian Didemnum guttatum that Inhibits HIV-1 Integrase. *Organic Letters.* 2000, 1605-1607.
125. **Bieberich E., Kawaguchi T., Yu R.K.** N-Acylated Serinol Is a Novel Ceramide Mimic Inducing Apoptosis in Neuroblastoma Cells. *Journal of Biological Chemistry.* 2000, 177-181.

126. Andreeßen B. and Steinbüchel A., **2011**. Serinol: small molecule - big impact. Institute for Molecular Microbiology and Biotechnologies, WestfälischeWilhelms-UniversitätMünster, Corrensstraße 3, D-48149 Münster, Germany.
127. <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/190438?lang=en®ion=GR>
128. Carunchio V, Canepari S, Cardarelli E, Pietrodangelo A., **2004**. Complex formation equilibria of some aromatic beta-amino-alcohols. *Ann Chim.* 94(3), 135-46.
129. <http://en.wikipedia.org/wiki/File:2-Amino-2-methyl-1-propanol.svg>
130. <http://cosmeticsinfo.org/ingredient/aminomethyl-propanol>
131. http://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty_EN_CB0320043.htm
132. http://en.wikipedia.org/wiki/Aminomethyl_propanol
133. Wang T. and Jens K.J., **2004**. Oxidative Degradation of 2-Amino-2-Methyl-1-Propanol. Post Combustion Capture Conference, Department of GassTek, Telemark Technological R & D Institute, Porsgrunn, Norway.
134. <https://en.wikipedia.org/wiki/File:Aminopropanol.png>
135. <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/110248?lang=en®ion=GR>
136. <http://www.hbltrade.com/pid10029823/Monoisopropanolamine.htm>
137. <https://en.wikipedia.org/wiki/1-Amino-2-propanol>
138. <http://en.wikipedia.org/wiki/File:O-Aminophenol.svg>
139. Mitchell, S.C. & Waring, R.H. "Aminophenols." In Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry; 2002 Wiley-VCH, [doi:10.1002/14356007.a02_099](https://doi.org/10.1002/14356007.a02_099)
140. Reference Handbook of Fine Chemicals, Acros Organics Publishers, Fisher Scientific UK, (2007), www.acros.com
141. Grychtol, K.; Mennicke, W. "Metal-Complex Dyes." In Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry; 2002 Wiley-VCH, [doi:10.1002/14356007.a16_299](https://doi.org/10.1002/14356007.a16_299)
142. Hunger, K.; Mischke, P.; Rieper, W.; Raue, R.; Kunde, K.; Engel, A. "Azo Dyes." In Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry 2002 Wiley-VCH, [doi:10.1002/14356007.a03_245](https://doi.org/10.1002/14356007.a03_245)
143. <http://en.wikipedia.org/wiki/2-aminophenol>
144. [CRC Handbook of Chemistry and Physics](#) 65th Ed.

145. Mitchell, S.C. & Waring, R.H. "Aminophenols." In Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry; 2002 Wiley-VCH, [doi:10.1002/14356007.a02_099](https://doi.org/10.1002/14356007.a02_099)
146. Ellis, Frank (2002). *Paracetamol: a curriculum resource*. Cambridge: Royal Society of Chemistry. ISBN 0-85404-375-6.
147. Anthony S. Travis (2007). "Manufacture and uses of the anilines: A vast array of processes and products". In Zvi Rappoport. *The chemistry of Anilines Part 1*. Wiley. p. 764. ISBN 978-0-470-87171-3.
148. Elmar Friderichs, Thomas Christoph, Helmut Buschmann (2005), "Analgesics and Antipyretics", *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, Weinheim: Wiley-VCH, [doi:10.1002/14356007.a02_269.pub2](https://doi.org/10.1002/14356007.a02_269.pub2)
149. <http://en.wikipedia.org/wiki/4-aminophenol>
150. <http://en.wikipedia.org/wiki/File:Tyramine.svg>
151. [PubChem](#)
152. T. A. Smith (1977) *Phytochem.* **16** 9-18.
153. Sathyanarayana Rao TS and Vikram K. Yeragani VK (2009) [Hypertensive crisis and cheese](#). *Indian J Psychiatry.* 51(1): 65–66.
154. E. Siobhan Mitchell [Antidepressants](#), chapter in *Drugs, the Straight Facts*, edited by David J. Triggle. 2004, Chelsea House Publishers
155. Stahl SM, Felker A (2008). "[Monoamine oxidase inhibitors: a modern guide to an unrequited class of antidepressants](#)". *Cns Spectrums* **13** (10): 855–870. PMID 18955941.
156. [Tyramine-restricted Diet](#). 1998, W.B. Saunders Company.
157. Millichap, J. Gordon (Summer 2002). *Noha News*. XXVII: 3–6 <http://www.nutrition4health.org/nohanews/NNS02DietMigraineHeadaches.htm>
158. D'Andrea, G; Nordera, GP; Perini, F; Allais, G; Granella, F (May 2007). "[Biochemistry of neuromodulation in primary headaches: focus on anomalies of tyrosine metabolism](#)". *Neurological Sciences.* 28, Supplement 2: S94–S96. [doi:10.1007/s10072-007-0758-4](https://doi.org/10.1007/s10072-007-0758-4). PMID 17508188.
159. [Tyrosine metabolism - Reference pathway](#), Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG).
160. G. Barger (1909). *J. Chem. Soc.* **95**: 1123.
161. Waser, Ernst (1925). "Untersuchungen in der Phenylalanin-Reihe VI. Decarboxylierung des Tyrosins und des Leucins". *Helvetica Chimica Acta* **8**: 758. [doi:10.1002/hlca.192500801106](https://doi.org/10.1002/hlca.192500801106)
162. Buck, Johannes S. (1933). *Journal of the American Chemical Society* **55** (8): 3388. [doi:10.1021/ja01335a058](https://doi.org/10.1021/ja01335a058)
163. <http://en.wikipedia.org/wiki/Tyramine>

164. http://en.wikipedia.org/wiki/File:P-%28methylamino%29phenol_sulfate.PNG
165. Harger, Rolla N. (1919). "Preparation of Metol". *J. Am. Chem. Soc.* **41** (2): 270. doi:10.1021/ja01459a014
166. http://en.wikipedia.org/wiki/P-Methylaminophenol_sulfate
167. Dhalla N.S., Temsah R.M., Netticadan T., **2000**. Role of oxidative stress in cardiovascular diseases. *J. Hypertens*, 18: 655-673.
168. Babušíková E, Hatok J, Dobrota D, Kaplán E., **2007**. Age-related oxidative modifications of proteins and lipids in rat brain. *Neurochem.*, 32:1351-1356.
169. Ames B.N., Shigenasa M.K., Hagen T.M., **1993**. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 90: 7915-7922.
170. Mancinelli R., Barlocchi E., Palminiello S. and Saso L., **2011**. Oxidative stress and brain diseases. Biomarkers and analytical methodology. *Indian Journal of Biotechnology.*, 10: 394-403.
171. Jacob R.A., **1995**. The Integrated Antioxidant System. *Nutr. Res.*, 15(5), 755-766.
172. Miller H.E., Rigelhof F., Marquart L., Prakash A., and Kanter M. **2000**. Whole-grain products and antioxidants. *Cereal Foods World*, 45 (2), 59-63.
173. Sies, H., **1992**. Antioxidant Function of Vitamins. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 669: 7-20.
174. Middleton, E., **1984**. The flavonoids: *Trends Pharmaceut. Sci.*, 5: 335-8.
175. Duthie, G.G. and Brown, K.M., **1994**. Reducing the Risk of Cardiovascular Disease. *Functional Foods*, 2: 19-38.
176. Vaya J., Aviram M., **2001**. Nutritional antioxidants: Mechanisms of action, analyses of activities and medical applications. *Curr. Med. Chem. Immunol. Endocr. Metab. Agents*, 1:99-117
177. Schaich K.M., **1992**, Metals and lipid oxidation: contemporary issues. *Lipids*, 27:209-218.
178. Rawls H. R. and Van Santen P. J., **1970**. A possible role for singlet oxygen in the initiation of fatty acid autoxidation. *Oil Chem. Soc.*, 47(4), 121-125.
179. Schaich K. M., **1980**. Accessibility of tyrosyl residues altered by formation of the histone 2A/2B complex. *CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 13: 131-159.

180. Larkindale J. and Knight M.R., **2002**. Protection against Heat Stress-Induced Oxidative Damage in Arabidopsis Involves Calcium, Abscisic Acid, Ethylene, and Salicylic Acid. *Plant Physiology*, 128(2), 682-695.
181. Nawar W. W. and Fennema O. R., ed. **1966**, *Food Chemistry*, 2nd ed., Academic, New York, pp. 225–320.
182. Lei J., **2006**. The role of antioxidants in the hydrogen peroxide-induced opacification of sheep lens. A thesis submitted in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science (Biochemistry) at Lincoln University.
183. Cheeseman K. H. and Slater T. F., **1993**. An introduction to free radical biochemistry. *Br Med Bull.* 49(3), 481-493.
184. Sakihama Y., Cohen M.F., S.C Grace and Yamasaki H., **2002**. Plant phenolic antioxidant and prooxidant activities: phenolics-induced oxidative damage mediated by metals in plants. *Toxicology*, 177: 67–80.
185. Procházková D. et al., 2011. Flavonoids in prevention of diseases with respect to modulation of Ca-pump function. [v.4\(3\); Sep 2011](#).
186. Paolini M., Pozzetti L., Pedulli G.F., Marchesi E. and Cantelli-Forti G., **1999**. The nature of prooxidant activity of vitamin C. *Life Sciences*, 64 (23), 273-8.
187. Jomova K., Lawson M. and Gařal. **2012**. Prooxidant effect of lycopene on triglyceride oxidation. *Journal of microbiology, biotechnology and food sciences*, Vol.1 (February Special issue), P: 942-948.
188. Kontush A., Finckh B., Karten B., Kohlschutter A., and Beisiegel U., **1996**. Antioxidant and prooxidant activity of α -tocopherol in human plasma and low density lipoprotein. *Journal of Lipid Research*, 37: 1436-1448.
189. Murakami K., Haneda M. and Yoshino M., **2006**. Prooxidant action of xanthurenic acid and quinoline compounds: Role of transition metals in the generation of reactive oxygen species and enhanced formation of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in DNA. *BIOMETALS*, 19(4), 429-435.
190. Murakami K., Haneda M., Makino T. and Yoshino M., **2007**. Prooxidant action of furanone compounds: implication of reactive oxygen species in the metal-dependent strand breaks and the formation of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in DNA. *Food Chem. Toxicol.*, Jul, 45(7):1258-62.
191. Murakami K., Haneda M., Qiao S., Naruse M. and Yoshino M., **2007**. Prooxidant action of rosmarinic acid: transition metal-dependent generation of reactive oxygen species. *Toxicolln Vitro*, Jun, 21 (4):613-7.

192. Yoshino M., Haneda K., Naruse M., Htay H.H., Iwata S., Tsubouchi R. and Murakami K., **2002**. Prooxidant action of gallic acid compounds: copper-dependent strand breaks and the formation of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in DNA. *Food and Chemical Toxicology*, 45(7): 705-709.
193. Hu C., Zhang Y. and Kitts D.D., **2000**. Evaluation of antioxidant and prooxidant activities of bamboo *Phyllostachysnigra* var. Henonis leaf extract in vitro. *J Agric.Food Chem.*, 48(8), 3170-6.
194. Shackelford, R. E., Kaufmann, W. K. and Paules, R. S., **2000**. Oxidative stress and cell cycle checkpoint function. *Free Radical Biological Med*, 28(4), 1387-1404.
195. Morel, Y. and Barouki, R., **1999**. Repression of gene expression by oxidative stress. *Biochemical Journal*, 342(3), 481-496.
196. Schwartz J.L., **2012**. Prooxidants: Their Effects on Tumor Cell Growth1. *Journal of nutrition*, March 16, 1221-1227.
197. Cerutti P.A., **1985**. Prooxidant states and tumor promotion. *Science*, 227(4685), 375-381.
198. Randolph M. and Howes M.D., **2010**. Cancer Therapy: A Review with Scientific Validation for the Role of Electronically Modified Oxygen Derivatives in Oncologic Treatment Modalities. *The Internet Journal of Alternative Medicine*, 8(1), 1540-2584.

Επιπρόσθετη βιβλιογραφία:

- Γεωργίου, Κ.Α., *Ανάπτυξη νέων αυτοματοποιημένων φασματοφωτομετρικών μεθόδων ανάλυσεως με την τεχνική της εισαγωγής δείγματος σε ροή και εφαρμογές στη φαρμακευτική ανάλυση*. Διδακτορική διατριβή. Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα. 1990.
- Θέμελης, Γ., *Αυτόματες Μέθοδοι Χημικής Ανάλυσης*. Θεσσαλονίκη 2001.
- A.M. Garcia-Campana, W. R. G. Baeyens, *Chemiluminescence in Analytical Chemistry*, NY, 2001