بسم الله الرحمن الرحيم

دانشکده شیمی

گروه شیمی تجزیه

پایاننامه جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته شیمی تجزیه

عنوان

ارائه روش اسپکترفلوریمتری برای اندازه گیری DNA تیموس گوساله و سفکسیم با استفاده از پروب تربیوم-دانوفلوکساسین

اساتید راهنما

دکتر جمشید منظوری

دکتر ابوالقاسم جویبان

استاد مشاور

دکتر محمد امجدی

پژوهشگر

ناصر سلطانی

محل اجرا: مرکز تحقیقات کاربردی داروئی تبریز

پاییز ۹۰

نهال را باران باید

تا بشوید غبار نشسته بر برگهایش

و سیرابش کند از آب حیات

و آفتاب باید تا بتاباند

نیرو را

و محکم کند

شاخه های تازه روئیده را

به نام مادر

باید بوسه ای زد،

دست هایی را

که می شویند غبار خستگی روزگار را

و سیراب می کند روح تشنه را

و به نام پدر

باید بوسه ای زد،

دست هایی را

که می تابانند نیرو را

و محکم می کنند استواری پایه های زیستن را . . .

تقدیم به پدر و مادر عزیزم،

برادرم و خواهرانم

تقدیر و تشکر:

از اساتید راهنمای خود آقای دکتر جمشید منظوری لشکر و آقای دکتر ابوالقاسم جویبان که در طول اجرای این پاییان نامه نهایت همکاری را داشتند صمیمانه تشکر و قدردانی می کنم.

با تشکر از:

- آقای دکتر محمد امجدی به خاطر مشاوره های ارزشمندشان.
- آقای دکتر عبدالحسین ناصری که زحمت داوری این پایان نامه را به عهده داشتند.
- آقای دکتر کریم اسدپور مدیریت محترم قبلی گروه شیمی تجزیه و آقای دکتر محمد امجدی مدیر گروه فعلی.
- اساتید محترم گروه شیمی تجزیه و سایر اساتید دانشکده ی شیمی که از محضر علمی شان بهره بردم.
- ریاست محترم دانشکده ی شیمی و معاونین محترم آموزشی و پژوهشی.
- ریاست محترم مرکز تحقیقات کاربردی داروئی.

- **از دوستان و همکاران خود در آزمایشگاه آنالیز داروئی:**

آقایان: دکتر شایانفر، دکتر فخری، دکتر قویمی، دکتر کرمی، رمضانی، پناهی آذر، سلیمانی، سرداری، حسن زاده، فرج بخش و رضازاده.

خانمها: دکتر سلطانی، دکتر تمیزی، دکتر احمدیان، دکتر سلطانپور، دکتر زاخری، دکتر فرجامی، فاضلی، حاجی اقراری، زمانی، امینی، وحدتی، پسندی، اسدی و ایرانمنش.

- **همچنین از دوستان خود در آزمایشگاه اسپکتروسکوپی تجزیه ای:**

آقایان: حسن زاده، زاهدی، صدوری و حامد پور

خانمها: حلاج، فرزام پور، صمدی، رحیم پور، هاشم زاده، قند فروشان و جلیلی صمیمانه تقدیر و تشکر می کنم.

همچنین از همکلاسی های خودم:

آقایان: اسمعیل بیگی، افشار مقدم، نجیبی، زاهدی، رمضانی

خانمها: زهیری، باغی، پسندی،خرم، رنجدار، صائب، محمد حسین پور، رحیم پور و رحمتی تشکر و قدردانی می کنم.

نام خانوادگی دانشجو: سلطانی **نام**: ناصر

عنوان پایان نامه: ارائه روش اسپکتروفلوریمتری برای اندازه گیری DNA تیموس گوساله و سفکسیم با استفاده از پروب تربیوم-دانوفلوکساسین

استاتید راهنما: دکتر جمشید منظوری و دکتر ابوالقاسم جویبان

استاد مشاور: دکتر محمد امجدی

مقطع تحصیلی: کارشناسی ارشد **رشته**: شیمی **گرایش**: تجزیه **دانشگاه**: تبریز

دانشکده: شیمی **تاریخ فارغ التحصیلی: آذر ۹۰** **تعداد صفحه: ۹۶**

کلید واژه ها: لومینسانس حساس شده تربیوم، دانوفلوکساسین، DNA تیموس گوساله، سفکسیم

چکیده

کمپلکس‌های لانتانیدی (مخصوصاً کمپلکس‌های تربیوم و اروپیوم) به علت داشتن خواص ویژه از جمله جابجایی استوکس زیاد، زمان زوال طولانی، حساسیت بالا، دقت خوب، پایداری خوب و گزینش پذیری نسبی می توانند برای اندازه‌گیری ترکیبات آلی، داروها، اسیدهای نوکلئیک، پروتئین‌ها و آثار یون‌های خاک نادر در محیط‌های پیچیده‌ی بیولوژیکی مورد استفاده قرار گیرند. در این روش لیگاند کمپلکس شده به لانتانید باعث انتقال مؤثر انرژی به تراز برانگیخته‌ی یون لانتانید می‌شود و فلوئورسانس آن را تشدید می‌کند. در روش مستقیم آنالیت به عنوان لیگاند عمل می کند که شدت فلوئورسانس متناسب با غلظت آن است. در روش غیر مستقیم شدت فلورسانس کمپلکس لانتانیدی(پروب) با افزایش غلظت آنالیت افزایش یا کاهش می‌یابد که میزان فلوئورسانس افزایش یافته یا کاهش یافته متناسب با غلظت آنالیت است.

در این کار یک روش اسپکتروفلوریمتری جدید برای اندازه‌گیری DNA تیموس گوساله (ctDNA) و داروی سفکسیم با استفاده از تربیوم-دانوفلوکساسین به عنوان پروب فلوئورسانس ارائه شده است. آزمایش‌ها نشان دادند که در حضور ctDNA شدت فلوئورسانس پروب تربیوم-دانوفلوکساسین افزایش می‌یابد (enhancement) و در حضور سفکسیم شدت فلوئورسانس پروب کاهش می‌یابد (quenching). میزان فلوئورسانس افزایش یافته یا کاهش یافته در طول موج تحریک ۳٤۷ nm و طول موج نشر ٥٤٥ nm متناسب با غلظت ctDNA و سفکسیم است. تأثیر pH، غلظت بافر، غلظت تربیوم، غلظت دانوفلوکساسین، دما، ترتیب افزایش معرف‌ها، زمان، اثر بعضی حلال آلی و سوفکتانت‌های مختلف بررسی شد و تحت شرایط بهینه، محدوده‌ی خطی و حد تشخیص به ترتیب ppb ۳۲۸۹-۳٦ و ppb ۸ برای ctDNA بدست آمد. از این روش برای اندازه‌گیری DNA در نمونه ی استاندارد، سرم انسانی و نمونه‌ی استخراج شده از باکتری اشرشیاکولای استفاده شد . همچنین تحت شرایط بهینه محدوده ی خطی و حد تشخیص به ترتیب ppb ٤۰۰-٤۰ و ppb ۱۳ برای اندازه‌گیری سفکسیم بدست آمد. از روش پیشنهاد شده برای اندازه‌گیری سفکسیم در فرمولاسیون دارویی و سرم انسانی استفاده شد.

فهرست مطالب

عنوان صفحه

۱ فصل اول ۱

۱-۱ مقدمه ۲

۱-۲ فوتولومینسانس حساس شده ۴

۱-۳ خواص یون های لانتانید ۶

۱-۴ خواص یون های Tb^{3+} و Eu^{3+} ۸

۱-۵ انتقال انرژی ۱۰

۱-۵-۱ انتقال انرژی درون مولکولی ۱۰

۱-۵-۲ انتقال انرژی بین مولکولی ۱۱

۱-۶ شرایط لازم برای نشر حساس شده ی لانتانید ۱۱

۱-۷ عوامل مؤثر بر کارایی انتقال انرژی درون مولکولی ۱۱

۱-۸ کاربرد روش های فلوئورسانس حساس شده ی لانتانید ها ۱۲

۱-۸-۱ روش های مستقیم ۱۲

۱-۸-۲ روش های غیر مستقیم ۱۳

۱-۹ دئوکسی ریبونوکلوئیک اسید (DNA) ۱۴

۱-۹-۱ کشف DNA ۱۵

۱-۹-۲ روش های اندازه گیری DNA ۱۸

۱-۱۰ سفکسیم ۲۱

- فصل دوم ۲۴

۲-۱ مواد و محلول های مورد نیاز ۲۵

۲-۱-۱ تهیه ی محلول تربیوم (III)کلرید شش آبه ۲۸

۲-۱-۲ تهیه ی محلول مادر دانوفلوکساسین ۲۹

فهرست مطالب

عنوان صفحه

۲-۱-۳ محلول سدیم کلرید (NaCl) ۲۹

۲-۱-۴ محلول ctDNA ۲۹

۲-۱-۵ محلول تریس-(هیدروکسی متیل) آمینو متان ۲۹

۲-۱-۶ محلول Lactose Broth ۳۰

۲-۱-۷ محلول Lactose Broth-Agar ۳۰

۲-۱-۸ بافر Tris-EDTA ۳۰

۲-۱-۹ محلول SDS (۱۰٪) ۳۱

۲-۱-۱۰ محلول Lysis Buffer ۳۱

۲-۱-۱۱ محلول T.A.E (Tris-Acetic Acid-EDTA) ۳۱

۲-۱-۱۲ محلول ژل آگارز ۳۱

۲-۱-۱۳ تهیه ی محلول مادر سفکسیم ۳۲

۲-۲ تهیه ی محلول فرمولاسیون سفکسیم ۳۲

۲-۳ دستگاه ها ۳۲

۲-۳-۱ دستگاه اسپکتروفلوریمتر ۳۲

۲-۳-۲ دستگاه اسپکتروفتومتر ۳۳

۲-۳-۳ دستگاه pH متر ۳۳

۲-۳-۴ ترازوی تجزیه ای ۳۳

۲-۳-۵ دستگاه ورتکس ۳۴

۲-۳-۶ سانتریفوژ ۳۴

۲-۳-۷ ژل الکتروفورز ۳۴

۲-۳-۸ سایر دستگاهها ۳۴

فهرست مطالب

عنوان صفحه

۲-۴ توضیح روش پیشنهادی برای اندازه گیری ctDAN و سفکسیم ۳۵

۲-۴-۱ تهیه ی منحنی کالیبراسیون برای اندازه گیری ctDNA ۳۵

۲-۴-۲ تهیه ی منحنی کالیبراسیون برای اندازه گیری سفکسیم ۳۵

۲-۵ اندازه گیری DNA در نمونه ی استخراج شده ۳۶

۲-۵-۱ پروسه ی استخراج DNA ۳۶

۲-۵-۲ انجام ژل الکتروفورز ۳۹

۲-۵-۳ اندازه گیری DNA در سرم انسانی ۴۱

۲-۶ اندازه گیری سفکسیم ۴۲

۲-۶-۱ اندازه گیری سفکسیم در فرمولاسیون دارویی ۴۲

۲-۶-۲ اندازه گیری سفکسیم در سرم ۴۳

فصل سوم ۴۴

نتایج و بحث ۴۴

۳-۱ اندازه گیری DNA ۴۵

۳-۱-۱ ویژگی های کمپلکس تربیوم-دانوفلوکساسین (Tb^{3+}-Danofloxacin) ۴۵

۳-۱-۲ عواملی که فلوئورسانس سیستم را تحت تأثیر قرار می دهند ۴۷

۳-۱-۲-۱ بررسی اثر pH و غلظت بافر ۴۷

۳-۱-۲-۲ بررسی تأثیر غلظت تربیوم ۴۹

۳-۱-۲-۳ بررسی تأثیر غلظت دانوفلوکساسین ۵۰

۳-۱-۲-۴ بررسی اثر دما ۵۰

۳-۱-۲-۵ بررسی تأثیر زمان واکنش ۵۱

۳-۱-۲-۶ اثر ترتیب افزایش معرف ها ۵۲

۳-۱-۲-۷ تأثیر حلال های آلی بر روی شدت فلوئورسانس افزایش یافته ۵۳

۳-۱-۲-۸ بررسی اثر سورفکتانت ها ۵۴

فهرست مطالب

عنوان صفحه

۳-۱-۲-۹ جمع بندی شرایط بهینه شده ۵۵

۳-۱-۳ بررسی مزاحمت ها ۵۵

۳-۱-۴ ویژگی های تجزیه ای روش ۵۷

۳-۱-۴-۱ منحنی کالیبراسیون ۵۷

۳-۱-۴-۲ محاسبه ی حد تشخیص روش (LOD) و حد تعیین مقدار (LOQ) ۵۸

۳-۱-۴-۳بررسی دقت روش ۵۹

۳-۱-۵ اندازه گیری ctDNA در نمونه ی بیولوژیکی سرم ۶۲

۳-۱-۵-۱ رسم منحنی کالیبراسیون برای اندازه گیری ctDNA در سرم ۶۲

۳-۱-۶ اندازه گیری DNA در نمونه ی استخراج شده ۶۴

۳-۱-۶-۱ تعیین غلظت DNA استخراج شده ۶۵

۳-۱-۶-۲ اندازه گیری غلظت DNA ی استخراج شده توسط روش فلوریمتری ارائه شده ۶۶

۳-۲ اندازه گیری سفکسیم ۶۹

۳-۲-۱ ویژگی های کمپلکس تربیوم-دانوفلوکساسین (Tb^{3+}-Danofloxacin) ۶۹

۳-۲-۲ عواملی که شدت فلوئورسانس را تحت تأثیر قرار می دهند ۷۰

۳-۲-۲-۱بررسی اثر pH و غلظت بافر ۷۱

۳-۲-۲-۲ بهینه سازی غلظت دانوفلوکساسین ۷۳

۳-۲-۲-۳ بهینه سازی غلظت تربیوم ۷۴

۳-۲-۲-۴ بررسی اثر دما ۷۴

۳-۲-۲-۵ بررسی اثر زمان بر شدت فلوئورسانس کاهش یافته ۷۵

۳-۲-۲-۶ بررسی اثر ترتیب افزایش معرف ها ۷۶

۳-۲-۲-۷ تأثیر حلال های آلی روی شدت فلوئورسانس خاموش شده ۷۷

۳-۲-۲-۸ بررسی اثر سورفکتانت ها ۷۸

۳-۲-۲-۹ جمع بندی شرایط بهینه شده ۷۹

۳-۲-۳ بررسی مزاحمت ها ۷۹

فهرست مطالب

عنوان صفحه

۳-۲-۴ – ویژگی های تجزیه ای روش ۸۱

۳-۲-۴-۱ منحنی کالیبراسیون ۸۱

۳-۲-۴-۲ محاسبه ی حد تشخیص روش (LOD) و حد تعیین مقدار (LOQ) ۸۲

۳-۲-۴-۳ بررسی دقت روش ۸۳

۳-۲-۵ اندازه گیری سفکسیم ۸۴

۳-۲-۵-۱ اندازه گیری سفکسیم در فرمولاسیون های دارویی ۸۴

۳-۲-۵-۲ اندازه گیری سفکسیم در سرم انسانی ۸۶

۳-۲-۵-۲-۱ منحنی کالیبراسیون در سرم انسانی ۸۶

۳-۲-۵-۲-۲ محاسبه ی حد تشخیص و حد تعیین مقدار برای اندازه گیری سفکسیم در سرم ۸۷

۳-۲-۵-۲-۳ - بررسی دقت و صحت روش ۸۸

۳-۲-۶ نتیجه گیری ۹۰

۳-۲-۷ پیشنهادات برای کارهای بعدی ۹۱

۴ منابع ۹۲

فهرست شکل ها

عنوان صفحه

شکل ۱-۱: مکانیزم انتقال انرژی در روش لومینسانس حساس شده ی تربیوم ۶

شکل ۱-۲: ساختار بازهای پورینی و پیریمیدینی ۱۶

شکل ۱-۳: ساختار مارپیچ DNA..... ۱۷

شکل ۱-۴:ساختار سفکسیم ۲۱

شکل ۲-۱: نمونه ی عکس برداری شده از ژل الکتروفورز ۴۱

شکل ۳-۱: طیف های تحریک (A) و نشری (B) فلوئورسانس Tb^{3+} (۱)، Tb^{3+}-ctDNA (۲)، Tb^{3+}-Dano (۳)، Tb^{3+}-Dano- ctDNA (۴)و(۵) ۴۶

شکل ۳-۲: بررسی اثر pH روی میزان شدت فلوئورسانس افزایش یافته سیستم Tb^{3+}-Danofloxacin..... ۴۸

شکل ۳-۳: بررسی اثر غلظت بافر بر روی میزان شدت فلوئورسانس افزایش یافته ی پروب ۴۸

شکل ۳-۴: منحنی تأثیر تربیوم بر روی میزان فلوئورسانس افزایش یافته ی پروب ۴۹

شکل ۳-۵: اثر غلظت دانوفلوکساسین بر روی میزان شدت فلوئورسانس افزایش یافته ی پروب ۵۰

شکل ۳-۶: منحنی شدت فلوئورسانس افزایش یافته بر حسب دما ۵۱

شکل ۳-۷: منحنی شدت فلوئورسانس افزایش یافته بر حسب دما ۵۲

شکل ۳-۸: تأثیر نسبتهای حجمی مختلف حلال های آلی روی شدت فلوئورسانس افزایش یافته ی Tb^{3+}-Dano- ctDNA ۵۴

شکل ۳-۹: منحنی کالیبراسیون برای محلول استاندارد..... ۵۷

شکل ۳-۱۰: منحنی کالیبراسیون در محیط سرم..... ۶۳

شکل ۳-۱۱: طیف های تحریک (A) و نشری (B) فلوئورسانس Tb^{3+} (۱)، Cfx (۲)، Tb^{3+}-Cfx (۳)،..... ۷۰

شکل ۳-۱۲: منحنی شدت فلوئورسانس کاهش یافته بر حسب pH..... ۷۲

شکل ۳-۱۳: منحنی شدت فلوئورسانس کاهش یافته بر حسب غلظت بافر..... ۷۲

شکل ۳-۱۴: منحنی اثر غلظت دانوفلوکساسین بر روی شدت فلوئورسانس کاهش یافته..... ۷۳

شکل ۳-۱۵: بررسی اثر غلظت تربیوم در میزان فلوئورسانس کاهش یافته ی پروب..... ۷۴

فهرست شکل ها

عنوان صفحه

شکل ۳-۱۶: بررسی اثر دما بر روی شدت فلوئورسانس کاهش یافته ۷۵

شکل ۳-۱۷: منحنی شدت فلوئورسانس کاهش یافته بر حسب زمان ۷۶

شکل ۳-۱۸: تأثیر نسبت های حجمی مختلف حلال های آلی روی شدت فلوئورسانس خاموش شده ی Tb^{3+}-Dano-CFX ۷۸

شکل ۳-۱۹: منحنی کالیبراسیون برای محلول استاندارد ۸۱

شکل ۳-۲۰:منحنی کالیبراسیون در محیط سرم ۸۶

فهرست جدول ها

عنوان

صفحه

جدول ۲-۱: مشخصات فنی دستگاه اسپکتروفلوریمتر ۳۳

جدول ۳-۱: بررسی اثر ترتیب افزایش معرف ها روی شدت فلوئورسانس ۵۳

جدول ۳-۲: بررسی اثر مزاحمت ها ی برخی مواد در شدت فلوئورسانس در اندازه گیری ctDNA ۵۶

جدول ۳-۳: پارامتر های تجزیه ای روش برای اندازه گیری ctDNA ۵۸

جدول ۳-۴: نتایج حاصل از اندازه گیری پنج محلول بلانک (شاهد) ۵۹

جدول ۳-۵: نتایج حاصل از اندازه گیری سه محلول با غلظت های مختلف از ctDNA ۶۰

جدول ۳-۶: نتایج حاصل از اندازه گیری سه محلول با غلظت های مختلف در سه روز ۶۱

جدول ۳-۷: پارامترهای تجزیه ای برای اندازه گیری ctDNA درسرم ۶۳

جدول ۳-۸: نتایج حاصل از سه بار اندازه گیری ctDNA در سرم ۶۴

جدول ۳-۹: نتایج حاصل از اندازه گیری جذب محلول DNA استخراج شده، توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر ۶۶

جدول ۳-۱۰:نتایج بدست آمده از اندازه گیری نمونه ی استخراج شده ی DNA ۶۷

جدول ۳-۱۱: نتایج حاصل از اندازه گیری جذب محلول DNA استخراج شده، توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر ۶۸

جدول ۳-۱۲: نتایج بدست آمده از اندازه گیری نمونه ی حقیقی DNA ۶۸

جدول ۳-۱۳: بررسی اثر ترتیب افزایش معرف ها روی شدت فلوئورسانس ۷۷

جدول ۳-۱۴: حد مزاحمت گونه های مزاحم مختلف در اندازه گیری ppm ۰/۵ سفکسیم توسط خاموش سازی فلوئورسانس سیستم Tb^{3+}-Dano-Cfx ۸۰

جدول ۳-۱۵:پارامترهای تجزیه ای ۸۲

جدول ۳-۱۶ نتایج حاصل از اندازه گیری پنج محلول شاهد ۸۲

جدول ۳-۱۷: نتایج حاصل از اندازه گیری ۶ محلول استاندارد حاوی ppb ۲۰۰ سفکسیم در شرایط بهینه ۸۳

جدول ۳-۱۸نتایج حاصل ازپنج بار اندازه گیری نمونه ی فرمولاسیون داروی سفکسیم ۸۴

جدول ۳-۱۹: نتایج حاصل از اندازه گیری سه غلظت مختلف از نمونه ی استاندارد در حضور مقدار ثابت از نمونه ی

فهرست جدول ها

عنوان

صفحه

فرمولاسیون ۸۵

جدول ۳-۲۰:پارامتر های تجزیه ای ۸۷

جدول ۳-۲۱نتایج حاصل از اندازه گیری شدت فلوئورسانس پنج شاهد ۸۷

جدول ۳-۲۲: نتایج حاصل از اندازه گیری پنج محلول حاوی ppb ۱۰۰ سفکسیم در شرایط بهینه ۸۸

جدول ۳-۲۳نتایج حاصل از اندازه گیری سه غلظت مختلف از سفکسیم ۸۹

فصل اول

مقدمه و بررسی منابع

۱-۱ مقدمه

لومینسانس نشر نور از یک ماده است و از حالت‌های تحریک شده الکترونی رخ می دهد. لومینسانس بر اساس نوع منبع تحریک کننده به گروه‌های مختلفی تقسیم می‌شوند از جمله می‌توان به: کمی لومینسانس، بیولومینسانس، الکترولومینسانس، ترمولومینسانس و فوتولومینسانس اشاره کرد. فوتولومینسانس خود به دو دسته تقسیم می‌شود : فلوئورسانس و فسفرسانس.

فلوئورسانس نشر نور از حالت تحریک شده‌ی یکتایی است که در آن جهت گیری اسپین الکترون در اوربیتال تحریک شده و اوربیتال حالت پایه متفاوت است. بنابراین برگشت به حالت پایه از نظر اسپینی مجاز است و نشر فوتون سریعاً اتفاق می‌افتد. سرعت نشر فلوئورسانس معمولاً $۱۰^{-۸}$ ثانیه است بطوری که عمر معمول فلوئورسانس نزدیک ۱۰ns است. عمر یک فلوئوروفر (T)، متوسط زمان بین تحریک و برگشت آن به حالت پایه می باشد. عمر بسیاری از فلوئوروفر ها زیر نانو ثانیه می‌باشد[۱].

فسفرسانس نشر نور از حالت تحریک شده سه تایی است که در آن جهت گیری اسپین الکترون در اوربیتال تحریک شده و اوربیتال حالت پایه یکسان است. در این حالت انتقال به حالت پایه از نظر اسپینی ممنوع است و در نتیجه سرعت نشر پایین است. بطوریکه عمر معمول فسفرسانس از میلی ثانیه تا ثانیه بوده و نیمه عمرهای طولانی‌تر نیز ممکن است[۱].

فلوئورسانس نوعاً از مولکول‌های آروماتیک رخ می‌دهد و از هیدروکربن‌های سیر شده دیده نمی‌شود. با افزایش تعداد حلقه‌های آروماتیک و میزان مزدوج شدن، شدت فلوئورسانس بیشتر می‌شود و عموماً جابجایی باتوکرومیک رخ می‌دهد (طول موج فلوئورسانس بیشتر می شود) و لومینسانس مولکول‌های

مسطح و صلب (چون بر همکنش با حلال کمتر می‌شود و مزدوج شدن سیستم را بیشتر می کند) شدیدتر است. در ضمن بعضی از لیگاندها در اثر کمپلکس شدن با بعضی فلزات فلوئورسانس‌شان تشدید می‌شود. اما بعضی از کاتیون‌های خاک‌های نادر مثل تربیوم و اوروپیوم و چند تای دیگر هم از خود فلوئورسانس نشان می‌دهند. فلوئورسانس یون‌های تربیوم و یوروپیوم از انتقال‌های الکترونی بین اوربیتال‌های f حاصل می شود. این اوربیتال‌ها به وسیله اوربیتال‌های پر شده‌ی بالاتر، از حلال، محافظت می شوند (یعنی حلال زیاد روی آن ها اثر نمی کند) [۱].

روش‌های فوتولومینسانس، امروزه بطور وسیع برای بدست آوردن اطلاعات تجزیه‌ای از ترکیبات آلی بکار می‌روند که دلیل کاربرد زیاد این روش ها، سهولت کاربرد، حد تشخیص پایین و گزینش پذیری آنها است. در کنار این مزایا ، این تکنیک‌ها مشکلاتی مثل همپوشانی طیفی، پراکندگی نور، عوامل خاموش کننده و سیگنال زمینه دارند که گزینش پذیری روش را تحت تأثیر قرار می‌دهند. برای بهبود گزینش پذیری، راه کارهای مختلفی ارائه شده است، یکی از این راه کارها، استفاده از یون‌های لانتانید بعنوان واکنشگر می باشد. این یون‌ها در محلول، کمپلکس‌هایی با خواص لومینسانس ویژه تشکیل می‌دهند که در نتیجه‌ی انتقال انرژی از حالت سه‌تایی لیگاند به سطح نشرکننده‌ی یون لانتانید می باشد[۲].

در این راستا یون‌های لانتانید از جمله Tb^{3+} و Eu^{3+} به علت دارا بودن خصوصیات نشری (لومینسانس) ویژه بسیار مورد توجه قرار گرفته اند. از طرف دیگرعواملی (مثل فلزات سنگین) باعث افزایش سرعت عبور بین سیستمی می شوند که نتیجه‌ی آن، انتقال انرژی بطور مؤثر از حالت سه‌تایی تحریک شده‌ی لیگاند (کروموفر) به لایه‌ی الکترونی نشر کننده‌ی فلز لانتانید است که در نهایت باعث افزایش شدت فلوئورسانس یون لانتانید می‌شود. از انواع کروموفرها می‌توان هیدروکربن‌های آروماتیک، پورفیرین‌ها و

پلی انها را نام برد[۲].

۱-۲ فوتولومینسانس حساس شده

برخی یون‌های لانتانیدی خواص لومینسانس از خود نشـان مـی‌دهنـد کـه Tb^{3+} و Eu^{3+} از آن جملـه هستند ولی به دلیل ضریب جذب مولی پایین و بهره‌ی کوانتومی ضعیف، شدت لومینسانس آنها پایین اسـت. اما برای کاربرد این یون‌ها در سطوح تجزیه‌ای از عوامل شلاته کننده قوی می‌توان برای افزایش مـؤثر شـدت و بهره کوانتومی لومینسانس این یون‌ها استفاده کرد. چون یونهای Tb^{3+} و Eu^{3+} به خوبی نمی‌تواننـد انـرژی الکترومغناطیسی را جذب کنند و برانگیخته شوند، بنابراین لومینسانس حاصل از آنها نیز ضعیف خواهد بـود. اگر یونهای Tb^{3+} و Eu^{3+} بتوانند با یک لیگاند مناسب (که اصطلاحاً آنتن نامیـده مـی‌شـود) کمـپلکس قـوی ایجاد کند، انتقال انرژی به حالت برانگیخته Tb^{3+} و Eu^{3+} سریعتر و بهتر انجام خواهـد گرفـت و بـه تبـع آن نشر حاصل از آن نیز شدیدتر خواهد بود و شدت لومینسانس آن افزایش می‌یابد. زمانی که حالت سـه تـایی لیگاند تحریک شده با سطح الکترونی تحریک شده‌ی یون لانتانید همپوشانی مـی‌کنـد، انـرژی جـذب شـده توسط لیگاند با استفاده از فرآیند انتقال درون مولکولی به یون لانتانید منتقل می‌شـود. بنـابراین، ایـن فرآینـد خیلی مؤثرتر از جذب مستقیم انرژی، توسط یون لانتانید می باشد. مکانیسم حساس سـازی بـه ایـن شـکل است که ابتدا لیگاند کمپلکس شده با لانتانید تابش الکترومغناطیسی را جذب می کند و به حالـت برانگیختـه می‌رود. در این مرحله چند احتمال وجود دارد، لیگاند می‌تواند انرژی خود را به یون لانتانید بدهـد (انتقـال انرژی یکتایی)، یا می‌تواند به حالت سه تایی برانگیخته از طریق عبور بین سیسـتمی (isc) انتقـال یابـد و یـا می‌تواند به حالت پایه‌ی خود برگشته و فلوئورسانس نشر کند و یا توسط فرایندهای غیر تابشـی بـه حالـت پایه برگردد. فرض می‌کنیم مولکول لیگاند پس از جذب انرژی و برانگیخته شدن عبور بـین سیسـتمی انجـام