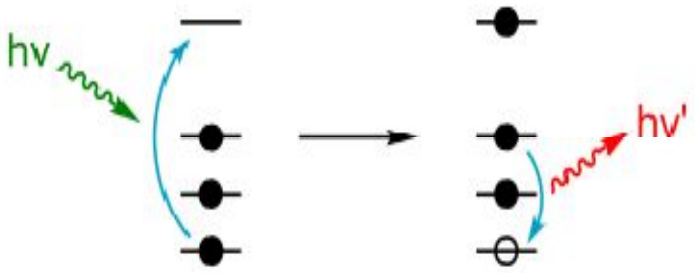
2 – الفلورة (Fluorimétrie):

1- تعاريف و مبدأ: الفلورة نوع من الطيف الكهرومغناطيسي الذي يحلل فلورة عيّنة، تستلزم استعمال الأشعة فوق البنفسجية التي تحرّض إلكترونات جزيئات بعض المواد و تجعلها تبعث ضوء طاقته جد منخفضة من نوع الضوء المرئي (لكن ليس من الضروري). لمعايرة كميات قليلة جدا (µg / l) يكون التحريض ربما بأشعة الليزر في هذه الحالة ربما تنجز فلورة ذرية يمكن قياسها بواسطة Fluoromètre أو Fluorimètre.



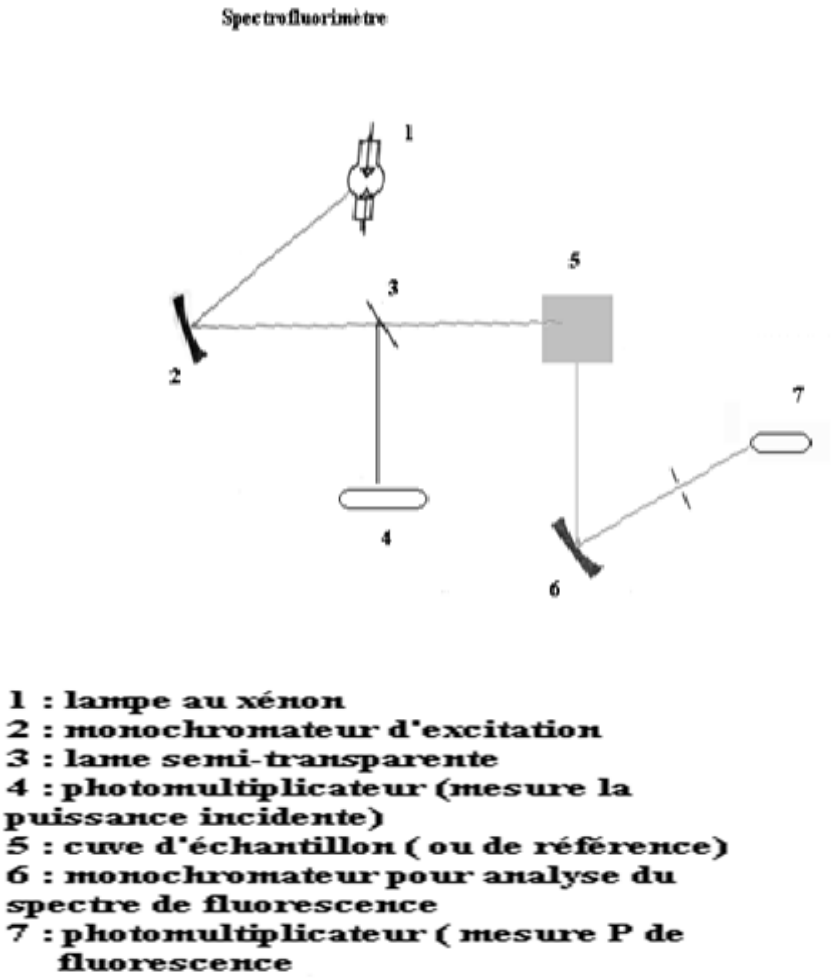
شكل (رقم:05): طيف انبعاث الفلورة.

أنواعها: يوجد تقنيتين مختلفتين للفلورة حسب تغير الطاقة ΔE بالتحريض الكهرومغناطيسي هما:

- **الفلورة (Fluorescence):** تعرف بالانتقال العكوس من الحالة المستقرة N إلى الحالة المحرّضة F.
- **الفسفرة (Phosphorescence):** تعرف بالانتقال العكوس من الحالة المستقرة N إلى الحالة P (méta stable).

الفرق بين الفلورة و الفسفرة هو مدة الظاهرة عند درجات الحرارة المنخفضة: فترة الفلورة بعد وقف التحريض لا تتغير بالنسبة لما يجري عند (20 إلى 25)°م ، بينما الفسفرة تستمر إلى الما لا نهاية عند درجات الحرارة المنخفضة. و يلاحظ عموما أنّ تطبيقات الفسفرة محدودة جدا في البيوكيمياء.

❖ **جهاز Fluoromètre :** يتكوّن جهاز قياس الفلورة من الأجزاء الآتية المبينة بالشكل (رقم:06):



شكل (رقم:06): جهاز Spectrofluorimètre.

- **مصدر ضوئي:** يكون مصباح بأبخرة الزئبق نوع الجهاز Eppendorf (أنظر محاضرات مطيافية الامتصاص الجزيئي) ولكن خصوصا مصباح Xénon الذي يعطي طيف مستمر، يحقق مصدر نقطي تقريبا ذو طاقة عالية لكن ينقصه الاستقرار والذي من المفروض أن يكون محاط بغلاف حامي لأنه يستطيع الانفجار. أخيرا يعطي أشعة تحت حمراء يستلزم إزالتها بمرشحات ولكن يلزمنا خصوصا مكافحة التسخين بمروحة. بعض المصابيح يمكن أن تعطي وحيدة أحادية الطول الموجي (كمصباح Thallium المستعمل كثيرا لمعايرة (Cestrogènes).

- **موشور التحريض (أوّلي):** يعطي ضوء أحادي الموجة (Monochromatique) تكون حسب الأجهزة مرشحات تداخل، موشورات أو خصوصا شبكات (أنظر محاضرات مطيافية الامتصاص الجزيئي).

- **خلية قياس:** ضوء الفلورة في أغلب التركيبات يتجمع في مستوى عمودي بالنسبة للضوء الساقط، تكون خلايا القياس من الـ Quartz للأوجه الأربعة و ذات قياسات مختلفة كما يكون سمك خلية القياس محددا لحساسية المعايرة.

- **موشور التحليل (ثانوي):** قد يكون مشابه تماما أو مختلف عن موشور التحريض.

- **مضاعف ضوئي، مكبر، قالفانومتر و شاشة تسجيل:** تتشابه هذه المكوّنات مع أجزاء المطياف الخاص بمطيافية الامتصاص الجزيئية.

3- تطبيـــقات الفلورة:

تستعمل لمعايرة تركيز المواد المحتوية على الحلقة العطرية أو حلقة غير متجانسة، هذه التقنية حساسة وصعبة وبالتالي نستعملها عندما تكون الطرق المطيافية غير ممكنة الاستعمال.

تكون الفلورة حساسة أكثر من المطيافية و تسمح بخفض حساسية المعايرة. و لكن يجب التذكير دائما بان عدد كبير من المواد في الأوساط البيولوجية تمتلك تداخل للأشعة الخاصة بالمواد المعايرة ودون استثناء، معايرة مادة في وسط بيولوجي تتطلب تنقية المادة المراد معايرتها.

تطبيقات الفلورة الطبية جد متعددة مثلا معايرة: Catécholamines, Stéroïdes, Bilirubine وغيرها، كما أنّ تعديل فلورة مرافقات الإنزيمات NAD و NADH تستعمل كذلك في معايرة علم الإنزيمات .