

PRINCÍPY A VYUŽITIE SYNCHRÓNNEJ FLUORESCENCIE PRI ANALÝZE MNOHOZLOŽKOVÝCH VZORIEK

JANA TÓTHOVÁ a JANA SÁDECKÁ

Ústav analytickej chémie, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie STU, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovenská republika
 jana.sadecka@stuba.sk

Došlo 29.1.09, prepracované 14.9.09, prijaté 29.10.09.

Kľúčové slová: synchronná fluorescencia, mnohozložkové vzorky, environmentálna analýza, klinická analýza, potravinárska analýza

Obsah

1. Úvod
2. Synchronná fluorescencia
 - 2.1. Synchronná fluorescencia s konštantným rozdielom vlnových dĺžok (CWSF)
 - 2.2. Synchronná fluorescencia s konštantným rozdielom energií (CESF)
 - 2.3. Synchronná fluorescencia s meniteľným uhlom (VASF)
3. Analytické využitie synchronnej fluorescencie
 - 3.1. Súdne analýzy
 - 3.2. Environmentálne analýzy
 - 3.3. Klinické a farmaceutické analýzy
 - 3.4. Potravinárske analýzy
4. Záver

1. Úvod

Na analýzu mnohozložkových vzoriek sa využívajú rôzne analytické metódy, pričom stále väčší význam získavajú spektrálne metódy umožňujúce jednoduchú, rýchlu a cenovo dostupnú analýzu. Hlavnou nevýhodou spektrálnych metód je ich nízka selektivita, ktorej dôsledkom je nutnosť extrahovať z nameraných spektier údaje pre kvalitatívnu aj kvantitatívnu analýzu využitím rôznych pokročilých techník analýzy mnohorozmerných dát. Rutinne používané techniky ako je FTIR a Ramanova spektrometria nie sú vzhľadom na ich citlivosť vhodné na stanovenie zložiek o nízkej koncentrácii. Naopak, fluorescenčná spektrometria umožňuje dosahovať medze detekcie, ktoré nie sú bežné v metódach vibračnej spektrometrie. Výhodou fluorescenčnej spektrometrie je vyššia selektivita v porovnaní s inými spektrometrickými metódami, vysoká citlivosť pre širokú paletu potenciálnych analytov, a všeobecne aj to, že nevyžaduje reagencie a úpravu vzorky. Aj keď

tieto charakteristiky zaraďujú metódu medzi perspektívne techniky, klasická fluorescenčná spektrometria založená na meraní len jedného excitačného a emisného spektra často neumožňuje analýzu mnohozložkových vzoriek. V takýchto prípadoch možno zlepšiť analytické charakteristiky metódy nameraním trojrozmerných luminiscenčných alebo trojrozmerných synchronných fluorescenčných spektier. Trojrozmerné luminiscenčné spektrá (TLS) sa získajú postupným meraním emisných spektier pri rôznych excitačných vlnových dĺžkach. Výsledná emisno-excitačná dátová matica (EEM) poskytuje celkový profil intenzít fluorescencie meranej vzorky v rozsahu skenovaných excitačných a emisných vlnových dĺžok, a tým aj vyššiu selektivitu. Synchronná fluorescenčná spektrometria znižuje nebezpečenstvo prekryvania fluorescenčných pásov tým, že obvykle sa namerajú užšie pásy a spektrá sú jednoduchšie. Trojrozmerné synchronné fluorescenčné spektrá (TSFS) sa získajú znázornením intenzity fluorescencie ako kombinovanie funkcie vlnovej dĺžky a hodnoty rozdielu emisnej a excitačnej vlnovej dĺžky; čím spájajú výhody trojrozmerných luminiscenčných a synchronných fluorescenčných spektier. Pravdepodobne vďaka širšiemu využitiu chemometrie sa v ostatných 10 rokoch pozoruje zvýšený záujem o využitie fluorescenčnej spektrometrie v analýze mnohozložkových vzoriek¹⁻⁴.

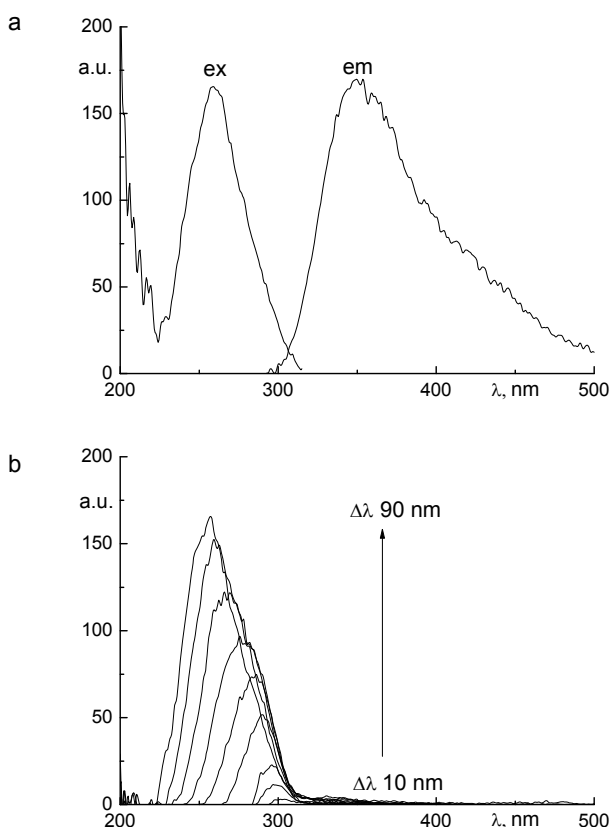
Cieľom tohto príspevku je poskytnúť prehľad metód synchronnej fluorescencie a zhrnúť možnosti ich využitia v analýze mnohozložkových vzoriek.

2. Synchronná fluorescencia

Pre každú fluoreskujúcu vzorku možno namerať dve charakteristické spektrá, excitačné a emisné. V praxi sa excitačné spektrum získa plynulým pohybom excitačného monochromátora a emisné spektrum pohybom emisného monochromátora. Ďalšia možnosť je simultánny pohyb oboch monochromátorov. V tomto prípade nameraná závislosť intenzity fluorescencie od vlnovej dĺžky je výsledkom konvolúcia excitačného spektra a emisného spektra a označuje sa synchronne fluorescenčné spektrum. Intenzita a tvar synchronného fluorescenčného spektra závisia od oboch vlnových dĺžok, excitujúcej (λ_{ex}) aj emisnej (λ_{em}). V závislosti od rýchlosti pohybu monochromátorov sú známe tri základné metódy synchronnej fluorescencie opísané ďalej.

2.1. Synchronná fluorescencia s konštantným rozdielom vlnových dĺžok (CWSF)

Pri meraní CWSF sa excitačné a emisné vlnové dĺžky menia rovnakou rýchlosťou, čím sa udržiava konštantný interval $\Delta\lambda = (\lambda_{em} - \lambda_{ex})$ medzi λ_{em} a λ_{ex} . Synchronne



Obr. 1. Fluorescenčné spektrá kyseliny galovej vo vode; a – excitačné ($\lambda_{em} = 350$ nm) a emisné ($\lambda_{ex} = 260$ nm); b – synchronné ($\Delta\lambda = 10$ –90 nm, krok 10 nm)

spektrum potom možno považovať za excitačné spektrum so synchronným skenovaním emisie, alebo za emisné spektrum so synchronnou excitáciou⁵. CWSF je veľmi jednoduchá a používa sa najčastejšie.

Hlavné charakteristiky, ktoré zlepšujú selektivitu CWSF oproti klasickej fluorescencii, sú: zúženie šírky spektrálneho pásu, zjednodušenie emisného spektra a zníženie vplyvu rozptylu. Spektrálna šírka synchronného signálu je obvykle užšia než šírka zodpovedajúceho pásu v klasickej emisnom, prípadne excitačnom spektre. Tento rozsah je daný hodnotou $\Delta\lambda$ a Stoksovým posunom fluoroforu. Stoksov posun možno ovplyvniť zmenou polarizácie prostredia, avšak z praktického hľadiska je zaujímavejšia možnosť zúžiť/rozšíriť spektrálny rozsah zmenšením/zväčšením parametra $\Delta\lambda$ (obr. 1).

Pri meraní klasických emisných spektier možno zmenou λ_{ex} dosiahnuť len súčasné zvýšenie intenzity všetkých emisných pásov. Synchronná technika umožňuje výberom vhodnej hodnoty $\Delta\lambda$ selektívne zvýšenie len najintenzívnejších pásov, poskytuje teda jednoduchšie spektrum. Ak sa použije taká hodnota $\Delta\lambda$, ktorá páruje konkrétny excitačný a emisný pás, synchronné spektrum bude obsahovať

len jeden jednoduchý pás⁵. Tyndallov alebo Rayleighov rozptyl sa eliminuje nastavením šírky štrbiny monochromátora na hodnotu $\leq 0,5 \cdot \Delta\lambda$. Ramanov rozptyl obvykle nespôsobuje veľké problémy, pretože je málo intenzívny, jeho polohu v spektre možno vypočítať pre danú hodnotu $\Delta\lambda$ a rozpúšťadlo; možno ho jednoducho a efektívne korigovať odčítaním spektra rozpúšťadla⁶.

2.2. Synchronná fluorescencia s konštantným rozdielom energií (CESF)

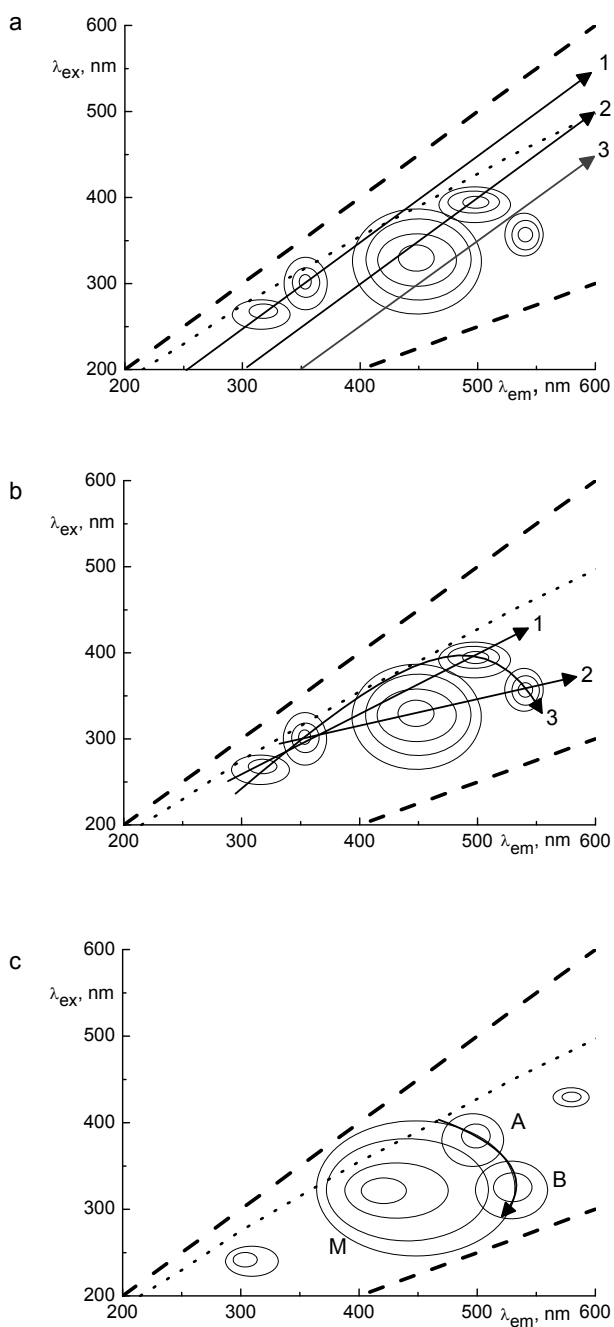
Pri meraní CESF sa excitačné a emisné vlnové dĺžky menia tak, že sa udržiava konštantný rozdiel vlnočtov (energií), $\Delta\nu$, medzi nimi. V r. 1982 Inman formuloval základné princípy CESF a ukázal, že v analýze zmesi polyaromatických uhľovodíkov (PAH) táto technika, podobne ako CWSF, priniesla významné zlepšenie v porovnaní s klasickou fluorescenčnou spektrometriou (zúženie šírky spektrálneho pásu, zjednodušenie spektra a zníženie vplyvu rozptylu)^{7,8}.

2.3. Synchronná fluorescencia s meniteľným uhlom (VASF)

Synchronné spektrum namerané pri konštantnej hodnote $\Delta\lambda$ je vlastne rez v EEM pod konštantným uhlom 45° (obr. 2a), v spektre sa zaznamenávajú len zložky s podobnou hodnotou $\Delta\lambda$. Rovnakú nevýhodu má aj CESF, kde sa rez robí pri konštantnej hodnote $\Delta\nu$. VASF je omnoho flexibilnejšia, pretože umožňuje meranie po ľubovoľnej dráhe optimalizovanej na základe EEM. Metódu navrhol Kubic a použil na analýzu motorových olejov pre súdne účely⁹. Teóriu VASF detailne opísal Cabaniss¹⁰. Výhodou VASF oproti napr. CWSF je jej schopnosť prechádzať maximami pásov a obchádzať oblasti prekrývania spektier, čím sa dosahuje lepšie rozlíšenie zložiek. Ak sa rozdiel medzi λ_{ex} a λ_{em} kontinuálne mení tak, že dráha je lineárna a získa sa rez pod uhlom odlišným od 45° (obr. 2b), metóda sa označuje ako lineárna (LVASF).

Ak sa rozdiel medzi λ_{ex} a λ_{em} kontinuálne mení tak, že dráha je nelineárna (funkcia, lomená čiara) (obr. 2b), metóda sa označuje ako nelineárna (NLVASF). Dráha sa optimalizuje na základe EEM tak, aby sa dosiahla maximálna intenzita signálu analytov, neprechádzala oblasťami, kde sa prejavujú interferencie (analyty, matrica, rozptyl) a schéma nebola veľmi zložitá. Táto metóda často umožňuje rozlíšiť také zložky, ktorých spektrá sa prekrývajú a lineárnym skenovaním sa nedajú rozlíšiť.

V r. 1994 Murillo Pulgarín vyvinul metódu synchronnej fluorescencie s izofluorescenčnou maticou (MISF) užitočnú hlavne z hľadiska zníženia vplyvu fluorescencie matrice¹¹. MISF poskytuje spoľahlivé výsledky len vtedy, ak sa zloženie matrice takmer nemení, čím sa zabezpečí konštantný signál pozadia. Zostrojí sa EEM matrice (bez analytu) a vyberie sa dráha spájajúca body s rovnakou intenzitou fluorescencie (vrstevnica, izofluorescencia matrice) vhodná pre stanovenie. Aby sa dosiahla podobná



Obr. 2. Excitačno-emisné spektrum hypotetickej zmesi 5 zložiek a spôsob merania synchronnej fluorescence; a – synchronná fluorescence s konštantným rozdielom vlnových dĺžok $\Delta\lambda = 50$ nm (1), $\Delta\lambda = 100$ nm (2), $\Delta\lambda = 150$ nm (3); b – lineárna synchronná fluorescence s meniteľným uhlom (1,2) a nelineárna synchronná fluorescence s meniteľným uhlom (3); c – synchronná fluorescence s izofluorescenčnou maticou, matica (M), analyty (A, B); (---) – Rayleighov rozptyl, (...) – Ramanov rozptyl, (→) – dráha merania, zložky zmesi sú znázornené ako vrstevnice spájajúce body s rovnakou intenzitou fluorescence

citlivosť ako pri stanovení bez fluoreskujúceho pozadia, dráha musí prechádzať cez fluorescenčné maximá analytov (obr. 2c). Pre vlastné meranie sa vyberie len určitá časť celej vrstevnice spájajúca počiatočné a koncové λ_{ex} a λ_{em} .

3. Analytické využitie synchronnej fluorescence

3.1. Súdne analýzy

Už prvé práce o CWSF boli venované využitiu TSFS na charakterizáciu zložitých súdnych vzoriek (motorové oleje a stopy po pneumatikách a obuvi)^{12,13}. TSFS nafty a motorových olejov vykazujú emisiu v oblasti 420 až 550 nm zodpovedajúcej PAH so 4–6 kruhmi, benzín a petrolej emitujú v oblasti 310–400 nm prislúchajúcej PAH s 2–3 kruhmi, čo umožňuje odlišiť tieto ropné produkty v súdnych analýzach, alebo zistiť kontamináciu pri námatkovej kontrole¹⁴.

3.2. Environmentálne analýzy

Fluorescencia je vhodná na stanovenie rôznych kontaminantov vo vodách, pôdach a ovzduší, pričom značná pozornosť sa venuje stanoveniu PAH (tab. I). Problémom pri analýze štruktúrne podobných PAH je prekrývanie pásov individuálnych zložiek, a s tým súvisiaci rezonančný prenos energie. Pri meraní klasických, ale aj synchronných spektier sa často získajú široké, málo štrukturované pásy, čo komplikuje mnohozložkovú analýzu. Tento problém možno riešiť meraním CWSF spektier PAH v micelárnom prostredí. Porovnávacie štúdie rôznych viacrozmerných kalibračných metód pre 10 PAH v micelárnom prostredí ukázali, že najlepšie výsledky sa dosahujú metódou parciálnych najmenších štvorcov (PLS-1). Autori spracovali synchronné spektra namerané pri dvoch rôznych hodnotách $\Delta\lambda$ (cit.^{15,16}).

Patra a Mishra¹⁷ navrhli metódu, ktorá nevyžaduje spracovanie celých CWSF spektier, a napriek tomu poskytuje dobré výsledky pri stanovení 6, 7 a 10 PAH. Pri stanovení 6 PAH v environmentálnych vzorkách táto metóda poskytla výsledky, ktoré sa dobre zhodovali s výsledkami získanými plynovou chromatografiou¹⁸. Lepšie rozlíšenie zložiek a nižšiu medzu detekcie možno dosiahnuť použitím derivovaných CWSF spektier. Analýzou zmesi 18 PAH sa použitím druhej derivácie spektier podarilo stanoviť 11 zložiek¹⁹, pričom sa dosiahlo zlepšenie medze detekcie v porovnaní s prácou¹⁷. CESF za optimálnych podmienok umožňuje stanoviť 13 PAH v extraktoch zo vzoriek pôd²⁰, pričom poskytuje lepšiu medzu detekcie než CWSF¹⁷.

Zaujímavé je porovnanie výsledkov dosiahnutých využitím druhej derivácie CESF²¹ a druhej derivácie CWSF¹⁹ pri analýze zmesi 18 PAH. Na rozlíšenie 10 PAH bolo potrebné namerať CESF pri 7 rôznych hodnotách D_v . CWSF pri 8 rôznych hodnotách $\Delta\lambda$ umožnila rozlíšiť

Tabuľka I
Prehľad analytického využitia synchronnej fluorescence

Metóda	Vzorka	Analyty	Vyhodnotenie	Medza detekcie [ng ml ⁻¹]	Lit.
<i>Environmentálna</i>					
CWSF	vody	10 PAH	PLS	4	15,16
CWSF	vody	6,7 a 10 PAH		0,05–13	17
CWSF	model 18 PAH	11 PAH	2. derivácia	0,01–0,70	19
CESF	pôdy	13 PAH		0,2–8	20
CESF	vody, 18 PAH	10 PAH	2. derivácia	0,12–2	21
NLVASF	vody	4 PAH		2–16	24
NLVASF	vody	4 pesticídy	PLS	0,02–10	27
CWSF	vody	humínové látky			28
<i>Klinická a farmaceutická</i>					
CWSF	moč	metabolity	TSF		30
CWSF	farm. prípravky	kys. acetylsalicylová a kofeín	1. derivácia	1 a 31	31
CWSF	farm. prípr., plazma	cinarizín a domperidón	2. derivácia	0,02 a 6	32
CESF, CWSF	sérum	pyridoxal a pyridoxamín	1. derivácia	20 a 11 (emisné) 4 a 3 (CESF) 6 a 5 (CWSF)	35
CESF, CWSF	farm. prípr., sérum	naproxén a diflunisal	1. derivácia	15 a 14 (emisné) 11 a 28 (CESF) 1 a 10 (CWSF)	36
LVASF	moč, sérum	salicylamid a salsalat	1. derivácia	10	37
NLVASF	moč, sérum	salicylamid, salsalat, naproxén	1. derivácia	10	38
NLVASF	farm. prípravky	atenolol, propranolol, amilorid, dipyridamol	1. derivácia	1–6	39
MISF	moč	amilorid a triamteren	1. derivácia	17 a 2	40
MISF	sérum	kys. salicylová a diflunisal	1. derivácia	37	42
<i>Potravinárska</i>					
CWSF	olivový olej	kyselina linoleová	TSF		43
CWSF	olivový olej	kyselina olejová	TSF		44
CWSF	pivo	riboflavín, tryptofán, tyrozín, fenylalanín	TSF		45

11 PAH; avšak nedosiahlo sa také účinné zoskupovanie PAH ako v CESF. Autori navrhujú sekvenčné použitie CESF a CWSF v závislosti od zloženia vzorky a od toho, čo je potrebné v zmesi stanoviť. Medze detekcie v CESF boli všeobecne horšie než v CWSF. Nedávno publikovaná práca dokumentuje, že pri stanovení fluorénu, karbazolu, benzo[*a*]pyrénu a perylénu vo vodách a v ovzduší skenovanie derivovaných CESF je omnoho efektívnejšie ako skenovanie CWSF²². NLVASF spôsob skenovania je užitočný pri analýze takých PAH^{23–25} alebo pesticídov^{26,27}, ktoré nie je možné dostatočne rozlíšiť použitím CWSF a LVASF; aj v tomto prípade lepšie rozlíšenie poskytujú derivované spektrá²³. Skenovanie sa optimalizuje tak, aby

dráha obchádzala oblasti, kde dochádza k prenosu energie medzi analytmi, čím sa dosiahnu lepšie výsledky v porovnaní s klasickou fluorescenciou a ostatnými synchronnými technikami.

Okrem stanovenia kontaminantov, synchronná fluorescencia, v porovnaní s klasickou, umožňuje aj detailnejšiu charakterizáciu a lepšiu klasifikáciu rôznych frakcií humínových látok²⁸.

3.3. Klinické a farmaceutické analýzy

Fluorescencia tyrozínu a tryptofánu sa často využíva pri štúdiu štruktúry a interakcií proteínov. Tyrozín

a tryptofán majú podobné excitačné spektrá a ich emisné spektrá sa značne prekrývajú, čo komplikuje ich rozlíšenie v klasickom fluorescenčnom spektre proteínov. CWSF s vhodne zvolenou hodnotou $\Delta\lambda$ takéto rozlíšenie umožňuje, keďže fluorescencia nameraná pri $\Delta\lambda = 20\text{--}30$ nm je charakteristická pre tyrozín a fluorescencia pri $\Delta\lambda = 70$ až 80 nm zodpovedá tryptofánu²⁹. V klinickej analýze vzoriek moču sa využíva skutočnosť, že TSFS sú veľmi citlivé na patologické zmeny moču, napr. mení sa výrazne tvar spektra proteínov ako patologickej zložky, objavujú sa nové pásy v porovnaní s močom zdravého jedinca. Metóda umožňuje monitorovať pacientov s chronickou renálnou nedostatočnosťou, alebo infekciou močového traktu³⁰.

Synchrónna fluorescencia je vhodná na simultánne stanovenie aj takých liečiv, ktorých emisné pásy sa v klasických spektrách prekrývajú^{31–42}, pričom lepšie rozlíšenie zložiek sa obvykle dosahuje použitím derivovaných spektier.

Niektoré práce ukazujú, že o niečo lepšiu medzu detekcie poskytuje CESF než CWSF^{34,35}. Avšak v nedávno publikovanej práci autor uvádza, že pri stanovení naproxénu a diflunisalu vo farmaceutických prípravkoch a sére, prvá derivácia CWSF poskytla lepšiu medzu detekcie ako prvá derivácia CESF³⁶. LVASF v kombinácii s prvou deriváciou spektier umožňuje stanovenie salicylamidu a salsalatu v sére a moči, kde sken pod uhlom 15° prechádza maximami oboch zložiek³⁷. Ak zmes obsahuje okrem salicylamidu a salsalatu aj naproxén, simultánne stanovenie týchto troch zložiek v sére a moči vyžaduje skenovanie po dráhe, ktorú opisuje kvadratická funkcia, $\lambda_{\text{ex}} = f(\lambda_{\text{em}})$ ³⁸. Simultánne stanovenie štyroch liečiv možno dosiahnuť po dráhe, ktorú opisuje kubická funkcia³⁹. MISF je tiež vhodná na simultánne stanovenie rôznych liečiv v moči a sére^{40–42}. Na vyhodnotenie sa používa prvá derivácia spektier, ktorá poskytuje medze detekcie na úrovni desiatok ng ml⁻¹.

3.4. Potravinárske analýzy

Značná pozornosť sa venuje využitiu TSFS v analýze potravín, kde TSFS v porovnaní s TLS poskytuje jednoduchšie spektrá a často vyššiu intenzitu fluorescencie charakteristického pásu^{43–45}. TSFS umožňuje zistiť falšovanie panenského olivového oleja pridávaním rôznych lacnejších olejov⁴³, odlíšiť kyslejšie olivové oleje od panenského olivového oleja⁴⁴, ale aj sledovať zmeny v zložení piva počas skladovania pri rôznej teplote⁴⁵. Rizkallah⁴⁶ ukázal, že EEM vytvorené z TSFS v kombinácii s paralelnou faktorovou analýzou možno využiť na monitorovanie výrobného procesu a stanovenie kontaminantov v pekárstve. Porovnávacie štúdie 4 viacrozmerných kalibračných metód pre stanovenie riboflavínu a aromatických aminokyselín v pive dokumentujú, že dobré výsledky sa dosahujú metódou PLS-1 pri spracovaní synchrónnych spektier ($\Delta\lambda = 30$ nm) a metódou PLS-2 pri spracovaní EEM, pričom druhý spôsob poskytuje lepšie výsledky hlavne pri stanovení fenylalanínu⁴⁷.

4. Záver

Moderné trendy v analytickej chémii preferujú metódy, ktoré nevyžadujú úpravy vzorky, ale umožňujú priamu analýzu v reálnom čase. Spektrá, ktoré sa získavajú klasickou fluorescenčnou analýzou mnohozložkových zmesí, nie sú dostatočne rozlíšené, a preto samotnej analýze obvykle predchádza komplikovaná úprava vzorky. Synchrónna fluorescencia vďaka lepšej selektivitě rozširuje praktickú využiteľnosť fluorescencie na analýzu mnohozložkových zmesí bez nutnosti riešenia problémov súvisiacich s úpravou vzoriek. Synchrónnou technikou možno získavať kvalitatívne a kvantitatívne údaje, pričom lepšia selektivita a medza detekcie sa dosahuje použitím derivovaných spektier. Selektivitu možno ďalej zvýšiť kombináciou s viacrozmernou analýzou dát. Mnohé práce potvrdzujú, že synchrónna fluorescencia je efektívna pre rôzne analytické aplikácie a to hlavne v oblastiach, kde sa vyžaduje jednoduchá, rýchla a cenovo dostupná analýza. Výhodou je tiež jednoduché zariadenie. Na meranie synchrónnych spektier možno využiť každý luminiscenčný spektrometer, ktorý je vybavený emisným a excitačným monochromátorom. Typický fluorimeter umožňuje meranie synchrónnych spektier s konštantným rozdielom vlnových dĺžok, alebo energií. Synchrónna fluorescencia s meniteľným uhlom nie je v praxi rozšírená, keďže komerčne dostupné fluorimetre nie sú vybavené programom, ktorý by umožnil ľubovoľne riadiť pohyb jednotlivých monochromátorov.

Táto práca bola podporená prostriedkami z projektu APVV-0319-07.

Použité skratky

CESF	constant-energy synchronous fluorescence, synchrónna fluorescencia s konštantným rozdielom energií
CWSF	constant-wavelength synchronous fluorescence, synchrónna fluorescencia s konštantným rozdielom vlnových dĺžok
EEM	emisno-excitačná dátová matica
λ_{em}	vlnová dĺžka emitovaného žiarenia
λ_{ex}	vlnová dĺžka excitujúceho žiarenia
LVASF	linear variable-angle synchronous fluorescence, lineárna synchrónna fluorescencia s meniteľným uhlom
MISF	matrix isopotential synchronous fluorescence, synchrónna fluorescencia s izofluorescenčnou maticou
NLVASF	non-linear variable-angle synchronous fluorescence, nelineárna synchrónna fluorescencia s meniteľným uhlom
PAH	polyaromatické uhľovodíky
PLS	partial least squares, metóda parciálnych najmenších štvorcov
TLS	trojrozmerné luminiscenčné spektrum
TSFS	trojrozmerné synchrónne fluorescenčné spektrum

VASF variable-angle synchronous fluorescence, synchrónna fluorescencia s meniteľným uhlom

LITERATÚRA

- Patra D., Mishra A. K.: *Trends Anal. Chem.* 21, 787 (2002).
- Christensen J., Norgaard L., Bro R., Engelsen S. B.: *Chem. Rev.* 106, 1979 (2006).
- Escandar G. M., Faber N. M., Goicoechea H. C., de la Pena A. M., Olivieri A. C., Poppi R. J.: *Trends Anal. Chem.* 26, 752 (2007).
- Gomez V., Callao M. P.: *Anal. Chim. Acta* 627, 169 (2008).
- Vo-Dinh T.: *Anal. Chem.* 50, 396 (1978).
- Vo-Dinh T., v knihe: *Modern Fluorescence Spectroscopy* (Wehry E. L., ed.), str. 167. Plenum-Press, New York 1981.
- Inman E. L., Winefordner J. D.: *Anal. Chim. Acta* 141, 241 (1982).
- Inman E. L., Winefordner J. D.: *Anal. Chem.* 54, 2018 (1982).
- Kubic T. A., Lasher C. M., Dwyer J. J.: *Forensic Sci. Soc. J.* 28, 186 (1983).
- Cabaniss S. E.: *Anal. Chem.* 63, 1323 (1991).
- Pulgarín J. A. M., Molina A. A.: *Anal. Chim. Acta* 296, 87 (1994).
- Lloyd J. B. F.: *J. Forensic Sci.* 11, 83 (1971).
- Lloyd J. B. F.: *Analyst* 100, 82 (1975).
- Patra D., Mishra A. K.: *Anal. Bioanal. Chem.* 373, 304 (2002).
- Guiteras J., Beltran J. L., Ferrer R.: *Anal. Chim. Acta* 361, 233 (1998).
- Ferrer R., Beltran J. L., Guiteras J.: *Talanta* 45, 1073 (1998).
- Patra D., Mishra A. K.: *Talanta* 55, 143 (2001).
- Sharma H., Jain V. K., Khana Z. H.: *Spectrochim. Acta, Part A* 68, 43 (2007).
- Eiroa A. A., Blanco E. V., Mahia P. L., Lorenzo S. M., Rodriguez D. P.: *Analyst* 123, 2113 (1998).
- Yang X.-P., Shi B.-F., Zhang Y.-H., Tang J., Cai D.-Ch.: *Spectrochim. Acta, Part A* 69, 400 (2008).
- Eiroa A. A., Blanco E. V., Mahia P. L., Lorenzo S. M., Rodriguez D. P., Fernandez E. F.: *Talanta* 51, 677 (2000).
- Zhang R. P., He L. F.: *Spectrosc. Spectral Anal.* 27, 350 (2007).
- Li Y. Q., Huang X. Z.: *Fresenius' J. Anal. Chem.* 357, 1072 (1997).
- Sui W., Wu Ch., Li Y. Q.: *Fresenius' J. Anal. Chem.* 368, 669 (2000).
- Erustes J. A., Eiroa A. A., Cladera A., Forteza R., Cerda V.: *Analyst* 126, 451 (2001).
- Sánchez G. F., Cedazo M., Lovillo J., Diaz A. N.: *Talanta* 43, 1327 (1996).
- de Armas G., Miró M., Estela J. M., Cerdá V.: *Anal. Chim. Acta* 471, 173 (2002).
- Peuravuori J., Koivikko R., Pihlaja K.: *Water Res.* 36, 4552 (2002).
- Chou J., Qu X., Lu T., Dong S., Wu Y.: *Microchim. J.* 52, 159 (1995).
- Dubayová K., Kušník J., Podracká E.: *J. Biochem. Biophys. Meth.* 55, 111 (2003).
- Karim M. M., Jeon C. W., Lee H. S., Alam S. M., Lee S. H., Choi J. H., Jin S. O., Das A. K.: *J. Fluoresc.* 16, 713 (2006).
- Walash M. I., Belal F., El-Enany N., Abdelal A. A.: *J. Fluoresc.* 18, 61 (2008).
- Esteves da Silva J. C. G., Novais S. A. G.: *Analyst* 123, 2067 (1998).
- Pulgarín J. A. M., Molina A. A.: *Talanta* 41, 21 (1994).
- Berzas Nevado J. J., Pulgarín J. A. M., Gómez Laguna M. A.: *Talanta* 42, 129 (1995).
- Maher H. M.: *J. Fluoresc.* 18, 909 (2008).
- Pulgarín J. A. M., Bermejo L. F. G.: *Anal. Biochem.* 265, 331 (1998).
- Pulgarín J. A. M., Bermejo L. F. G.: *Anal. Chim. Acta* 373, 119 (1998).
- Pulgarín J. A. M., Molina A. A., Lopez P. F.: *Anal. Chim. Acta* 370, 9 (1998).
- Pulgarín J. A. M., Molina A. A., Lopez F. P.: *Anal. Biochem.* 292, 59 (2001).
- Pulgarín J. A. M., Molina A. A., Robles I. S.-F.: *Anal. Chim. Acta* 625, 47 (2008).
- Pulgarín J. A. M., Molina A. A., Lopez F. P., Robles I. S.-F.: *Anal. Chim. Acta* 583, 55 (2007).
- Poulli K. I., Mousdis G. A., Georgiou C. A.: *Food Chem.* 105, 369 (2007).
- Poulli K. I., Mousdis G. A., Georgiou C. A.: *Anal. Chim. Acta* 542, 151 (2005).
- Sikorska E., Gorecki T., Khmelinskii I. V., Sikorski M., De Keukeleire D.: *Food Chem.* 96, 632 (2006).
- Rizkallah J., Morales F. J., Ait-ameur L., Fogliano V., Hervieu A., Courel M., Aragon I. B.: *Chemom. Intell. Lab. Syst.* 93, 99 (2008).
- Sikorska E., Gliszczynska-Swigło A., Insinska-Rak M., Khmelinskii I., De Keukeleire D., Sikorski M.: *Anal. Chim. Acta* 613, 207 (2008).

J. Tóthová and J. Sádecká (*Institute of Analytical Chemistry, Faculty of Chemical and Food Technology, Slovak University of Technology, Bratislava*): **Principles and Applications of Synchronous Fluorescence in Multicomponent Analysis**

This review provides brief information on principles and possible applications of various synchronous fluorescence methods (constant-wavelength, constant-energy, variable-angle) in analysis of multicomponent samples. A generally high selectivity of synchronous fluorescence spectra can still be increased by taking derivative spectra and applying multivariate methods or a three-dimensional total synchronous fluorescence scan. These modifications of the synchronous fluorescence approach made this method an attractive tool in various fields such as quality control, clinical diagnosis, and monitoring of environmental pollution.