



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ

**Ανάπτυξη Μεθόδων Ειδοταυτοποίησης
Μεταλλικών Στοιχείων με Τεχνικές
Ατομικής Απορρόφησης και Ανάλυσης
Συνεχούς Ροής με Έγχυση Δείγματος**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Ευάγγελος-Νεκτάριος Κ. Παλαιολόγος
ΧΗΜΙΚΟΣ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2001



Επταμελής Εξεταστική Επιτροπή

Προς:
Τη Γραμματεία του Τμήματος Χημείας

Θέμα: Κρίση της διδακτορικής διατριβής του κυρίου Ευάγγελου Παλαιολόγου

Τη Δευτέρα 14 Ιανουαρίου η επταμελής εξεταστική επιτροπή παρακολούθησε την προφορική παρουσίαση της διδακτορικής διατριβής του υποψηφίου διδάκτορα Ευάγγελου-Νεκτάρου Παλαιολόγου με τίτλο:

“Ανάπτυξη Μεθόδων Ειδοταυτοποίησης Μεταλλικών Στοιχείων με Τεχνικές Ατομικής Απορρόφησης και Ανάλυσης με Έγχυση Δείγματος σε Ροή(F.I.A)”.

Η επιτροπή έκρινε, ότι το περιεχόμενο της διδακτορικής διατριβής είναι πρωτότυπο και ο τρόπος παρουσίασής της πολύ καλός.

Ο υποψήφιος έκανε πολύ καλή προφορική παρουσίαση των αποτελεσμάτων της διατριβής και απάντησε επιτυχώς σε όλες τις ερωτήσεις που του υποβλήθηκαν.

Κατόπιν των παραπάνω η Εξεταστική Επιτροπή αποδέχεται τη διατριβή και εισηγείται ομόφωνα, μετά από πρόταση του Επιβλέποντα Καθηγητή, το βαθμό “Άριστα”.

Τα μέλη της Επταμελούς* Επιτροπής:

Μιλτιάδης Καραγιάννης (Επιβλέπων Καθηγητής)

Επικ. Καθηγ. Στέλλα Τζουβάρα - Καραγιάννη (Μέλος της Συμβουλευτικής Επιτροπής)

Επικ. Καθηγ. Δημήτριος Θεμελής (Μέλος της Συμβουλευτικής Επιτροπής)

Καθηγ. Νικόλαος Ευμοιρίδης

Καθηγ. Κωνσταντίνος Ευσταθίου

Αναπλ. Καθηγ. Τραντάφυλλος Αλμπάνης

Επικ. Καθηγ. Παναγιώτης Βελτσιστάς

* Ο Καθηγ. Νικ. Ευμοιρίδης απουσίαζε για προσωπικούς λόγους Συμφωνά με την επισημοποίηση που κατέθεσε συμφωνά με την απουσία του τίτλου με τον βαθμό ΑΡΙΣΤΑ

Αφιερώνεται

Στον Παππού μου, που με άφησε νωρίς,
Στη Γιαγιά μου, στην οποία οφείλω τη μόρφωσή μου.
Στους Γονείς μου και τα Αδέρφια μου, που με αγαπούν και με στηρίζουν.

Περιεχόμενα

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

I. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1^ο ΚΕΦΑΛΑΙΟ: Χρώμιο. Χημεία και Εφαρμογές

1.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ	1
1.2 Το ΧΡΩΜΙΟ ΣΤΗΝ ΚΑΘΗΜΕΡΙΝΗ ΖΩΗ	1
1.2.1 ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΑ	2
1.2.2 ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ	2
1.2.3 Το ΧΡΩΜΙΟ ΣΤΗΝ ΕΠΙΣΤΗΜΗ ΚΑΙ ΤΗΝ ΙΑΤΡΙΚΗ	3
1.3 Η ΧΗΜΕΙΑ ΤΟΥ ΧΡΩΜΙΟΥ	3
1.3.1 ΧΗΜΙΚΗ ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑ ΤΟΥ Cr(III)	6
1.3.2 ΧΗΜΙΚΗ ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑ ΤΟΥ Cr(VI)	7
1.4 ΤΟ ΧΡΩΜΙΟ ΣΤΟΝ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟ	8
1.4.1 ΠΡΟΣΛΗΨΗ ΚΑΙ ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΤΟΥ Cr ΣΤΟΝ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟ	8
1.4.2 ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΗ ΠΟΡΕΙΑ ΤΟΥ ΧΡΩΜΙΟΥ	10
1.4.3 ΑΠΕΚΚΡΙΣΗ ΤΟΥ ΧΡΩΜΙΟΥ ΑΠΟ ΤΟΝ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟ	10
1.5 ΤΟ ΧΡΩΜΙΟ ΩΣ ΙΧΝΟΣΤΟΙΧΕΙΟ	11
1.6 ΤΟΞΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΧΡΩΜΙΟΥ	12
1.6.1 ΜΕΤΑΛΛΑΞΟΓΟΝΟΣ ΚΑΙ ΚΑΡΚΙΝΟΓΟΝΟΣ ΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΧΡΩΜΙΟΥ	12
1.6.2 ΤΟΞΙΚΗ ΔΟΣΗ ΚΑΙ ΕΠΙΠΕΔΑ ΑΝΟΧΗΣ	13
1.7 ΕΙΔΟΑΠΕΙΚΟΝΙΣΗ ΤΟΥ ΧΡΩΜΙΟΥ ΣΤΟ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ. ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΚΑΙ ΤΡΟΠΟΙ ΜΕΤΑΦΟΡΑΣ	14
1.7.1 ΥΔΑΤΙΝΟΙ ΠΟΡΟΙ	14
1.7.2 ΕΔΑΦΗ ΚΑΙ ΕΔΑΦΙΚΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ	16
1.7.3 ΑΤΜΟΣΦΑΙΡΙΚΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ	18

1.7.4 ΧΗΜΙΚΕΣ ΟΔΟΙ ΤΟΥ ΧΡΩΜΙΟΥ ΣΤΟ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ	21
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	25

2^ο Κεφάλαιο: Ειδοαυτοποίηση και Ανάλυση Ειδοαυτοποίησης

2.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ	27
2.2 ΕΝΝΟΙΑ ΤΟΥ ΟΡΟΥ ΚΑΙ ΔΙΕΘΝΗΣ ΟΡΟΛΟΓΙΑ	28
2.3 ΜΟΡΦΕΣ ΚΑΙ ΕΙΔΗ ΠΟΥ ΠΕΡΙΛΑΜΒΑΝΕΙ Ο ΟΡΟΣ	29
2.3.1 ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΕΙΔΟΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ	29
2.3.2 ΠΕΡΙΟΧΕΣ ΕΝΔΙΑΦΕΡΟΝΤΟΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΑΛΥΣΗ ΕΙΔΟΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ	30
2.3.3 ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΕΙΔΩΝ ΠΟΥ ΑΠΟΤΕΛΟΥΝ ΣΤΟΧΟ ΜΙΑΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΕΙΔΟΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ	32
2.4 ΑΝΑΛΥΣΗ ΕΙΔΟΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ ΜΕΤΑΛΛΩΝ	33
2.5 ΤΙ ΑΠΑΙΤΕΙ ΜΙΑ ΑΝΑΛΥΣΗ ΕΙΔΟΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ, ΣΤΑΔΙΑ ΚΑΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΣΦΑΛΜΑΤΟΣ	36
2.5.1 ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ, ΦΙΛΤΡΑΡΙΣΜΑ ΚΑΙ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΤΑ ΟΠΟΙΑ ΠΡΟΟΡΙΖΟΝΤΑΙ ΓΙΑ ΑΝΑΛΥΣΗ ΕΙΔΟΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ	36
2.5.2 ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΣΦΑΛΜΑΤΟΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΑΝΑΛΥΣΗ ΕΙΔΟΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ	38
2.6 ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΤΗΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΕΙΔΟΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ ΣΤΗΝ ΚΑΘΗΜΕΡΙΝΗ ΖΩΗ. ΠΙΣΤΟΠΟΙΗΜΕΝΑ ΥΛΙΚΑ ΑΝΑΦΟΡΑΣ	43
2.6.1 ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ	43
2.6.2 ΤΡΟΦΙΜΑ	44
2.6.3 ΕΡΓΑΣΙΑΚΗ ΥΓΕΙΑ ΚΑΙ ΥΓΙΕΙΝΗ	46
2.7 ΑΝΑΛΥΤΙΚΕΣ ΠΡΟΫΠΟΘΕΣΕΙΣ ΚΑΙ ΠΡΟΔΙΑΓΡΑΦΕΣ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	47 49

3^ο Κεφάλαιο: Επιφανειακά Δραστικές Ουσίες. Μικύλλια και Μοριακά Οργανωμένες Δομές.

3.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ	51
3.2 ΜΙΚΥΛΛΙΑ ΤΑΣΕΝΕΡΓΩΝ ΟΥΣΙΩΝ	53
3.3 ΑΝΑΛΥΤΙΚΕΣ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΤΩΝ ΟΡΓΑΝΩΜΕΝΩΝ ΜΟΡΙΑΚΩΝ ΟΜΑΔΩΝ	60
3.3.1 ΟΞΕΟΒΑΣΙΚΕΣ ΙΣΟΡΡΟΠΙΕΣ ΣΕ ΟΡΓΑΝΩΜΕΝΕΣ ΜΟΡΙΑΚΕΣ ΔΟΜΕΣ	60

3.3.2 ΗΛΕΚΤΡΟΧΗΜΙΚΕΣ ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΣΕ ΟΡΓΑΝΩΜΕΝΕΣ ΜΟΡΙΑΚΕΣ ΔΟΜΕΣ	62
3.3.2.1 Ηλεκτροαναλυτικές εφαρμογές	63
3.3.3 ΧΡΗΣΗ ΜΙΚΥΛΛΙΑΚΩΝ ΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ ΣΤΗ ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΑ	
ΥΠΕΡΙΩΔΟΥΣ-ΟΡΑΤΟΥ	64
3.3.3.1 Κατιονικά τασενεργά	65
3.3.3.2 Μη ιοντικά τασενεργά	65
3.3.3.3 Ανιονικά τασενεργά	66
3.3.4 ΜΙΚΥΛΛΙΑΚΑ ΕΝΙΣΧΥΟΜΕΝΟΣ ΦΘΟΡΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΦΩΣΦΟΡΙΣΜΟΣ	66
3.3.4.1 Μικκυλλιακά σταθεροποιούμενος φωσφορισμός σε θερμοκρασία περιβάλλοντος	66
3.3.4.2 Μικκυλλιακή ενίσχυση του φθορισμού	68
3.3.5 ΣΥΣΣΩΜΑΤΩΜΑΤΑ ΤΑΣΕΝΕΡΓΩΝ ΟΥΣΙΩΝ ΣΤΗΝ ΑΤΟΜΙΚΗ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ ΦΛΟΓΑΣ ΚΑΙ ΠΛΑΣΜΑΤΟΣ	69
3.3.6 ΜΙΚΚΥΛΙΑΚΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΣΤΗ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ	70
3.3.6.1 Υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης(HPLC)	71
3.3.6.2 Χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (TLC).	72
3.3.6.3 Γενικές εφαρμογές της μικκυλλιακής χρωματογραφίας	73
3.4 ΜΙΚΚΥΛΙΑΚΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΣΤΗΝ ΕΚΧΥΛΙΣΗ	74
3.4.1 ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑ ΤΩΝ ΥΔΑΤΙΚΩΝ ΔΙΑΛΥΜΑΤΩΝ ΜΗ ΙΟΝΙΚΩΝ ΤΑΣΕΝΕΡΓΩΝ ΩΣ ΠΡΟΣ ΤΟ ΔΙΑΧΩΡΙΣΜΟ ΦΑΣΕΩΝ	77
3.4.2 ΕΚΧΥΛΙΣΗ ΣΗΜΕΙΟΥ ΝΕΦΕΛΩΣΗΣ. ΜΙΑ ΝΕΑ ΑΝΑΛΥΤΙΚΗ ΠΟΡΕΙΑ ΠΡΟΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗΣ ΚΑΙ ΔΙΑΧΩΡΙΣΜΟΥ	78
3.4.2.1 Εκχύλιση μέσω σχηματισμού νεφελωμάτων ως προκαταρκτικό στάδιο για ανάλυση σε ροή με έγχυση δείγματος	80
3.4.2.2 Η μεθοδολογία εκχύλισης μέσω σχηματισμού νεφελωμάτων πριν από ανάλυση με υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης	81
3.4.3 ΕΚΧΥΛΙΣΗ ΜΕΤΑΛΛΙΚΩΝ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ	82
3.4.3.1 Εφαρμογή στην ανάλυση ιχνοστοιχείων	84
3.4.3.2 Παράμετροι απόδοσης της εκχύλισης σημείου νεφέλωσης σε σύμπλοκα	84
3.4.3.3 Εκχύλιση οργανικών ενώσεων	85
3.4.3.4 Εκχύλιση υδρόφοβων πρωτεϊνών	85
3.4.3.5 Συνοπτικά πλεονεκτήματα	86
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	88

4^ο Κεφάλαιο: Τεχνικές Στοιχειακής Εξειδίκευσης

4.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ	91
4.2 ΑΤΟΜΙΚΗ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ	91
4.3 ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ ΑΤΟΜΙΚΗΣ ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗΣ(AAS)	93
4.4 ΜΕΘΟΔΟΙ ΑΤΟΜΙΚΗΣ ΕΚΠΟΜΠΗΣ	95
4.4.1 ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΕΚΠΟΜΠΗΣ ΜΕ ΔΙΕΓΕΡΣΗ ΑΠΟ ΦΛΟΓΑ	95
4.4.2 ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΑ ΕΚΠΟΜΠΗΣ ΜΕ ΔΙΕΓΕΡΣΗ ΠΛΑΣΜΑΤΟΣ	96
4.5 ΑΤΟΜΙΚΟΣ ΦΘΟΡΙΣΜΟΣ	98
4.5.1 ΦΘΟΡΙΣΜΟΣ ΑΚΤΙΝΩΝ-Χ	99
4.6 ΠΑΡΕΜΠΟΔΙΣΕΙΣ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ ΑΠΟΦΥΓΗΣ ΤΟΥΣ	100
4.6.1 ΦΑΣΜΑΤΙΚΕΣ ΠΑΡΕΜΠΟΔΙΣΕΙΣ	100
4.6.1.1 Μετρήσεις απορρόφησης	100
4.6.1.2 Μετρήσεις εκπομπής	101
4.6.2 ΧΗΜΙΚΕΣ ΠΑΡΕΜΠΟΔΙΣΕΙΣ	101
4.7 ΣΤΟΙΧΕΙΑΚΗ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ ΜΑΖΑΣ	102
4.7.1 ΟΡΓΑΝΟΛΟΓΙΑ	103
4.7.2 ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΤΕΧΝΙΚΩΝ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑΣ ΜΑΖΑΣ	104
4.7.2.1 Φασματοσκοπία μαζών με επαγωγικά συζευγμένο πλάσμα(ICP-MS)	104
4.7.2.2 Φασματοσκοπία μαζών με εκκένωση πυρακτώσεως(GD-MS)	105
4.7.2.3 Φασματοσκοπία μαζών δευτερογενών ιόντων(SI-MS)	105
4.7.2.4 Φασματοσκοπία μάζας με θερμικό ιοντισμό(TI-MS)	106
4.8 ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΠΡΟΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗΣ ΚΑΙ ΔΙΑΧΩΡΙΣΜΟΥ	107
4.8.1 ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΠΡΟΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗΣ	107
4.8.2 ΜΕΘΟΔΟΙ ΔΙΑΧΩΡΙΣΜΟΥ	113
4.8.2.1 Υγρή χρωματογραφία υψηλής πίεσης	113
4.8.2.2 Χρωματογραφία ιονανταλλαγής	114
4.8.2.3 Αέρια χρωματογραφία	115
4.8.2.4 Γένεση υδριδίων	115
4.8.2.5 Ηλεκτροφόρηση σε τριχοειδή	116
4.9 ΑΝΤΙΠΑΡΑΒΟΛΗ ΤΕΧΝΙΚΩΝ ΚΑΙ ΑΝΙΧΝΕΥΤΩΝ ΣΕ ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ ΕΙΔΟΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ	116
4.9.1 ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΑ ΑΤΟΜΙΚΗΣ ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗΣ ΜΕ ΦΛΟΓΑ	117

4.9.2 ΗΛΕΚΤΡΟΘΕΡΜΙΚΗ ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΑ ΑΤΟΜΙΚΗΣ ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗΣ (ETAAS)	118
4.9.3 ΑΤΟΜΙΚΗ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ ΕΚΠΟΜΠΗΣ ΜΕ ΕΠΑΓΩΓΙΚΑ ΣΥΖΕΥΓΜΕΝΟ ΠΛΑΣΜΑ(ICP-AES)	119
4.9.4 ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ ΜΑΖΩΝ ΜΕ ΕΠΑΓΩΓΙΚΑ ΣΥΖΕΥΓΜΕΝΟ ΠΛΑΣΜΑ (ICP-MS)	119
4.9.5 ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ ΑΤΟΜΙΚΟΥ ΦΘΟΡΙΣΜΟΥ	120
4.9.6 ΠΛΑΣΜΑ ΣΥΝΕΧΟΥΣ ΡΕΥΜΑΤΟΣ(DCP) ΚΑΙ ΠΛΑΣΜΑ ΕΠΑΓΟΜΕΝΟ ΜΕ ΜΙΚΡΟΚΥΜΑΤΑ(MIP).	120
4.9.7 ΑΛΛΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ ΓΙΑ ΑΝΑΛΥΣΗ ΕΙΔΟΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ	121
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	122

II. Πειραματικό Μέρος

Προοίμιο	125
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	130

1^ο Κεφάλαιο: Ανάλυση Ειδοταυτοποίησης Cr(III)-Cr(VI) με Έγχυση Δείγματος σε Συνεχή Ροή και Φθορισμομετρική Ανίχνευση

1.1 ΠΕΡΙΛΗΨΗ	135
1.2 ΕΙΣΑΓΩΓΗ	136
1.3 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	137
1.3.1 ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ	137
1.3.2 ΟΡΓΑΝΑ ΚΑΙ ΔΙΑΤΑΞΕΙΣ	138
1.3.3 ΠΟΡΕΙΑ ΕΡΓΑΣΙΑΣ	140
1.4 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ	141
1.4.1 ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΦΘΟΡΙΣΜΟΥ	141
1.4.2 ΕΠΙΛΟΓΗ ΚΑΤΑΛΛΗΛΟΥ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΥ ΜΕΣΟΥ ΓΙΑ ΤΗΝ ΟΞΕΙΔΩΣΗ ΤΟΥ Cr(III) ΣΕ Cr (VI)	143
1.4.3 ΒΕΛΤΙΣΤΟΠΟΙΗΣΗ ΤΩΝ ΣΥΝΘΗΚΩΝ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ ΤΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ΡΟΗΣ	144
1.4.4 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΟΞΥΤΗΤΑΣ	146
1.4.5 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΔΙΑΛΥΤΩΝ	147

1.5 ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ	148
1.6 ΠΑΡΕΜΠΟΔΙΣΕΙΣ	150
1.7 ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ	151
1.7.1 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΟΛΙΚΟΥ ΧΡΩΜΙΟΥ ΣΕ ΥΛΙΚΑ ΑΝΑΦΟΡΑΣ	152
1.7.2 ΤΑΥΤΟΧΡΟΝΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ Cr(III) ΚΑΙ Cr(VI) ΣΕ ΣΥΝΘΕΤΙΚΑ ΜΙΓΜΑΤΑ.	153
1.7.3 ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΝΕΡΟΥ ΚΑΙ ΤΟΜΑΤΟΧΥΜΟΥ, ΣΤΑ ΟΠΟΙΑ ΕΧΕΙ ΠΡΟΣΤΕΘΕΙ ΧΡΩΜΙΟ	153
1.7.4 ΠΡΟΕΛΕΥΣΗ ΤΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ	155
1.8 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	155
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	156

2^ο Κεφάλαιο: Ανάπτυξη Μεθοδολογίας Ειδοταυτοποίησης Χρωμίου με Διαμεσολάβηση Μικυλλιακών Συστημάτων και Φασματοφωτομετρία Ατομικής Απορρόφησης

2.1 ΠΕΡΙΛΗΨΗ	157
2.2 ΕΙΣΑΓΩΓΗ	158
2.3 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	159
2.3.1 ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ	159
2.3.2 ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ	160
2.3.3 ΠΟΡΕΙΑ ΕΡΓΑΣΙΑΣ	162
2.3.4 ΑΝΑΛΥΣΗ ΜΕ ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΑ ΑΤΟΜΙΚΗΣ ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗΣ ΜΕ ΦΛΟΓΑ	165
2.3.5 ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ	165
2.4 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ	166
2.4.1 ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΣΥΜΠΛΟΚΟΠΟΙΗΣΗΣ ΚΑΙ ΔΙΑΧΩΡΙΣΜΟΥ	166
2.4.2 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΩΝ ΣΥΝΘΗΚΩΝ	167
2.4.2.1 Επίδραση του pH	167
2.4.2.2 Επιλογή τύπου και συγκέντρωσης της τασενεργού ουσίας	168
2.4.2.3 Συγκέντρωση αντιδραστηρίων	170
2.4.2.4 Επίδραση θερμοκρασίας	171
2.5 ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ ΚΑΙ ΑΠΟΔΟΣΗΣ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ	175

2.5.1 ΈΛΕΓΧΟΣ ΠΑΡΕΜΠΟΔΙΣΕΩΝ	176
2.5.2 ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΚΑΙ ΠΡΟΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ Cr(III) ΚΑΙ Cr(VI) ΑΠΟ ΠΡΑΓΜΑΤΙΚΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ	179
2.6 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	180
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	181

3^ο Κεφάλαιο: Βελτιωμένη και Βελτιστοποιημένη Μέθοδος για την Ειδοταυτοποίηση του Χρωμίου με Χρήση ενός μόνο Αντιδραστηρίου μετά από Εκχύλιση-Προσυγκέντρωση με Μικυλλιακά Νεφελώματα.

3.1 ΠΕΡΙΛΗΨΗ	183
3.2 ΕΙΣΑΓΩΓΗ	184
3.3 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	185
3.3.1 ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ	185
3.3.2 ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ	186
3.3.3 ΠΟΡΕΙΑ ΕΡΓΑΣΙΑΣ	187
3.4 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ	189
3.4.1 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΚΑΙ ΜΕΛΕΤΗ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΩΝ ΣΥΝΘΗΚΩΝ	189
3.4.2 ΕΞΗΓΗΣΗ ΤΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΤΟΥ EDTA	194
3.4.3 ΠΟΛΥΠΑΡΑΜΕΤΡΙΚΗ ΒΕΛΤΙΣΤΟΠΟΙΗΣΗ ΤΩΝ ΣΥΝΘΗΚΩΝ ΤΟΥ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ	196
3.4.4 ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΣΗ ΤΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ	202
3.4.5 ΈΛΕΓΧΟΣ ΠΑΡΕΜΠΟΔΙΣΕΩΝ	203
3.4.6 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΑΠΟ ΤΗΝ ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ ΣΤΗΝ ΑΝΑΛΥΣΗ ΠΡΑΓΜΑΤΙΚΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ	203
3.5 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	205
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	206

4^ο Κεφάλαιο: Εκλεκτική Ειδοταυτοποίηση Ιχνοποσοτήτων Χρωμίου με τη Διαμεσολάβηση Μικυλλιακής Προσυγκέντρωσης Συνδεδεμένης με Μικυλλιακή Ανάλυση Συνεχούς Ροής με Έγχυση Δείγματος και Φθορισμομετρική Ανίχνευση

4.1 ΠΕΡΙΛΗΨΗ	207
--------------	-----

4.2 ΕΙΣΑΓΩΓΗ	208
4.3 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	211
4.3.1 ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ	211
4.3.2 ΌΡΓΑΝΑ ΚΑΙ ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ	211
4.3.3 ΠΟΡΕΙΑ ΕΡΓΑΣΙΑΣ	212
4.3.4 ΠΡΑΓΜΑΤΙΚΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ	214
4.4 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ	214
4.4.1 Η ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ	214
4.4.2 ΜΕΛΕΤΕΣ ΤΩΝ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ ΤΗΣ ΔΙΑΤΑΞΗΣ ΡΟΗΣ ΚΑΙ ΜΕΤΡΗΣΗΣ	215
4.4.3 ΜΕΛΕΤΕΣ ΒΕΛΤΙΣΤΟΠΟΙΗΣΗΣ ΤΗΣ ΕΚΧΥΛΙΣΗΣ ΣΗΜΕΙΟΥ ΝΕΦΕΛΩΣΗΣ	218
4.4.3.1 Επίδραση του pH	218
4.4.3.2 Επίδραση του είδους της τασενεργού ουσίας και της συγκέντρωσής της στην προσυγκέντρωση και στο φθορισμό	219
4.4.3.3 Επίδραση της συγκέντρωσης της 8-Υδροξικινολίνης	221
4.4.3.4 Επίδραση του χρόνου επώασης και της αντίστοιχης θερμοκρασίας	222
4.4.3.5 Επίδραση του όγκου του εκλουστικού (μεθανόλη) στη μικυλλιακή φάση	224
4.4.3.6 Επίδραση της ιοντικής ισχύος και άλλων παραμέτρων	224
4.4.3.7 Μελέτη παρεμποδίσεων	225
4.5 ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΣΗ ΚΑΙ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ	227
4.5.1 ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΤΗΣ ΠΡΟΤΕΙΝΟΜΕΝΗΣ ΤΕΧΝΙΚΗΣ ΣΤΗΝ ΠΡΟΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΚΑΙ ΕΙΔΟΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥ ΧΡΩΜΙΟΥ ΣΕ ΠΡΑΓΜΑΤΙΚΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ	229
4.6 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	229
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	232

5^ο Κεφάλαιο: Εφαρμογή της Εκχύλισης Μέσω Σημείου Νεφέλωσης για την Βελτίωσης της Ειδοταυτοποίησης Χρωμίου με τη Χρήση Ανιχνευτή Χημειοφωταύγειας και την Ενισχυτική Παρουσία Ιόντων Αλογόνων

5.1 ΠΕΡΙΛΗΨΗ	235
5.2 ΕΙΣΑΓΩΓΗ	236
5.3 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	238
5.3.1 ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ	238

5.3.2 ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ	240
5.3.3 ΠΟΡΕΙΑ ΕΡΓΑΣΙΑΣ	240
5.4 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ	242
5.4.1 ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΠΟΡΕΙΑΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ	242
5.4.2 ΒΕΛΤΙΣΤΟΠΟΙΗΣΗ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ	243
5.4.2.1 Επίδραση του διαλύτη της μικυλλιακής φάσης	243
5.4.2.2 Επίδραση αλογονούχων ιόντων	245
5.4.2.3 Επίδραση του pH	246
5.4.2.4 Επίδραση της θερμοκρασίας και του χρόνου επώασης	246
5.4.2.5 Παράμετροι ροής	248
5.4.2.6 Συγκέντρωση αντιδραστηρίων	249
5.4.3 ΈΛΕΓΧΟΣ ΚΑΙ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΠΑΡΕΜΠΟΔΙΣΕΩΝ	251
5.4.4 ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΣΗ ΚΑΙ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ	255
5.4.5 ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΤΗΣ ΠΡΟΤΕΙΝΟΜΕΝΗΣ ΤΕΧΝΙΚΗΣ ΣΤΗΝ ΠΡΟΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΚΑΙ ΕΙΔΟΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΧΡΩΜΙΟΥ ΣΕ ΠΡΑΓΜΑΤΙΚΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ	257
5.6 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	257
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	259
Summary	261
Περίληψη	265
Δημοσιεύσεις	271

Πρόλογος

Η εκπόνηση της διατριβής αυτής πραγματοποιήθηκε στα εργαστήρια Αναλυτικής Χημείας και Χημείας Τροφίμων του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.

Η διατριβή αποτελείται από δύο μέρη. Το πρώτο είναι θεωρητικό και περιλαμβάνει μια περιγραφή της χημείας του χρωμίου, η ανάλυση του οποίου αποτελεί τον κύριο στόχο της διατριβής. Επίσης στο θεωρητικό μέρος αναπτύσσονται οι έννοιες της ειδοταυτοποίησης και της ανάλυσης ειδοταυτοποίησης, η χημική συμπεριφορά και οι αναλυτικές εφαρμογές των τασενεργών ουσιών ενώ παράλληλα επιχειρείται μια παράθεση και αντιπαραβολή των κυρίωτερον τεχνικών στοιχειακής εξειδίκευσης. Στο δεύτερο μέρος, το οποίο είναι πειραματικό, παρουσιάζονται πέντε διαφορετικές προσεγγίσεις για την ανάλυση ειδοταυτοποίησης του χρωμίου σε δείγματα βιολογικού και περιβαλλοντικού ενδιαφέροντος. Στα κεφάλαια αυτά παρουσιάζεται η τεχνική της μικκυλιακής εκχύλισης ενώ για την ανίχνευση του χρωμίου χρησιμοποιούνται μια ποικιλία ανιχνευτών (Φθορισμόμετρο, Ατομική Απορρόφηση, Χημειοφωταύγεια).

Στο τέλος της διατριβής υπάρχει μια συνοπτική περιγραφή στα αγγλικά και στα ελληνικά, ενώ αναφέρονται οι δημοσιεύσεις σε διεθνή περιοδικά, που προέκυψαν από την διατριβή αυτή και από την περαιτέρω εξέλιξή της.

Στο σημείο αυτό θα ήθελα να ευχαριστήσω όλους όσους συνέβαλαν στην πραγματοποίηση της διατριβής μου.

Η επίβλεψη της διατριβής αυτής έγινε από τον Καθηγητή Μιλτιάδη Καραγιάννη, τον οποίο ευχαριστώ θερμά για την ανάθεση του θέματος, την καθοδήγηση, τις πολύτιμες συμβουλές και την ποικιλόμορφη στήριξη και συμπαράσταση κατά τη διάρκεια των μεταπτυχιακών μου σπουδών.

Επίσης ευχαριστώ ιδιαίτερα τα μέλη της τριμελούς επιτροπής Επίκουρη Καθηγήτρια Στέλλα Τζουβάρα-Καραγιάννη για την πολύπλευρη υποστήριξή της και τις εύστοχες υποδείξεις και διορθώσεις και τον Επίκουρο Καθηγητή Δημήτριο Θεμελή για την εποικοδομητική κριτική και τις εύστοχες παρεμβάσεις του.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον Λέκτορα Κωνσταντίνο Σταλικά για την ουσιαστική του βοήθεια στην ολοκλήρωση και συγγραφή της διατριβής.

Επίσης οφείλω να ευχαριστήσω τον Καθηγητή Νικόλαο Ευμοιρίδη και τον Λέκτορα Αθανάσιο Βλεσσίδα για την διάθεση της διάταξης μέτρησης χημειοφωταύγειας για την πραγματοποίηση των επιβεβαιωτικών πειραμάτων του 5^{ου} Κεφαλαίου του Πειραματικού Μέρους και την συνδρομή τους στην περαιτέρω βελτίωσή του.

Ξεχωριστές ευχαριστίες οφείλω στους φίλους και συναδέλφους Δρ. Θεοδόσιο Σίκαλο και Δρ. Αγγελική Φλώρου, των οποίων οι συμβουλές και η συμπαράσταση υπήρξαν πολύτιμοι αρωγοί στην ολοκλήρωση της διατριβής, καθώς και τον κ. Δημοσθένη Γκιώκα για την πολύτιμη βοήθεια και την άψογη συνεργασία.

Ευχαριστώ πολύ τους συναδέλφους Δρ. Μάμαντο Προδρομίδη, Δρ. Ιωάννη Πέττα, κ. Χρήστο Κατσαούνο, κ. Άγγελο Ντάντο, κ. Αλέξανδρο Παππά, κα. Αντιγόνη Παπαδοπούλου, κ. Κώστα Τσιαφούλη, κα. Ειρήνη Τσουπή και κ. Ηλία Κάζο για την συνεργασία τους.

Επίσης ευχαριστώ τα μέλη ΔΕΠ και τους μεταπτυχιακούς φοιτητές του Εργαστηρίου Τροφίμων για τη συνεργασία και την κατανόηση που έδειξαν σε όλη την διάρκεια των πειραμάτων, μέρος των οποίων πραγματοποιήθηκε στο Ερευνητικό Εργαστήριο Τροφίμων.

Πριν και πάνω από όλα όμως οφείλω να ευχαριστήσω τη γιαγιά μου, η οποία με έμαθε να μελετώ, να σκέφτομαι και να αγωνίζομαι για αυτά που θέλω να πετύχω, καθώς και τους γονείς και τα αδέρφια μου, που με στήριξαν, μου συμπαραστάθηκαν και κυρίως με ανέχτηκαν σε όλη τη διάρκεια της διατριβής μου.

Ευάγγελος Κ. Παλαιολόγος

Ιωάννινα, Δεκέμβριος 2001

Χρώμιο

Χημεία και Εφαρμογές

Θεωρητικό Μέρος

1⁰ ΚΕΦΑΛΑΙΟ

1.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το χρώμιο(Cr) ανακαλύφθηκε το 1797 από τον Louis Nicolas Vauquelin. Το όνομά του προέρχεται από τη λέξη χρώμα και στην παρουσία του οφείλεται το έντονο κόκκινο χρώμα των ρουμπινιών (ρουμπινί) και το πράσινο των σμαραγδιών (σμαραγδί). Το χρώμιο αποτελεί ένα από τα πιο διαδεδομένα στοιχεία στη φύση. Είναι το 21 κατά σειρά αφθονίας συστατικό του φλοιού της γης, με ποσοστό 0,01 % κατά βάρος, ενώ η παρουσία του είναι έκδηλη και στο υπόλοιπο περιβάλλον. Η μέση περιεκτικότητα σε χρώμιο για τον φλοιό της γης είναι 100 ppm, για τη θάλασσα 0,5 ppb, για τα ποτάμια 1,0 ppb, για τη θαλάσσια πανίδα 1,0 ppm και για την επίγεια πανίδα 0,23 ppm¹.

Το χρώμιο δεν υπάρχει ελεύθερο στη φύση, αλλά με τη μορφή των αλάτων του. Το κυριότερο άλας του χρωμίου είναι ο χρωμίτης (FeOCr_2O_3), το οποίο είναι ένα σπινέλιο, με το Cr(III) να καταλαμβάνει τις οκταεδρικές και το Fe(II) τις τετραεδρικές θέσεις. Άλλα, λιγότερο διαδεδομένα ορυκτά του χρωμίου, είναι ο κροκοίτης (PbCrO_4) και η ώχρα του χρωμίου (Cr_2O_3).

Τα πλουσιότερα κοιτάσματα χρωμίου βρίσκονται στη Νότια Αφρική, η οποία κατέχει το 95% της παγκόσμιας παραγωγής. Άλλες χώρες πλούσιες σε κοιτάσματα χρωμίου είναι η Αλβανία, η Τουρκία, η Ρωσία και η Ζιμπάμπουε. Η επεξεργασία του ακατέργαστου χρωμίου γίνεται κυρίως στις Η.Π.Α, τον Καναδά, τη Βραζιλία και τη Γουατεμάλα.

1.2 ΤΟ ΧΡΩΜΙΟ ΣΤΗΝ ΚΑΘΗΜΕΡΙΝΗ ΖΩΗ.

Μετά το σίδηρο, το χρώμιο είναι το πιο ευρέως χρησιμοποιούμενο μέταλλο. Καθώς η παγκόσμια παραγωγή ξεπερνά τα 9,5 εκατομμύρια τόνους ετησίως, είναι επόμενο ότι βρίσκει εφαρμογή σε πολλούς τομείς της καθημερινής ζωής².

1.2.1 ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΑ

Το χρώμιο χρησιμοποιείται κυρίως στη παραγωγή ανοξείδωτου χάλυβα και σε επιμεταλλώσεις. Επίσης βρίσκει εφαρμογή στην επεξεργασία των δερμάτων (βυρσοδεψία), στην τυπογραφία και στην παραγωγή χρωμάτων, βαφών και προϊόντων για την προστασία από τη διάβρωση και τη σκουριά. Στις βιομηχανίες αυτές η συγκέντρωση του χρωμίου στον αέρα και την αιωρούμενη σκόνη κυμαίνεται από 5 ως και 1000 μικρογραμμάρια ανά κυβικό μέτρο αέρα³.

1.2.2 ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ

Η συγκέντρωση του χρωμίου στην ατμόσφαιρα μπορεί να κυμαίνεται από 0,005 νανογραμμάρια ανά κυβικό μέτρο αέρα σε απομακρυσμένες περιοχές, όπως στους πόλους, μέχρι 300 νανογραμμάρια ανά κυβικό μέτρο αέρα σε βιομηχανικές ζώνες⁴. Στις απομακρυσμένες περιοχές το χρώμιο της ατμόσφαιρας προέρχεται από τις ενώσεις του χρωμίου, που βρίσκονται στο έδαφος, οι οποίες είναι ιοντικά στερεά με αμελητέα τάση ατμών. Έτσι εξηγείται και η χαμηλή περιεκτικότητα. Αντίθετα οι υψηλές συγκεντρώσεις

από τις οποίες προέρχεται η ατμόσφαιρα κυμαίνεται από 56

Στα φυσικά ύδατα οι κανονικές - από φυσικές πηγές- συγκεντρώσεις του χρωμίου είναι πολύ μικρές (0 ως 5 ppb για το πόσιμο και <1 ppb για το θαλασσινό νερό) και δεν αποτελούν πηγές γενικότερης ρύπανσης και κινδύνου.

Όσον αφορά τα τρόφιμα, το χρώμιο αποτελεί συστατικό όλων σχεδόν των τροφίμων και ποτών σε μικρότερο ή μεγαλύτερο ποσοστό. Οι μέσες τιμές περιεκτικότητας κυμαίνονται από 30 ως 100 νανογραμμάρια ανά γραμμάριο υγρής τροφής. Για τη μαγιά της μπύρας η τιμή αυτή είναι κατά 10 φορές μεγαλύτερη. Το πόσιμο νερό περιέχει λιγότερο από 10 ppb χρωμίου, ενώ αλκοολούχα ποτά, όπως η μπύρα και το κρασί, μπορεί να περιέχουν από 300 ως 450 ppb. Η ημερήσια πρόσληψη χρωμίου μέσω της διατροφής υπολογίζεται στα 50 μικρογραμμάρια^{7,8}.

Με τις συγκεντρώσεις και τη γενικότερη συμπεριφορά του χρωμίου στο περιβάλλον θα ασχοληθούμε ξεχωριστά στη συνέχεια.

1.2.3 ΤΟ ΧΡΩΜΙΟ ΣΤΗΝ ΕΠΙΣΤΗΜΗ ΚΑΙ ΤΗΝ ΙΑΤΡΙΚΗ

Το ισότοπο ^{51}Cr έχει ευρύτατη χρήση στην ιατρική και τη βιολογία για την επισήμανση (labeling) κυττάρων *in vivo*⁹. Έχει ημιπερίοδο ζωής 27,7 ημέρες και εκπέμπει ακτίνες γάμα, όσο και εσωτερικά ηλεκτρόνια (Auger). Το Cr(VI) απορροφείται ταχύτατα από τα ερυθρά αιμοσφαίρια, όπου δεσμεύεται από την αιμοσφαιρίνη. Η ικανότητά του αυτή επέτρεψε στους επιστήμονες να υπολογίσουν την ποσότητα του αίματος στον οργανισμό, το μοντέλο κίνησης των ερυθρών αιμοσφαιρίων και τη λειτουργία της σπλήνας. Με τη βοήθεια των επισημασμένων κυττάρων ανιχνεύονται οι διάφορες γαστρορραγίες. Επιπλέον με την επισήμανση ειδικών ομάδων κυττάρων, όπως τα λευκά αιμοσφαίρια, τα αιμοπετάλια, τα ηπατικά κύτταρα και τα κύτταρα των παρασιτικών μικροοργανισμών, έγινε δυνατή η μελέτη της λειτουργίας και της κατανομής των παραπάνω κυττάρων στον οργανισμό και μάλιστα *in vivo*⁹.

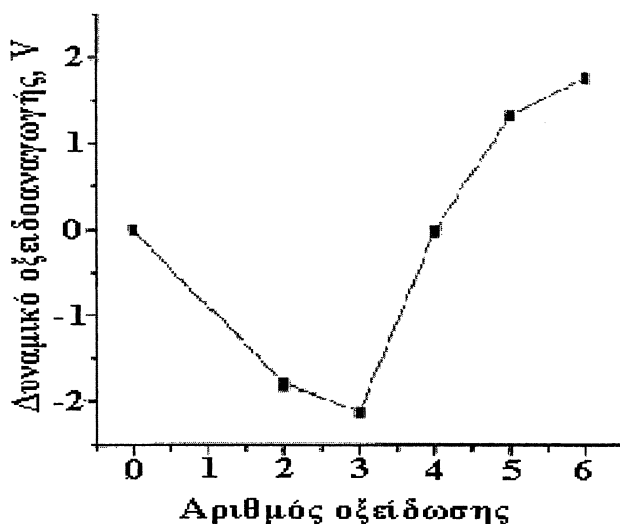
Το τριοξείδιο του χρωμίου έχει κατά καιρούς χρησιμοποιηθεί για τον καυτηριασμό πληγών, ιδιαίτερα στις ρινορραγίες. Βέβαια το τριοξείδιο του χρωμίου έχει θεωρηθεί καρκινογόνο και υπεύθυνο για νεοπλασίες, όπως ο καρκίνος του πνεύμονα, αλλά με αυτό θα ασχοληθούμε ειδικότερα στην παράγραφο 1.6. Κράματα του χρωμίου χρησιμοποιούνται ακόμη σε επεμβάσεις προσθετικής μελών. Πειράματα με την εμφύτευση τέτοιων κραμάτων σε ποντικούς έδειξαν, ότι πιθανόν να ευθύνονται για τη δημιουργία σαρκομάτων¹⁰. Τα στοιχεία όμως είναι ανεπαρκή για να εκτιμηθεί, αν υπάρχει κίνδυνος για τον άνθρωπο. Το σύμπλοκο του Cr(III) με το EDTA έχει χρησιμοποιηθεί ως ενισχυτικό μέσο για την απεικόνιση μαγνητικού συντονισμού (magnetic resonance imaging) σε ζώα¹¹.

1.3 Η ΧΗΜΕΙΑ ΤΟΥ ΧΡΩΜΙΟΥ

Το χρώμιο έχει ατομικό αριθμό $Z=24$ και ατομικό βάρος $A.B.=51,996$. Υπάρχουν τέσσερα φυσικά ισότοπα του Cr: το ^{50}Cr , το ^{52}Cr , το ^{53}Cr και το ^{54}Cr , από τα οποία το πιο άφθονο είναι το ^{52}Cr σε ποσοστό 83,79%. Έχουν δημιουργηθεί και αρκετά τεχνητά ραδιοϊσότοπα, με σημαντικότερο το ^{51}Cr . Το χρώμιο έχει διαμόρφωση εξωτερικής στιβάδας $4s^1 3d^5$. Μπορεί έτσι να παρουσιάζει μια ποικιλία οξειδωτικών βαθμίδων από -2 ως $+6$. Οι χαμηλές οξειδωτικές καταστάσεις -2 ως 0 εμφανίζονται στις καρβονυλικές και οργανομεταλλικές ενώσεις του χρωμίου. Οι θετικές οξειδωτικές βαθμίδες είναι πιο συνηθισμένες στη φύση. Από αυτές σταθερές είναι μόνο οι $+3$ και $+6$, ενώ οι υπόλοιπες ($+2$,

+4, +5) σχηματίζονται μόνο ως ασταθή ενδιάμεσα των αντιδράσεων οξειδωσης και αναγωγής των άλλων δύο.

Η (III) οξειδωτική βαθμίδα είναι η πιο σταθερή μορφή του χρωμίου τόσο από θερμοδυναμικής άποψης, όπως φαίνεται και από τα διαγράμματα Frost, όσο και από κινητικής. Αυτό αποδίδεται στο γεγονός, ότι στα υδατικά του διαλύματα υπάρχει με τη μορφή του οκταεδρικού, εφυδατωμένου συμπλόκου $\text{Cr}(\text{H}_2\text{O})_6^{3+}$, γεγονός που το καθιστά εξαιρετικά αδρανές. Κατά συνέπεια η μετάπτωση του Cr(III) σε άλλες οξειδωτικές καταστάσεις θα απαιτεί μεγάλα ποσά ενέργειας. Η αρνητική τιμή του κανονικού δυναμικού οξειδοαναγωγής (E^0), για το ζεύγος Cr(III)/Cr(II) δηλώνει, ότι το Cr(II) οξειδώνεται αυθόρμητα προς Cr(III) ενώ στη φύση μπορεί να υπάρχει μόνο σε αναερόβιες συνθήκες, απουσία οξειδωτικών μέσων.



Σχήμα 1.1 : Διάγραμμα Frost των οξειδωτικών βαθμίδων του Χρωμίου

Εξάλλου το Cr(VI) παρουσιάζει ένα πολύ υψηλό(θετικό) δυναμικό οξειδοαναγωγής(μεταξύ 1,83 και 1,88 V)¹² που υποδηλώνει σαφώς, ότι είναι ένας ισχυρότατος οξειδωτικός παράγων. Είναι δε ιδιαίτερα δραστικό παρουσία πυρηνόφιλων αντιδραστηρίων(δότες ηλεκτρονίων). Το δυναμικό αυτό τείνει να μειωθεί με την αύξηση του pH, καθώς η αναγωγή του HCrO_4^- συνοδεύεται από την κατανάλωση κατιόντων υδρογόνου (H^+).



Σε αλκαλικότερα διαλύματα η αναγωγή του CrO_4^{2-} οδηγεί στην παραγωγή ιόντων OH^- . Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα την αποσταθεροποίηση της +3 οξειδωτικής βαθμίδας του χρωμίου σε σχέση με την +6. Ταυτόχρονα καθώς το pH του διαλύματος αυξάνεται παρατηρείται

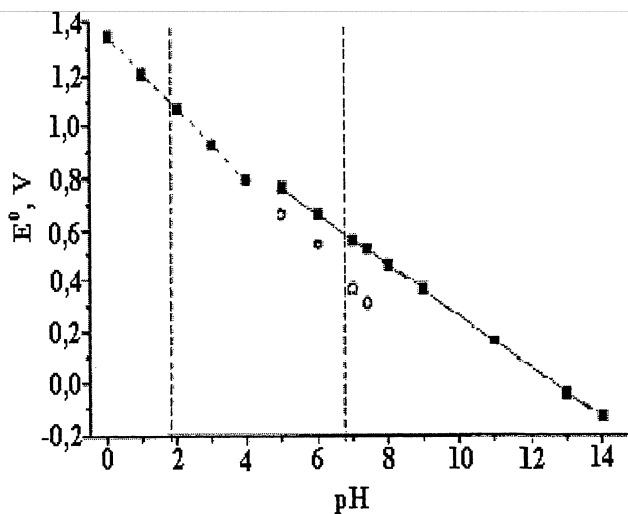
μείωση του δυναμικού οξειδοαναγωγής του συστήματος¹³. Η εξάρτηση του δυναμικού από το pH είναι στην πραγματικότητα πιο έντονη σε όξινα και ασθενώς αλκαλικά περιβάλλοντα (όπου το CrO_4^{2-} είναι η κυρίαρχη μορφή) λόγω της δημιουργίας των συμπλόκων $\text{Cr}(\text{OH})_6^{3+}$ και $\text{Cr}(\text{OH})_2^+$, τα οποία ανταγωνίζονται τη μοριακή ένωση $\text{Cr}(\text{OH})_3$.

Γίνεται επομένως εύκολα κατανοητό, ότι σε αερόβιες συνθήκες το pH και το δυναμικό οξειδοαναγωγής αποτελούν καθοριστικούς παράγοντες για την ισορροπία μεταξύ Cr(III) και Cr(VI). Εντούτοις θα πρέπει να λαμβάνεται σοβαρά υπόψη η δημιουργία συμπλόκων από το Cr(III) και ο σχηματισμός

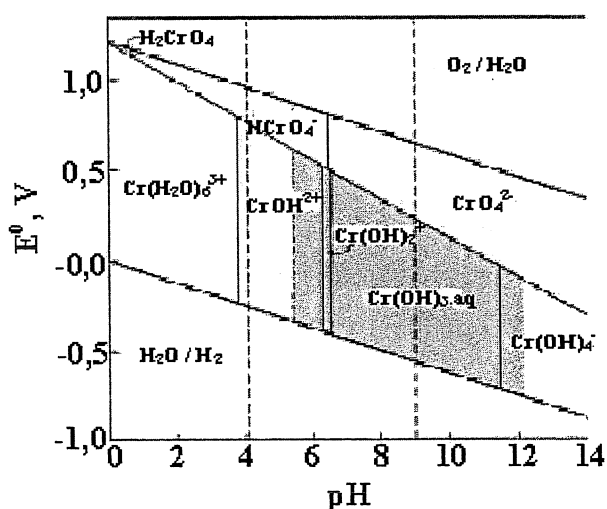
πολυπυρηνικών ενώσεων και από τις δύο οξειδωτικές καταστάσεις. Η οξειδοαναγωγική συμπεριφορά του χρωμίου καθώς και οι περιοχές pH και δυναμικού, στις οποίες τα διάφορα είδη του χρωμίου είναι θερμοδυναμικά σταθερά, συνοψίζονται με τη βοήθεια ενός διαγράμματος Pourbaix, όπως αυτό που φαίνεται στο Σχήμα 1.3.

Στο διάγραμμα αυτό, παρουσιάζεται η θερμοδυναμική συμπεριφορά του χρωμίου, παρουσία αέρα και απουσία συμπλεκτικών αντιδραστηρίων. Στα διαγράμματα αυτά όμως δε λαμβάνονται υπόψη οι κινητικοί περιορισμοί, στους οποίους υπόκειται το χρώμιο. Οι περιορισμοί αυτοί επηρεάζουν σε μεγάλο βαθμό τη συμπεριφορά του χρωμίου στο περιβάλλον και σε πολλές περιπτώσεις ενισχύουν την παρουσία και απουσία

ενώσεών του, που με βάση τα διαγράμματα Pourbaix δεν θα μπορούσαν να ερμηνευθούν.



Σχήμα 1.2 : Εξάρτηση του κανονικού δυναμικού οξειδοαναγωγής του Cr(VI) από το pH.

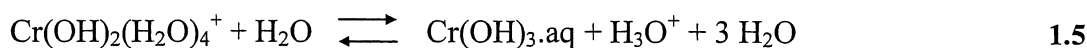
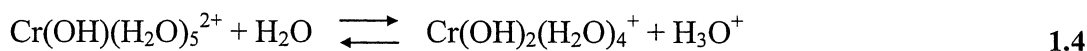
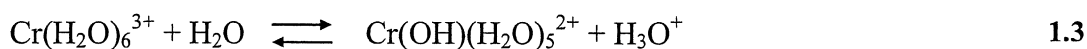


Σχήμα 1.3 : Διάγραμμα Pourbaix.

1.3.1 ΧΗΜΙΚΗ ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑ ΤΟΥ Cr(III)

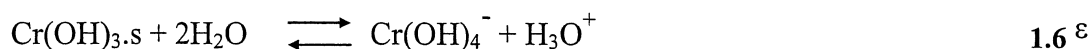
Όπως γίνεται κατανοητό και από τα διαγράμματα, το Cr(III) απαντά στο περιβάλλον σε διάφορες συγκεντρώσεις και μορφές. Η σχετική εμφάνιση των διαφόρων αυτών μορφών είναι συνάρτηση ενός μεγάλου αριθμού φυσικοχημικών παραμέτρων, όπως υδρόλυση, συμπλοκοποίηση, προσρόφηση και οξειδοαναγωγικές αλληλεπιδράσεις. Σε υδατικό περιβάλλον, όπου το H₂O και το OH⁻ είναι οι μοναδικοί συμπλεκτικοί παράγοντες, το Cr(III) υπάρχει με τη μορφή του τρισθενούς, εξαεφυδατωμένου ιόντος Cr(H₂O)₆³⁺ και των προϊόντων υδρόλυσής του.

Το Cr(H₂O)₆³⁺ είναι ένα μετρίως ισχυρό οξύ (pK_a ~ 4)



Τα παραπάνω προϊόντα αποπρωτονίωσης του Cr(H₂O)₆³⁺ αφθονούν διαδοχικά σε pH από 4 ως 10. Το υδροξείδιο του χρωμίου είναι ελάχιστα διαλυτό σε περιοχές pH από 5,5 – 12 (ή 6,5 – 11,5 σύμφωνα με άλλες αναφορές). Οι τιμές αυτές παρουσιάζουν σημαντική επικάλυψη με την περιοχή, στην οποία κυμαίνεται το pH των περιβαλλοντικών υδάτων. Κατά συνέπεια αναμένεται¹⁴, ότι οι κυρίαρχες μορφές, με τις οποίες θα βρίσκεται το Cr στους υδάτινους ορίζοντες, θα είναι το Cr(OH)²⁺ και το Cr(OH)₃.

Το τελευταίο εμφανίζει αμφιπρωτικές ιδιότητες και σε μεγαλύτερα pH μετατρέπεται στο τετρα-ύδροξυ σύμπλοκο, Cr(OH)₄⁻, το οποίο είναι ευδιάλυτο στο νερό. (pK = 15,4 ή 18,3)^{14,15}.



συγκ

εντρώσεις Cr(III) μεγαλύτερες από 10⁻⁶ M αναμένεται ο σχηματισμός πολυπυρηνικών προϊόντων υδρόλυσης του χρωμίου, όπως για παράδειγμα τα Cr₂(OH)₂⁴⁺, Cr₃(OH)₄⁵⁺ και Cr₄(OH)₆⁶⁺.

Το Cr(III) είναι ένα ‘σκληρό’ οξύ κατά Lewis. Έτσι εμφανίζει μεγάλη τάση σχηματισμού οκταεδρικών συμπλόκων με διάφορους υποκαταστάτες, όπως νερό, αμμωνία, αιθυλενοδιαμίνη και άλλες οργανικές ενώσεις, που περιέχουν οξυγόνο, άζωτο ή θείο σαν άτομα δότες. Ο αριθμός ένταξης του χρωμίου στα σύμπλοκα αυτά είναι 6.

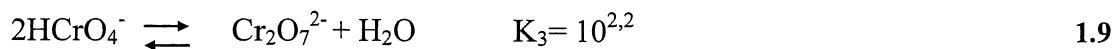
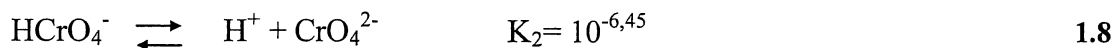
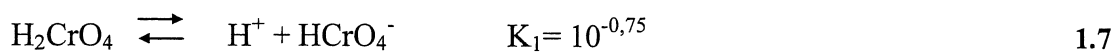
Η παραπάνω σύμπλεξη του Cr(III) προκαλεί αύξηση της διαλυτότητάς του, ιδιαίτερα δε όταν οι υποκαταστάτες είναι διακριτά μόρια ή ιόντα. Όταν όμως τα άτομα δότες προέρχονται από μακρομοριακά συστήματα, όπως τα χουμικά και φουλβικά οξέα, τότε το σύμπλοκο που σχηματίζεται εμφανίζει αυξημένη αδράνεια.

Στο pH και τις οξειδοαναγωγικές συνθήκες, που επικρατούν στο περιβάλλον, η δράση τέτοιων μακρομοριακών αντιδραστηρίων μπορεί να θεωρηθεί αμελητέα. Έτσι το Cr(III) μπορεί να απομακρυνθεί από το υδατικό του περιβάλλον είτε ως Cr(OH)₃, ή με τη μορφή του προϊόντος συγκαθίζησης, (Cr_xFe_{1-x})(OH)₃, παρουσία Fe¹⁴.

Το δυναμικό που πρέπει να εφαρμοστεί, ώστε το Cr(III) να οξειδωθεί σε Cr(VI), είναι αρκετά μεγάλο και έτσι τα οξειδωτικά μέσα, που μπορούν να προκαλέσουν μια τέτοια οξείδωση, είναι ελάχιστα. Ειδικά δε η οξειδωτική δράση του διαλυμένου οξυγόνου είναι σχεδόν μηδενική χωρίς την καταλυτική διαμεσολάβηση ουσιών, όπως τα οξείδια του μαγγανίου. Η παρουσία των τελευταίων αποτελεί την αποτελεσματικότερη και πιο υπολογίσιμη πηγή οξείδωσης του Cr(III) σε Cr(VI) στο περιβάλλον¹.

1.3.2 ΧΗΜΙΚΗ ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑ ΤΟΥ Cr(VI)

Το Cr(VI), ανάλογα με το pH και τη συνολική του συγκέντρωση, μπορεί να απαντά σε διάφορες μορφές, οι κυριότερες από τις οποίες είναι: H₂CrO₄, HCrO₄⁻, CrO₄²⁻ και Cr₂O₇²⁻. Η παρουσία του οξυγόνου-δότη ηλεκτρονίων είναι απαραίτητη, καθώς μόνο αυτό μπορεί να σταθεροποιήσει μια τόσο μεγάλη οξειδωτική βαθμίδα. Το χρωμικό οξύ H₂CrO₄ είναι αρκετά ισχυρό και στη μορφή αυτή βρίσκεται μόνο σε πολύ όξινα διαλύματα με pH < 1. Στην περιοχή μεταξύ 1 και 6 και για συγκεντρώσεις χρωμίου μικρότερες από 0,01 M κυριαρχεί το HCrO₄⁻, ενώ σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις παρατηρείται συμπύκνωση και σχηματισμός του πορτοκαλόχρωμου διχρωμικού ιόντος Cr₂O₇²⁻. Τέλος σε αλκαλικά διαλύματα με pH > 7 το Cr(VI) εμφανίζεται σχεδόν αποκλειστικά ως CrO₄²⁻. Οι ισορροπίες που λαμβάνουν χώρα κατά την αλληλομετατροπή των διαφόρων ειδών του χρωμίου είναι οι ακόλουθες:



Οι τιμές pH που επικρατούν στο υδατικό περιβάλλον υπαγορεύουν, ότι το Cr(VI) πρέπει να υπάρχει με κάποια από τις παραπάνω ανιονικές μορφές. Τα τρία αυτά ιόντα συμμετέχουν στο σχηματισμό ενός μεγάλου αριθμού ενώσεων, οι οποίες είναι ευδιάλυτες και ιδιαίτερα ευκίνητες. Εντούτοις τα παραπάνω οξυγονούχα ιόντα του Cr(VI) ανάγονται πολύ εύκολα από πυρηνόφιλα αντιδραστήρια (δότες ηλεκτρονίων). Τέτοιες ουσίες, όπως η οργανική ύλη και διάφορα ανόργανα αναγωγικά σώματα, είναι άφθονες τόσο στο έδαφος, όσο στο νερό και την ατμόσφαιρα¹⁶.

1.4 ΤΟ ΧΡΩΜΙΟ ΣΤΟΝ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟ

Από τη χημεία των δύο σταθερών οξειδωτικών καταστάσεων γίνεται φανερό, ότι τόσο το Cr(III), όσο και το Cr(VI) έχουν τελείως διαφορετικές ιδιότητες και δράση. Αναμένεται επομένως να αντιμετωπίζονται διαφορετικά και από τον οργανισμό.

1.4.1 ΠΡΟΣΛΗΨΗ ΚΑΙ ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΤΟΥ Cr ΣΤΟΝ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟ.

Το χρώμιο κατανέμεται εξίσου στα διάφορα όργανα του ανθρώπινου σώματος, με μοναδική εξαίρεση τους πνεύμονες, όπου η συγκέντρωσή του είναι περίπου τριπλάσια. Η περιεκτικότητα του οργανισμού σε χρώμιο είναι συνάρτηση της ηλικίας. Έτσι αυξάνεται κατά την κύηση φτάνοντας στο μέγιστο κατά τη γέννηση και στη συνέχεια μειώνεται με σταθερό ρυθμό. Το συνολικό χρώμιο στους ενήλικες κυμαίνεται από 5-10 mg. Το Cr(III) απορροφείται ελάχιστα από τον οργανισμό ανεξάρτητα από την οδό χορήγησης σε αντίθεση με το Cr(VI). Οι κυριότερες οδοί εισαγωγής του χρωμίου στον οργανισμό είναι η αναπνοή μέσω των πνευμόνων, το στόμα και στη συνέχεια το πεπτικό σύστημα με την κατάποση και το δέρμα. Όταν δεν υπάρχει έντονη ρύπανση της ατμόσφαιρας, οι σημαντικότεροι «προμηθευτές» χρωμίου είναι τα τρόφιμα και το νερό και συνεπώς η απορρόφηση του γίνεται μέσω του πεπτικού συστήματος. Το ποσοστό του χρωμίου, το οποίο εισέρχεται στον

οργανισμό με τη διατροφή, αποτελεί το 1% του συνολικού περιεχομένου των λαμβανόμενων τροφών. Αντίθετα σε περιοχές έντονης ατμοσφαιρικής ρύπανσης, όπως η βιομηχανίες επεξεργασίας του χρωμίου, η σημαντικότερη είσοδος είναι η αναπνευστική οδός και οι πνεύμονες, ενώ γενικά η απορρόφηση από τον επιθηλιακό ιστό είναι αμελητέα. Έχει βρεθεί, ότι εργαζόμενοι σε τέτοιες βιομηχανίες είχαν στους πνεύμονές τους 300 φορές περισσότερο χρώμιο, ενώ και οι συγκεντρώσεις του χρωμίου στο συκώτι, τους νεφρούς και τους αδρενογόνους αδένες ήταν αντίστοιχα 2-4, 10 και 10-50 φορές αυξημένες σε σχέση με φυσιολογικές περιπτώσεις^{17,18}.

Σε κλινικές μελέτες πάνω σε πειραματόζωα αποδείχθηκε, ότι η απορρόφηση του χρωμίου γίνεται πολύ πιο γρήγορα με τη μορφή (VI) παρά με την (III). Κατά την παρεντερική χορήγηση μόλις το 0,5 % του Cr(III) απορροφείται από τον οργανισμό σε αντίθεση με το Cr(VI), η απορρόφηση του οποίου φτάνει το 10%. Η απορρόφηση αυτή γίνεται κυρίως στο λεπτό έντερο και είναι αντιστρόφως ανάλογη του συνολικά χορηγούμενου χρωμίου¹⁹. Η αφομοίωση του χρωμίου από τις τροφές επηρεάζεται σε σημαντικό βαθμό από τη συνύπαρξη άλλων διατροφικών συστατικών. Ενώσεις που αυξάνουν την απορρόφηση είναι τα οξαλικά ιόντα, τα αμινοξέα, διάφορες βιταμίνες (όπως το νικοτινικό και το ασκορβικό οξύ), το άμυλο και οι λοιποί υδατάνθρακες γλυκόζη, φρουκτόζη και καλαμοσάκχαρο. Αντίθετα τα φυτικά ιόντα καθώς και ιχνοστοιχεία, όπως το βανάδιο, ο σίδηρος και ο ψευδάργυρος, τα οποία δρουν ανταγωνιστικά, περιορίζουν την πρόσληψη του χρωμίου από τον οργανισμό²⁰. Μείωση της απορρόφησης του χρωμίου μπορεί να προέλθει και από τη μερική αναγωγή του Cr(VI) εντός του πεπτικού συστήματος.

Μετά την απορρόφηση του το χρώμιο αποθηκεύεται κυρίως στο ήπαρ, τους νεφρούς και τους πνεύμονες, όπου εμφανίζονται και τα κυριότερα συμπτώματα της τοξικής του δράσης.

Στο αίμα το Cr(III) δεσμεύεται κυρίως από τις πρωτεΐνες του ορού και ιδιαίτερα την τρανσφερίνη, ενώ το Cr(VI) προσλαμβάνεται εξ'ολοκλήρου από τα ερυθρά αιμοσφαίρια, όπου δεσμεύεται από την αιμοσφαιρίνη. Η κυτταρική μεμβράνη είναι σχεδόν αδιαπέραστη για το Cr(III) σε αντίθεση με το Cr(VI), το οποίο την διαπερνά με απλή διάχυση. Στον ενδοκυττάριο χώρο μόλις το 10% του Cr(VI) βρίσκεται στον πυρήνα, ενώ για το Cr(III) το ποσοστό αυτό φτάνει το 50%.

1.4.2 ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΗ ΠΟΡΕΙΑ ΤΟΥ ΧΡΩΜΙΟΥ

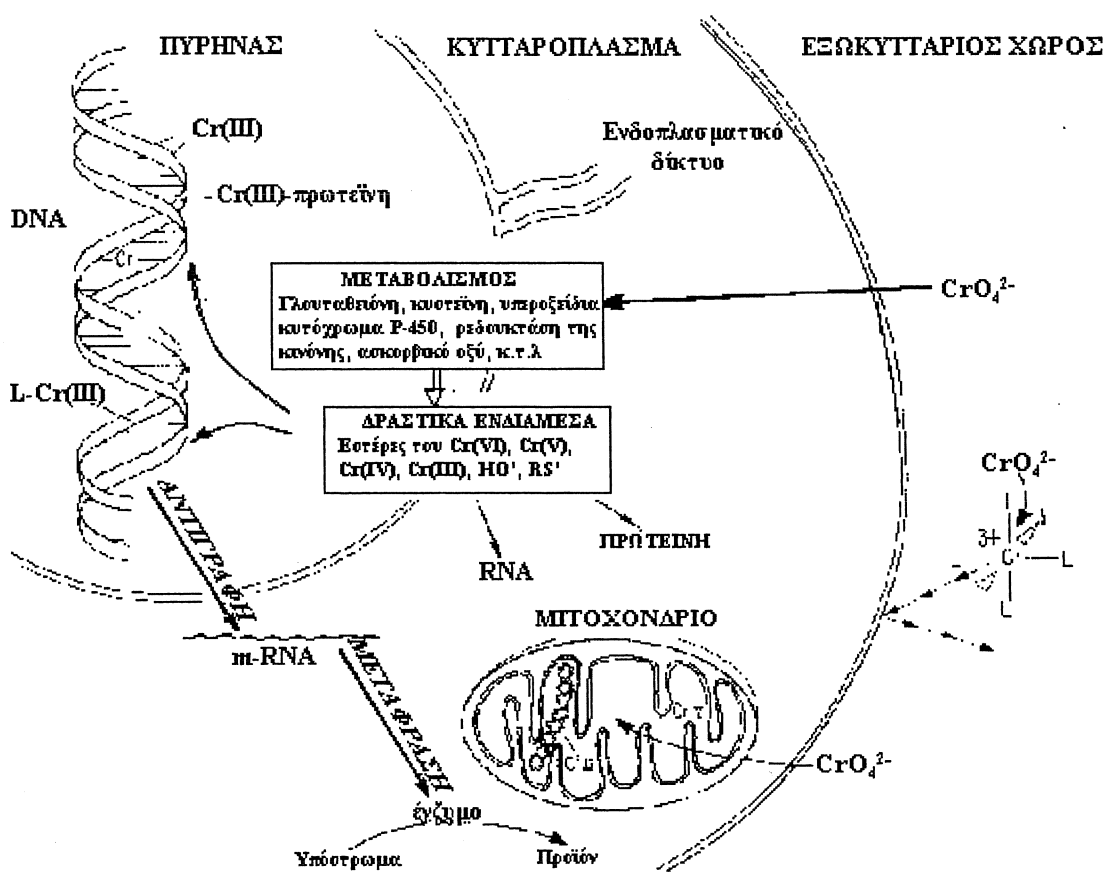
Ο μεταβολισμός του χρωμίου περιλαμβάνει αντιδράσεις αναγωγής του Cr(VI) μέσα στο κύτταρο. Η αναγωγή αυτή γίνεται από διάφορα μικρά μόρια και ενζυμικά συστήματα και οδηγεί στο σχηματισμό δραστικών ενδιάμεσων προϊόντων και Cr(III). Οι μεταβολίτες αυτοί δεσμεύονται τελικά από τα κυτταρικά οργανίδια. Η δέσμευση αυτή μπορεί να προκαλέσει αποκλίσεις από τη φυσιολογική λειτουργία του κυττάρου. *In vitro* η αναγωγή του Cr(VI) μπορεί να γίνει σε σημαντικό βαθμό από τη βιταμίνη C, τις θειόλες, τη γλουταθειόνη, την κυστεΐνη, την κυσταμίνη, το λιποϊκό οξύ και τα συνένζυμα A και M. Η απουσία γλουταθειόνης στο ήπαρ, *in vivo*, συντελεί σε μειωμένη αναγωγή του Cr(VI) και ταυτόχρονα σε αυξημένη αποβολή στη χολή. Η παρουσία της γλουταθειόνης αυξάνει την καταστροφική δράση του Cr(VI) πάνω στο DNA, λόγω του σχηματισμού Cr(V) και άλλων αδιευκρίνιστων δραστικών ενδιάμεσων. Από τα διάφορα ενζυμικά συστήματα, η DT-διαφοράση αποτελεί το σημαντικότερο κυτοσολικό ένζυμο, το οποίο προκαλεί την αναγωγή του Cr(VI). Στον ενδοκυττάριο χώρο το Cr(VI) ανάγεται στα μιτοχόνδρια και το ενδοπλασματικό δίκτυο από ενδιάμεσα προϊόντα της αλυσίδας μεταφοράς ηλεκτρονίων. Ένας ακόμα παράγοντας της αναγωγής του χρωμίου μέσω του ενδοκυττάρου μεταβολισμού είναι το κυτόχρωμα P-450. Η δράση του, η οποία αποδίδεται στην οξειδοοδουκτάση NADH-ubiquinone, οδηγεί στο σχηματισμό Cr(V) και στην ενίσχυση της ικανότητας του Cr(VI) να καταστρέφει το DNA^{21,22}.

1.4.3 ΑΠΕΚΚΡΙΣΗ ΤΟΥ ΧΡΩΜΙΟΥ ΑΠΟ ΤΟΝ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟ.

Φυσιολογικά το χρώμιο αποβάλλεται από τα νεφρά κυρίως με τα ούρα, ενώ μικρές ποσότητες απομακρύνονται στη χολή και στα περιττώματα και ακόμα μικρότερες στο γάλα των εγκύων, τον ιδρώτα, τα μαλλιά και τα νύχια⁸. Κατά την παρεντερική αλλά και ενδοφλέβια χορήγηση χρωμίου σε πειραματόζωα, το μεγαλύτερο μέρος του απομακρύνεται με τα ούρα μετά δύο ώρες από τη στιγμή της εισόδου του στον οργανισμό. Αντίθετα, όταν η είσοδος του χρωμίου γίνεται με την αναπνοή και γενικότερα μέσω της τραχείας, μεγάλη ποσότητα χρωμίου παρατηρείται στα περιττώματα. Κατά την ενδοφλέβια χορήγηση το 40% του ενυόμενου Cr(III) αποβάλλεται με τα ούρα, 5% με τα περιττώματα ενώ το 40% του Cr(VI) εξίσου και με τα δύο σε ένα χρονικό διάστημα τεσσάρων ημερών. Στο ίδιο διάστημα αποβάλλεται το 80% του Cr(VI), όταν το χρώμιο δίνεται από το στόμα. Η ημερήσια αποβολή

του χρωμίου με τα ούρα είναι 0,5 ως 2 μικρογραμμάρια σε φυσιολογικές συνθήκες, με μέση τιμή συγκέντρωσής του το 1 ppb. Στην περίπτωση ανθρώπων εκτεθειμένων σε ατμόσφαιρα με περιεκτικότητα σε χρώμιο 50 ppb η αντίστοιχη μέση τιμή της συγκέντρωσης βρέθηκε στα 10-40 ppb. Επιπλέον στο δείγμα αυτό οι καπνιστές εμφάνιζαν περίπου τη διπλάσια συγκέντρωση στα ούρα σε σχέση με τους μη καπνιστές. Η διαφοροποίηση αυτή αποδίδεται στη μειωμένη χωρητικότητα και απορρυπαντική ικανότητα των πνευμόνων των καπνιστών²³.

Το Cr(VI) προκαλεί νέκρωση της ρινικής κοιλότητας λόγω της προσρόφησής του στα τοιχώματα. Σταδιακά με την αύξηση της διάρκειας έκθεσης στο Cr(VI) παρατηρείται μείωση της προσρόφησης, καθώς προχωράει η νέκρωση της ρινικής κοιλότητας.



Σχήμα 1.4 : Μηχανισμοί ενδοκυτταρικής διείσδυσης και μεταλλαξογόνος δράση του Χρωμίου.

1.5 ΤΟ ΧΡΩΜΙΟ ΩΣ ΙΧΝΟΣΤΟΙΧΕΙΟ

Η πιο γνωστή ίσως διατροφική λειτουργία του χρωμίου, η οποία το καθιστά στοιχείο της διατροφής, είναι ότι μαζί με το νικοτινικό οξύ και άλλα αμινοξέα αποτελούν τον παράγοντα

ανοχής της γλυκόζης (glucose tolerance factor)^{8,24}. Η σύνθεση και η λειτουργία του παράγοντα αυτού, όπως και ο ρόλος του χρωμίου σε αυτόν, παραμένουν αδιευκρίνιστα καθώς τα αποτελέσματα των διαφόρων μελετών είναι αντιφατικά. Το μόνο σίγουρο είναι, ότι το χρώμιο αποτελεί ένα ιχνοστοιχείο απαραίτητο για τη διατροφή των ανθρώπων και των ζώων, καθώς η έλλειψή του μπορεί να οδηγήσει σε μειωμένη ικανότητα καταβολισμού της γλυκόζης(ζαχαροδιαβήτη), αύξηση των επιπέδων της ινσουλίνης με μείωση των υποδοχέων της και της ικανότητας δέσμευσής της, αύξηση της LDL-χοληστερόλης και των τριγλυκεριδίων, μείωση της HDL-χοληστερόλης και απώλεια βάρους, ενώ η χορήγησή του μπορεί να είναι ευεργετική σε ασθενείς με θρομβοεγκεφαλικές παθήσεις.

Η πρόσληψη του χρωμίου στην (III) οξειδωτική βαθμίδα, που είναι η ευεργετική για τον άνθρωπο, με την τροφή και το νερό καλύπτει τις ανάγκες του οργανισμού και σπάνια χρειάζεται συμπληρωματική χορήγηση. Μείωση των συγκεντρώσεων του χρωμίου και αυξημένη αποβολή του από τον οργανισμό παρατηρείται σε περιπτώσεις παρατεταμένης διατροφής με υψηλή περιεκτικότητα σε σάκχαρα, κατά την κύηση, τον θηλασμό και μετά από έντονη άσκηση ή εκτεταμένη αιμορραγία. Σε τέτοιες περιπτώσεις καθώς και σε ομάδες, όπως οι διαβητικοί, οι ηλικιωμένοι και τα παιδιά με ελλιπή διατροφή, συνίσταται η χορήγηση 50-200 μg χρωμίου ημερησίως για ένα χρονικό διάστημα δύο εβδομάδων. Αν και κυκλοφορούν στο εμπόριο συμπληρώματα διατροφής πλούσια σε χρώμιο, η μαγιά της μπύρας αποτελεί το πλέον ενδεδειγμένο. Άλλες τροφές πλούσιες σε χρώμιο είναι τα δημητριακά, οι ξηροί καρποί και το συκώτι.

1.6 ΤΟΞΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΧΡΩΜΙΟΥ

Παρά τη διατροφική του αξία το χρώμιο έχει και σημαντική τοξική δράση, η οποία οφείλεται κυρίως στην παρουσία του στην +6 οξειδωτική κατάσταση. Τα συμπτώματα από τη δηλητηρίαση με χρώμιο είναι διάρρηση του ρινικού υμένα, δερματικά έλκη και καταστροφή των νεφρών και του ήπατος.

1.6.1 ΜΕΤΑΛΛΑΞΟΓΟΝΟΣ ΚΑΙ ΚΑΡΚΙΝΟΓΟΝΟΣ ΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΧΡΩΜΙΟΥ^{22,25}.

Τόσο το Cr(III) όσο και το Cr(VI) έχουν μελετηθεί εκτεταμένα *in vivo* σε βακτήρια και κυτταρικές καλλιέργειες. Το Cr(III) αποδείχθηκε μη τοξικό σε όλες τις περιπτώσεις σε αντίθεση με το Cr(VI), του οποίου μάλιστα η τοξική δράση αυξάνεται παρουσία αναγωγικών παραγόντων. Εξάλλου μόνο το Cr(III) αλληλεπιδρά με το DNA και μπορεί να αναστείλει την

αντιγραφή του RNA και του DNA *in vitro*, ενώ το Cr(VI) δεν παρουσιάζει τέτοια δραστηριότητα παρά μόνο μετά την αναγωγή του σε Cr(III). Το γεγονός αυτό αποδεικνύει, ότι το Cr(VI) δεν είναι μεταλλαξογόνο αφ'εαυτού αλλά η δράση του διαμεσολαβείται από την ενδοκυτταρική αναγωγή του σε Cr(III), το οποίο τελικά είναι αυτό που δρα στο γενετικό υλικό. Εντούτοις το Cr(III) δεν επιφέρει καταστροφή του DNA. Άλλωστε δε διαπερνά την κυτταρική μεμβράνη. Έτσι φαίνεται, ότι η καρκινογόνος δράση του Cr(VI) οφείλεται στη δημιουργία, κατά την αναγωγή, του δραστικού ενδιάμεσου Cr(V), το οποίο επιφέρει τη μετάλλαξη του DNA. (Σχήμα 1.4)

Έτσι το Cr(VI) μπορεί να επηρεάσει την αντιγραφή και τη μεταγραφή του DNA και να αναστείλει τη σύνθεση του DNA, του RNA και των πρωτεϊνών. Το Cr(III) αποδεικνύεται 100 φορές λιγότερο δραστικό. Ακόμη το Cr(VI) έχει την ικανότητα να διαπερνά τον πλακούντα προκαλώντας καταστροφές στο νευρικό σύστημα και θανάτους σε πειραματόζωα. Έτσι θεωρείται επικίνδυνο και για τερατογεννέσεις σε εγγύους, που είναι εκτεθειμένες σε ρύπανση από χρώμιο.

Η καρκινογόνος δράση του Cr(VI) εντοπίζεται στην εμφάνιση καρκινωμάτων διαφόρων μορφών στους πνεύμονες και σε μικρότερη έκταση στη ρινική κοιλότητα και το φάρυγγα. Υπάρχουν ακόμη σοβαρές ενδείξεις, ότι το Cr(VI) ευθύνεται και για την ανάπτυξη νεοπλασιών στο γαστρεντερικό σύστημα. Αντίθετα στο δέρμα δεν έχει παρατηρηθεί καρκινογόνος δράση, αλλά κυρίως έλκη τα οποία περιγράφονται ως « τρύπες χρωμίου» και αλλεργική δερματίτιδα. Τέλος χρόνιες παρενέργειες από την έκθεση σε μεγάλες συγκεντρώσεις χρωμίου είναι καρδιακή ανεπάρκεια και αγγειακές παθήσεις καθώς και στειρότητα ιδιαίτερα στους άντρες.

1.6.2 ΤΟΞΙΚΗ ΔΟΣΗ ΚΑΙ ΕΠΙΠΕΔΑ ΑΝΟΧΗΣ.

Η θανατηφόρος δόση για τον άνθρωπο εκτιμάται ότι είναι 1-3 γραμμάρια Cr(VI). Για την κατάποση η LD₅₀ για το Cr(VI) κυμαίνεται από 20 ως 400 mg/kg, ενώ για το Cr(III) είναι περίπου 10 φορές μεγαλύτερη. Στην περίπτωση δε που το χρώμιο χορηγείται μέσω οποιασδήποτε άλλης οδού τα επίπεδα αυτά αυξάνονται κατά πολύ καθώς το χρώμιο δεσμεύεται ταχύτατα από το αίμα και αποβάλλεται με τα ούρα.

Για την περίπτωση δηλητηρίασης από το χρώμιο έχουν θεσπιστεί διάφορες νομοθεσίες. Σχεδόν όλες αναφέρονται στα επίπεδα του χρωμίου στην ατμόσφαιρα και στο νερό, καθώς αποδεικνύεται ότι είναι οι μόνες πηγές κινδύνου. Έτσι τα όρια για τον αέρα από το Ινστιτούτο

Εργασιακής Ασφάλειας και Υγείας των Η.Π.Α (NIOSH)²⁶ είναι $1,0 \text{ mg/m}^3$ για το στοιχειακό Cr, $0,5 \text{ mg/m}^3$ για το Cr(III), $0,025 \text{ mg/m}^3$ και $0,001 \text{ mg/m}^3$ για το διαλυτό και αδιάλυτο Cr(VI) αντίστοιχα. Οι αντίστοιχες τιμές για το νερό είναι 0,5 ppm για το Cr(III) και το στοιχειακό χρώμιο, 0,05 ppm για το Cr(VI). Αντίστοιχα είναι τα όρια και σε διάφορες ευρωπαϊκές χώρες.

1.7. ΕΙΔΟΑΠΕΙΚΟΝΙΣΗ ΤΟΥ ΧΡΩΜΙΟΥ ΣΤΟ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ. ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΚΑΙ ΤΡΟΠΟΙ ΜΕΤΑΦΟΡΑΣ¹

Από τη δράση του χρωμίου που αναπτύχθηκε παραπάνω γίνεται φανερό, ότι οι κίνδυνοι από αυτό μπορούν να προέλθουν μόνο από το περιβάλλον και συγκεκριμένα από τη ρύπανση του αέρα και των υδάτων. Έχοντας υπόψη την τοξικότητα του Cr(VI) έναντι του Cr(III) είναι απαραίτητο να γνωρίζουμε με ποιον τρόπο αυτά τα δύο είδη αλληλεπιδρούν αλλά και μεταφέρονται στα διάφορα οικοσυστήματα στις επικρατούσες συνθήκες.

1.7.1 ΥΔΑΤΙΝΟΙ ΠΟΡΟΙ

Οι φυσικές πηγές προέλευσης του χρωμίου στο νερό είναι η διάβρωση των πετρωμάτων και των διαφόρων ορυκτών του και η εναπόθεσή του από τα σωματίδια της ατμόσφαιρας. Οι φυσιολογικές τιμές συγκεντρώσεων κυμαίνονται για τα ποτάμια από 0,5 ως 100 nM, ενώ για το θαλασσινό νερό από 0,1 ως 16 nM. Σε περιοχές με μεγάλη ρύπανση οι τιμές αυτές είναι σημαντικά αυξημένες. Η κυριότερη επιβάρυνση των υδάτων (ειδικά στα ποτάμια) είναι τα βιομηχανικά απόβλητα. Βιομηχανίες όπως οι μεταλλουργικές, επιμετάλλωσης και παραγωγής χρωμάτων και βυρσοδεψίας επιβαρύνουν σημαντικά τους υδάτινους ορίζοντες με Cr. Η επεξεργασία στην οποία υπόκεινται οι πρώτες ύλες στις βιομηχανίες αυτές, καθορίζει και τη μορφή με την οποία θα εμφανίζεται το Cr στο περιβάλλον.

Όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως, οι σταθερές οξειδωτικές καταστάσεις του χρωμίου είναι η +3 και η +6. Οι δύο αυτές μορφές Cr(III) και Cr(VI) αναμένεται να κυριαρχούν στο περιβάλλον σε ποσοστό, που εξαρτάται από διάφορες φυσικοχημικές παραμέτρους, όπως οξειδοαναγωγή, ιζηματοποίηση / επιδιάλυτωση και προσρόφηση / εκρόφηση.

Όπως θα περίμενε κανείς, σε χαμηλές συγκεντρώσεις οξυγόνου το Cr(III) είναι το μόνο είδος χρωμίου που υπάρχει. Σε οξυγονούχα διαλύματα με $\text{pH} \leq 6$ το Cr(III) θα είναι και πάλι το σταθερότερο είδος, όπως φαίνεται και από θερμοδυναμικούς υπολογισμούς, ενώ σε $\text{pH} \geq 7$ κυριαρχεί το CrO_4^{2-} . Σε ενδιάμεσες τιμές pH η αναλογία Cr(III)/Cr(VI), εξαρτάται από τη

συγκέντρωση του οξυγόνου. Εκτός όμως από την τελευταία σημαντικό ρόλο στα επιφανειακά ύδατα παίζει η φύση των διαφόρων ανόργανων και οργανικών ουσιών, που συνυπάρχουν στο περιβάλλον και μπορεί να δρουν ως αναγωγικά, διαμεσολαβητές οξειδωσης ή και συμπλοκοποιητές. Το σύνολο αυτών των παραγόντων είναι υπεύθυνο για την αφθονία του Cr(III) στο νερό, παρ'όλο που η συγκέντρωση του οξυγόνου και το pH συνηγορούν για το αντίθετο. Έχουν προταθεί διάφοροι μηχανισμοί, οι οποίοι έχουν σκοπό να εξηγήσουν το παραπάνω φαινόμενο. Έτσι η αφθονία αυτή του Cr(III) έχει αποδοθεί στην αναγωγή του Cr(VI) από τα κατιόντα του Fe^{2+} , από το υπεροξειδίο του υδρογόνου καθώς και από τη διαλυμένη στο νερό οργανική ύλη. Επίσης έχει προταθεί μια φωτοχημική πορεία 'γενέσεως' του Cr(III). Ταυτόχρονα με τη μελέτη αυτή επιβεβαιώθηκε, ότι στις συνθήκες που επικρατούν στο περιβάλλον και ειδικά λόγω της παρουσίας των οξειδίων του μαγγανίου είναι πολύ εύκολη η αντίστροφη πορεία, δηλαδή η οξειδωση του Cr(III) σε Cr(VI). Βέβαια, σημαντικό ρόλο στην οξειδωτική αυτή διαδικασία παίζει το διαλυτό οξυγόνο. Όμως η δράση του τελευταίου απαιτεί περαιτέρω διερεύνηση ιδιαίτερα, όταν επικρατούν ισχυρά οξειδωτικές συνθήκες.

Το Cr(III) εμφανίζει μεγάλη τάση για σχηματισμό συμπλόκων ενώσεων με πληθώρα οργανικών υποκαταστατών, όπως αμινοξέα, φουλβικά και χουμικά οξέα κ.τ.λ. τα οποία αφθονούν στα φυσικά ύδατα. Εντούτοις η διερεύνηση των διαφορετικών μορφών, με τις οποίες απαντά το Cr(III) στα επιφανειακά ύδατα, δείχνει να βρίσκεται κυρίως με τη μορφή των εφυδατωμένων ή των ύδροξο- συμπλόκων του. Η συμπλοκοποίηση αυτή περιορίζει σημαντικά την καθίζηση του $Cr(OH)_3$, η οποία αναμένεται να συμβεί στην περιοχή τιμών pH των φυσικών υδάτων. Παρ'όλα αυτά τα περισσότερα από τα σύμπλοκα αυτά ακινητοποιούν το Cr(III) σε μακρομοριακά συμπλέγματα και τελικά το απομακρύνουν από το διάλυμα. Επιπλέον τα ένυδρα και υδροξυ- σύμπλοκα του Cr(III) προσροφούνται ισχυρά πάνω στα ιζήματα, μειώνοντας την κινητικότητα και βιοδιαθεσιμότητα του τελευταίου στο νερό.

Το οργανικά συμπλεγμένο Cr(III) δεν οξειδώνεται με τόση ευκολία σε σύγκριση με τα ύδρο- και ύδροξο- ανάλογά του. Αυτό δηλώνει, ότι η οξειδωτική κατάσταση τρία του χρωμίου σταθεροποιείται με οργανικούς υποκαταστάτες καλύτερα απ'ότι με το H_2O ή το OH^- . Σε αντίθεση με τα σύμπλοκα του Cr(III), το Cr(VI) προσροφείται ασθενώς στις ανόργανες επιφάνειες. Για το λόγο αυτόν αποτελεί και την πιο ευκίνητη μορφή του χρωμίου στο περιβάλλον.

Στα απόβλητα, σε αντίθεση με τους φυσικούς υδάτινους πόρους, η φύση και η συμπεριφορά του χρωμίου είναι τελείως διαφορετικά. Αυτό οφείλεται στην ποικιλότητα μεταβολή των φυσικοχημικών παραμέτρων των αποβλήτων, ανάλογα με τη βιομηχανική

πηγή από την οποία προέρχονται. Έτσι η μορφή και τα επίπεδα των συγκεντρώσεων του χρωμίου στα απόβλητα αυτά εξαρτώνται από το είδος των ενώσεων του χρωμίου, που χρησιμοποιούνται στις διάφορες δευτερογενείς κατεργασίες, από το pH και από την παρουσία ανόργανων ή οργανικών ενώσεων, που μπορεί να συνυπάρχουν στα απόβλητα σαν προϊόντα της πρωτογενούς επεξεργασίας της πρώτης ύλης. Με βάση τα παραπάνω αναμένεται, ότι το Cr(VI) θα είναι το κυρίαρχο στα απόβλητα, που προέρχονται από μεταλλουργικές, επιμεταλλωτικές (metal plating) και άλλες βαριές (refractory) βιομηχανίες καθώς και από βιομηχανίες παραγωγής και χρήσης χρωμάτων με βάση το χρώμιο (βαφές αυτοκινήτων, αντι-διαβρωτικά χρώματα κ.τ.λ.). Το Cr(III) βρίσκεται κυρίως στα απόβλητα των τυπογραφείων, των αργυροχρυσοχοείων και των βυρσοδεψείων, όπου οι διάφορες μορφές κατεργασίας είναι ήπιες και δεν προκαλούν την οξείδωση του Cr(III) σε Cr(VI). Υπάρχει όμως η δυνατότητα η σχέση μεταξύ των δύο οξειδωτικών καταστάσεων του χρωμίου να επηρεαστεί σημαντικά από το pH και την παρουσία ανόργανων και οργανικών υποκαταστατών. Οι παραπάνω παράγοντες επιδρούν τόσο στη διαλυτότητα και την ικανότητα προσρόφησης, όσο και στην οξειδοαναγωγική συμπεριφορά του χρωμίου. Έτσι για παράδειγμα, ενώ στα απόβλητα των βυρσοδεψείων αναμένεται να κυριαρχεί το Cr(III), οι οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις που λαμβάνουν χώρα στην υλή (sludge) είναι δυνατόν να αυξήσουν τη συγκέντρωση του Cr(VI) σημαντικά. Στον ίδιο τύπο αποβλήτων, όπου το pH είναι ουδέτερο ή ελαφρά όξινο, αναμένεται να επικρατεί το Cr(OH)₃, το οποίο υπό φυσιολογικές συνθήκες pH είναι ελάχιστα διαλυτό. Στην περίπτωση όμως που η οργανική ύλη υπάρχει σε υψηλές συγκεντρώσεις, η ποσότητα του διαλυτού χρωμίου αυξάνει λόγω του σχηματισμού ευδιάλυτων οργανο-χρωμικών συμπλόκων.

1.7.2 ΕΔΑΦΗ ΚΑΙ ΕΔΑΦΙΚΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ

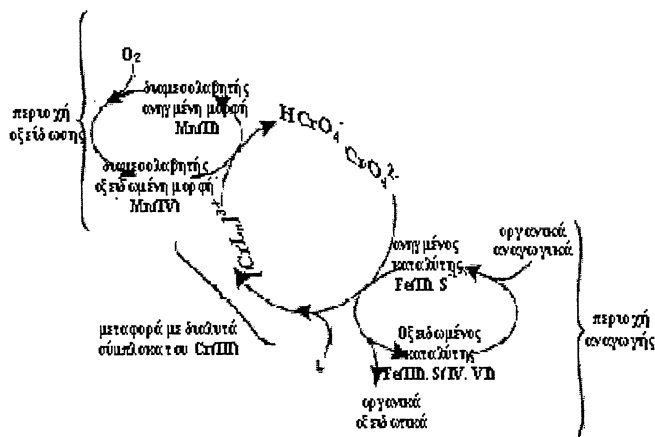
Η παρουσία του χρωμίου στα εδάφη οφείλεται κυρίως στη διάβρωση των ορυκτών του. Η φυσιολογικές τιμές συγκεντρώσεων για το χρώμιο σε διάφορους τύπους εδαφών κυμαίνεται από 0,02 ως 58 $\mu\text{mol/g}$ (1.04 ppm ως 3016 ppm). Η κατά τόπους αύξηση της περιεκτικότητας των εδαφών σε χρώμιο προέρχεται από τις βροχοπτώσεις, από την έκπλυσή του από τα αιωρούμενα σωματίδια καθώς και από την υλή (sludge) και τα απόβλητα των βιομηχανιών.

Το κύριο είδος (species) του χρωμίου στα εδάφη είναι το αδιάλυτο στο νερό υδροξείδιο Cr(OH)₃ και το ισχυρά προσροφημένο στην οργανική ύλη Cr(III). Η παρουσία των δύο αυτών μορφών δεν επιτρέπει τη μεταφορά του χρωμίου στα υπόγεια ύδατα αλλά ούτε και την πρόσληψή του από τα φυτά. Ο σημαντικότερος παράγων, ο οποίος καθορίζει ποιιά μορφή

χρωμίου επικρατεί, είναι το pH. Έτσι σε όξινα εδάφη (pH<4) κυριαρχεί το $\text{Cr}(\text{H}_2\text{O})_6^{3+}$, ενώ σε $4 < \text{pH} < 5,5$, όπου λαμβάνει χώρα η υδρόλυσή του, επικρατέστερο είναι το $\text{Cr}(\text{OH})^{2+}$. Και οι δύο μορφές προσροφούνται εύκολα πάνω σε αργιλώδεις (clay) μακρομοριακές ενώσεις. Η διαδικασία της προσρόφησης ενισχύεται σε μεγαλύτερα pH, πιθανόν λόγω της αύξησης του αρνητικού φορτίου των αργιλικών ενώσεων ή της αποπρωτονίωσης διαδοχικών ομάδων υποκαταστατών (successive ligating groups) στη δομή τους. Στην τελευταία περίπτωση τα χουμικά οξέα παίζουν σημαντικό ρόλο, διότι περιέχουν δότες ηλεκτρονίων, οι οποίοι σχηματίζουν πολύ σταθερά σύμπλοκα με το χρώμιο ιδιαίτερα με τη μορφή δακτυλίων. Η προσρόφηση αυτή του Cr(III) στα χουμικά οξέα αδρανοποιεί την οξειδωτική αυτή κατάσταση, καθιστώντας την αδιάλυτη και εξαιρετικά δυσκίνητη. Σε περιοχές pH μεταξύ 2,7 και 4,5 ο μηχανισμός αυτός περιγράφει σε μεγάλο βαθμό τη συμπεριφορά του χρωμίου. Παρόμοια συμπεριφορά παρατηρείται από τη δράση μακρομοριακών συστημάτων παρόμοιων με τα χουμικά. Αντίθετη είναι η δράση ευκίνητων υποκαταστατών, όπως το κιτρικό οξύ, το διεθυλενοτριάμινοπενταοξικό οξύ (DTPA) και τα φουλβικά οξέα. Οι υποκαταστάτες αυτοί σχηματίζουν με το Cr(III) ευδιάλυτες ενώσεις οι οποίες διαμεσολαβούν (mediate) στην οξείδωση του σε Cr(VI). Βέβαια σε πιο αλκαλικά εδάφη, με pH από 7 ως 10, ο σχηματισμός του δυσδιάλυτου $\text{Cr}(\text{OH})_3$ ανταγωνίζεται ισχυρά την παραπάνω συμπλεκτική δραστηριότητα.

Όσον αφορά το Cr(VI) εμφανίζεται σε ουδέτερα και ασθενώς αλκαλικά εδάφη με την μορφή των χρωμικών αλάτων, από τα οποία άλλα είναι ευδιάλυτα όπως το Na_2CrO_4 , άλλα λιγότερο διαλυτά όπως το CaCrO_4 και άλλα αδιάλυτα όπως το BaCrO_4 . Σε περισσότερο όξινα εδάφη με pH<6 το HCrO_4^- είναι η κυρίαρχη μορφή.

Το τελευταίο μαζί με τα διαφορτισμένα χρωμικά ιόντα CrO_4^{2-} αποτελούν τις πλέον ευκίνητες μορφές του χρωμίου στα εδάφη. Έτσι έχουν τη δυνατότητα να περάσουν στους ιστούς των φυτικών οργανισμών, ενώ παρασυρόμενες από τα όμβρια ύδατα μπορούν να διεισδύσουν στους υπόγειους και τους επιφανειακούς υδροφόρους ορίζοντες ρυπαίνοντάς τους. Ελάχιστες ποσότητες Cr(VI) δεσμεύονται από το χώμα. Η δέσμευση αυτή εξαρτάται από τη μεταλλειολογική σύσταση και το pH του εδάφους. Έτσι το CrO_4^{2-} μπορεί να προσροφηθεί από το γοεθίτη (goethite),



Σχήμα 1.5: Οξειδοαναγωγικός κύκλος του Χρωμίου στο περιβάλλον.

από τα οξειδία του αργιλίου και από διάφορα κολλοειδή, τα οποία έχουν θετικά φορτισμένη επιφάνεια. Η πρωτονιωμένη μορφή HCrO_4^- , που απαντά σε πιο όξινα εδάφη, μπορεί να βρίσκεται τόσο σε διαλυτή όσο και σε προσροφημένη κατάσταση.

Αντιδράσεις οξείδωσης και αναγωγής μπορεί να προκαλέσουν μετατροπή του Cr(III) σε Cr(VI) και το αντίθετο. Οι αλληλομετατροπή αυτή επηρεάζεται σε μεγάλο βαθμό από το pH, τη συγκέντρωση του οξυγόνου καθώς και από την παρουσία κατάλληλων αναγωγικών ουσιών και διαμεσολαβητών (mediators), οι οποίοι μπορεί να δράσουν ως υποκαταστάτες ή ως καταλύτες. Οι χημικά ευκίνητες μορφές του Cr(VI) (HCrO_4^- και CrO_4^{2-}) είναι δυνατόν να αναχθούν από διάφορα αναγωγικά σώματα. Έχει αναφερθεί, ότι οι παραπάνω αναγωγές καταλύονται από Fe(II) ή ιόντα S^{2-} . Η διαδικασία αυτή αποκαλείται «dechromification» και πιστεύεται ότι έχει ζωτική σημασία, γιατί χωρίς αυτή θεωρητικά υπάρχει ο κίνδυνος της πλήρους μετατροπής του ατμοσφαιρικού οξυγόνου σε χρωμικά ιόντα. Η πορεία αυτή για να συνεχιστεί πρέπει να συνοδεύεται από τη μεταφορά του Cr(III) εκεί που λαμβάνει χώρα η οξείδωση. Η μεταφορά αυτή είναι εφικτή μόνο παρουσία ευκίνητων υποκαταστατών, όπως τα φουλβικά και κιτρικά ιόντα. Οι περιοχές όπου λαμβάνει χώρα η οξείδωση περιέχουν κυρίως οξειδία και υδροξειδία του Mn(III, IV). Το Mn(II) που σχηματίζεται από την αντίδραση αναγωγής, οξειδώνεται από το ατμοσφαιρικό οξυγόνο σε διοξείδιο του μαγγανίου MnO_2 . Από το συνδυασμό όλων αυτών των αντιδράσεων οξείδωσης, αναγωγής και σύμπλεξης προκύπτει ο κύκλος του χρωμίου στα εδάφη όπως φαίνεται στο Σχήμα 1.5. Μια πιο προσεκτική ανάλυση των οξειδοαναγωγικών διεργασιών οδηγεί στο συμπέρασμα, ότι ο κύκλος αυτός μπορεί κάλλιστα να αντιπροσωπεύει την πορεία οξείδωσης των οργανικών ενώσεων από το ατμοσφαιρικό οξυγόνο, μέσω κατάλυσης από το σύστημα Cr(III)/Cr(VI). Ο κύκλος του χρωμίου μπορεί να θεωρηθεί, ότι αντιτίθεται στην άμεση ή έμμεση φωτοχημική σύνθεση των οργανικών ουσιών. Έτσι ο κύκλος αυτός αποτελεί μια από τις πολλές οδούς κατανάλωσης της φωτοσυνθετικά συσσωρευμένης ενέργειας.

1.7.3 ΑΤΜΟΣΦΑΙΡΙΚΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ

Η παρουσία του χρωμίου στην ατμόσφαιρα, οφείλεται κατά 60-70% σε ανθρωπογενείς δραστηριότητες, ενώ το υπόλοιπο 40-30% προέρχεται από φυσικές πηγές. Οι κύριες δραστηριότητες του ανθρώπου, που συντελούν στην αύξηση της συγκέντρωσης του χρωμίου στην ατμόσφαιρα, είναι οι μεταλλουργικές και επιμεταλλωτικές βιομηχανίες, οι βιομηχανίες παραγωγής κατασκευαστικών υλικών(τούβλα, πυρότουβλα, κ.τ.λ.), η ανάφλεξη των καυσίμων και η παραγωγή χημικών ενώσεων με βάση το χρώμιο(κυρίως χρωμικών,

διχρωμικών και αλάτων του Cr(III), τριοξειδίου του χρωμίου) και μεταλλικές βαφές. Άλλες πιθανές, αλλά λιγότερο σημαντικές, εστίες ρύπανσης της ατμόσφαιρας με χρώμιο είναι οι βιομηχανίες παρασκευής σκυροδέματος, η παραγωγή φωσφορικού οξέος με θερμική κατεργασία και η αποτέφρωση των βιομηχανικών αποβλήτων και των αποβλήτων βιολογικού καθαρισμού. Εξάλλου οι σημαντικότερες φυσικές πηγές εισόδου του χρωμίου στην ατμόσφαιρα είναι η ηφαιστειακή στάχτη από τις εκρήξεις των ηφαιστειών και τα πετρώματα λόγω της διάβρωσης. Άλλες πιθανές πηγές φυσικής προέλευσης, όπως τα πλούσια σε αλάτι αερομεταφερόμενα σωματίδια από την εξάτμιση του θαλασσινού νερού και ο καπνός που δημιουργούν οι δασικές πυρκαγιές, δεν φαίνεται να συνεισφέρουν σημαντικά στην τροφοδότηση της ατμόσφαιρας με χρώμιο.

Οι μικρότερες συγκεντρώσεις χρωμίου στην ατμόσφαιρα έχουν μετρηθεί πάνω από το Νότιο Πόλο και κυμαίνονται από 5 ως 13 pg ανά κυβικό μέτρο αέρα. Εντούτοις οι φυσιολογικές μέσες τιμές των συγκεντρώσεων του χρωμίου στην ατμόσφαιρα βρίσκονται σε αρκετά υψηλότερα επίπεδα. Έτσι κυμαίνονται από 1 νανογραμμάρια ανά κυβικό μέτρο αέρα στις αγροτικές περιοχές ως 10 νανογραμμάρια στις αστικές περιοχές με έντονη ρύπανση. Το συνολικό ποσό του χρωμίου πάνω από μια συγκεκριμένη περιοχή και σε δεδομένη χρονική στιγμή ποικίλλει και εξαρτάται από τη βιομηχανική δραστηριότητα της περιοχής, από την απόσταση των πηγών ρύπανσης και από τις επικρατούσες κλιματολογικές και μετεωρολογικές συνθήκες.

Καθώς το χρώμιο συμμετέχει κυρίως σε ιοντικές ενώσεις με αμελητέα τάση ατμών, δεν θα ήταν λάθος να υποτεθεί, ότι στις συνήθεις συνθήκες πίεσης και θερμοκρασίας δεν απαντώνται είδη χρωμίου στην αέρια κατάσταση. Έτσι το χρώμιο μπορεί να βρίσκεται στην ατμόσφαιρα μόνο ως συστατικό των αιωρούμενων σωματιδίων και των σταγονιδίων αεροζόλ. Τα μέγεθος των σωματιδίων αυτών, τα οποία περιέχουν χρώμιο και εκπέμπονται από διάφορες πηγές, ποικίλλει. Η διάμετρός τους μπορεί να κυμαίνεται από 0,2 ως 50 μικρόμετρα. Το μέγεθος αυτό είναι που καθορίζει και την κατανομή του χρωμίου στις διάφορες περιοχές. Έτσι τα μικρότερα σωματίδια, με διάμετρο μικρότερη του 1 nm, που προέρχονται από την καύση του άνθρακα και την παραγωγή τούβλων και χρωμικών αλάτων, μπορούν να μεταφερθούν σε μεγάλες αποστάσεις κυρίως με τη βοήθεια του αέρα. Αντίθετα το χρώμιο που περιέχεται σε σωματίδια μεγαλύτερου μεγέθους δεν μεταναστεύει αλλά παραμένει στην ατμόσφαιρα του χώρου παραγωγής, απ'όπου μπορεί να διαχυθεί στο περιβάλλον με τη βοήθεια των ιδιαίτερων συνθηκών, που επικρατούν στην περιοχή. Το μέγεθος των σωματιδίων αυτών παίζει σημαντικό ρόλο και από την άποψη των τοξικολογικών επιπτώσεων του χρωμίου. Όπως έχει αποδειχθεί, μόνο τα σωματίδια με

διάμετρο από 0,2 ως 10 nm είναι εισπνεύσιμα. Η κατακράτησή τους δε από τους πνεύμονες μπορεί να αποτελεί αιτία καρκινογένεσης.

Όπως και στο υπόλοιπο περιβάλλον, έτσι και στην ατμόσφαιρα το χρώμιο υπάρχει με τη μορφή των σταθερών οξειδωτικών του καταστάσεων, δηλαδή Cr(III) και Cr(VI). Σημαντικό ρόλο στη χημεία του ατμοσφαιρικού χρωμίου, έχουν τα αιωρούμενα σταγονίδια και σωματίδια. Παρ'όλα αυτά η συνεισφορά τους στις χημικές αντιδράσεις, που ρυθμίζουν την αναλογία μεταξύ των δύο οξειδωτικών καταστάσεων, είναι μικρή. Η χημική συμπεριφορά του χρωμίου στον αέρα μοιάζει σε μεγάλο βαθμό με αυτήν στα υδατικά συστήματα. Έτσι η παρουσία του χρωμίου καθώς και οι αναλογίες των διαφόρων μορφών του καθορίζονται από τις συνθήκες αντιδράσεις καθίζησης, συμπλοκοποίησης και οξειδοαναγωγής.

Η μόνη ίσως διαφορά των ατμοσφαιρικών συνθηκών από αυτές που επικρατούν στα φυσικά ύδατα, εντοπίζεται στην οξύτητα. Έτσι τα νερά είναι αρκετά πιο όξινα, με $\text{pH} \approx 1$, από ότι τα συνήθη νέφη και σταγονίδια, όπου το pH κυμαίνεται γύρω από το 5. Στις χαμηλές αυτές τιμές pH το Cr(III) υπάρχει κυρίως με τη μορφή του εφυδατωμένου συμπλόκου $\text{Cr}(\text{H}_2\text{O})_6^{3+}$ και του $\text{Cr}(\text{OH})^{2+}$, όπως είδαμε και σε προηγούμενη αναφορά, ενώ το Cr(VI) απαντά ως HCrO_4^- και $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$. Το $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ κυριαρχεί και στα σωματίδια των αεροζόλ, όπου παρατηρείται αυξημένη συγκέντρωση Cr(VI).

Το ποσοστό του Cr(VI) στην ατμόσφαιρα είναι δυνατόν να μειωθεί μέσω του σχηματισμού αδιάλυτων χρωμικών αλάτων με μεταλλικά κατιόντα όπως τα Pb^{2+} , Cu^{2+} και Zn^{2+} . Σε σταγονίδια με μεγαλύτερο pH το Cr μπορεί να καθιζάνει ως $\text{Cr}(\text{OH})_3$ ή και να συγκαθιζάνει παρουσία Fe με τη μορφή μικτών υδροξειδίων $(\text{Cr}, \text{Fe})(\text{OH})_3$.

Παρουσία χλωριούχων ή φθοριούχων ιόντων η διαλυτότητα του χρωμίου αυξάνεται λόγω του σχηματισμού μικτών συμπλόκων, όπου τα F^- , Cl^- εναλλάσσονται στη σφαίρα ένταξης του χρωμίου. Η προσδιορισμένη από ερευνητές αναλογία Cr(III)/Cr(VI) στις αναθυμιάσεις από ηλεκτροσυγκολλήσεις (welding fumes) είναι περίπου 0,3. Η κυρίαρχη παρουσία του Cr(VI) αποδίδεται στις οξειδωτικές διεργασίες, που λαμβάνουν χώρα στην ατμόσφαιρα και ιδιαίτερα στα σωματίδια των αεροζόλ στα σημεία εκπομπής του χρωμίου. Αντίθετα άλλη ομάδα ερευνητών χρησιμοποιώντας μοντέλα προσομοίωσης με ηλεκτρονικούς υπολογιστές υποστηρίζει, ότι οι συνθήκες ατμοσφαιρικές συνθήκες ευνοούν την αναγωγή του Cr(VI) σε Cr(III). Επομένως το πρόβλημα αυτό απαιτεί περαιτέρω μελέτη, καθώς οι πρώτοι ερευνητές ενδέχεται να μην υπολογίζουν την πραγματική ποσότητα του Cr(III), μέρος του οποίου μπορεί να διαφεύγει λόγω της πολύπλοκης επεξεργασίας των δειγμάτων, η οποία περιλαμβάνει χρήση αλκαλικού περιβάλλοντος. Εξάλλου οι μεταγενέστεροι ερευνητές

μάλλον δεν έχουν συνυπολογίσει τις σημαντικότερες επιδράσεις του περιβάλλοντος και ιδιαίτερα της συγκέντρωσης οξυγόνου και της φωτοχημικής οξείδωσης.

1.7.4 ΧΗΜΙΚΕΣ ΟΔΟΙ ΤΟΥ ΧΡΩΜΙΟΥ ΣΤΟ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ.

Η ατμόσφαιρα μέσω των αερίων μαζών αποτελεί έναν πρωτεύοντα διάδρομο για τη μεταφορά του Cr σε διάφορα απομακρυσμένα μεταξύ τους συστήματα. Τα πλούσια σε χρώμιο ατμοσφαιρικά σωματίδια μεταφέρονται σε μεγάλες αποστάσεις από τους τόπους προέλευσής τους, με τη βοήθεια των ανέμων. Στη συνέχεια, επικάθονται στο έδαφος είτε εκπλένονται από το νερό, αυξάνοντας τη συγκέντρωση του χρωμίου στο χώμα και τα επιφανειακά ύδατα.

Η απόσταση στην οποία μπορεί να μεταφερθεί το Cr εξαρτάται από τις μετεωρολογικές συνθήκες, από τη μορφολογία και την πανίδα της περιοχής. Στα ατμοσφαιρικά συστήματα το μέγεθος των σωματιδίων είναι αυτό, που επηρεάζει κυρίως τη μεταφορά του χρωμίου προς το έδαφος. Στην ατμόσφαιρα η ειδοαπεικόνιση (speciation) δεν έχει ιδιαίτερη βαρύτητα. Αντίθετα στο έδαφος η μεταφορά του Cr προς τα χωμάτινα και υδάτινα συστήματα ρυθμίζεται σχεδόν αποκλειστικά από τα είδη που σχηματίζονται. Έτσι ο βιοχημικός κύκλος του χρωμίου καθορίζεται από τις χημικές μορφές, με τις οποίες αυτό υπάρχει, καθώς και από την τάση των μορφών αυτών να συμμετέχουν σε χημικές και φωτοχημικές αντιδράσεις, καθιζήσεις και διαλυτώσεις, προσροφήσεις και εκροφήσεις σε ξεχωριστά τμήματα των διαφόρων οικοσυστημάτων.

Οι επιπτώσεις από την ατμοσφαιρική εναπόθεση του χρωμίου περιορίζονται σημαντικά από την προσρόφησή του από το χώμα. Παρ'όλα αυτά η παρουσία του Cr στο έδαφος αυξάνεται ιδιαίτερα εξαιτίας της ρύπανσης κατά την απόθεση (dumping) των βιομηχανικών αποβλήτων σε χωματερές. Ταυτόχρονα παρατηρείται σημαντική ρύπανση των υπογείων υδάτινων μαζών λόγω μεταφοράς Cr από την επιφάνεια.

Η ρύπανση αυτή συντελείται κυρίως από το Cr(VI), το οποίο, όπως έχει αναφερθεί, αποτελεί την πλέον ευκίνητη μορφή χρωμίου στο νερό και στο έδαφος. Αντίθετα το Cr(III) δεν μπορεί να μεταφερθεί σε μεγάλες αποστάσεις, διότι στα pH που επικρατούν στο νερό και το έδαφος εμφανίζει μικρή διαλυτότητα και μεγάλη τάση προσρόφησης. Επομένως το Cr(III) μπορεί να θεωρηθεί υπεύθυνο μόνο για την τοπική ρύπανση των περιοχών, όπου υπάρχει παραγωγή και χρήση χρωμίου.

Η ρύπανση των υδάτινων πόρων από τα ρυπασμένα εδάφη πραγματοποιείται με δύο κυρίως διαδικασίες: είτε με την επιφανειακή έκπλυση και μεταφορά σε λίμνες και ποτάμια ή

με διείσδυση στα βαθύτερα στρώματα του εδάφους και από εκεί στους υπόγειους υδροφόρους ορίζοντες. Υπάρχουν βέβαια και διαλυτές ενώσεις του χρωμίου, όπως σύμπλοκα με ορισμένους οργανικούς υποκαταστάτες. Οι ενώσεις αυτές είναι δυνατόν να μεταφερθούν στα υπόγεια ύδατα και κατά συνέπεια στα υδάτινα οικοσυστήματα. Οι αποδέκτες της ρύπανσης των υδάτινων πόρων είναι τα ποτάμια οι λίμνες και οι θάλασσες. Οι τρόποι μεταφοράς του χρωμίου σε καθένα από αυτά εξαρτάται από ιδιαίτερες παραμέτρους, όπως η θερμοκρασία, το βάθος, ο βαθμός ανάμιξης, οι συνθήκες οξειδωσης και η παρουσία οργανικής ύλης. Έτσι κάθε σύστημα πρέπει να μελετηθεί ξεχωριστά.

Στα ποτάμια οι μηχανισμοί μεταφοράς έχουν να κάνουν κυρίως με την παρουσία των αιωρούμενων σωματιδίων. Το ποσοστό του διαλυτού χρωμίου στο νερό των ποταμών ελαττώνεται σημαντικά κοντά στις όχθες, όπου επικρατούν ισχυρά ρεύματα και δίνες, οι οποίες προκαλούν καθίζηση των αιωρούμενων σωματιδίων.

Στις θάλασσες και τους ωκεανούς το χρώμιο εισέρχεται μέσω των ποταμών και της ατμόσφαιρας. Τα ποσοστά του χρωμίου που προέρχονται από κάθε πηγή είναι παρόμοια, η συμπεριφορά τους όμως είναι τελείως διαφορετική. Η κατανομή της ατμοσφαιρικής ρύπανσης εμφανίζει μεγάλη ομοιογένεια. Αντίθετα η επιβάρυνση από τα ποτάμια είναι τοπική. Περιορίζεται δηλαδή στα σημεία εκβολής, όπου είναι σαφώς πιο έντονη και επικίνδυνη για το περιβάλλον.

Στα θαλάσσια ύδατα υπάρχει μια δυναμική ισορροπία ανάμεσα στο διαλυτό και το ιζηματογενές χρώμιο. Η παρουσία του διαλυτού χρωμίου σχεδόν εξαλείφεται λόγω της ενσωμάτωσής του σε διάφορες ουσίες βιολογικής προέλευσης, όπως πυριτικοί και ανθρακούχοι σκελετοί, σπόγγοι κ.λ.π. καθώς και εξαιτίας της προσρόφησής του στα ιζήματα και τα αιωρούμενα στερεά.

Η επαναδιάλυση του χρωμίου λαμβάνει χώρα τόσο στον ευρύτερο υδάτινο όγκο, όσο και στην διεπιφάνεια των ιζημάτων με το νερό. Οι διεργασίες αυτές έχουν ως αποτέλεσμα τον εμπλουτισμό με χρώμιο του νερού, που βρίσκεται σε μεγάλα βάθη και κοντά στον πυθμένα. Η αναγωγή του Cr(VI) λαμβάνει χώρα κυρίως στις ανοξικές λεκάνες και στις ζώνες περιορισμένης οξυγόνωσης, από όπου το χρώμιο απομακρύνεται ιδιαίτερα εξαιτίας της προσρόφησης του Cr(III) στα ιζήματα του πυθμένα. Αντίθετα η οξείδωση του Cr(III), η οποία οφείλεται σε μεγαλύτερο βαθμό στην παρουσία οξειδίων του μαγγανίου, αντιστρέφει την παραπάνω προσρόφηση και επαναφέρει το Cr(III) σε διαλυτή μορφή.

Σε σύγκριση με το θαλάσσιο περιβάλλον οι λίμνες χαρακτηρίζονται από πολύ μεγαλύτερη βιολογική δραστηριότητα, από πιο εκτεταμένη επιφάνεια αλληλεπίδρασης ιζήματος-νερού καθώς και από τελείως διαφορετικές συνθήκες ανάμιξης. Οι παράμετροι

αυτές οδηγούν στη δημιουργία πολύ διαφορετικών συνθηκών μεταφοράς σε σχέση με αυτές, που επικρατούν στην ανοικτή θάλασσα. Τα υψηλά ποσοστά οργανικής ύλης δημιουργούν ένα περιβάλλον με ιδιαίτερες αναγωγικές και συμπλεκτικές ιδιότητες. Το περιβάλλον αυτό ευνοεί την αναγωγή του Cr(VI) σε Cr(III), το οποίο στη συνέχεια καθιζάνει ή προσροφείται με μεγάλη ταχύτητα και ευκολία πάνω στα διάφορα ιζηματογενή στερεά. Η ποσότητα αυτή του χρωμίου είναι δυνατόν να δραστηριοποιηθεί και πάλι με αύξηση της κατά τόπους συγκέντρωσης, μέσω μηχανισμών οξειδωσης ή επιδιόρθωσης. Οι πιο πολύπλοκες διαδικασίες μεταφοράς έχουν περιγραφεί σε λίμνες, όπου δημιουργούνται ανοξικές συνθήκες ανάλογα με την εποχή. Ιδιαίτερα το καλοκαίρι τα βαθιά λιμνάζοντα ύδατα μετατρέπονται σε ανοξικά, λόγω του συνδυασμού της μεγάλης βιολογικής δραστηριότητας με τη θερμική διαστρωμάτωση του νερού. Σε τέτοιες λίμνες η ποσότητα όσο και η ειδοαπεικόνιση του Cr ποικίλλουν αποτελώντας συνάρτηση του βάθους του νερού και της εποχής. Γενική παρατήρηση είναι, ότι κατά το διάστημα μεταξύ Ιουνίου και Σεπτεμβρίου σημειώνεται μείωση της συγκέντρωσης του διαλυμένου χρωμίου. Επιπλέον οι περιοχές, όπου κυριαρχούν οι δύο οξειδωτικές καταστάσεις του χρωμίου, παύουν να σημειώνουν επικάλυψη και γίνονται όλο και περισσότερο διακριτές. Έτσι η παρουσία του Cr(VI) επικρατεί σε μικρά βάθη και στην επιφάνεια, όπου η συγκέντρωση του οξυγόνου είναι μεγάλη. Αντίθετα σε μεσαία και μεγαλύτερα βάθη, όπου επικρατούν ανοξικές συνθήκες, υπάρχει κυρίως το Cr(III). Η συμπεριφορά αυτή είναι αναμενόμενη λόγω της εποχιακής αύξησης της θερμοκρασίας, η οποία συνεπικουρείται από μια σταδιακή μείωση του pH και ιδιαίτερα από τη μείωση της περιεκτικότητας σε οξυγόνο.

Κατά συνέπεια το θερινό αυτό φαινόμενο αποδίδεται στις οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις, κατά τις οποίες παράγεται κυρίως Cr(III), το οποίο στη συνέχεια αδρανοποιείται από σωματίδια (particle scavenging). Έτσι το μη συμπλοκοποιημένο Cr(III) απομακρύνεται από την υδάτινη μάζα αποτρέποντας την περαιτέρω μετακίνησή του στο λιμναίο οικοσύστημα.

Σημαντικός επίσης μπορεί να είναι ο ρόλος των ζώντων οργανισμών στη μεταφορά των μεταλλικών ιόντων. Έτσι η παρουσία του πλαγκτόν στις παράκτιες περιοχές επηρεάζει ποσοτικά τη μεταφορά του χρωμίου στους ωκεανούς. Επιπλέον μεγάλες αποικίες από ζώο- και από φυτοπλαγκτόν μπορεί να απορροφούν κάποιες ποσότητες του χρωμίου και γενικότερα των μετάλλων. Ακόμα το χρώμιο, αντί να μεταφερθεί με τα ρεύματα, είναι δυνατό να συσσωματωθεί με τα στερεά εκκρίματα ή και με τα κουφάρια των διαφόρων οργανισμών και να ακινητοποιηθεί έτσι στα ιζήματα του πυθμένα. Επειδή τα επίπεδα του χρωμίου στους διάφορους ζωντανούς οργανισμούς είναι χαμηλά, οι επιπτώσεις που έχει η μεταφορά του μέσω της τροφικής αλυσίδας στη μεταβολή της συγκέντρωσής του θεωρείται αμελητέα.

Βέβαια πρέπει να σημειωθεί, ότι το Cr(VI), το οποίο απαντά σε ανιονική μορφή, είναι πολύ πιο προσιτό για πρόσληψη από τα έμβια όντα από ότι το Cr(III) και γι' αυτό παίζει σημαντικό ρόλο στην απομάκρυνση και μετακίνηση του μετάλλου αυτού από το νερό και το χώμα προς τα φυτά, τα ζώα και τον άνθρωπο.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Kotas, J.; Stasicka, Z., *Environ. Polut.*, **2000**, 107, 263.
2. Mason, B.; Moore, C.B., *Principles of Geochemistry*, John Wiley, New York, **1980**.
3. Stern, R.M., *Top. Environ. Health*, **1982**, 5, 5.
4. Cary, E.E., *Top. Environ. Health*, **1982**, 5, 49.
5. Sposito, G.; Page, A.L., in *Metal Ions in Biol. Systems.*, Vol. 18; Sigel, H.(ed.), Marcel Dekker, New York, **1984**.
6. U.S. Environmental Protection Agency, “ *Reviews on the Environmental Effects of Pollutants : Chromium*” Report EPA-600/1-78-023, Cincinnati, Ohio, **1978**.
7. Frausto da Silva, J.J.R.; Williams, R.J.P., *Biological Chemistry of the Elements*, Clarendon Press, Oxford, **1991**.
8. Guthrie, B.E., *Top. Environ. Health*, **1982**, 5, 117.
9. Sanderson, C.J., *Top. Environ. Health*, **1982**, 5, 101.
10. Heath, J.C.; Freeman, M.A.R.; Swanson, S.A.V., *Lancet*, **1971**, 1, 564.
11. Runge, V.M., et al., *Radiology*, **1984**, 152, 123.
12. Ball, J.W.; Nordstrom, D.K., *J. Chem. Engng. Data*, **1998**, 43, 895.
13. Nieboer, E.; Jusys, A.A., *Biological Chemistry of Chromium* in Nriagu, J.O.; Nieboer, E.(eds), *Chromium in Natural and Human Environments*, Wiley Interscience, New York, **1988**.
14. Rai, D.; Sass, B.M.; Moore, D.A., *Inorg. Chem.*, **1987**, 26, 345.
15. Baes, C.F.; Mesmer, R.E., *The hydrolysis of Cations*, Wiley, New York, **1976**.
16. Stollenwerk, K.G.; Grove, D.B., *J. Environ. Qual.*, **1985**, 14, 396.
17. Guthrie, B.E., *Biological and Environmental Aspects of Chromium*, Elsevier, Amsterdam, **1982**,
18. Aderson, R.A., *Trace Elements in Human and Animal Nutrition*, Academic Press, San Diego, **1987**.
19. Mertz, W.; Rotzinski, E.E., *Newer Trace Elements in Nutrition*, Marcel Dekker, New York, **1971**.
20. Ducros, V., *Biol. Trace. Elem. Res.*, **1992**, 32, 65.

21. Cupo, D.Y.; Wetterhahn, K.E., *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **1985**, 82, 6755.
22. Cupo, D.Y.; Wetterhahn, K.E.; Connett, P.H., *Trace Substances Environ. Health*, **1984**, 18, 154.
23. Langard, S., *Top. Environ. Health*, **1982**, 5, 149.
24. Shepherd, P.R.; Elwood, C.; Buckley, P.D.; Blackwell, L.F., *Biol. Trace Elem. Res.*, **1992**, 32, 109.
25. Leonard, A.; Lauwerys, R.R., *Mutat. Res.*, **1980**, 76, 227.
26. Mackison, F.W.; Stricoff, R.S.; Partridge, L.J.(eds), *NIOSH/OSHA Occupational Health Guidelines for Chemical Hazards, National Institute for Occupational Safety and Health, DHHS (NIOSH) Publication No. 81-123*, Washington D.C., **1981**.

Ειδοταυτοποίηση και Ανάλυση Ειδοταυτοποίησης.

Θεωρητικό Μέρος 2⁰ ΚΕΦΑΛΑΙΟ

2.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η ραγδαία αύξηση των επιπέδων της ρύπανσης στο περιβάλλον, ειδικότερα κατά τις τελευταίες δεκαετίες, προκάλεσε την ευαισθητοποίηση της κοινής γνώμης και της επιστημονικής κοινότητας αναφορικά με την υγεία και την υγιεινή διαβίωση των ανθρώπων αλλά και τη διατήρηση της ισορροπίας στα διάφορα οικοσυστήματα. Αν λάβουμε υπόψη, ότι η τοξικότητα και η συμπεριφορά ενός στοιχείου δεν καθορίζεται μόνο από τη συγκέντρωση, αλλά και από τη μορφή που αυτό απαντά, γίνεται κατανοητή η ανάγκη για την ανίχνευση και τον ποσοτικό προσδιορισμό των διαφόρων ειδών στο περιβάλλον όσο και σε βιολογικά υποστρώματα.

Βέβαια η αρχική θεώρηση της ανάγκης αυτής αποσκοπούσε στην εκτίμηση του συνολικού φορτίου κάθε στοιχείου ανεξάρτητα, αν αυτό χαρακτηριζόταν ως τοξικό ή απαραίτητο. Έτσι και οι διάφορες αναλυτικές μέθοδοι και τεχνικές σχεδιάζονταν και προσανατολιζόνταν προς αυτή την κατεύθυνση. Για παράδειγμα σε μια ανάλυση για τοξικά στοιχεία όπως Pb, Cd, Hg το ζητούμενο ήταν η συνολική συγκέντρωση καθενός από αυτά ανεξάρτητα από τη μορφή του.

Σύντομα όμως οι βιοχημικές και τοξικολογικές μελέτες έδειξαν, ότι δεν είχαν όλα τα είδη ενός στοιχείου την ίδια επίπτωση στον οργανισμό αναφορικά με τη δραστηριότητα, την οδό εισόδου και εξόδου και τη μεταβολική τύχη. Σημαντικές διαφοροποιήσεις είχαν ως αιτία τη μορφή των ενώσεων του στοιχείου αυτού καθώς και την οξειδωτική του βαθμίδα, όπως φαίνεται και από τον πίνακα 2.1 όπου παρουσιάζονται τα τοξικά όρια για διάφορα είδη του Hg και του Sn¹.

Οι διαπιστώσεις αυτές γέννησαν την ανάγκη της απεικόνισης-ταυτοποίησης και του ποσοτικού προσδιορισμού των ξεχωριστών, διακριτών ειδών κάθε στοιχείου και ιδιαίτερα αυτών, που σχετίζονται άμεσα με τη λειτουργία του ανθρώπινου οργανισμού, ώστε εκτός από τη συνολική παρουσία του κάθε στοιχείου να υπάρχουν πληροφορίες για την ύπαρξη και τη συγκέντρωση των επιμέρους μορφών του.

Πίνακας 2.1 : Τοξικές δόσεις ενώσεων του υδραργύρου και του κασσιτέρου.

Είδος	LD ₅₀ για κατάποση (mg/kg σωματικού βάρους)
Χλωριούχος Υδράργυρος (II)	37
Χλωριούχος Αίθυλο-Υδράργυρος	40
Χλωριούχος Μέθυλο-Υδράργυρος	10
Οξείδιο του Τριβούτυλο-Κασσιτέρου	150-234
Υδροξείδιο του Τριμέθυλο-Κασσιτέρου	540
Υδροξείδιο του Τριφαίνυλο-Κασσιτέρου	125
Οξείκος Τριμέθυλο-Κασσίτερος	9,1
Οξείκος Τριαίθυλο-Κασσίτερος	4,0
Τετραβούτυλο-Κασσίτερος	>4000

Τα καινούργια αυτά δεδομένα οδήγησαν στην εισαγωγή των όρων ειδοταυτοποίηση-ειδοαπεικόνιση (speciation) και ανάλυση ειδοταυτοποίησης (speciation analysis).

2.2 ΕΝΝΟΙΑ ΤΟΥ ΟΡΟΥ ΚΑΙ ΔΙΕΘΝΗΣ ΟΡΟΛΟΓΙΑ

Ο όρος ειδοαπεικόνιση δηλώνει ακριβώς την παρουσία ενός στοιχείου σε περισσότερες από μια μορφές-είδη. Δηλαδή η έννοια της ειδοαπεικόνισης προϋπάρχει καθώς δηλώνει τη διαφοροποίηση και κατανομή ενός στοιχείου σε διάφορα είδη ανεξάρτητα αν ο άνθρωπος το γνωρίζει. Η γνώση και η μέτρηση των ποσοτήτων των ειδών αυτών χαρακτηρίζεται πλέον ως ανάλυση ειδοαπεικόνισης ή απλά ως ειδοταυτοποίηση.

Ο επίσημος ορισμός του *speciation analysis*, ο οποίος έχει προταθεί στην IUPAC αλλά βρίσκεται ακόμα υπό διαμόρφωση², προσδιορίζει την ανάλυση ειδοταυτοποίησης ως τη διαδικασία αναγνώρισης και ποσοτικοποίησης των διαφόρων διακριτών φυσικοχημικών ειδών(από απόψεως μοριακής, ηλεκτρονιακής ή πυρηνικής δομής), με τα οποία ένα στοιχείο ή μία ουσία μπορεί να υπάρχει σε ένα δείγμα.

Με πιο απλά λόγια πρόκειται για την κλασική έννοια της ποιοτικής και ποσοτικής ανάλυσης σε ένα διαφορετικό όμως επίπεδο, όπου δεν απομονώνεται ένα στοιχείο ως προς τα υπόλοιπα αλλά τα διαφορετικά είδη του ίδιου στοιχείου.

Βέβαια ο παραπάνω ορισμός τείνει να περιορίσει τη σημασία του όρου στα πλαίσια της κατανομής-διασποράς ενός στοιχείου σε διαφορετικά είδη στο ίδιο δείγμα. Στην πράξη όμως έχει ευρύτερη σημασία καθώς συμπεριλαμβάνει τόσο την αλληλομετατροπή και την κατανομή των ειδών αυτών φωτογραφίζοντας την ύπαρξη τους, όσο και την αναλυτική

δραστηριότητα που πρέπει να αναπτυχθεί, ώστε να αναγνωρισθούν και να μετρηθούν τα είδη αυτά.

Ετυμολογικά η λέξη ειδοταυτοποίηση είναι περιφραστική και περικλείει ο,τιδήποτε μπορεί να απαντάται σε ποικιλία μορφών(στοιχείο, χημική ένωση ή οντότητα)³. Προκειμένου όμως η ανάλυση ειδοταυτοποίησης να αποτελέσει ένα καθορισμένο πεδίο έρευνας περιορίζεται, ώστε να σημαίνει τον προσδιορισμό των ειδών των στοιχείων του περιοδικού πίνακα, που αποτελούν και τα δομικά υλικά όλων των ενώσεων.

2.3 ΜΟΡΦΕΣ ΚΑΙ ΕΙΔΗ ΠΟΥ ΠΕΡΙΛΑΜΒΑΝΕΙ Ο ΟΡΟΣ

Συνήθως ο όρος *ανάλυση ειδοταυτοποίησης* αναφέρεται στον προσδιορισμό των ειδών στοιχείων, όπως μέταλλα και μεταλλοειδή συμπεριλαμβανομένων και των οργανομεταλλικών ενώσεων. Πολλές φορές στην ίδια ομάδα συμπεριλαμβάνονται και ανόργανα ιόντα αμετάλλων, όπως το άζωτο, ο φωσφόρος, το θείο και το πυρίτιο. Εξάλλου οι οργανικές ενώσεις δεν περιλαμβάνονται, αν και σε μοριακό επίπεδο οι οργανικές αναλύσεις αποβλέπουν στον προσδιορισμό διακριτών μοριακών ειδών.

2.3.1 ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΕΙΔΟΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ

Λόγω του τεράστιου αναλυτικού πεδίου που καλύπτει, η ανάλυση ειδοταυτοποίησης έχει κατηγοριοποιηθεί με αποτέλεσμα να προκύψουν οι εξής κατηγορίες^{4,5}:

I. Ατομική ειδοταυτοποίηση, για εξέταση πλήθους δειγμάτων, η οποία βρίσκει εφαρμογές

α) Στη μελέτη της περιβαλλοντικής ρύπανσης (αέρας, νερό, έδαφος), που αφορά φυσική ειδοταυτοποίηση. Αυτός ο τύπος ανάλυσης είναι σημαντικός για πολλούς λόγους, όπως για τη διερεύνηση χημικών και βιοχημικών διεργασιών, οι οποίες λαμβάνουν χώρα σε διαφορετικά συστατικά του περιβάλλοντος.

β) Στη μελέτη της περιβαλλοντικής ρύπανσης με στόχο κυρίως τα τρόφιμα και την οικοτοξικότητα. Πρόκειται για καθαρά χημική ειδοταυτοποίηση και αποτελεί την απλούστερη περίπτωση ανάλυσης ειδοταυτοποίησης, η οποία αποσκοπεί στην ανίχνευση και τον προσδιορισμό ενός συγκεκριμένου αναλύτη.

II. Ειδοταυτοποίηση συγκεκριμένων ομάδων.

Εφαρμόζεται και αυτή σε μελέτες περιβαλλοντικής ρύπανσης, ρύπανσης των τροφίμων και στην οικοτοξικότητα. Αυτός ο τομέας της ανάλυσης ειδοταυτοποίησης οδηγεί στον

προσδιορισμό των επιπέδων συγκέντρωσης μιας ορισμένης ομάδας ενώσεων ή στοιχείων, τα οποία μπορεί να βρίσκονται σε διάφορες ενώσεις και μορφές καθώς και σε μια συγκεκριμένη οξειδωτική βαθμίδα, όπως είναι για παράδειγμα ο προσδιορισμός των ενώσεων του Cr(III) και Cr(VI), ο προσδιορισμός οργανοκασσιτερικών ενώσεων και ο προσδιορισμός των επιπέδων συγκέντρωσης διαφόρων μορφών Υδραργύρου.

III. Ειδοταυτοποίηση κατανομής

Αυτή η μορφή ειδοταυτοποίησης συνδέεται κυρίως με την ανάλυση βιολογικών υλικών με σκοπό και πάλι τη μελέτη της περιβαλλοντικής ρύπανσης και την οικοτοξικότητα. Εδώ για παράδειγμα κατατάσσεται ο προσδιορισμός ιχνοστοιχείων σε ορό αίματος και αιμοσφαίρια^{6,7} και ο προσδιορισμός βαρέων μετάλλων στα φυτά.

IV. Διακριτή (Individual) ειδοταυτοποίηση

Αποτελεί την πιο δύσκολη μορφή ειδοταυτοποίησης, επειδή σ' αυτήν υπάγεται η ταυτοποίηση και ο προσδιορισμός χημικών ειδών με βάση διακριτές μοριακές ηλεκτρονικές ή πυρηνικές δομές. Στον τομέα αυτό σημαντικό ρόλο παίζει η ανάπτυξη τεχνικών κλασματοποίησης και διαχωρισμού(π.χ. χρωματογραφία)^{8,9}.

2.3.2 ΠΕΡΙΟΧΕΣ ΕΝΔΙΑΦΕΡΟΝΤΟΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΑΛΥΣΗ ΕΙΔΟΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ

Οι κυριότεροι τομείς στους οποίους βρίσκει εφαρμογή η ανάλυση ειδοταυτοποίησης είναι οι ακόλουθοι^{10,11}:

- α) Μελέτες του βιοχημικού κύκλου χημικών ουσιών σημαντικών για τα έμβια όντα.
- β) Προσδιορισμός της τοξικότητας και οικοτοξικότητας διαφόρων στοιχείων.
- γ) Έλεγχος ποιότητας των τροφίμων.
- δ) Έλεγχος φαρμάκων και φαρμακευτικών σκευασμάτων(π.χ. συμπληρώματα διατροφής).
- ε) Έλεγχος των επιπτώσεων της πρωτογενούς και δευτερογενούς επεξεργασίας της πρώτης ύλης στις διάφορες βιοτεχνίες και βιομηχανίες.
- στ) Διερεύνηση των επιπτώσεων της βιομηχανικής και αστικής ανάπτυξης στο περιβάλλον.

ΧΗΜΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Προσδιορισμός επιλεγμένων στοιχείων τα οποία υπάρχουν στο προς ανάλυση δείγμα υπό διαφορετικές μορφές.

Προσδιορισμός επιλεγμένων χημικών ειδών και μορφών που απαντούν στο προς ανάλυση δείγμα.

Στοιχεία
(οργανικά και ανόργανα)

Εκτίμηση μοριακού τύπου για διακριτούς αναλύτες (στοιχειακή ανάλυση)

ΧΗΜΙΚΗ ΕΙΔΟΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ
Προσδιορισμός Χημικών ειδών

ΦΥΣΙΚΗ ΕΙΔΟΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ
Προσδιορισμός διαφορετικών φυσικοχημικών μορφών του ίδιου χημικού είδους

ΑΤΟΜΙΚΗ ΕΙΔΟΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ
Ανίχνευση και προσδιορισμός επιλεγμένων χημικών ειδών

ΕΙΔΟΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΟΜΑΔΩΝ
Ανίχνευση και προσδιορισμός ομάδων ή κατηγοριών χημικών ειδών

ΕΙΔΟΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΚΑΤΑΝΟΜΗΣ
Ανίχνευση και προσδιορισμός επιλεγμένων διακριτών χημικών μονάδων σε ιδιαίτερα συστατικά του προς ανάλυση συστατικού.

ΕΙΔΟΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΔΙΑΚΡΙΣΗΣ
Ανίχνευση και προσδιορισμών όλων των διακριτών χημικών ειδών που υπάρχουν στο δείγμα

ζ) Μελέτη των συνεπειών και των κινδύνων της ρύπανσης του εργασιακού χώρου.

η) Κλινικός έλεγχος και άμεσες επιπτώσεις στον ανθρώπινο οργανισμό, μεταβολικές πορείες, ενδοκυτταρικές αντιδράσεις κ.τ.λ.

Όλοι οι τομείς, όπου χρειάζεται και εφαρμόζεται ανάλυση ειδοταυτοποίησης, έχουν έναν πρωταρχικό στόχο: Να μελετήσουν τις επιπτώσεις της ειδοκατανομής στην υγεία και την υγιεινή για τον βασικό τελικό αποδέκτη, που είναι ο άνθρωπος.

Έτσι τα είδη που αναλύονται είναι αυτά, των οποίων μας ενδιαφέρει η μορφή εισόδου τους στον οργανισμό, η μεταβολική πορεία τους και τα προϊόντα μεταβολισμού τους¹²⁻¹⁴.

2.3.3 ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΕΙΔΩΝ ΠΟΥ ΑΠΟΤΕΛΟΥΝ ΣΤΟΧΟ ΜΙΑΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΕΙΔΟΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ

α) Μικρά μόρια οργανομεταλλικών ενώσεων, τα οποία αποτελούν ρύπους των τροφίμων, του αέρα και του νερού. Τα πιο πολλά από αυτά δεν μεταβολίζονται από τον οργανισμό, όπως για παράδειγμα οργανομεταλλικές ενώσεις του κασσιτέρου, του μολύβδου και του υδραργύρου. Έτσι πρέπει να είναι γνωστή η σύσταση του αέρα και του νερού ως προς τα είδη αυτά.

β) Ενώσεις που αποτελούν δείκτες έκθεσης σε κάποια ουσία. Ο οργανισμός έχει μηχανισμούς αποτοξίνωσης και μετατρέπει τα βλαβερά ανόργανα μόρια και ιόντα σε ακίνδυνες οργανομεταλλικές ενώσεις. Η παρουσία των μεταβολιτών αυτών στα εκκρίματα του οργανισμού αποτελεί δείκτη της ύπαρξης των αρχικών ουσιών. Για παράδειγμα η ανίχνευση μονομεθυλαρσενικών και διμεθυλαρσενικών στα ούρα και το αίμα δηλώνουν εξωτερική ρύπανση από As(III) και As(V).

Η ανάλυση ειδοταυτοποίησης τέτοιων ειδών επεκτείνεται και σε κυτταρικό επίπεδο, καθώς η γνώση της ειδοαπεικόνισης των μεταβολιτών δίνει μια εικόνα της μεταβολικής τους πορείας και του μηχανισμού δράσης τους μέσα στο κύτταρο.

γ) Στοιχεία που υπάρχουν σε διάφορες βαθμίδες οξειδωσης, οι οποίες επηρεάζουν τη βιολογική τους δραστηριότητα. Π.χ. Cr(III)/Cr(VI) και Se(IV)/Se(VI).

δ) Στοιχεία που αποτελούν απαραίτητα δομικά συστατικά ορισμένων βιομορίων, όπως είναι ο χαλκός στη σερουλοπλασμίνη και το κοβάλτιο στην κοβαλαμίνη (βιταμίνη B₁₂).

ε) Στοιχεία ή είδη στοιχείων, τα οποία σχηματίζουν ενώσεις ένταξης με διάφορους υποκαταστάτες μικρού ή μεγάλου μοριακού βάρους, όπως για παράδειγμα το αργίλιο με τα κιτρικά και τα ανθρακικά ιόντα και το χρώμιο με την τρανσφερίνη.

2.4 ΑΝΑΛΥΣΗ ΕΙΔΟΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ ΜΕΤΑΛΛΩΝ

Ο σημαντικότερος κλάδος της ειδοταυτοποίησης αποδεικνύεται ότι είναι αυτός που ασχολείται με την ανάλυση ειδοταυτοποίησης των μετάλλων και των μεταλλοειδών είτε αυτά αντιμετωπίζονται ως ελεύθερα ιόντα είτε σαν σύμπλοκα και οργανομεταλλικές ενώσεις¹⁵⁻¹⁸.

Πιθανόν τα πιο σημαντικά χαρακτηριστικά των μετάλλων, τα οποία τα διακρίνουν από τους υπόλοιπους τοξικούς ρύπους, είναι ότι δεν βιοαποικοδομούνται και η πιθανή τοξικότητά τους, ρυθμίζεται από τη φυσικοχημική μορφή, με την οποία αυτά υπάρχουν στο περιβάλλον και αποκτούν κατόπιν στον οργανισμό^{19,20}.

Κάποια στοιχεία είναι απαραίτητα για τη ζωή, ενώ άλλα θεωρούνται ως τοξικά. Για καθένα από αυτά τα αποκαλούμενα “ιχνοστοιχεία”, λόγω της χαμηλής συγκέντρωσης που απαντούν, υπάρχει ένα αρκετά περιορισμένο εύρος συγκεντρώσεων, το οποίο διακρίνει το απαραίτητο από το τοξικό, η δε μετάβαση από τη μη τοξική δόση στη θανατηφόρο γίνεται αρκετά εύκολα.

Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί το σελήνιο, το οποίο έχει χαρακτηριστεί ως απαραίτητο για τον οργανισμό. Εντούτοις η μετάβαση από την απαιτούμενη δόση των 50-70 μικρογραμμαρίων την ημέρα στην τοξική των 800 μικρογραμμαρίων είναι εξαιρετικά εύκολη, καθώς η συγκέντρωσή του στα φυσικά νερά κυμαίνεται σε ευρύτατα όρια(0,1 – 400 $\mu\text{g l}^{-1}$), η δε αφομοίωσή του από τον οργανισμό ρυθμίζεται από το είδος του.

Ως γνωστόν τοξικά, δηλαδή θανατηφόρα, μπορεί να είναι όλα τα στοιχεία, έχει όμως επικρατήσει να αποκαλούνται έτσι αυτά, που μπορούν να επιφέρουν το θάνατο σε μικρές συγκεντρώσεις.

Δηλαδή ένα στοιχείο με σημαντικό ρόλο στη φυσιολογική λειτουργία του οργανισμού μπορεί να γίνει εξαιρετικά τοξικό, αν βρεθεί σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις. Το παράδοξο στην περίπτωση των μετάλλων είναι, ότι κάποια από τα θεωρούμενα ως απαραίτητα στοιχεία, όπως το βανάδιο και το σελήνιο, μπορεί να γίνουν πολύ πιο επιβλαβή από τα λεγόμενα τοξικά (π.χ. υδράργυρο και θάλιο).

Σε σύγκριση με τα μέσα του αιώνα ο άνθρωπος βρίσκεται εκτεθειμένος σε πολύ μεγαλύτερες συγκεντρώσεις μετάλλων. Για παράδειγμα το περιεχόμενο στον οργανισμό ποσού του μολύβδου και του καδμίου είναι στο σύγχρονο αστό τουλάχιστον 500 φορές μεγαλύτερο από αυτό στον πρωτόγονο άνθρωπο. Αυτό σημαίνει, ότι οι τιμές των τοξικών αυτών μετάλλων αγγίζουν απειλητικά τις κρίσιμες συγκεντρώσεις, που οδηγούν σε κλινική τοξικότητα.

Μεταβολές στην ειδοκατανομή των ιχνοστοιχείων μπορούν να αλλοιώσουν δραματικά τόσο τη βιοδιαθεσιμότητα, όσο και την τοξική τους δράση^{6,19}. Για παράδειγμα η κοβαλαμίνη (B₁₂) είναι η μοναδική αφομοιώσιμη από τον οργανισμό μορφή κοβαλτίου, ενώ το χρήσιμο για τον οργανισμό χρώμιο προέρχεται μόνο από τα σύμπλοκά του με αμινοξέα. Τα αλκυλιωμένα παράγωγα του υδραργύρου και του μολύβδου είναι ιδιαίτερος επικίνδυνα, λόγω της λιποδιαλυτότητάς τους και της ικανότητας συσσώρευσης στους λιπώδεις ιστούς, οι δε αλογονούχες ενώσεις του μολύβδου, που εκπέμπονται από τις εξατμίσεις των αυτοκινήτων, διεισδύουν στους πνεύμονες και μπορούν να απορροφηθούν από το αίμα. Αλλαγές στην οξειδωτική κατάσταση ενός στοιχείου είναι δυνατόν να διαμορφώνουν τη βιοδιαθεσιμότητα και την τοξικότητά του όπως π.χ. το Cr(III)/Cr(VI) ή το As(III) που είναι πιο τοξικό από το As(V). Ακόμη και αλλαγές στη διατροφή μπορεί να οδηγήσουν σε μειωμένη διαθεσιμότητα των ιχνοστοιχείων, χωρίς να μεταβάλλουν τη συνολική τους συγκέντρωση. Αυτό οφείλεται στο ότι τροφές με μεγάλη περιεκτικότητα σε φυτικές ίνες και πρωτεΐνες προσροφούν τα διάφορα ιχνοστοιχεία με μη αντιστρεπτό τρόπο, μειώνοντας έτσι τη βιοδιαθεσιμότητά τους.

Σημαντικό μέρος στην ειδοαπεικόνιση των μετάλλων αποτελεί η παρουσία τους στην υδρόσφαιρα και η συμμετοχή τους στους υδροβιολογικούς κύκλους. Στις μελέτες αυτές είναι απαραίτητη η διάκριση ανάμεσα στις διαλυτές μορφές και στις προσροφημένες στα αιωρούμενα σωματίδια. Μετά από σύμβαση²¹ διαλυτό θεωρείται κάθε μεταλλικό είδος, το οποίο μπορεί να περάσει μέσα από φίλτρο με διάμετρο πόρων ίση με 0,45 μικρόμετρα. Η διάκριση αυτή, που επηρεάζει σαφώς τη βιοδιαθεσιμότητα και την κατανομή των μεταλλικών ειδών, εισήγαγε μια τεράστια χημεία ισορροπιών μεταξύ αιωρούμενων σωματιδίων, διαλυμάτων, μετάλλων και όλων των οργανικών, βιο-οργανικών και ανόργανων υποκαταστατών καθώς και των κολλοειδών συστημάτων. Προκειμένου η ανάλυση ειδοαυτοποίησης να προσανατολιστεί σε ένα περιορισμένο και καθορισμένο πεδίο, τα διάφορα μεταλλικά είδη, που εμπλέκονται στις παραπάνω ισορροπίες, κατηγοριοποιήθηκαν το 1976 σε επτά μεγάλες ομάδες²²:

- α) ελεύθερα μεταλλικά ιόντα.
- β) κινητικά δραστικά(ευκίνητα) μέταλλα, χαλαρά ενωμένα με οργανικές και βίο-οργανικές ενώσεις.
- γ) μέταλλα ακινητοποιημένα με μόνιμη σύμπλεξη με οργανικούς και βίο-οργανικούς υποκαταστάτες.
- δ) ευκίνητα μεταλλικά ιόντα με τη μορφή ανόργανων συμπλόκων
- ε) μεταλλικά ιόντα ισχυρά ενωμένα με ανόργανους υποκαταστάτες
- στ) μέταλλα προσροφημένα σε οργανικά υλικά

ζ) μέταλλα προσροφημένα σε ανόργανα υποστρώματα.

Όπως φαίνεται, το σενάριο της ειδοταυτοποίησης είναι σαφώς περίπλοκο και τα τελευταία χρόνια το αντικείμενο μελέτης έχει επεκταθεί σε τέτοιο βαθμό, ώστε να περιλαμβάνει περίπου 15 στοιχεία, 20 διαφορετικές οξειδωτικές καταστάσεις και 25 οργανομεταλλικά είδη, ιδιαίτερα σε έρευνες βιολογικού ενδιαφέροντος.

Από το σύνολο των πληροφοριών που έχουν προκύψει μπορούμε να συνοψίσουμε τα εξής:

1) Το αρσενικό, ο κασσίτερος και ο υδράργυρος αποτελούν τα πλέον αναλυόμενα είδη για ειδοταυτοποίηση, με επόμενα το χρώμιο, το σελήνιο, τον μόλυβδο και το κάδμιο.

2) Εκτός από τα περιβαλλοντικά ύδατα μεγάλη βαρύτητα έχει δοθεί στην ανάλυση ειδοταυτοποίησης σε βιολογικά υγρά με πιο συνηθισμένα τον ορό του αίματος και τα ούρα, καθώς είναι αντιπροσωπευτικά υποστρώματα για την εκτίμηση της συνολικής κατανομής των μετάλλων στον οργανισμό²³⁻²⁵. Στην περίπτωση του χαλκού, του καδμίου και του ψευδαργύρου έχει επίσης προταθεί η ανάλυση ιστού.

3) Για τα 15 στοιχεία έχουν καταγραφεί περίπου 20 οξειδωτικές καταστάσεις ως αντικείμενα έρευνας.

4) Πέντε στοιχεία απαντούν συχνότατα με τη μορφή οργανικών ενώσεων και κυρίως ως μεθυλιωμένα, αιθυλιωμένα, βουτυλιωμένα και αρυλιωμένα παράγωγα. Τα στοιχεία αυτά είναι το αρσενικό, ο υδράργυρος, ο κασσίτερος, ο μόλυβδος και το σελήνιο. Για άλλα επτά στοιχεία έχουν αναφερθεί αξιοπρόσεκτα οργανομεταλλικά παράγωγα με αμινοξέα, πρωτεΐνες και μακρομόρια τόσο στο περιβάλλον όσο και στον οργανισμό. Τα μέταλλα αυτά είναι ο άργυρος, το κάδμιο, ο χαλκός, το χρώμιο, ο μόλυβδος, το σελήνιο και ο ψευδάργυρος.

5) Μεταξύ των τεχνικών, που χρησιμοποιούνται για τον διαχωρισμό και τον προσδιορισμό των ειδών, κυριαρχούν οι διάφορες χρωματογραφικές τεχνικές ακολουθούμενες από εκχύλιση με οργανικούς υποκαταστάτες, διαχωρισμούς με μεταβολή του pH, θέρμανση και απόσταξη, ενώ οι πλέον διαδεδομένοι ανιχνευτές είναι αυτοί της ατομικής απορρόφησης και εκπομπής και του επαγωγικά συζευγμένου πλάσματος με ανιχνευτή ατομικής εκπομπής ή μάζας. Λιγότερο διαδεδομένες είναι οι οπτικές και φθορισμομετρικές τεχνικές.

Οι σημαντικότερες τεχνικές που εφαρμόζονται στον προσδιορισμό και στην ειδοταυτοποίηση μεταλλικών στοιχείων καθώς και μια σύγκριση μεταξύ τους περιγράφονται στο 4^ο Κεφάλαιο του Θεωρητικού Μέρους.

2.5 ΤΙ ΑΠΑΙΤΕΙ ΜΙΑ ΑΝΑΛΥΣΗ ΕΙΔΟΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ, ΣΤΑΔΙΑ ΚΑΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΣΦΑΛΜΑΤΟΣ

2.5.1 ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ, ΦΙΛΤΡΑΡΙΣΜΑ ΚΑΙ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΤΑ ΟΠΟΙΑ ΠΡΟΟΡΙΖΟΝΤΑΙ ΓΙΑ ΑΝΑΛΥΣΗ ΕΙΔΟΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ²⁶

Η συλλογή ενός δείγματος με σκοπό την ανάλυση ειδοταυτοποίησης ενέχει πάντα τον κίνδυνο της επιμόλυνσης. Αν το αρχικό αυτό βήμα δεν εκτελεστεί προσεκτικά και σωστά, όλη η ακόλουθη πολύωρη ανάλυση θα είναι άσκοπη.

Το πρώτο που πρέπει να καθοριστεί είναι το είδος των δοχείων δειγματοληψίας και η μέθοδος καθαρισμού τους. Τα πλέον χρησιμοποιούμενα δοχεία είναι κατασκευασμένα από PET(πολυαιθυλένιο). Βέβαια έχει αναφερθεί, ότι οι περιέκτες από Τεφλόν είναι οι μόνοι, που δεν απελευθερώνουν ψευδάργυρο. Γι'αυτό πρέπει να χρησιμοποιούνται όταν ο Ζn αποτελεί το προς ανάλυση συστατικό. Διάφορες μέθοδοι έχουν προταθεί για την προκατεργασία των περιεκτών πριν τη δειγματοληψία, ώστε να απαλλαγούν από μέταλλα που στη συνέχεια θα επιβαρύνουν το δείγμα. Έτσι οι φιάλες PET υφίστανται κατεργασία με ένα διάλυμα νιτρικού οξέος 1.5 M για 48 ώρες, ώστε να απομακρυνθούν οι προσμίξεις από Cu, Pb, Cd και ιδιαίτερα από Zn. Κάποιοι ερευνητές υποστήριξαν, ότι χρειάζεται κατεργασία με θερμό οξύ πριν από το στάδιο αυτό. Κάτι τέτοιο όμως θα είχε αρνητικά αποτελέσματα λόγω ενδεχόμενης ενεργοποίησης της επιφάνειας του περιέκτη, όπου στη συνέχεια θα ήταν δυνατή η προσρόφηση μετάλλων από το δείγμα. Για την αποφυγή τέτοιων ενεργοποιημένων επιφανειών, είναι προτιμότερη η κατεργασία του περιέκτη με διάλυμα θειικού μαγνησίου και ασβεστίου.

Για τη φύλαξη των δειγμάτων πρέπει να τονιστεί, ότι η συνηθισμένη διαδικασία οξίνισης(για αποφυγή της υδρόλυσης) απαγορεύεται κατηγορηματικά, όταν τα δείγματα προορίζονται για ανάλυση ειδοταυτοποίησης, επειδή μπορεί να αλλάξει την κατανομή των ειδών. Επιπλέον στην περίπτωση ανάλυσης υδάτων, τα οποία αποτελούν και τον ευρύτερο τομέα εφαρμογών, η οξίνιση μπορεί να προκαλέσει την καταβύθιση των χουμικών και φουλβικών υλικών, με τα οποία συμπαρασύρονται συχνά και μεγάλες ποσότητες μετάλλων. Απαγορευτική είναι επίσης και η κατάψυξη των δειγμάτων. Καθώς το δείγμα παγώνει τα μεταλλικά ιόντα συσσωρεύονται στο υγρό που παραμένει, με αποτέλεσμα να προκαλείται μη αντιστρεπτή υδρόλυση και πολυμερισμός καθώς και οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις. Για να επανέλθουν στην αρχική κατάσταση τα μέταλλα, δεν αρκεί μόνο να λιώσει ο πάγος, αλλά

πιθανόν χρειάζεται και ένα στάδιο θέρμανσης με οξύ. Πάντως η καλύτερη θερμοκρασία για τη συντήρηση των δειγμάτων θεωρείται η 4 °C.

Υπάρχουν αρκετές διαμάχες γύρω από τις απώλειες, που προκαλούνται κατά τη φύλαξη δειγμάτων σε δοχεία PET²³. Οι μεγαλύτερες διαφωνίες εντοπίζονται μεταξύ ερευνητών, που χρησιμοποιούν συνθετικά δείγματα και εκείνων που αναλύουν πραγματικά. Οι πρώτοι αναφέρουν υπολογίσιμες απώλειες προς τον περιέκτη, ενώ η πλειοψηφία των δευτέρων αναφέρει ελάχιστες ως και ασήμαντες απώλειες.

Τα αποτελέσματα αυτά δεν αποτελούν έκπληξη. Τα φυσικά δείγματα βρίσκονται σε μια κατάσταση δυναμικής ισορροπίας με μια πληθώρα προσροφητικών υλικών, όπως τα ιζήματα, τα οποία περιέχουν σίδηρο, αργίλιο, μαγγάνιο, πυριτικά οξείδια και χουμικά υλικά. Επίσης περιέχουν ένα μεγάλο αριθμό αιωρούμενων σωματιδίων με ανάλογες προσροφητικές ικανότητες και πολύ μεγάλη επιφάνεια. Επομένως θα αποτελούσε έκπληξη, αν ένα δοχείο PET, με συγκριτικά πολύ μικρότερη επιφάνεια και προσροφητική ικανότητα, μπορούσε να αποσπάσει ένα σημαντικό μέρος του μεταλλικού φορτίου από το δείγμα. Επιπλέον κολλοειδή σωματίδια των πραγματικών δειγμάτων έχουν μικρή τάση να προσροφούνται τόσο στο PET όσο και στο γυαλί. Αντίθετα τα ελεύθερα, μη προσροφημένα μεταλλικά ιόντα, παραλαμβάνονται σχεδόν ποσοτικά από την ύαλο και λιγότερο από το πολυαιθυλένιο. Το pH στο οποίο παρατηρείται σημαντική προσρόφηση μπορεί να συσχετιστεί με την τιμή της πρώτης σταθεράς υδρόλυσης με έναν ημιεμπειρικό τύπο: $pH = p^*β_1 - 1,5$. Εξάλλου η προσρόφηση πάνω σε οργανικά υλικά μπορεί να λάβει χώρα και σε χαμηλότερα pH.

Διαλυτά μέταλλα, όπως αναφέρθηκε, θεωρούνται αυτά που διέρχονται από ένα φίλτρο 0,45 μm. Με αυτή την κάπως αυθαίρετη διάκριση το στάδιο του φιλτραρίσματος διαχωρίζει το μεταλλικό φορτίο των σωματιδίων από αυτό, που βρίσκεται στην υγρή φάση ή με τη μορφή κολλοειδούς. Τα δείγματα θαλασσινού νερού από ανοιχτές θάλασσες σπάνια χρειάζονται διήθηση λόγω της απουσίας σωματιδίων. Στα πόσιμα νερά όμως και ακόμα περισσότερο στα λύματα και στα βιολογικά υγρά η διήθηση και καμιά φορά η υπερδιήθηση είναι απαραίτητες.

Επειδή ο κίνδυνος επιμολύνσεων είναι μεγάλος, η διήθηση πρέπει να γίνεται σε αποστειρωμένες συνθήκες (κατά προτίμηση σε χώρο στρωτής ροής). Στο χρησιμοποιούμενο φίλτρο ή μεμβράνη πρέπει να προστίθεται προσεκτικά οξύ και να ξεπλένεται με απεσταγμένο νερό πριν τη χρήση, αλλιώς ενδέχεται να συνεισφέρει στο δείγμα τόσο σε μέταλλα όσο και σε οργανικές ενώσεις. Τα πολυανθρακικά φίλτρα έχουν το χαμηλότερο μεταλλικό περιεχόμενο, αλλά έχουν το μειονέκτημα ότι βουλώνουν εύκολα. Έτσι οι πλέον εύχρηστες είναι οι μεμβράνες οξικής κυτταρίνης. Π.χ. τα πολυανθρακικά φίλτρα Sartorius απορρυπαίνονται

ευκολότερα από τα αντίστοιχα υαλώδη της Millipore. Πρέπει να επισημανθεί, ότι όλη η συσκευή διήθησης πρέπει να καθαρίζεται με την ίδια προσοχή και σχολαστικότητα, που ακολουθείται και για τους περιέκτες. Η διήθηση υπό πίεση σε ρεύμα αζώτου είναι ταχύτερη και λιγότερο ευπρόσβλητη από επιμολύνσεις από ότι η διήθηση με κενό. Ενέχει όμως τον κίνδυνο της ρήξης των κυττάρων φυτικών και ζωικών μικροοργανισμών και ρύπανσης του δείγματος με το περιεχόμενό τους.

Ερευνητές οι οποίοι χρησιμοποίησαν συνθετικά μείγματα μετάλλων, παρατήρησαν σημαντικές απώλειες λόγω προσρόφησης, ειδικά στα υαλώδη υποστηρίγματα του συστήματος διήθησης της Millipore. Αντίθετα στην περίπτωση των φυσιολογικών πραγματικών δειγμάτων δεν παρατηρήθηκε καμία απώλεια.

2.5.2 ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΣΦΑΛΜΑΤΟΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΑΝΑΛΥΣΗ ΕΙΔΟΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ

Οι σύνθετες τεχνικές, που επικράτησε να εφαρμόζονται σε μια ανάλυση ειδοταυτοποίησης αναπτύχθηκαν στις αρχές της δεκαετίας του 80. Οι τεχνικές αυτές περιλαμβάνουν διάφορες αναλυτικές διεργασίες, όπως εκχύλιση με οργανικούς διαλύτες (όπως τολουόλιο ή διχλωρομεθάνιο) ή με διάφορα οξέα (όπως οξικό ή υδροχλωρικό), παραγωγοποίηση (π.χ. δημιουργία υδριδίων ή αιθυλίωση), στάδια διαχωρισμού (με GC ή HPLC) ακολουθούμενα από την ανίχνευση των ενώσεων ή των στοιχείων με μια πληθώρα ανιχνευτών, όπως Ατομική Απορρόφηση, ICP-MS, FPD, ανιχνευτής ιονισμού με φλόγα (FID), ανιχνευτής σύλληψης ηλεκτρονίων (ECD), κ.τ.λ. Κάθε στάδιο της αναλυτικής πορείας εργασίας ενέχει τους δικούς του κινδύνους σφάλματος⁵. Το κύριο μέλημα είναι τα στάδια της ανάλυσης ρυθμίζονται έτσι, ώστε το προς ανάλυση συστατικό να διαχωρίζεται από το παρεμποδίζον υπόστρωμα χωρίς να προκληθούν απώλειες, μόλυνση του δείγματος ή μεταβολή της ειδοκατανομής.

1. Εκχύλιση (παραλαβή από το υπόστρωμα).

Στην περίπτωση της ανάλυσης δειγμάτων βιολογικής προέλευσης και ιζημάτων, όπου ο ανιχνευτής είναι μια διάταξη AA, χρησιμοποιούνται συνήθως τεχνικές παραλαβής με κατεργασία του δείγματος με οξέα, όπως υδροχλωρικό, οξικό και μίγματά τους. Όταν η ανάλυση περιλαμβάνει χρήση αέριας χρωματογραφίας ή HPLC, η παραλαβή του αναλύτη γίνεται με εκχύλιση με οργανικούς διαλύτες, όπως διχλωρομεθάνιο, χλωροφόρμιο, τολουόλιο, εξάνιο κτλ.

Ένας καλός ποσοτικός έλεγχος προϋποθέτει μεγάλους συντελεστές κατανομής δηλαδή παραλαβές. Για να διαπιστωθεί η απόδοση της μεθόδου σε αυτήν την κατεύθυνση,

χρησιμοποιείται συνήθως η τεχνική ένεσης γνωστής ποσότητας του αναλύτη σε υπόστρωμα παρόμοιας σύστασης με αυτό του αγνώστου και ο προσδιορισμός του μετά την αποκατάσταση ισορροπίας και την εκχύλιση^{27,28}. Το κύριο μειονέκτημα της τεχνικής αυτής είναι, ότι δεν εξασφαλίζεται παρόμοια σύνδεση του αναλύτη με το υπόστρωμα στο άγνωστο και το ενυόμενο δείγμα. Εναλλακτικά, και με την προϋπόθεση ότι η διαδικασία εκχύλισης δεν αλλοιώνει τη σύσταση του υποστρώματος, τα πειράματα ανάκτησης μπορούν να γίνουν με ένεση στο μέρος του εκχυλίσματος, το οποίο δεν περιέχει τον αναλύτη. Εντούτοις η αποτελεσματικότητα της ανάκτησης μπορεί να υπερεκτιμηθεί και για να εξασφαλίσουμε την ακρίβεια χρειάζονται CRM(πιστοποιημένα υλικά αναφοράς), τα οποία όμως είναι εύχρηστα μόνο στις περιπτώσεις, όπου το περιεχόμενο τους είναι εγγενές και όχι εξωτερικά ενυόμενο.

Τα πειράματα ανάκτησης ενυόμενων δειγμάτων, αν και έχουν τις ατέλειές τους είναι ιδιαίτερος σημαντικά. Έχει αναγνωρισθεί διεθνώς, ότι αποτελούν ικανή αλλά όχι και αναγκαία συνθήκη για να θεωρηθεί αξιόπιστη μία μέθοδος. Έτσι μια μέθοδος με κακές ανακτήσεις αποκλείεται να δίνει ακριβή αποτελέσματα, ενώ μία μέθοδος με καλές ανακτήσεις ίσως να είναι ακριβής αλλά να μην εφαρμόζεται σε πραγματικά υποστρώματα. Αποτελεί γενική παραδοχή, ότι για τον έλεγχο μιας ανάκτησης απαιτούνται τουλάχιστον δύο επαναλήψεις του πειράματος για το ίδιο δείγμα.

Τα ποσοστά ανακτήσεων μπορεί να διαφέρουν για τα διάφορα είδη ενός στοιχείου και κατά συνέπεια θα πρέπει κάθε συντελεστής ανάκτησης να προσδιορίζεται για το συγκεκριμένο είδος και οι ανακτήσεις να υπολογίζονται επί μέρους αλλά και στο σύνολο. Συνήθως πρέπει να γίνονται συμβιβασμοί, ώστε η αποτελεσματική ανάκτηση να μην επηρεάζει την ειδοκατανομή.

Για τη σχολαστική εκτίμηση των μεθόδων εκχύλισης χρειάζονται υλικά με εγγενείς αναλύτες(δεσμευμένους στο υπόστρωμα όπως και το αναλυόμενο δείγμα) και ραδιενεργά επισημασμένους. Ελλείπει τέτοιων υλικών η μέθοδος εκχύλισης πρέπει να εκτιμάται με άλλες ανεξάρτητες μεθόδους, όπως για παράδειγμα η εκχύλιση με υπερκρίσιμο ρευστό.

2. Παραγωγοποίηση.

Οι διαδικασίες παραγωγοποίησης μπορεί να χρησιμοποιηθούν για το διαχωρισμό και τη συγκέντρωση ιχνοστοιχείων από τα υποστρώματά τους, δηλαδή να οδηγήσει στο σχηματισμό ειδών, τα οποία διαχωρίζονται μεταξύ τους ευκολότερα με τη βοήθεια χρωματογραφίας. Οι εφαρμοζόμενες τεχνικές επικεντρώνονται στην εισαγωγή απλών ομάδων(κυρίως αλκυλίωση με αντίδραστήρια Grignard).

Η δημιουργία υδριδίων(η οποία πραγματοποιείται σε όξινο περιβάλλον), χρησιμοποιεί ως αναγωγικό μέσο το βοριοϋδρίδιο του νατρίου και κάποιον παράγοντα μεταφοράς ανιόντων υδρογόνου(υδρίδιο), ώστε να οδηγήσει στο σχηματισμό υδριδίων των μεταλλικών και των μεταλλοειδών στοιχείων. Το κύριο πλεονέκτημα αυτής της μεθόδου είναι, ότι δε συντελεί στη διάσπαση του δεσμού άνθρακα-μετάλλου και έτσι η ειδοκατανομή διατηρείται. Με την τεχνική αυτή μπορεί να προσδιοριστεί ένας μεγάλος αριθμός ειδών διαφόρων στοιχείων, όπως As, Ge, Sb, Se και Sn. Επιλέγοντας το κατάλληλο pH στο μίγμα της αντίδρασης μπορούμε να περιορίσουμε το πλήθος των στοιχείων, που δίνουν υδρίδια. Οι αντιδράσεις Grignard, όπως η πεντυλίωση, χρησιμοποιούνται ευρέως για τον προσδιορισμό αλκυλομολυβδικών και κασσιτερικών ενώσεων και τα προϊόντα τους μπορούν να διαχωριστούν εύκολα με αέρια χρωματογραφία. Βέβαια, η επαλήθευση της απόδοσης της παραγωγοποίησης, δεν μπορεί να είναι πάντα ακριβής λόγω της έλλειψης κατάλληλων προτύπων.

Η χρήση του τετρααιθυλοβορικού νατρίου υπερπηδά την αστάθεια των αντιδραστηρίων Grignard, τα οποία είναι ισχυρές βάσεις και υδρολύονται εύκολα, επιτρέποντας έτσι την πραγματοποίηση της αιθυλίωσης σε υδατικά διαλύματα. Με την καινοτομία αυτή έγινε δυνατός ο προσδιορισμός αλκυλομολυβδικών κασσιτερικών και υδραργυρικών ειδών σε υδατικά δείγματα.

Προς το παρόν οι μέθοδοι παραγωγοποίησης απέχουν πολύ από το να θεωρηθούν ως πλήρως ελεγχόμενες. Παρά τον μεγάλο αριθμό δημοσιεύσεων οι μηχανισμοί των αντιδράσεων παραγωγοποίησης δεν είναι ακόμη πλήρως κατανοητοί, κάτι που σίγουρα επεκτείνεται και στην εφαρμογή τους στις αναλυτικές τεχνικές. Γενικά, η πιθανότητα λανθασμένων αποτελεσμάτων αυξάνει με τον αριθμό των σταδίων που μεσολαβούν και με την πολυπλοκότητά τους. Κατά συνέπεια, αν δεν είναι απολύτως απαραίτητο, καλό θα είναι να αποφεύγεται η παραγωγοποίηση.

Οι κυριότεροι παράγοντες σφάλματος στην αντίθετη περίπτωση, όπως αυτοί αναπτύχθηκαν στα συνέδρια του 92, 94 και 95 στη Ρώμη είναι:

- I. Η απόδοση των αντιδράσεων παραγωγοποίησης εξαρτάται συχνά από τη σύσταση του υποστρώματος και είναι δύσκολο να προσδιοριστεί λόγω της έλλειψης προτύπων διαλυμάτων υψηλής καθαρότητας.
- II. Ο αυξημένος αριθμός ενδιάμεσων σταδίων που προηγούνται και έπονται της παραγωγοποίησης(όπως εκχύλιση, προσυγκέντρωση και καθαρισμός) αυξάνουν τη συνολική αβεβαιότητα.

III. Η σταθερότητα κάποιων παραγώγων είναι μικρή και μπορεί να επηρεάζεται από αστάθμητους παράγοντες, όπως είναι η σύσταση του αρχικού δείγματος.

3. Διαχωρισμός

Ο διαχωρισμός των χημικών ειδών των διαφόρων στοιχείων, χωρίς μεταβολή της ειδοκατανομής, μπορεί να επιτευχθεί μόνο με τεχνικές που δεν καταστρέφουν ούτε αλλοιώνουν τις χημικές μορφές, με τις οποίες αυτά υπάρχουν σε ένα δείγμα. Οι πιο συνηθισμένες τεχνικές που χρησιμοποιούνται μέχρι σήμερα είναι: η αέρια χρωματογραφία με χρήση πακεταρισμένων τριχοειδών στηλών, η ψυχρή παγίδευση με τη χρήση υοειδούς σωλήνα πληρωμένου με χρωματογραφικό υλικό και η υγρή χρωματογραφία.

Η αέρια χρωματογραφία βρίσκει ευρύτερη εφαρμογή στον προσδιορισμό ιχνών οργανικών ενώσεων. Δυστυχώς όμως στην περίπτωση της ειδοταυτοποίησης μεταλλικών στοιχείων η χρήση της είναι περιορισμένη. Αν και οι πακεταρισμένες κλίνες έχουν πρακτικά αποσυρθεί από την ανάλυση οργανικών ενώσεων, λόγω κακής διαχωριστικής ικανότητας και κατανάλωσης χρόνου, εντούτοις σε οργανομεταλλικές ειδοταυτοποιήσεις οι εφαρμογές τους είναι ευρύτατα διαδεδομένες.

Γενικά θα πρέπει να λαμβάνονται ορισμένα μέτρα, ώστε να διατηρείται η σταθερότητα των αναλυόμενων ενώσεων. Για παράδειγμα στο διαχωρισμό των ειδών του κασσιτέρου με αέρια χρωματογραφία μπορεί λόγω της θερμότητας να προκληθεί αποσταθεροποίηση, η οποία θα οδηγούσε σε απόθεση των οξειδίων του κασσιτέρου στα τοιχώματα και στο υλικό της στήλης δημιουργώντας υπολειμματική ουρά στις κορυφές.

Κατάλληλες για διαχωρισμό με αέρια χρωματογραφία είναι οι θερμικά σταθερές πτητικές ενώσεις. Για την τεχνική αυτή χρησιμοποιούνται διάφορες στατικές φάσεις, που βασίζονται σε τριχοειδή από τετηγμένο πυρίτιο. Η διαχωριστική ικανότητα της στήλης εξαρτάται από την πολικότητα των προς διαχωρισμό ενώσεων και από την στατική φάση. Πολλές φορές ο διαχωρισμός ενώσεων με αέρια χρωματογραφία απαιτεί ένα στάδιο παραγωγοποίησης, στο οποίο τα προς ανάλυση είδη μετατρέπονται σε πτητικά.

Για την υγρή χρωματογραφία, όπως η HPLC, το στάδιο αυτό δεν είναι απαραίτητο. Δυστυχώς οι στατικές φάσεις στην υγρή χρωματογραφία χρησιμοποιούνται λιγότερο συχνά από ότι στην αέρια και έτσι για κάποια είδη μπορεί να υπάρχει ακόμη πρόβλημα διαχωρισμού. Σε γενικές γραμμές όμως η υγρή χρωματογραφία συνδέεται πιο εύκολα με εκλεκτικούς ανιχνευτές όπως ICP-AES, ICP-MS, AAS, SXRF, ανάλυση μέσω ενεργοποίησης νετρονίων ή ηλεκτροχημικούς αισθητήρες.

Η τεχνική της ψυχρής παγίδευσης έχει χρησιμοποιηθεί με επιτυχία για τον προσδιορισμό αλκυλοκασιτερικών και αλκυλοσεληνικών ενώσεων μολύβδου και κάποιων μορφών αρσενικού. Η τεχνική αυτή παρουσιάζει το πλεονέκτημα, ότι μπορεί και να προσυγκεντρώσει αλλά και να διαχωρίσει τα διάφορα είδη με βάση τη διαφορετική τους πτητικότητα. Το μειονέκτημα της είναι, ότι όπως και στην αέρια χρωματογραφία διαχωρίζονται μόνο τα πολύ πτητικά είδη, ενώ αυτά με χαμηλή πτητικότητα(π.χ. τριφαίνυλοκασσίτερος) δεν μπορούν να διαχωριστούν. Άρα η ψυχρή παγίδευση απαιτεί και ένα στάδιο παραγωγοποίησης. Και τα δύο εμπλεκόμενα στάδια είναι δύσκολο να εκτιμηθούν ως προς την ακρίβειά τους, αφού είναι ασαφές ποιοι παράγοντες παρεμποδίζουν το σχηματισμό και το διαχωρισμό των πτητικών ειδών για κάθε διαφορετικό υπόστρωμα. Παρά το γεγονός ότι η τεχνική δεν είναι πάντοτε εφαρμόσιμη, η απλότητα στη λειτουργία της και η δυνατότητα σύνδεσης σε ροή με συσκευές παραγωγοποίησης την καθιστά κατάλληλη για μια μεγάλη ποικιλία ενώσεων.

Κατά γενική ομολογία οι τεχνικές διαχωρισμού που χρησιμοποιούν υγρή χρωματογραφία, παρέχουν περισσότερες δυνατότητες από ότι αυτές που διαχωρίζουν αέρια είδη. Με την υγρή χρωματογραφία μπορούν να διαχωριστούν πολύ περισσότερα είδη καθώς η υγρή χημεία είναι πολύ πιο διαδεδομένη από την αέρια. Παρά το γεγονός αυτό εξακολουθούν να υπάρχουν κάποια προβλήματα, ειδικά όσον αφορά στη σταθερότητα των ιονανταλλακτικών στηλών με πληρωτικό υλικό από πυρίτιο. Σχετικά με την αέρια χρωματογραφία με τριχοειδείς στήλες τα προβλήματα τους στην ανάλυση ειδοταυτοποίησης ήταν τα ίδια, όπως και στην περίπτωση των οργανικών ενώσεων.

4. Ανίχνευση

Η ανιχνευτές που χρησιμοποιούνται σε μια ανάλυση ειδοταυτοποίησης είναι, είτε ειδοεκλεκτικοί(όπως η φασματομετρία ατομικής απορρόφησης) ή μη ειδοεκλεκτικοί (όπως FID, FPD, ECD). Γενικά το προσδιοριζόμενο είδος πρέπει να φτάνει στον ανιχνευτή ελεύθερο προκειμένου να αποφευχθούν οι δυνατές παρεμποδίσεις. Οι πολυ-στοιχειακοί αναλυτές(όπως ICP-AES, ICP-MS, NAA) μπορεί να εμφανίσουν μεγάλες αβεβαιότητες και τυπικές αποκλίσεις. Στην ανάλυση ειδοταυτοποίησης η επιλογή του ανιχνευτή εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από το χημικό είδος, που πρόκειται να προσδιοριστεί και από τον τρόπο που επιτυγχάνεται ο διαχωρισμός.

Η φασματοφωτομετρία ατομικής απορρόφησης με ηλεκτροθερμική ατομοποίηση (ETAAS) παρά το γεγονός, ότι είναι μια πολύ ευαίσθητη μέθοδος με πολύ χαμηλά όρια ανίχνευσης, δεν συνιστάται γενικά για την ανάλυση ειδοταυτοποίησης καθώς δεν εφαρμόζεται εύκολα σε συνεχείς αναλύσεις εν ροή. Οι απαραίτητοι χειρισμοί που

απαιτούνται λόγω της προεργασίας εκτός ροής, αυξάνουν σημαντικά τους παράγοντες σφάλματος.

Όταν όμως επιλέγεται ως η μέθοδος ανίχνευσης, θα πρέπει να λαμβάνονται μέτρα ανάλογα με την ανάλυση ανόργανων ενώσεων, όπως επιλογή του κατάλληλου τροποποιητή υποστρώματος, το θερμοκρασιακό πρόγραμμα κ.τλ.²⁹

Η φασματοφωτομετρία ατομικής απορρόφησης με φλόγα και με φούρνο χαλαζία συχνά χρησιμοποιείται ως ένας ειδοευαίσθητος ανιχνευτής. Με την προϋπόθεση ότι όλες οι παράμετροι έχουν επιλεχθεί και ρυθμιστεί κατάλληλα οι τεχνικές αυτές μπορούν να εφαρμοσθούν και σε ροή, εφόσον έχει προηγηθεί κάποια από τις διατάξεις διαχωρισμού, που αναφέρθηκαν προηγουμένως. Με τον τρόπο αυτό είναι δυνατή η ειδοταυτοποίηση διαφορετικών ειδών του ίδιου στοιχείου, όπως π.χ. Cr(III), Cr(VI) καθώς ο ανιχνευτής δεν ξεχωρίζει τις οξειδωτικές καταστάσεις αλλά το συγκεκριμένο στοιχείο.

Οι τεχνικές ICP-MS ή ICP-AES μπορούν να χρησιμοποιηθούν επίσης σε ροή μετά από διαχωρισμό με HPLC και με χρήση κατάλληλης διεπιφάνειας σύζευξης. Σε ορισμένες περιπτώσεις ο ανιχνευτής MS(φασματογράφος μάζας) μπορεί να γίνει εκλεκτικός και να επιτρέψει μια διάταξη ροής για διαβεβαίωση ποιότητας ισοτοπικής αραίωσης.

Κλασικοί ανιχνευτές που χρησιμοποιούνται μετά από διαχωρισμό με υγρή ή αέρια χρωματογραφία για τον προσδιορισμό διαφόρων μορφών στοιχείων είναι πχ FPD FID, ECD, κτλ.

2.6 ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΤΗΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΕΙΔΟΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ ΣΤΗΝ ΚΑΘΗΜΕΡΙΝΗ ΖΩΗ. ΠΙΣΤΟΠΟΙΗΜΕΝΑ ΥΛΙΚΑ ΑΝΑΦΟΡΑΣ

2.6.1 ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ

Οι επιπτώσεις των οργανοκασσιτερικών ενώσεων αποτελούν ένα συνεχές πρόβλημα για τους περιβαλλοντολόγους, τους βιομηχάνους, τους ερευνητές και τα νομοθετικά όργανα³⁰⁻³². Την εποχή που οι χημικές βιομηχανίες χρωμάτων εισήγαγαν στην αγορά τον τριβουτυλιωμένο κασσίτερο(TBT), ως μια αποτελεσματική αντιδιαβρωτική μόνωση, το υλικό αυτό θεωρήθηκε ως εξαιρετική λύση κατά της σκουριάς και βρήκε τεράστια εφαρμογή στα πλοία, όπου το θαλασσινό νερό δημιουργούσε τεράστια προβλήματα³³. Δεν πέρασαν παρά μερικά χρόνια μέχρι να εμφανιστούν οι πρώτες αρνητικές επιπτώσεις στα θαλάσσια οικοσυστήματα, εξαιτίας της ρύπανσης από τις οργανοκασσιτερικές ενώσεις. Το γεγονός αυτό οδήγησε στη θέσπιση σχετικής νομοθεσίας σε παγκόσμιο μάλιστα επίπεδο. Ταυτόχρονα,

αναπτύχθηκαν αναλυτικές μέθοδοι για των προσδιορισμό των καταλοίπων των ουσιών αυτών σε διάφορα υποστρώματα. Για να αντιμετωπισθούν οι ανάγκες των αναλύσεων αυτών έγινε και γίνεται προσπάθεια να δημιουργηθούν ανθεκτικές, αξιολογημένες μέθοδοι με οικονομική οργανολογία, τόσο από τους διάφορους οργανισμούς πιστοποίησης όσο και από τους κατασκευαστές αναλυτικών οργάνων. Πρωταρχική σημασία απέκτησε η κατασκευή πιστοποιημένων υλικών αναφοράς (Certified reference materials, CRM) για διάφορα υποστρώματα, όπως ιζήματα, νερά και ιστοί κυρίως από μαλακόστρακα, στα οποία έχει επιβεβαιωθεί η περιεκτικότητά τους σε TBT, τα οποία διατίθενται πλέον στο εμπόριο. Βέβαια τα αναλυτικά επιτεύγματα θα πρέπει να συμβαδίζουν με μια καλύτερα θεμελιωμένη γνώση για τα αποδεκτά επίπεδα συγκεντρώσεων του υποστρώματος. Η βελτίωση της αναλυτικής απόδοσης στον προσδιορισμό των βουτυλιωμένων κασσιτερικών ενώσεων οδηγεί σε μια πιο λεπτομερή μελέτη των επιπτώσεων των ενώσεων αυτών, από άποψη οικοτοξικότητας και τοξικότητας στον άνθρωπο. Αν λάβουμε υπόψη την πολύ μεγάλη ημιπερίοδο ζωής των ενώσεων αυτών ειδικά σε αναερόβιες συνθήκες, γίνεται κατανοητό ότι το φορτίο των TBT, που έχει συσσωρευτεί μέχρι την απαγόρευσή του διεθνώς, ίσως χρειαστεί πάνω από 150 χρόνια για να απομακρυνθεί από τα ιζήματα με φυσιολογικές διαδικασίες. Είναι προφανές, ότι η Ευρωπαϊκή Ένωση θα ασχολείται με το ζήτημα αυτό για αρκετό ακόμη χρόνο.

Εκτός από τα οργανοκασσιτερικά, που αποτελούν τον πρωταρχικό στόχο ειδοταυτοποίησης στο περιβάλλον, άλλα φλέγοντα προβλήματα αφορούν το αρσενικό, το χρώμιο, τον υδράργυρο και τον λευκόχρυσο σε περιβαλλοντικά ύδατα και κυρίως στον τομέας της διαχείρισης των αποβλήτων. Σε κάθε περίπτωση τα κυριότερα κίνητρα και οι στόχοι μιας ανάλυσης ειδοταυτοποίησης είναι η μελέτη της μακροχρόνιας επίδρασης σε χαμηλές συγκεντρώσεις (κάτω από τα τοξικά όρια), η πιο ενδελεχής μελέτη των μετατροπών των διαφόρων ειδών σε βιολογικό και γεωλογικό επίπεδο, η βελτίωση της αξιοπιστίας των αποτελεσμάτων και η δημιουργία μετρήσεων ελέγχου, σύγκρισης και αναφοράς³⁴.

2.6.2 ΤΡΟΦΙΜΑ

Η εμπλοκή της ειδοταυτοποίησης στην ανάλυση τροφίμων έχει διαφορετικούς στόχους. Κύριο μέλημα αποτελούν ορισμένα στοιχεία των τροφών και των συμπληρωμάτων διατροφής, τα οποία έχουν χαρακτηριστεί ως απαραίτητα για τον οργανισμό. Ιδιαίτερης σημασίας είναι η διάκριση μεταξύ των τοξικών και μη τοξικών μορφών των διαφόρων διατροφικών ιχνοστοιχείων.

Η συγκεκριμένη μορφή κάθε στοιχείου πρέπει να εξετάζεται σε συνάρτηση με τη βιοδιαθεσιμότητα, που προσφέρει η μορφή αυτή κατά τη μετάβαση από το έδαφος στα φυτά ή τα ζώα και από εκεί στον άνθρωπο. Η μέτρηση της συγκεντρώσης κορεσμού για ένα στοιχείο, δηλαδή του απαιτούμενου ποσού για την κάλυψη των βασικών αναγκών του οργανισμού, πρέπει να είναι εξειδικευμένη, ακριβής και σχετική με τη βιοχημεία του στοιχείου αυτού. Επομένως η ανάλυση πρέπει να γίνεται στο επίπεδο του χημικού είδους. Όπως αναφέρθηκε και στην αρχή του κεφαλαίου, το σελήνιο, αποτελεί ένα καλό παράδειγμα για την κατανόηση αυτής της ανάγκης. Η καθημερινή και διαιτητική πρόσληψη των βασικών ιχνοστοιχείων έχει νόημα να μελετηθεί μόνο αν η ειδοαπεικόνιση και βιοδιαθεσιμότητα τους εξεταστούν σε συνάρτηση με τις επιπτώσεις και τις μεταξύ τους αλληλεπιδράσεις.

Η μεταβολική τύχη των ιχνοστοιχείων που χορηγούνται στον άνθρωπο με τις τροφές απαιτεί μια πολύπλευρη προσέγγιση³⁵. Έτσι είναι απαραίτητη η νομοθετική ρύθμιση για τα απαραίτητα ιχνοστοιχεία, τα οποία μπορεί ο οργανισμός να τα προμηθευτεί μέσω της καθημερινής διατροφής καθώς και από τρόφιμα ενισχυμένα με κάποιο ιχνοστοιχείο ή από συμπληρώματα. Υπό συζήτηση είναι διάφορες προτάσεις σχετικές με το νομοθετικό πλαίσιο της ειδοταυτοποίησης, οι οποίες περιλαμβάνονται στον Codex Alimentarius. Οι νομοθέτες όμως πρέπει να είναι απόλυτα σίγουροι για τις προτεινόμενες ρυθμίσεις, πριν να επέμβουν νομοθετικά ή ακόμα και συμβουλευτικά σε τομείς ζωτικού αλλά προπαντός τεράστιου οικονομικού ενδιαφέροντος, όπως οι βιομηχανία τροφίμων και φαρμάκων.

Για την περίπτωση της διαφοροποίησης ανάμεσα στην τοξική και τη μη-τοξική μορφή ενός ιχνοστοιχείου το αρσενικό αποτελεί το πιο αντιπροσωπευτικό παράδειγμα. Η διαφορά στην τοξικότητα και καρκινογόνο δράση ανάμεσα στα ανόργανα και οργανικά είδη του στοιχείου αυτού είναι γνωστή, αλλά εξακολουθεί να απαιτεί περαιτέρω επιβεβαίωση. Η έλλειψη δεδομένων σχετικά με την τοξικότητα των οργανοαρσενικών ενώσεων, όπως τα αρσενοσάκχαρα, δεν επιτρέπει την εκτίμηση της επικινδυνότητάς τους. Η μελέτη των μετατροπών από την ανόργανη στην οργανική μορφή και αντίθετα βοηθά στην διευκρίνιση των βιολογικών οδών των μορφών αυτών στον οργανισμό. Οι κανονισμοί για την περιεκτικότητα του πόσιμου νερού σε αρσενικό έχουν γίνει πολύ αυστηροί. Η σύσταση του παγκόσμιου οργανισμού υγείας οδήγησε στην ελάττωση των μέγιστων επιτρεπτών τιμών από 50 $\mu\text{g/l}$ σε 10 $\mu\text{g/l}$, μια τιμή που είναι πολύ δύσκολο να επιτευχθεί στην πράξη. Η ανάλυση δε τόσο μικρών ποσοτήτων αναπόφευκτα προκαλεί κάποια προβλήματα. Η ανάγκη για την ανάπτυξη μιας απλής αλλά αξιόπιστης οργανολογίας, για την ειδοταυτοποίηση του αρσενικού και τον προσδιορισμό της συνολικής του συγκέντρωσης στα τρόφιμα και το πόσιμο νερό, είναι επιτακτική. Αν και η μέση συγκέντρωση του αρσενικού στα ψάρια και τα αλιευτικά

προϊόντα είναι σχετικά μεγάλη, το ποσοστό των ανόργανων ειδών είναι μικρό, ενώ η μεγαλύτερη ποσότητά του βρίσκεται υπό μορφή της μη τοξικής αρσενοβεταΐνης. Κατά συνέπεια οι καταναλωτές δεν κινδυνεύουν από δηλητηρίαση με αρσενικό λόγω της κατανάλωσης ψαριών, όπως είχε διαδοθεί πριν από μερικά χρόνια. Για το λόγο αυτόν και οι σχετικές νομοθεσίες προσανατολίστηκαν προς τον έλεγχο της ειδοταυτοποίησης του αρσενικού σαν παράμετρο ποιότητας στα προϊόντα αυτά, αντί για τη συνολική του συγκέντρωση.

Άλλα σημαντικά θέματα, τα οποία σχετίζονται με την ανάλυση ειδοταυτοποίησης στο νευραλγικό τομέα των τροφίμων, είναι ο προσδιορισμός των ειδών του Νικελίου και του Χρωμίου και η ικανότητα μετανάστευσής τους από τα υλικά συσκευασίας προς τα τρόφιμα. Τέλος λίγες είναι οι πληροφορίες που έχουμε για τα είδη, που απαντούν σε φυσιολογικές διατροφικές συνθήκες, για τις επιπτώσεις των διαφόρων ιχνοστοιχείων πάνω σε άτομα ευαίσθητα σε αυτά και για τη δοσολογία που θα οδηγήσει σε αντίθετα αποτελέσματα.

2.6.3 ΕΡΓΑΣΙΑΚΗ ΥΓΕΙΑ ΚΑΙ ΥΓΙΕΙΝΗ

Η προσοχή στον τομέα αυτόν έχει επικεντρωθεί στον τοποχημικό και μορφολογικό χαρακτηρισμό των σωματιδιακών δειγμάτων από χώρους μέσα και γύρω από βιομηχανίες και βιομηχανικές ζώνες²⁴. Οι τεχνικές που αναπτύσσονται προσανατολίζονται στις επιπτώσεις, που έχει η παρουσία των διαφόρων ειδών στην επιφάνεια της σωματιδιακής ύλης. Οι πληροφορίες που συλλέγονται με τις τεχνικές αυτές δεν είναι δυνατόν να προέλθουν από συμβατική χημική επεξεργασία των δειγμάτων, καθώς η διαλυτοποίηση της επιφάνειας συνήθως οδηγεί και σε διαλυτοποίηση του υποστρώματος αχρηστεύοντας τα ευρήματα της χημείας επιφανειών. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η χαρτογράφηση της επιφανειακής στοιβάδας των αεροζόλ στη βιομηχανία χρωμίου (όπως αναφέρθηκε και στο πρώτο κεφάλαιο), αφού τα είδη αυτά αλληλεπιδρούν με τα κύτταρα, τις μεμβράνες και τα υγρά της αναπνευστικής οδού αποτελώντας δυνητικά καρκινογόνα. Τα συνήθη σωματίδια που υπάρχουν στην ατμόσφαιρα των μεταλλοβιομηχανιών αποτελούνται από συσσωματώματα ή αλυσίδες μέχρι και δώδεκα μονομερών. Οι σιλικόνες και τα πυριτικά άλατα είναι τα βασικά συστατικά αυτών των αεροζόλ. Η χημική προσρόφηση του Cr(VI) σε τέτοια υποστρώματα παίζει σημαντικό ρόλο στην εξήγηση των μεγάλων αποκλίσεων, που παρατηρούνται στη βιοδιαθεσιμότητα και την τοξικότητα των διαφόρων χρωμιο-φόρων σωματιδίων.

Σίγουρα απαιτείται μια πιο ολοκληρωμένη εικόνα σχετικά με τα χημικά είδη, που δημιουργούνται μεταξύ των ιχνοστοιχείων και των διαφόρων συστατικών μέσα στο ανθρώπινο σώμα. Το αντικείμενο αυτό αποτελεί πρόκληση για τους χημικούς, καθώς το είδος αυτό της ειδοταυτοποίησης επιτρέπει τη διερεύνηση των μεταβολικών οδών και της δράσης των στοιχείων αυτών στα διάφορα όργανα. Το μεγαλύτερο πρόβλημα που παρουσιάζεται στον τομέα αυτό είναι η ειδοταυτοποίηση μέσα στο κύτταρο, η οποία πρέπει να γίνει χωρίς να διαταραχθεί η κυτταρική ισορροπία, που θα προκαλέσει αλλαγή της λειτουργίας του κυττάρου. Προς το παρόν δεν υπάρχει ένα ευρύτερα αποδεκτό αναλυτικό σύστημα για το σκοπό αυτόν, αν και έχει περιγραφεί η πορεία που απαιτείται για μια τέτοια διεργασία.

Από την πλευρά της βιομηχανίας χρησιμοποιείται συχνά το παράδειγμα του νικελίου, με σκοπό να εξηγηθεί η υπάρχουσα κατάσταση και να οριοθετηθούν οι παρούσες αλλά και μελλοντικές ρυθμίσεις. Οι βιομηχανίες έχουν την υποχρέωση της ασφαλούς διαχείρισης των προϊόντων τους από τον τόπο παραγωγής μέχρι τα σημεία διάθεσης, ενώ είναι και υπεύθυνες για την υγεία των εργαζομένων και των καταναλωτών. Η αναγνώριση και η καταγραφή των κινδύνων, που ενέχουν τα διάφορα είδη σε συνδυασμό με επιδημιολογικές και τοξικολογικές μελέτες, είναι πρωταρχικής σημασίας.

Αλλά μεταλλικά στοιχεία, που απασχολούν σε μεγάλο βαθμό τους τομείς της υγείας και υγιεινής στους χώρους εργασίας, είναι το χρώμιο, το αρσενικό, ο λευκόχρυσος, το γάλλιο και το ίνδιο. Επίσης απαιτείται η θέσπιση τιμών αναφοράς για την έκθεση σε διάφορες μεταλλουργικές βιομηχανίες.

2.7 ΑΝΑΛΥΤΙΚΕΣ ΠΡΟΫΠΟΘΕΣΕΙΣ ΚΑΙ ΠΡΟΔΙΑΓΡΑΦΕΣ

Τα εμπλεκόμενα, από βιομηχανικής πλευράς όσο και από πλευράς χημικής ανάλυσης, μέρη έθεσαν τους εξής στόχους για την ανάπτυξη του κλάδου της ανάλυσης ειδοταυτοποίησης.

1. Ανάπτυξη μεθόδων δειγματοληψίας κατάλληλων για τη διατήρηση των ειδών και της πληροφορίας που παρέχει το καθένα από αυτά.
2. Ανάπτυξη ταχέων, απλών, εύχρηστων και φθηνών αναλυτικών μεθόδων ειδοταυτοποίησης, οι οποίες να μπορούν να εφαρμοστούν για τακτική καταγραφή αποτελεσμάτων.
3. Ανάπτυξη σύνθετων τεχνικών.

4. Επί τόπου ανάλυση.
5. Ειδοταυτοποίηση σε στερεά υποστρώματα σε επίπεδο ιχνοστοιχείων.
6. Δημιουργία νέων πιστοποιημένων υλικών αναφοράς.
7. Οργάνωση μελετών διαεργαστηριακής σύγκρισης των αποτελεσμάτων για τη βελτίωση της αποτελεσματικότητας των αναλύσεων.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Bettmer, J.; Buscher, W.; Camman, K., *Fresenius J. Anal. Chem.*, **1996**, 354, 521.
2. Templeton, D.M.; Ariese, F.; Cornelis, R.; Danielsson, L.G.; Huntan, H.; van Leeuwen, H.P., *Pure Appl. Chem.* (**submitted**).
3. van den Berg, C.M.G. *Anal. Chim. Acta*, **1994**, 284, 461.
4. Kot, A.; Namiesnik, J., *Trends Anal. Chem.*, **2000**, 19, 69.
5. Quevauviller Ph., *J. Chromatogr. A.*, **1996**, 750, 25.
6. Templeton, D.M., *Fresenius J. Anal. Chem.*, **1999**, 363, 505.
7. Cornelis, R.; Borguet, F.; De Kimpe, J., *Anal. Chim. Acta*, **1993**, 283, 183.
8. Sarzanini, C.; Mentasti, E. *Journal of Chromatography A*, **1997**, 789, 301-321
9. Ellis, L.A.; Roberts, D.J., *J. Chromatogr. A*, **1997**, 774, 3.
10. Ebdon, L.; Hill, S.J.; Rivas, C., *Trends Anal. Chem.*, **1998**, 17, 277.
11. Lobinski, R., *Appl. Spectrosc.*, **1997**, 51, 260A.
12. Seiler, H.G.; Sigel, A.; Sigel, H., *Handbook on Metals in Clinical and Analytical Chemistry*, Marcel Dekker, New York, **1994**.
13. Smith, I.C.; Carson, B.L.; Hoffmeister, F., *Trace Metals in the Environment*, Ann Arbor Science Publishing, Inc, Michigan, **1978**.
14. Dix, H.M., *Environmental pollution*, Wiley, Chichester **1981**.
15. Hall, G.E.M., *Journal. Geochem. Explor.*, **1998**, 61, 1.
16. Krull, S. *Trace metal analysis and speciation*, Elsevier, Amsterdam, **1991**.
17. Kramer, J.R.; Allen, H.E. *Metal speciation: Theory analysis and application*. Lewis, Chelsea, **1988**
18. Hill, S.J.; Haswell, S.J. *Trace element speciation*, Willey, Chichester, **1993**.
19. Thayer, J.S., In: Siegel H, Siegel A (eds), *Metal ions in Biological Systems* Vol. 29, Marcel Dekker, New York, **1990**.
20. Schwartz, K., *Clinical Chemistry and Chemical Toxicology of Metals*, Brown, S.S. (ed) Elsevier, New York, **1978**.
21. Florence, T.M., *Talanta*, **1982**, 29, 345.
22. Batley, G.E.; Florence, T.M., *Anal. Lett.*, **1976**, 9, 379.
23. Cornelis, R.; De Kimpe, J.; Zhang, X., *Spectrochim. Acta Part B*, **1998**, 53.
24. Fishbein, L.; Furst, A.; Mehlman, M.A. (eds), *Genotoxic and Carcinogenic Metals: Environmental and occupational occurrence and exposure*. Princeton Scientific Publishing Co, Princeton, N.J., **1987**.

25. Apostoli, P., *Fresenius J. Anal. Chem.*, **1999**, 363, 499.
26. Patterson, C.C.; Settle, D.M., *Accuracy in trace analysis, sampling, sample handling, analysis*. N.B.S. Spec. Publ. No. 422, Vol. 1. P.D. La Fleur (ed), U.S. Department of Commerce, Washington, D.C., **1976**.
27. Adams, F.; Slaets, S., *Trends in Analytical Chemistry*, **2000**, 19, 80.
28. Quevauviller, P.; Morabito, R., *Trends in Analytical Chemistry*, **2000**, 19, 86.
29. Das, A.K.; Chakraborty, R., *Fresenius J. Anal. Chem.*, **1997**, 357, 1.
30. Cornelis, R. et. al., *Trends Anal. Chem.*, **2000**, 19, 210.
31. Quevauviller, Ph.; Maier, E.A.; Griepink, B.; (Editors). *Quality Assurance for Environmental Analysis*, Elsevier, Amsterdam, **1995**.
32. Michalke, B., *Fresenius J. Anal. Chem.* **1999**, 363, 487-490.
33. de Mora, S.J. (ed), *Tributyltin : Case study of an environmental contaminant*, Cambridge University Press, Cambridge, **1996**.
34. Szpunar, J.; Lobinski, R., *Fresenius J. Anal. Chem.*, **1999**, 363, 550-557.
35. Mertz, W.; Cornatzer, *Newer Trace Elements in Nutrition*, Marcel Dekker, New York, **1971**.

Επιφανειακά Δραστικές Ουσίες. Μικύλλια και Μοριακά Οργανωμένες Δομές

Θεωρητικό Μέρος 3⁰ ΚΕΦΑΛΑΙΟ

3.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Επιφανειακά Δραστικές Ενώσεις ή Τασενεργά ονομάζονται μια μεγάλη κατηγορία οργανικών ενώσεων, των οποίων το κύριο χαρακτηριστικό είναι η ικανότητά τους να συσσωρεύονται στην επιφάνεια ενός υγρού και στις διεπιφάνειες επαφής αλλάζοντας τις αντίστοιχες επιφανειακές και διεπιφανειακές ιδιότητες. Η ιδιότητα αυτή οφείλεται στην ταυτόχρονη παρουσία μιας υδρόφιλης και μιας υδρόφοβης ομάδας στο μόριό τους. Το υδρόφιλο τμήμα του μορίου ρυθμίζει τη διαλυτότητα των τασενεργών ουσιών στο νερό, ενώ αντίθετα το υδρόφοβο απωθείται από αυτό με τάση να δημιουργήσει μια δεύτερη φάση μετατρέποντας το διάλυμα σε ετερογενές μίγμα.

Οι τασενεργές ενώσεις βρίσκουν πολλές εφαρμογές κυρίως στα απορρυπαντικά, των οποίων αποτελούν το 10-30% της συνολικής τους σύστασης. Βρίσκουν επίσης εφαρμογή σαν υλικά αδιαβροχοποίησης, αφρισμού, γαλακτωματοποίησης κ.α.

Η κυριότερη ταξινόμηση των τασενεργών ουσιών γίνεται κυρίως με βάση το είδος και την κατανομή του ηλεκτρικού τους φορτίου. Έτσι διακρίνονται σε ιοντικά και μη ιοντικά τασενεργά, ενώ τα πρώτα κατατάσσονται σε τρεις υποκατηγορίες: κατιονικά, ανιονικά, και αμφοτερικά¹.

Στον πίνακα που ακολουθεί φαίνονται οι κυριότερες κατηγορίες τασενεργών και οι σημαντικότεροι εκπρόσωποί τους.

Πίνακας 3.1: Κατάταξη και είδη τασενεργών ουσιών.

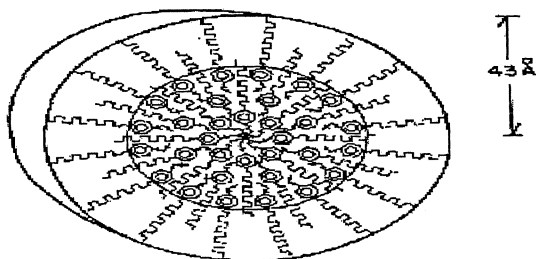
ΤΑΣΕΝΕΡΓΕΣ ΟΥΣΙΕΣ			
ΙΟΝΤΙΚΑ ΤΑΣΕΝΕΡΓΑ			ΜΗ ΙΟΝΤΙΚΑ ΤΑΣΕΝΕΡΓΑ
Ανιονικά Τασενεργά	Κατιονικά Τασενεργά	Αμφοτερικά Τασενεργά	
Καρβοξυλικά ανιόντα των ανώτερων οργανικών οξέων RCOO^-	Τριτοταγείς αμίνες R_3N	Οξείδια των τριτοταγών αμινών, $\text{R}_3\text{N}^+\text{O}^-$	Πολυγλυκολικοί αιθέρες $\text{R-O}-(\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O})_n-\text{H}$
Ανιόντα όξινων θεικών εστέρων με ανώτερες αλκοόλες, R-O-SO_3^-	Τεταρτοταγή αμμωνιακά άλατα, R_4N^+	Βεταΐνες, $\text{R}_3\text{N}^+(\text{CH}_2)_n\text{CO}_2^-$	Φωσφινικά οξείδια, $\text{R}_3\text{P}=\text{O}$
Σουλφονικά ανιόντα, R-SO_3^-	Τεταρτοταγή άλατα της πυριδίνης, $(\text{C}_5\text{H}_5\text{N}^+)\text{R}_4$	Θειοβεταΐνες $\text{R}_3\text{N}^+(\text{CH}_2)_n\text{SO}_3^-$	Πολυαμίνες $\text{R-NH}-(\text{CH}_2\text{CHNH})_n-\text{H}$
Ανιόντα όξινων θεικών αιθέρων $\text{R-O}-(\text{CH}_2)_2-\text{O})_n-\text{SO}_3^-$			Πολυγλυκολικά αμίδια $\text{R}-(\text{CO})\text{NH}-(\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O})_n-\text{H}$
Ανιόντα όξινων εστέρων του φωσφορικού οξέος με ανώτερες αλκοόλες, R-O-PO_3^{2-}			Σακχαροειδή Τασενεργά, Αλκυλοπολυγλυκοσίτες, $\text{R-O}-(\text{Γλυκόζη})_n$

Οι ανιονικές τασενεργές ουσίες αποτελούν το 60-65% της παγκόσμιας παραγωγής τέτοιων ουσιών, τα μη ιοντικά τασενεργά το 24-28%, τα κατιονικά τασενεργά το 6-10%, ενώ τα αμφοτερικά τασενεργά μόλις το 0,6-1 % της παγκόσμιας παραγωγής.

3.2 ΜΙΚΥΛΛΙΑ ΤΑΣΕΝΕΡΓΩΝ ΟΥΣΙΩΝ

Οι επιφανειακά δραστικές ουσίες ιδιαίτερα στη διαλυτή τους μορφή χαρακτηρίζονται και ως οργανωμένες μοριακές ομάδες ή δομές. Ο χαρακτηρισμός αυτός οφείλεται στη σημαντικότερη ίσως ιδιότητα των τασενεργών και των διαφόρων απορρυπαντικών ουσιών να συναθροίζονται δημιουργώντας «ογκώδη» μεγαλομοριακά συσσωματώματα. Τα συσσωματώματα αυτά έχουν μέγεθος της τάξης κολλοειδούς ($10^{-7} - 10^{-4}$ cm) και χαρακτηρίζονται ως μικύλλια^{2,3}.

Το φαινόμενο της συσσωμάτωσης των μονομερών στο μεγαλομοριακό πολυμερές μικύλλιο λαμβάνει χώρα όταν η συγκέντρωση της επιφανειοδραστικής ουσίας (surfactant) φτάσει ή υπερβεί μια συγκεκριμένη κρίσιμη τιμή. Η συγκέντρωση αυτή λέγεται κρίσιμη μικυλλιακή συγκέντρωση διεθνώς cmc (critical micelle concentration). Πάνω από αυτήν την τιμή τα μονομερή σωματίδια των τασενεργών συσσωματώνονται αυθόρμητα και σχηματίζουν τα μικύλλια. Σε συγκεντρώσεις κοντά στην κρίσιμη τιμή, τα μικύλλια έχουν σχήμα σφαιρικό με διάμετρο από 3-6 χιλιοστά, και αποτελούνται από 30 ως και 200 μονομερή. Αύξηση της



Σχήμα 3.1: Σφαιρικό Μικύλλιο (εγκάρσια τομή)

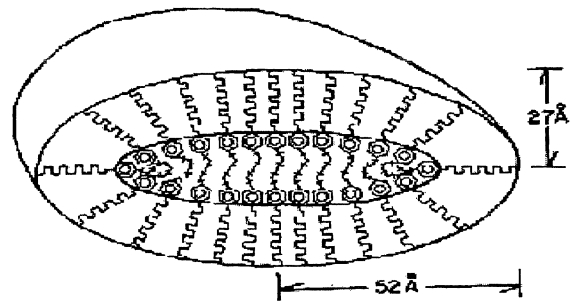
συγκέντρωσης οδηγεί στο σχηματισμό ραβδοειδών μικυλλίων. Η τιμή της κρίσιμης μικυλλιακής συγκέντρωσης εξαρτάται από τη μοριακή δομή του τασενεργού (όσο μεγαλύτερη η υδρόφοβη ανθρακική αλυσίδα τόσο πιο μικρή η τιμή της κρίσιμης συγκέντρωσης) και από τις πειραματικές συνθήκες (ιοντική ισχύς, αντισταθμιστικά

ίοντα, θερμοκρασία)^{4,5}. Τα μονομερή σωματίδια βρίσκονται σε δυναμική ισορροπία με τα μικύλλια. Έτσι αποσπώνται και ενσωματώνονται στο μικύλλιο με ανάλογο τρόπο με την ισορροπία ιζήματος- διαλυτού προϊόντος. Τα μικύλλια από θερμοδυναμική άποψη αποτελούν σταθερές δομές και αναπαράγονται με επαναληπτικό τρόπο. Προφανώς το φαινόμενο είναι αντιστρεπτό. Δηλαδή τα μικύλλια καταστρέφονται, όταν με την αραίωση του διαλύματος η

συγκέντρωση της τασενεργού ουσίας μειωθεί κάτω από την κρίσιμη, όπως ακριβώς το αδιάλυτο ίζημα διαλύεται με μεγαλύτερη ποσότητα νερού.

Η λεπτομερής δομή των μικυλλίων ως προς την κανονικότητα του σχήματός τους, την ομαλότητα της επιφανείας τους, το υδατοστεγές ή μη του συσσωματώματος, το βαθμό διαπερατότητας από το νερό κ.τ.λ δεν έχουν διευκρινιστεί πλήρως και αποτελούν αντικείμενο μελέτης και επιστημονικής αντιπαράθεσης⁶⁻⁸.

Παρόλα αυτά είναι γνωστό για ορισμένα τασενεργά, ότι υπό ορισμένες συνθήκες τα μικύλλιά τους μπορούν να αποκτήσουν μια μεγάλη ποικιλία σχημάτων, που κυμαίνεται από σφαιρικό μέχρι ελλειψοειδές(παραμορφωμένο στον ισημερινό ή στους πόλους). Κατά τον Blankschtein^{9,10} το σχήμα των μικυλλίων μπορεί να ρυθμιστεί σε πολύ μεγάλο βαθμό, πολλές φορές με απλή μεταβολή των παραμέτρων του διαλύματος, όπως η συγκέντρωση της τασενεργού ουσίας και των άλλων ουσιών που συνυπάρχουν στο διάλυμα, η φύση των ουσιών αυτών, η θερμοκρασία κ.τ.λ.



Σχήμα 3.2 : Ελλειψοειδές Μικύλλιο (εγκάρσια τομή)

Γενικά τα μικύλλια μορφοποιούνται κατά τέτοιο τρόπο ώστε να έχουν το σχήμα κούφιου γεωμετρικού σχήματος(συνήθως σφαίρας ή κυλίνδρου), το εσωτερικό του οποίου σε υδατικό περιβάλλον εγκλείει τις υδρόφοβες ομάδες των μονομερών της τασενεργού ουσίας. Αντίθετα η εξωτερική επιφάνεια του μικυλλίου αποτελείται από υδρόφιλες ομάδες, ανάμεσα στις οποίες βρίσκονται μόρια νερού που μπορεί να είναι είτε προσροφημένα ή ομοιοπολικά συνδεδεμένα με δεσμούς υδρογόνου.

Στον πίνακα 3.2 αναφέρονται οι κρίσιμες παράμετροι για το σχηματισμό μικυλλίων, όπως το cmc και ο αριθμός συσσωμάτωσης(aggregation number), δηλαδή ο αριθμός των μονομερών ανά μικύλλιο για έναν μεγάλο αριθμό μη ιονικών και αμφοτερικών τασενεργών, τα οποία έχουν χρησιμοποιηθεί σε διαχωρισμούς φάσεων.

Οι τιμές των παραμέτρων του πίνακα επηρεάζονται δραματικά από μεταβολές στη θερμοκρασία ή την παρουσία και τη συγκέντρωση ιονικών ή πολικών ουσιών, ώστε ακόμη και να αναστέλλεται ο σχηματισμός των μικυλλίων .

Την τελευταία δεκαετία ο Blankschtein και οι συνεργάτες του ανέπτυξαν μοριακές θερμοδυναμικές θεωρίες για την πρόβλεψη των ιδιοτήτων των τασενεργών ουσιών σε υδατικό περιβάλλον¹¹⁻¹⁴. Έτσι παράμετροι, όπως το cmc, το βέλτιστο σχήμα και μέγεθος των

μικυλλίων, η επιφανειακή τάση, η ανά μέγεθος κατανομή κ.τ.λ μπορούν να προβλεφθούν με δεδομένα μόνο τη μοριακή δομή του surfactant και τις συνθήκες του διαλύματος. Για το σκοπό αυτό δημιουργήθηκαν υπολογιστικά προγράμματα με τα κωδικά ονόματα PREDICT και MIX^{15,16}, με τα οποία είναι δυνατή η ποσοτική πρόβλεψη των ιδιοτήτων των διαλυμάτων διαφόρων τασενεργών είτε απλών ή πολυδιάστατων(φορτισμένων και ουδέτερων).

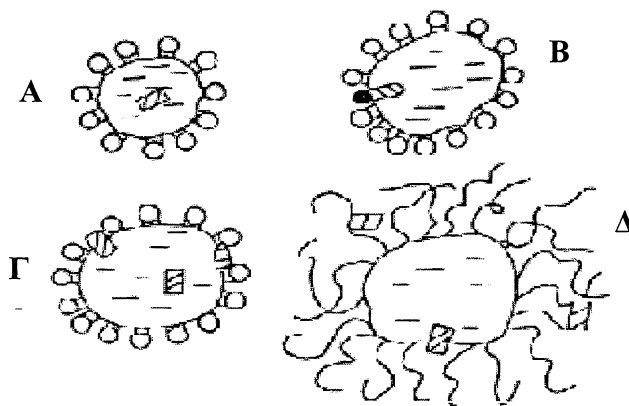
Πίνακας 3.2: Κρίσιμες τιμές για το σχηματισμό μικυλλίων διαφόρων τασενεργών που έχουν χρησιμοποιηθεί σε μικυλλιακές εκχυλίσσεις.

Τασενεργός ουσία	cmc, mM	N ^α	Σημείο Νεφέλωσης ^β , °C
Triton X-100	0,17-0,30	120-140	64-65
Triton X-114	0,20-0,35	-	23-25
PONPE-7.5	0,085	-	5-20
PONPE-10	0,07-0,085	100	62-65
Igepal CO-630	-	-	48-52
C ₈ E ₃	5,9-7,5	-	10,6
C ₁₀ E ₄	0,6-0,8	30	19-21
Genapol X-80	0,05	-	42
Brij-30	0,02-0,06	40	2-7
C ₁₂ E ₅	0,049-0,065	160	23-32
C ₁₄ E ₆	0,010	127	35-42
Brij-56	0,0006	-	64-69
Brij-97	-	-	85
OTG	9,0	-	10-20
OG	20,0-25,0	84	2-20
C ₉ -APSO ₄	45,0	-	65
Pluronic L61	-	-	25
Pluronic P105	3,0	-	-
C ₈ -Λεκιθίνη	-	500	45

^α Αριθμός μονομερών ανά μικύλλιο, ^β Ανάλογα με τη συγκέντρωση.

Μια από τις πιο σημαντικές ιδιότητες των μικυλλίων αλλά και των άλλων οργανωμένων δομών είναι η ικανότητά τους να επιδιαλυτώνουν οργανικά και γενικότερα υδρόφοβα μόρια,

αυξάνοντας τη διαλυτότητά τους στο νερό. Ο τρόπος αυτής της επιδιαλύτωσης και τα σημεία που γίνεται η αλληλεπίδραση εξαρτώνται τόσο από τη φύση της επιδιαλυτωμένης ένωσης, όσο και από τη φύση της τασενεργού ουσίας. Πληροφορίες για τον τρόπο και τα σημεία της επιδιαλύτωσης προκύπτουν συνήθως με μελέτες της επιδιαλυτωμένης ουσίας πριν και μετά την επιδιαλύτωση με τεχνικές, όπως φασματοσκοπία υπεριώδους, πυρηνικός μαγνητικός



Σχήμα 3.3 : Περιοχές επιδιαλύτωσης και κατανομής σε μικύλλια. Α) Μη πολικά μόρια, Β) Αμφοτερικά μόρια, Γ) Ελάχιστα πολικά μόρια, Δ) Πολικά μόρια.

συντονισμός, ηλεκτρονιακός συντονισμός, φθορισμομετρία κ.τ.λ. Με βάση τις μελέτες αυτές έχουν προταθεί οι εξής μηχανισμοί αλληλεπίδρασης^{17,4,5,6}: 1) Προσρόφηση πάνω στην επιφάνεια του μικυλλίου στην περιοχή της εξωτερικής διεπιφάνειας επαφής μικυλλίου/διαλύτη, 2) προσρόφηση στην περιοχή ανάμεσα στις υδρόφιλες κεφαλές των τασενεργών στην περίπτωση των πολυαιθοξυ-λιωμένων ομάδων (μη ιοντικών τασενεργών), 3) στη στιβάδα περίφραξης (palisade) ανάμεσα στις υδρόφιλες ομάδες ή στο εσωτερικό της ίδιας στιβάδας και 4) προσρόφηση στον εσωτερικό πυρήνα του μικυλλίου. Πάντως τα πιο πιθανά σημεία επιδιαλύτωσης είναι η διεπιφάνεια επαφής και η στιβάδα Stern.

Η διαδικασία διαλυτοποίησης αποτελεί μια δυναμική ισορροπία και η επιδιαλυτωμένη ουσία εισέρχεται και εξέρχεται συνεχώς από το μικύλλιο σε χρόνους της τάξης των $10^{-3} - 10^{-5}$ s. Όσο πιο υδρόφοβο είναι το μόριο του διαλύτη, τόσο μεγαλύτερος είναι και ο χρόνος παραμονής. Η σταθερά ισορροπίας K_b για τον εγκλωβισμό μιας ουσίας σε ένα μικύλλιο με βάση την “αντίδραση”



ορίζεται ως $K_b = [S_\mu]/([S_v] C_a)$, όπου $[S_\mu]$ και $[S_v]$ είναι οι συγκεντρώσεις της ένωσης στη μικυλλιακή και την υδατική φάση αντίστοιχα, ενώ C_a είναι η συγκέντρωση της τασενεργού ουσίας που υπάρχει με τη μορφή μικυλλίου. Η τελευταία ισούται με τη συνολική συγκέντρωση της τασενεργού ουσίας μείον την κρίσιμη μικυλλιακή συγκέντρωση. Η παραπάνω σταθερά ισορροπίας μπορεί να συσχετιστεί με το συντελεστή κατανομής P , δηλαδή με το ποσοστό του αναλύτη μεταξύ της μικυλλιακής και της υδατικής φάσης:

$K_b = (P-1)u$, όπου u είναι ο μερικός γραμμομοριακός όγκος του τασενεργού.

Ένα μαθηματικό μοντέλο για τη γραμμική προσέγγιση της ελεύθερης ενέργειας διάλυσης επιτρέπει τον ακριβή υπολογισμό της σταθεράς ισορροπίας με παραμέτρους ανεξάρτητες από το μέσο. Οι παράμετροι αυτές σχετίζονται με την οξύτητα ($\Sigma_{\alpha 2}$) και τη βασικότητα ($\Sigma_{\beta 2}$) των δεσμών υδρογόνου του αναλύτη, τη μοριακή διάθλαση (R_2), τη διπολική ροπή (π_2) και τον όγκο του μικυλίου (V_x). Για ένα μη ιονικό μικύλλιο, το οποίο σχηματίζεται από μονομερή του τασενεργού Brij-35 [πολυοξυεθυλενικό(23) δωδέκυλ-αιθέρα, $C_{12}E_{23}$], η ικανότητα δέσμευσης μη πολικών αναλυτών περιγράφεται από την εξίσωση:

$$\log K_b = -0,31 + 1,06 \Sigma_{\alpha} - 3,58 \Sigma_{\beta 2} - 0,15 \pi_2 + 0,88 R_2 + 2,83 (V_x/100)$$

Η παραπάνω σχέση επιτρέπει τον προσδιορισμό των σταθερών σύνδεσης για την ενσωμάτωση μη ιοντικών ενώσεων στα μικύλλια του Brij-35 με ένα συντελεστή μικρότερο του 2, εφόσον βέβαια είναι διαθέσιμες ή μπορούν να υπολογιστούν οι απαραίτητες παράμετροι.

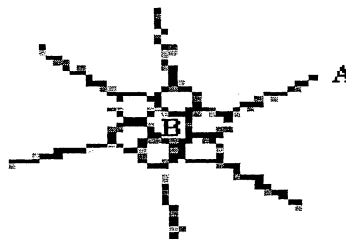
Όπως συμβαίνει στο σύνολο των μικυλίων ανεξάρτητα από τον τύπο του τασενεργού (ανιονικού, κατιονικού ή μη ιονικού) από το οποίο προέρχονται, έτσι και στο Brij-35 η ενσωμάτωση της ένωσης καθορίζεται κυρίως από τον παράγοντα V_x , ο οποίος έχει θετική συνεισφορά και αντικατοπτρίζει τις υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις και από τον παράγοντα $\Sigma_{\beta 2}$, που έχει αρνητικό πρόσημο και δηλώνει, ότι το υδατικό περιβάλλον είναι πολύ καλύτερος δότης δεσμών υδρογόνου από ότι τα σημεία δέσμευσης του μικυλίου, όπου πραγματοποιείται η επιδιалύτωση. Επιπλέον ο συντελεστής του παράγοντα R_2 είναι υπολογίσιμος στην περίπτωση του Brij-35, σε αντίθεση με ότι συμβαίνει με τα μικύλλια των ανιονικών και κατιονικών τασενεργών. Αυτό υποδηλώνει τη μεγάλη συνεισφορά των πολυοξυαιθυλενικών αλυσίδων, οι οποίες αποτελούν το κυριότερο τμήμα στο μόριο του μη ιονικού τασενεργού, στην πολικότητα των σημείων επιδιалύτωσης. Έτσι προκύπτει το συμπέρασμα, ότι τα μικύλλια των μη ιονικών τασενεργών αποτελούν τα καλύτερα μέσα για την επιδιалύτωση ενός μεγάλου αριθμού ουσιών σε σχέση με τα ανιονικά και κατιονικά μικύλλια. Αυτό αποδεικνύεται και από την μεγάλη απήχηση που βρίσκουν τα μη ιονικά τασενεργά στις εφαρμογές για την προσυγκέντρωση και τον διαχωρισμό διαφόρων ουσιών, στοιχείων ή ενώσεων στη σύγχρονη βιβλιογραφία.

Εκτός από τα δομικά χαρακτηριστικά του αναλύτη υπάρχουν και άλλοι παράγοντες, οι οποίοι επιδρούν στην ικανότητα επιδιалύτωσης, όπως το είδος και η δομή της τασενεργού ουσίας, η παρουσία και η συγκέντρωση ηλεκτρολυτών ή άλλων οργανικών μονομερών και πολυμερών και η θερμοκρασία. Η μικρή κρίσιμη μικυλλιακή συγκέντρωση των μη ιονικών τασενεργών, είναι ένας ακόμη λόγος που τα καθιστά αποτελεσματικότερα μέσα επιδιалύτωσης σε σχέση με τους άλλους τύπους τασενεργών ουσιών.

Μια άλλη σημαντική επίδραση των μικυλλιακών συστημάτων είναι, ότι μπορούν να μεταβάλλουν τις ταχύτητες κάποιων αντιδράσεων και σε κάποιο βαθμό τα προϊόντα που προκύπτουν από αυτές. Έτσι τα μικύλλια μπορούν είτε να επιταχύνουν ή να επιβραδύνουν κάποιες αντιδράσεις και μάλιστα κατά αρκετές τάξεις μεγέθους, καθώς επίσης και να μετατοπίσουν τη θέση της χημικής ισορροπίας. Οι επιδράσεις αυτές αποδίδονται στις υδρόφοβες και ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις ανάμεσα στα αντιδρώντα μόρια και στα μικυλλιακά συσσωματώματα.

Για την εξήγηση της δράσης των μικυλλίων στον τομέα αυτό έχουν προταθεί διάφοροι μηχανισμοί, όπως αυτός του σχηματισμού μιας ψευδοφάσης, ενός μικροπεριβάλλοντος μέσα στο διάλυμα, όπου ισχύουν συνθήκες όμοιες με την καταλυτική προσρόφηση. Μια άλλη θεωρία στηρίζεται στη δυνατότητα δράσης των ως κέντρων ιονανταλλαγής ή απλών ηλεκτροστατικών αλληλεπιδράσεων. Αυτό που τελικά συμβαίνει φαίνεται, ότι αποτελεί ένα συνδυασμό όλων αυτών των ιδιοτήτων λόγω των πολλών διαφορετικών ομάδων, που περιέχει το κάθε συσσωμάτωμα. Η επιλογή του κατάλληλου ιοντικού τασενεργού μπορεί να παρέχει μια δομή, στην οποία να συμπεριλαμβάνονται μια εσωτερική, μια εξωτερική και μια φορτισμένη διεπιφάνεια με ένα δυναμικό, το οποίο κοντά ή πάνω στην επιφάνεια του μικυλλίου να διαφέρει αρκετές εκατοντάδες μιλιβόλτ από το δυναμικό του διαλύματος. Αυτό το φαινόμενο επιτρέπει τόσο σε ιοντικά, όσο και σε αφόρτιστα είδη να αλληλεπιδρούν με τα μικυλλιακά συσσωματώματα και έτσι να επηρεάζεται σε μεγάλο βαθμό η θέση της χημικής ισορροπίας και η ταχύτητα των αντιδράσεων.

Αντίστροφα μικύλλια. Ορισμένα τασενεργά μπορεί να σχηματίσουν μικύλλια και σε υδρόφοβους, μη-πολικούς διαλύτες, δημιουργώντας πυρήνες νερού μέσα σε ένα υδρόφοβο διάλυμα. Παραδείγματα τέτοιων ενώσεων είναι τα μόρια των: Νάτριο δισοοκτυλοσουλφοηλεκτρικό άλας(AOT), το χλωριούχο άλας του βενζυλο-εξαδεκυλοδιμεθυλαμμωνίου(BDC) και το προπιονικό άλας του δωδεκυλαμμωνίου (DAP). Για παράδειγμα οι διαστάσεις των μικυλλίων του AOT μέσα σε διαλύτη επτάνιο μπορεί να ποικίλλουν από 1,5 ως 8 nm ανάλογα με το υδατικό περιεχόμενο. Η φύση του νερού στο εσωτερικό του μικυλλίου έχει διερευνηθεί με φασματοσκοπικές τεχνικές και βρέθηκε διαφορετική από το καθαρά υδατικό περιβάλλον, με ενδιαφέρουσες επιπτώσεις στην ταχύτητα των αντιδράσεων. Επιπλέον ενώσεις αδιάλυτες σε μη πολικούς διαλύτες μπορούν να επιδιαλυτωθούν στους υδατινούς



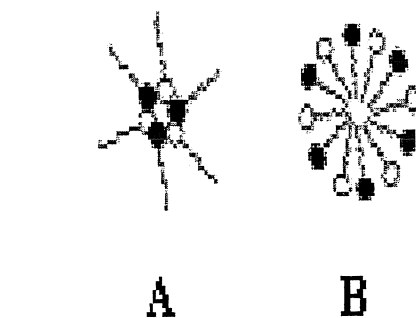
Σχήμα 3.4 : Αντίστροφο Μικκύλιο. A) Υδρόφοβη ουρά, B) Υδρόφιλος πυρήνας

πυρήνες των αντίστροφων μικυλλίων .

Μικρογαλακτώματα. Τα μικρογαλακτώματα είναι πολυσύνθετα συσσωματώματα, τα οποία συνήθως περιέχουν νερό, έναν υγρό υδρογονάνθρακα(μη-πολικό διαλύτη), ένα τασενεργό και ένα συν-τασενεργό(που συνήθως είναι μια αλκοόλη με ανθρακική αλυσίδα 4 ή 8 ατόμων άνθρακα). Υπάρχουν και μικρογαλακτώματα, τα οποία σχηματίζονται απουσία τασενεργού ουσίας, δηλαδή με νερό, υδρογονάνθρακες και αλκοόλες.

Προκειμένου να επιλέξουμε την κατάλληλη σύνθεση ενός γαλακτώματος, ώστε να πάρουμε τις επιθυμητές ιδιότητες και τη σταθερότητα, είναι συνήθως απαραίτητα κάποια διαγράμματα φάσεων. Παρά τη σπουδαιότητα και τις εκτεταμένες εφαρμογές τους τα γαλακτώματα δεν έχουν διερευνηθεί και περιγραφεί όσο τα μικύλλια. Τα μικρογαλακτώματα έχουν διαστάσεις, οι οποίες κυμαίνονται από 5 ως 100 nm και πιστεύεται ότι έχουν σχήμα σφαιρικό παρόμοιο με αυτό των μικυλλίων. Ιδιαίτερα τα μικρογαλακτώματα της μορφής λάδι σε νερό (o/w) περιέχουν έναν ευμεγέθη υδρογονανθρακικό πυρήνα σε αντίθεση με τα υδατικά μικύλλια και έτσι παρέχουν ένα καθαρά μη-πολικό περιβάλλον, μέσα στο οποίο μπορεί να διαλυθούν σχετικά μεγάλες συγκεντρώσεις υδρόφοβων μορίων και μεγάλα οργανικά μόρια των οποίων οι διαστάσεις είναι παρόμοιες με αυτές των μικυλλίων . Ο ρυθμός με τον οποίο τα μονομερή προσαρτώνται και αποσπώνται από το μικύλλιο καθώς και ο χρόνος παραμονής των επιδιαλυτωμένων μορίων μέσα σε αυτό είναι παρόμοια με αυτά των μικυλλίων . Η αραίωση μπορεί να προκαλέσει αλλαγές στα σταγονίδια του μικρογαλακτώματος. Αντίστοιχα με τα γαλακτώματα λάδι σε νερό υπάρχουν και γαλακτώματα νερό σε λάδι, τα οποία περιέχουν υδατικούς πυρήνες και μοιάζουν με τα αντίστροφα μικύλλια.

Όπως τα μικύλλια έτσι και τα μικρογαλακτώματα μπορεί να επηρεάσουν τη θέση της χημικής ισορροπίας και να δράσουν καταλυτικά.



Σχήμα 3.5 : Μικρογαλακτώματα A) w/o, B) o/w

Οι ιδιαίζουσες αυτές ιδιότητες των οργανωμένων συσσωρεύσεων έχουν βρει εκτεταμένες εφαρμογές στην αναλυτική χημεία. Έτσι μπορεί να οδηγήσουν σε σημαντικές τροποποιήσεις και βελτιώσεις των υπαρχουσών τεχνικών και στην ανάπτυξη νέων μεθόδων. Έτσι οι οργανωμένες δομές δίνουν λύσεις σε προβλήματα διαλυτότητας χωρίς επιπτώσεις στην ευαισθησία, επιταχύνουν αντιδράσεις μειώνοντας τις παράπλευρες, μετατοπίζουν

οξεοβασικές και οξειδοναγωγικές ισορροπίες και βελτιώνουν την εκλεκτικότητα και την ευαισθησία των μεθόδων χρωματογραφίας και εκχύλισης.

3.3 ΑΝΑΛΥΤΙΚΕΣ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΤΩΝ ΟΡΓΑΝΩΜΕΝΩΝ ΜΟΡΙΑΚΩΝ ΟΜΑΔΩΝ³

Στην παράγραφο αυτή παρουσιάζεται η ευεργετική επίδραση της εφαρμογής των μικυλλίων, των αντίστροφων μικυλλίων και των μικρογαλακτωμάτων στη μετατόπιση των οξεοβασικών αντιδράσεων, σε ηλεκτροχημικές μελέτες, στη φασματοφωτομετρία ορατού υπεριώδους, στη φασματοσκοπία φωσφορισμού στη φθορισμομετρία, στην εκχύλιση με υγρούς διαλύτες, στη φασματοσκοπία ατομικής απορρόφησης με φλόγα ή με πλάσμα, στην υγρή χρωματογραφία και στη χρωματογραφία λεπτής στιβάδας.

3.3.1 ΟΞΕΟΒΑΣΙΚΕΣ ΙΣΟΡΡΟΠΙΕΣ ΣΕ ΟΡΓΑΝΩΜΕΝΕΣ ΜΟΡΙΑΚΕΣ ΔΟΜΕΣ.

Η επίδραση των τασενεργών ουσιών πάνω στις οξεοβασικές ισορροπίες διερευνήθηκε εδώ και αρκετό καιρό από τον Hartley¹⁸, ο οποίος αναφέρθηκε στα αποτελέσματα της δράσης των κολλοειδών σωματιδίων σε οξεοβασικούς δείκτες. Αργότερα ο ίδιος μαζί με τον Roe¹⁹ χρησιμοποιώντας δείκτες προσροφημένους πάνω σε φορτισμένα μικύλλια απέδωσαν τη μεταβολή της σταθεράς ιοντισμού στη δημιουργία μιας συσσώρευσης πρωτονίων ανάμεσα στη διεπιφάνεια και στο διάλυμα. Αυτή η μεταβολή στην οξύτητα σχετίζεται με το επιφανειακό δυναμικό ψ

$$a_{H^+}^i = a_{H^+}^w 10^{(-F\psi / RT)} \quad 3.1$$

όπου $a_{H^+}^i, a_{H^+}^w$ είναι η ενεργότητα των κατιόντων υδρογόνου στη διεπιφάνεια και στο διάλυμα αντίστοιχα και F η σταθερά του Faraday.

Επειδή η ισορροπία του δείκτη στην επιφάνεια του μικυλλίου μπορεί να επηρεαστεί μόνο από το ηλεκτροστατικό δυναμικό και από το περιβάλλον (π.χ από ένα διαλύτη με μικρή διηλεκτρική σταθερά), η φαινομενική μετατόπιση της σταθεράς ιοντισμού μπορεί να περιλαμβάνει και μια μετατόπιση της πραγματικής σταθεράς, δηλαδή:

$$pK_a^{app} - pK_a^i = -F\psi / RT \quad 3.2$$

Στην πραγματικότητα για τις φαινόλες και τις ναφθόλες παρατηρείται μετατόπιση της τιμής της σταθεράς ακόμη και σε ουδέτερα μικύλλια.

Η χρήση αμφίφιλων δεικτών οδηγεί σε μια ισχυρή προσκόλλησή τους στο συσσωμάτωμα. Τα δυναμικά επιφανείας υπολογίστηκαν για τα μικύλλια του SDS(δωδεκυλ-σουλφονικό νάτριο) και για το Triton X-100 και η διαφορά ανάμεσα στην και στην είναι 1,1.

Όταν pK_a^i τα είδη pK_a^w που συμμετέχουν στην ισορροπία $HA \rightleftharpoons H^+ + A^-$ κατανομούνται ανάμεσα στην υδατική φάση και στη μικυλλιακή ψευδοφάση, η φαινομενική σταθερά ιοντισμού του οξέος μπορεί να εκφραστεί ως:

$$K_a^{app} = (1 + K_{A^-}C)/(1 + K_{HA}C) \quad 3.3$$

όπου K_{A^-} και K_{HA} είναι οι σταθερές σύνδεσης του A^- και HA με το μικύλλιο.

Η παραπάνω εξίσωση περιγράφει μια μονότονη συνάρτηση, η οποία φτάνει σε ένα πλατώ για την K σε μεγάλες τιμές του C . Μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να εξετάσει την επίδραση των αλάτων(επίδραση κοινού ιόντος) χρησιμοποιώντας μια εξαρτώμενη από τα άλατα τιμή για την K_a^- . Έχει διαπιστωθεί πειραματικά, ότι με την αύξηση της

συγκέντρωσης του τασενεργού η τιμή της K_a^{app} αυξάνει στην αρχή(φτάνοντας σε μέγιστο) για να μειωθεί στη συνέχεια. Χρειάζεται λοιπόν να τροποποιήσουμε την παραπάνω εξίσωση λαμβάνοντας υπόψη την ιονανταλλαγή στη μικυλλιακή επιφάνεια ανάμεσα στο A^- και στο αντισταθμιστικό ιόν του μικυλλίου:

$$K_a^{app} = K_a^w [1 + K_{AY}(Y_M Y_W)] / (1 + K_{HA}C) \quad 3.4$$

όπου το K_{AY} συμβολίζει τη σταθερά ιονανταλλαγής ανάμεσα στο A^- και στο αντισταθμιστικό ιόν και

$$\text{όπου } Y_M = (1 - a)C - [OH_M] - [A_M] \quad 3.5$$

α

είναι

$$Y_W = aC + c.m.c. + [OH_M] + [A_M] + BY_T \quad 3.6$$

βαθμ

ός διάστασης του μικυλλίου, BY ένα άλας που προστίθεται στο διάλυμα και M η συγκέντρωση των διαφόρων ειδών στη μικυλλιακή επιφάνεια.

Συμπερασματικά μπορούμε να πούμε, ότι η αλληλεπίδραση με τα μικυλλιακά συσσωμάτωμα προκαλεί σημαντικές μετατοπίσεις των τιμών pK_a , οι οποίες μπορεί να κατηγοριοποιηθούν σε κατανομές ειδών και σε ηλεκτροστατικές συνεισφορές.

Η ικανότητα επιδιόλωσης που συνδέεται με τη μετατόπιση της pK_a μπορεί να αξιοποιηθεί σε διάφορες αναλυτικές εφαρμογές, όπως ογκομετρήσεις (ποτενσιομετρικές και συνήθειες) αδιάλυτων στην πράξη οργανικών οξέων και βάσεων, όπως τα λιπαρά οξέα και οι αμίνες με μακρές ανθρακικές αλυσίδες, διάφορα υποκατεστημένα βενζοϊκά οξέα, σουλφοναμίδια, αλογονομένες φαινόλες κ.τ.λ.

Επίσης η διερεύνηση των οξεοβασικών ισοροπιών επιτρέπει τον προσδιορισμό των σταθερών σύνδεσης αρκετών ομάδων ενώσεων, όπως είναι οι υποκατεστημένες φαινόλες. Έτσι μπορούμε να υπολογίσουμε τη συνεισφορά διαφόρων υποκαταστατών στη μεταβολή της ελεύθερης ενέργειας κατά τη μετάβαση από την υδατική στη μικυλλιακή φάση και να προβλέψουμε μέσα σε λογικά πλαίσια την έκταση των αλληλεπιδράσεων μιας ουσίας με τα μικύλλια και την αντίστοιχη μετατόπιση του pK_a .

Το μικυλλιακό μέσο παρέχει έναν εύκολο και ακριβή δρόμο και μια εναλλακτική λύση στη χρήση μικτών διαλυτών για τον προσδιορισμό ελάχιστα διαλυτών ενώσεων.

3.3.2 ΗΛΕΚΤΡΟΧΗΜΙΚΕΣ ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΣΕ ΟΡΓΑΝΩΜΕΝΕΣ ΜΟΡΙΑΚΕΣ ΔΟΜΕΣ

Από ηλεκτροχημικής άποψης μια τασενεργός ουσία μπορεί να θεωρηθεί σαν ένας αδρανής ηλεκτρολύτης. Όταν προσροφηθεί στη διεπιφάνεια ηλεκτροδίου που βρίσκεται σε διάλυμα, μεταβάλλει τη διεπιφανειακή τάση και τη δομή της διπλοστιβάδας.

Είναι γνωστή η τάση των τασενεργών ουσιών να καταστέλλουν τα πολαρογραφικά μέγιστα λόγω της μείωσης της επιφανειακής τάσης. Όταν μια υδατοδιαλυτή ηλεκτροενεργή ουσία, η οποία δεν αλληλεπιδρά με τα συσσωματώματα, βρεθεί σε ένα τέτοιο περιβάλλον, θα διαχυθεί στην επιφάνεια του ηλεκτροδίου και θα αντιδράσει πάνω σε αυτό. Το ηλεκτρικά αδρανές τασενεργό που βρίσκεται προσροφημένο στην επιφάνεια θα επηρεάσει την ταχύτητα της ηλεκτροδιακής αντίδρασης με ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις που μπορεί να είναι ανασταλτικές ή επιταχυντικές. Αντίθετα τα υδρόφοβα μόρια θα αντιδράσουν πάνω στην επιφάνεια του ηλεκτροδίου με ένα μηχανισμό εισόδου-εξόδου. Τα υδατοδιαλυτά είδη τα οποία αλληλεπιδρούν με τις οργανωμένες δομές, θα αντιδράσουν επίσης πάνω στο ηλεκτρόδιο μετά από διάχυση.

Η συγκέντρωση και η φύση της τασενεργού ουσίας μπορεί να επηρεάσει όχι μόνο το σχήμα του ηλεκτροχημικού σήματος, αλλά και παράμετρους όπως το δυναμικό ημίσεως κύματος, τους ρυθμούς μεταφοράς ηλεκτροδίων, τη διάχυση και τους συντελεστές μεταφοράς καθώς και τη σταθερότητα των ενδιάμεσων προϊόντων. Γενικά τα δυναμικά μισού κύματος

μετατοπίζονται προς θετικότερες τιμές. Αυτό οφείλεται σε αλλαγές στη σταθερά σχηματισμού των ενώσεων και στο μικρο-περιβάλλον.

Στα μικρο-γαλακτώματα επικρατεί γενικά το φαινόμενο της μετατόπισης του δυναμικού μισού κύματος σε πιο αρνητικές τιμές ανεξάρτητα από το φορτίο που αποκτά το σταγονίδιο, ενώ τα πολαρογραφικά κύματα δεν είναι πάντα αντιστρεπτά.

Συνδυάζοντας την κυκλική βολταμετρία με μετρήσεις διαλυτότητας δυσδιάλυτων ενώσεων, μπορούμε να πάρουμε ακριβείς τιμές για τα κανονικά δυναμικά τους σε υδατικά διαλύματα, όπως για παράδειγμα στο σύστημα φερροκενίου/φερροκενίου ιόντος.

Επιπλέον πληροφορίες για την κατανομή των φάσεων και την κινητική της ανταλλαγής ουσιών ανάμεσα σε αυτές προκύπτουν από ηλεκτροκινητικές μελέτες. Η κινητική σταθερότητα των ηλεκτρογενών ριζών επηρεάζεται επίσης από την παρουσία συσσωματωμάτων. Έτσι τα μικύλλια των κατιονικών τασενεργών έχουν την ικανότητα να σταθεροποιούν διάφορες ανιονικές ρίζες κάνοντας τις αντιδράσεις αντιστρεπτές αλλά και να αποσταθεροποιούν τα ενδιάμεσα προϊόντα. Η ερμηνεία των δράσεων αυτών αποδίδεται με διάφορα μοντέλα αλληλεπιδράσεων μικυλλίου υποστρώματος.

3.3.2.1 Ηλεκτροαναλυτικές εφαρμογές.

Η χρήση των τασενεργών ουσιών σε ηλεκτροαναλυτικές τεχνικές μπορεί να οδηγήσει σε αυξημένη ευαισθησία των μεθόδων, λόγω της αύξησης στην απόδοση των προϊόντων οξειδωσης από λιγότερο διαλυτές ενώσεις. Για παράδειγμα διάφορα μόρια, τα οποία έδιναν μόνο ώμους ή και καθόλου κύματα σε υδατικό διάλυμα υδροξειδίου του νατρίου συγκέντρωσης 2 M, παρουσίασαν ευδιάκριτες ανοδικές κορυφές τόσο σε μικύλλια του methyl dodecyl benzyl trimethyl ammonium chloride, όσο και σε γαλακτώματα που προέκυψαν με ανάμιξη του ίδιου τασενεργού με έναν οργανικό διαλύτη όπως το ακετονιτρίλιο. Παρόλο που σε πολλές περιπτώσεις το ύψος των κορυφών ήταν ευθέως ανάλογο με τη συγκέντρωση της μελετούμενης ουσίας, κάποιες φορές η παρουσία των τασενεργών προκάλούσε μείωση των κορυφών αυτών. Αύξηση της ευαισθησίας παρατηρείται γενικά στα γαλακτώματα σε σχέση με τα αντίστοιχα μικύλλια. Στο περιβάλλον του γαλακτώματος τα δυναμικά τείνουν να ομαδοποιηθούν γύρω από το δυναμικό οξειδωσης του τασενεργού υποδεικνύοντας, ότι ο μηχανισμός που λαμβάνει χώρα περιλαμβάνει οξειδωση του υπό μελέτη συστατικού από το ηλεκτρονιακά οξειδωμένο τασενεργό. Στην περίπτωση των μικυλλίων η ευρεία κατανομή των δυναμικών συνιστά επίσης την άμεση μεταφορά ηλεκτρονίων από ή προς την οργανική

ένωση. Δημιουργείται έτσι η δυνατότητα ποσοτικού προσδιορισμού μιας οργανικής ένωσης με ανοδική βολταμετρία.

Γίνεται επομένως φανερό, ότι τα μικύλλια και τα μικρογαλακτώματα μπορεί να χρησιμοποιηθούν για τη μελέτη ηλεκτροδιακών αντιδράσεων υδρόφοβων και υδρόφιλων ουσιών. Επιπλέον οι οργανωμένες ομάδες μπορεί να δώσουν πληροφορίες σχετικά με τη διαδικασία της μεταφοράς ηλεκτρονίων στη διεπιφάνεια επαφής λιπόφιλου/νερού/ηλεκτροδίου. Σε άλλες περιπτώσεις, ένα κατάλληλα επιλεγμένο τασενεργό μπορεί να χρησιμεύσει ως εκλεκτικό καλυπτικό αντιδραστήριο σε μια πολυρογραφική ανάλυση.

Επίσης τα μικυλλιακά συστήματα δίνουν τη δυνατότητα σε ενώσεις, που διαλυτοποιούνται με τη βοήθειά τους, να δράσουν ως διαμεσολαβητές τιτλοδότες για να συνδέσουν τη μεταφορά ηλεκτρονίων ανάμεσα στο ηλεκτρόδιο και σε ένα άλλο υπόστρωμα, όπως π.χ. στην περίπτωση του φερροκενίου. Το ηλεκτροχημικά παραγόμενο ιόν φερροκενίου χρησιμοποιείται σε επαναληπτικά αντιστρεπτές τιτλοδοτήσεις ισορροπίας των πρωτεϊνών της αίμης στο κυτόχρωμα c, στην οξειδάση του κυτοχρώματος c και σε μίγματα.

Τέλος είναι γνωστό, ότι η παρουσία των τασενεργών ουσιών μπορεί να επηρεάσει την απόκριση των ηλεκτροδίων, όπως τα εκλεκτικά ηλεκτρόδια ιόντων ή τα σταγονικά ηλεκτρόδια υδραργύρου. Διερεύνηση των επιδράσεων αυτών έχει γίνει εκτεταμένα.

3.3.3 ΧΡΗΣΗ ΜΙΚΥΛΛΙΑΚΩΝ ΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ ΣΤΗ ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΑ ΥΠΕΡΙΩΔΟΥΣ-ΟΡΑΤΟΥ.

Μια από τις πιο σημαντικές καινοτομίες στη χρήση των τασενεργών ουσιών ήταν η εμπλοκή τους στη φασματοφωτομετρία ορατού υπεριώδους, με σκοπό να βελτιώσουν τους φασματοσκοπικούς προσδιορισμούς μεταλλικών στοιχείων με τη βοήθεια μεταλλοχρωμικών δεικτών(βαφές). Τα μόρια της τασενεργού ουσίας συνδέονται με το μέταλλο και τον υποκαταστάτη δημιουργώντας τριμερή σύμπλοκα, τα οποία εμφανίζουν αυξημένη μοριακή απορροφητικότητα και μια βαθυχρωμική μετατόπιση των μεγίστων της απορρόφησης σε σχέση με τα διμερή ανάλογά τους. Ένα άλλο σημαντικό φαινόμενο είναι η ικανότητα επιδιάλυτωσης που εμφανίζουν τα μικύλλια σε σχέση με κάποια σύμπλοκα μετάλλων, τα

οποία έχουν μικρή διαλυτότητα στο νερό. Με τον τρόπο αυτό μπορούμε να αποφύγουμε το στάδιο της εκχύλισης των συμπλόκων αυτών με οργανικούς διαλύτες. Παρά το γεγονός ότι οι φασματικές μέθοδοι που χρησιμοποιούν τασενεργές ουσίες έχουν χρησιμοποιηθεί εκτεταμένα σε αναλυτικές εφαρμογές, ο μηχανισμός δράσης τους δεν έχει διευκρινιστεί πλήρως.

3.3.3.1 Κατιονικά τασενεργά.

Η χηλιωτική συμπεριφορά διαφόρων οργανικών χρωμοφόρων παρουσία μικυλλίων κατιονικών τασενεργών έχει διερευνηθεί εκτεταμένα. Οι συνολικές παράμετροι των φασματοφωτομετρικών αυτών μεθόδων και ιδιαίτερα των μηχανισμών σχηματισμού των τριμερών συμπλόκων με τα μονομερή μόρια των τασενεργών και τα αντίστοιχα μικύλλια συνοψίζονται από τη Cermakova²⁰.

Σύγκριση των φασματικών ιδιοτήτων των συμπλόκων παρουσία και απουσία των κατιονικών τασενεργών φανερώνει, ότι η χρήση τους αυξάνει τους συντελεστές απορροφητικότητας μέχρι 10 φορές, ενώ ταυτόχρονα προκαλείται μετατόπιση των φασματικών μεγίστων από 20-100 nm. Η αύξηση αυτή της ευαισθησίας εξαρτάται από τη συγκέντρωση της τασενεργού ουσίας. Συνήθως όταν η συγκέντρωση αυτή είναι κάτω από τα επίπεδα της κρίσιμης, παρατηρείται θολερότητα του διαλύματος διότι σχηματίζονται ελάχιστα διαλυτά ιοντικά προϊόντα ανάμεσα στα οργανικά ανιόντα και στα μονομερή σωματίδια του τασενεργού. Σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις από την κρίσιμη λαμβάνει χώρα διαλυτοποίηση των συσσωματωμάτων και μέγιστη απόδοση, ενώ περαιτέρω μείωση της συγκέντρωσης μειώνει την απορρόφηση με ταυτόχρονη υψοχρωμική μετατόπιση. Το τελευταίο φαινόμενο μπορεί να εξηγηθεί ως μείωση της συμπλεκτικής ικανότητας του ανιονικού υποκαταστάτη, ο οποίος αλληλεπιδρά ισχυρά με το αντίθετα φορτισμένο μικύλλιο. Με κατάλληλη επιλογή των πειραματικών συνθηκών είναι δυνατή η δημιουργία διαλυτών και σταθερών τριμερών συμπλόκων, που βελτιώνουν τα όρια ανίχνευσης των φασματοφωτομετρικών προσδιορισμών.

3.3.3.2 Μη ιοντικά τασενεργά

Η χρήση των μη ιοντικών τασενεργών σε συνδυασμό με αφόρτιστους ή ελάχιστα ιοντιζόμενους οργανικούς υποκαταστάτες(όπως τα PAN, PAR και 8-κινολινόλη) έχει μελετηθεί εκτεταμένα. Υδατικά διαλύματα μη ιοντικών τασενεργών, όπως τα Triton X-100 Triton X-114, αποτελούν άριστα διαλυτικά μέσα για τα αντιδραστήρια αυτά και για τα

σύμπλοκά τους με μέταλλα, καθώς έχουν την ικανότητα να τα διασπείρουν στο υδατικό περιβάλλον. Για τον ίδιο σκοπό έχει αναφερθεί και η χρήση τασενεργών ουσιών της σειράς των PONPE. Στη βιβλιογραφία αναφέρονται διάφορα παραδείγματα φασματοφωτομετρικών προσδιορισμών, ευαισθητοποιημένων από την παρουσία τασενεργών³.

3.3.3.3 Ανιονικά τασενεργά.

Τα ανιονικά τασενεργά δεν χρησιμοποιούνται συνήθως ως ευαισθητοποιητές, διότι παρεμποδίζουν ή ανταγωνίζονται το σχηματισμό των συμπλόκων. Παρόλα αυτά μπορεί να χρησιμοποιηθούν για να βελτιώσουν τα φασματικά χαρακτηριστικά των διμερών συμπλόκων. Ο ρόλος των ανιονικών τασενεργών στην περίπτωση της εκχύλισης θετικά φορτισμένων συμπλόκων σε οργανικούς διαλύτες είναι ακόμη συγκεχυμένος.

3.3.4 ΜΙΚΥΛΛΙΑΚΑ ΕΝΙΣΧΥΟΜΕΝΟΣ ΦΘΟΡΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΦΩΣΦΟΡΙΣΜΟΣ.

Η ετερογενής μικροδομή των μικυλλιακών συσσωματωμάτων έχει μια ισχυρή επίδραση πάνω στις ιδιότητες των διαλυμένων ουσιών, με ιδιαίτερη έμφαση στις φωτοφυσικές τους ιδιότητες. Ο μικυλλιακά επαγόμενος φθορισμός και φωσφορισμός σε θερμοκρασία περιβάλλοντος αποτελούν μερικές από τις πολλά υποσχόμενες αναλυτικές τεχνικές, που αναπτύχθηκαν με βάση τις φθορισμομετρικές μελέτες της δομής και της δυναμικότητας των μικυλλιακών συσσωρεύσεων.

3.3.4.1 Μικκυλλιακά σταθεροποιούμενος φωσφορισμός σε θερμοκρασία περιβάλλοντος.

Ο Parker^{21,22} έχει ήδη από το 1980 δημοσιεύσει 2 εκτεταμένες ανασκοπήσεις για τις αρχές και τις εφαρμογές του φωσφορισμού σε θερμοκρασία περιβάλλοντος με περισσότερα από 130 παραδείγματα προσδιορισμού ουσιών σε στερεά υποστρώματα. Επίσης έχει αναφερθεί η εκλεκτική εφαρμογή της τεχνικής αυτής στην ανάλυση οργανικών ενώσεων.

Η τεχνική του μικυλλιακά σταθεροποιούμενου φωσφορισμού σαν κατάλληλη μέθοδος για ποσοτικές μετρήσεις εισήχθη από τον Cline Love²³ με σκοπό τον προσδιορισμό αρωματικών ενώσεων. Παρατηρήθηκε σταθεροποίηση της εκπέμπουσας τριπλής κατάστασης σε ένα μικτό διάλυμα ανιονικών μικυλλίων, το οποίο περιείχε και βαριά αντισταθμιστικά ιόντα όπως Ti^+ και Ag^+ . Η αύξηση της απόδοσης της φωσφορίζουσας ακτινοβολίας αποδίδεται στον

περιορισμό της κινητικότητας των εκπεμπόντων μορίων λόγω της οργάνωσής τους σε μοριακό επίπεδο μέσα στο μικύλλιο, στην αποτελεσματική προστασία από τους αποσβέστες και στη μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα της διαδικασίας σύζευξης του τροχιακού αυτοστροφορμής με το βαρύ άτομο. Η τελευταία αυτή αλληλεπίδραση εξαρτάται από το χρόνο παραμονής του εκπέμποντος σωματιδίου στο εσωτερικό του μικυλλίου. Οι καμπύλες βαθμονόμησης της έντασης του φωσφορισμού σε συνάρτηση με τη συγκέντρωση του αναλύτη παρουσιάζουν ένα μέγιστο, που μπορεί να αποδοθεί σε διαδικασίες απενεργοποίησης(αποδιέγερσης) και στη διασπορά των ουσιών ανάμεσα στα μικύλλια σύμφωνα με κατανομές Poisson-Boltzmann. Η ευαισθησία ενός τέτοιου προσδιορισμού είναι συγκρίσιμη με αυτή, που επιτυγχάνεται με φωσφορισμό χαμηλής θερμοκρασίας ή σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, όπου τα υποστρώματα προσροφούνται σε στερεούς υποδοχείς π.χ. διηθητικούς ηθμούς.

Ο μικυλλιακά σταθεροποιούμενος φωσφορισμός σε θερμοκρασία περιβάλλοντος μπορεί να εφαρμοσθεί στη μελέτη μιγμάτων με βάση τις ημιπεριόδους ζωής των τριπλών καταστάσεων. Με βάση διάφορες ενώσεις αναφοράς έγινε μελέτη της αλληλεπίδρασης του βαρέος μετάλλου με τον αναλύτη στα πλαίσια ενός κινητικού μοντέλου, το οποίο ανταποκρίνεται στην κατανομή του φωτοφόρου μέσα και έξω από το μικτό μικύλλιο. Με βάση το μοντέλο αυτό προέκυψε η παρακάτω σχέση, που περιγράφει την ημιπερίοδο ζωής του φωσφορισμού ως συνάρτηση διαφόρων παραμέτρων.

$$1/\tau = k_- + k_M + k_{qin}[Q]_{in} - \{k_-k_+[M]/(k_B + k_{qex}[Q]_{ex} + k_+[M])\} \quad 3.4$$

όπου k_- είναι η σταθερά ταχύτητας για την έξοδο από το μικύλλιο, k_M η σταθερά της ταχύτητας αποδιέγερσης μέσα στο μικύλλιο, k_{qin} και k_{qex} οι σταθερές της ταχύτητας απόσβεσης για έναν ενδογενή και έναν εξωγενή αποσβέστη, k_B η σταθερά της ταχύτητας αποδιέγερσης στο διάλυμα, k_+ η σταθερά επανεισόδου του φωτοφόρου, ενώ τα Q και M αντιπροσωπεύουν τον αποσβέστη και το μικύλλιο αντίστοιχα. Κατάλληλη επεξεργασία της παραπάνω εξίσωσης οδηγεί στον προσδιορισμό κάποιων περιοριστικών παραγόντων, χρήσιμων από αναλυτικής πλευράς. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον έχει η παρατήρηση ότι, όταν συνυπάρχουν δύο αντιδραστήρια στο διάλυμα, τότε οι ταχύτητες εξόδου και μικυλλιακής αποδιέγερσης του φωσφορισμού παραμένουν πρακτικά αμετάβλητες. Αυτή η ιδιότητα επιτρέπει την ειδοταυτοποίηση των αναλυτών αυτών σε μίγμα με μετρήσεις των πειραματικών χρόνων ζωής του μικυλλιακά σταθεροποιούμενου φωσφορισμού.

Η χρησιμοποίηση μιας τεχνικής σύγχρονης σάρωσης της φωταύγειας σε μελέτες μικυλλιακά σταθεροποιούμενης φωταύγειας έδειξε τη δυνατότητα ταυτοποίησης των

συστατικών ενός σύνθετου μίγματος. Η χρήση της δεύτερης παραγωγού σε μια τέτοια τεχνική μπορεί να βελτιώσει σημαντικά τη διακριτική ικανότητα σε πολύπλοκα μίγματα.

3.3.4.2 Μικυλλιακή ενίσχυση του φθορισμού.

Ο μικυλλιακά ενισχυόμενος φθορισμός είναι μια από τις σημαντικότερες εφαρμογές των τασενεργών ουσιών κυρίως, διότι η ένταση εκπομπής των μετρούμενων αναλυτών είναι αρκετές φορές μεγαλύτερη από ότι σε ομογενές μέσο.

Για πρώτη φορά η επίδραση διαφορετικών μικυλλιακών μέσων μελετήθηκε από τους Singh και Hinze²⁴ στο φθορισμό του πυρενίου, που διαπίστωσαν ενίσχυση του σήματος και της ευαισθησίας της μεθόδου κατά 3-16 φορές. Στην περίπτωση του φωσφορισμού υπάρχει ελαχιστοποίηση στη διαδικασία αποδιέγερσης για τις διεγερμένες καταστάσεις, που μπορεί να αποδοθεί στη μείωση της πολικότητας του μέσου, στην αύξηση του ιξώδους και στην θωράκιση από την επίδραση της απόσβεσης. Οι γραφικές παραστάσεις της σχετικής έντασης του φθορισμού συναρτήσει της συγκέντρωσης του αναλύτη φανερώνουν μια εκτεταμένη γραμμική περιοχή στο μικυλλιακό διάλυμα σε σχέση με το ομογενές. Η επαναληπτικότητα με την οποία εμφανίζεται η ενίσχυση του φθορισμού ακόμα και στο επίπεδο των $\mu\text{g L}^{-1}$ είναι ικανοποιητικότερη και έτσι η τεχνική αυτή επεκτάθηκε στον φθορισμομετρικό προσδιορισμό και άλλων πολυκυκλικών αρωματικών υδρογονανθράκων. Επίσης είναι δυνατός ο φθορισμομετρικός προσδιορισμός μη φθορίζουσών ουσιών μετά από αντίδραση και μετατροπή τους σε φθορίζοντα παράγωγα. Τα όρια ανίχνευσης των φθορίζοντων προϊόντων, που προκύπτουν με τον τρόπο αυτόν είναι 12-20 φορές πιο χαμηλά σε μικυλλιακά μέσα από ότι σε υδατικό διάλυμα.

Αν και η μικυλλιακή φθορισμομετρία είναι ιδιαίτερα χρήσιμη στον προσδιορισμό οργανικών ενώσεων, μπορεί επίσης να βρει εφαρμογή και σε ανόργανα συστήματα και κυρίως σε μεταλλικά ιόντα, όταν αυτά αντιδράσουν με κατάλληλους οργανικούς υποκαταστάτες, ώστε να δώσουν φθορίζοντα προϊόντα. Η προοπτική αυτή έχει βρει εκτεταμένες εφαρμογές σε όλα σχεδόν τα μεταλλικά στοιχεία, σε συνδυασμό με την αύξηση της διαλυτότητας των συμπλόκων στο μικυλλιακό περιβάλλον²⁵⁻²⁷.

3.3.5 ΣΥΣΣΩΜΑΤΩΜΑΤΑ ΤΑΣΕΝΕΡΓΩΝ ΟΥΣΙΩΝ ΣΤΗΝ ΑΤΟΜΙΚΗ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ ΦΛΟΓΑΣ ΚΑΙ ΠΛΑΣΜΑΤΟΣ.

Είναι γνωστό, ότι η παρουσία οργανικών διαλυτών μεταβάλλει σημαντικά τη συμπεριφορά και τις ιδιότητες των αναλυτών στις μεθόδους απορρόφησης με ατομοποίηση σε φλόγα σε σχέση με τα καθαρά υδατικά διαλύματα. Κάποιοι από τους μηχανισμούς που έχουν προταθεί για να εξηγήσουν αυτή τη συμπεριφορά είναι η αλλαγή του ιξώδους, η μείωση της επιφανειακής τάσης και ο σχηματισμός μικρών και ευκολότερα ατομοποιούμενων σταγονιδίων κατά τα στάδια της αναρρόφησης και της εκνέφωσης. Εντούτοις η χρήση αυτών των οργανικών διαλυτών, είτε αναμιγνύονται με το νερό είτε όχι, δε στερείται προβλημάτων.

Αν και η χρήση υδατοδιαλυτών τασενεργών στις τεχνικές ατομοποίησης αναφέρθηκε από τον Mittal^{4,5} ήδη από το 1978, δεν έχει δοθεί ακόμη πλήρης εξήγηση των παρατηρούμενων φαινομένων. Μια λεπτομερής μελέτη της παρουσίας των τασενεργών στην κατανομή των σωματιδίων του νέφους κατά τάξη μεγέθους, η οποία πραγματοποιήθηκε σε συνθήκες συνεχούς ροής και φλόγας, έδειξε, ότι παρουσία τασενεργών η μέση διάμετρος των σταγονιδίων μειώνεται περίπου στο μισό της τιμής, που είχε σε υδατικό διάλυμα. Προκειμένου να εξηγηθεί η ενίσχυση της απορρόφησης στη φλόγα κάποιων μεταλλικών κατιόντων παρουσία ανιονικών τασενεργών, έχει προταθεί ένα μοντέλο εμπλουτισμού, το οποίο συνιστά μια ανακατανομή των ιοντικών αναλυτών, που στον θάλαμο καύσης συσσωρεύονται στα μικρότερα σωματίδια του νέφους. Αντίθετα τα μη ιοντικά και κατιονικά τασενεργά δεν έχουν τέτοια αποτελέσματα²⁸.

Μεταγενέστερες μελέτες πάνω στο μηχανισμό, με τον οποίο οι τασενεργές ουσίες ενισχύουν το σήμα και την ευαισθησία των μετρήσεων ατομικής απορρόφησης, έλαβαν υπόψη τους μια σειρά από άλλες παραμέτρους, όπως την ιοντική ανακατανομή των αναλυτών στα σταγονίδια του νέφους και την επίδραση που έχει αυτή η ανακατανομή στην ταχύτητα ροής των αερίων, στο ιξώδες του διαλύματος, στο μέγεθος της οπτικής διαδρομής στον καυστήρα και στην ταχύτητα αναρρόφησης του δείγματος²⁹⁻³². Παρατηρείται γενικά, ότι η μεγαλύτερη ενίσχυση του σήματος επιτυγχάνεται, όταν ο αναλύτης και το χρησιμοποιούμενο τασενεργό είναι αντίθετα φορτισμένα και οι συγκεντρώσεις του τασενεργού είναι ελάχιστα μικρότερες από την κρίσιμη μυκλλιακή.

Μια άλλη σημαντική εφαρμογή των τασενεργών ουσιών στην φασματοφωτομετρία ατομικής απορρόφησης και εκπομπής εντοπίζεται στην ικανότητα σχηματισμού γαλακτωμάτων για τη διαλυτοποίηση αδιάλυτων στο νερό ουσιών χωρίς οργανικούς διαλύτες^{33,34,29}. Το μεταλλικό περιεχόμενο οργανικών δειγμάτων, καλλυντικών προϊόντων ή

αλοιφών μπορεί να προσδιοριστεί με φασματοσκοπία ατομικής απορρόφησης μετά από τη μετατροπή τους σε γαλακτώματα με τη χρήση κατάλληλων τασενεργών και απευθείας εισαγωγή του γαλακτώματος στον εκνεφωτή. Έτσι μπορούμε να αποφύγουμε στάδια μεταλλοποίησης ή χρήσης οργανικών διαλυτών. Επιπλέον μπορούν να χρησιμοποιηθούν ανόργανα πρότυπα για την κατασκευή των καμπυλών βαθμονόμησης. Η επιλογή της τασενεργού ουσίας γίνεται με βάση την ισορροπία της λιπαρής ύλης ανάμεσα στην υδρόφιλη και τη λιπόφιλη φάση. Στην περίπτωση δειγμάτων τα οποία περιέχουν μέταλλα σε σωματιδιακή κατάσταση απαιτείται μια όξινη προκατεργασία και πρέπει να ελεγχθεί η σταθερότητα του γαλακτώματος σε όξινο περιβάλλον. Οι περισσότερες εφαρμογές σε ατομική απορρόφηση αφορούν γαλακτώματα λίπους σε νερό(o/w), τα οποία προκύπτουν με κατάλληλη ανάμιξη της απαραίτητης ποσότητας της τασενεργού ουσίας με το ελαιώδες δείγμα και εφαρμογή υπερήχων μέχρι να σχηματιστεί ένα σταθερό εναιώρημα

Ένας από τους πιο σημαντικούς παράγοντες στην επιλογή του κατάλληλου γαλακτώματος είναι η σταθερότητα και η ομοιογένεια, που σχετίζονται άμεσα με το μέγεθος των διασπαρμένων σωματιδίων. Είναι πλέον γνωστό, ότι επιθυμητό αποτέλεσμα είναι η επίτευξη γαλακτωμάτων με πολύ μικρά σταγονίδια. Συγκεκριμένα αποδεικνύεται, ότι πιο αποτελεσματικά είναι τα σταγονίδια με διάμετρο από 10-200nm. Τέλος η χρήση των γαλακτωμάτων αποδεικνύεται αποτελεσματική για τον προσδιορισμό μετάλλων σε λιπαντικά με την τεχνική της φασματοσκοπίας πλάσματος τροφοδοτούμενου με συνεχές ρεύμα. Χρησιμοποιώντας ένα μίγμα μη-ιοντικού τασενεργού και οκτανόλης(συντασενεργό) παίρνουμε ένα ημιδιαφανές γαλάκτωμα με μέση διάμετρο σταγονιδίων περίπου 25 nm κατάλληλο για άμεση εισαγωγή στη φλόγα.

3.3.6 ΜΙΚΚΥΛΙΑΚΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΣΤΗ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ

Τα μικυλλιακά συστήματα προτάθηκαν το 1979 από τους Armstrong και Terril ως κινητή φάση στην υγρή χρωματογραφία. Το ετερογενές μικροπεριβάλλον των μικυλλίων επιτρέπει τη διάταξη των διαλυμένων ουσιών με βάση τις υδρόφοβες και ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις τους. Επομένως τα διαλύματα των τασενεργών ουσιών μπορούν να αποτελέσουν εναλλακτικά μέσα στη χρήση οργανικών διαλυτών ή μικτών διαλυμάτων σε όλα τα είδη υγρής χρωματογραφίας και κυρίως στην υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης και στη χρωματογραφία λεπτής στιβάδας³⁵.

3.3.6.1 Υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης(HPLC).

Σε μια πρώτη εφαρμογή των μικυλλίων στην υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης η χρήση του SDS στην κινητή φάση για το διαχωρισμό φαινολών και πολυκυκλικών αρωματικών υδρογονανθράκων με στήλες αντίστροφης φάσης έδειξε, ότι οι χρόνοι κατακράτησης εξαρτώνται από τη συγκέντρωση των χρησιμοποιούμενων τασενεργών.

Μια μαθηματική σχέση βασισμένη στην κατανομή κατά το διαχωρισμό των διαλυμένων ουσιών ανάμεσα στις φάσεις(υδατική, μικυλλιακή και στατική) μπορεί να περιγράψει τη χρωματογραφική συμπεριφορά των εκλούμενων ουσιών. Η εξίσωση έχει ως εξής:

$$V_s/(V_e-V_m)=(1/P_{sw})+C(P_{mw}-1)V/P_{sw} \quad 3.8$$

όπου V_s είναι ο όγκος της στατικής φάσης, V_e ο όγκος έκλυσης κάθε ουσίας, V_m ο κενός όγκος, P_{mw} και P_{sw} οι συντελεστές κατανομής ανάμεσα στο μικύλλιο και στο νερό και ανάμεσα στη στατική φάση και το νερό αντίστοιχα, V ο μερικός γραμμομοριακός όγκος του μικυλλιοποιημένου τασενεργού και C η συγκέντρωση του τασενεργού.

Από την κλίση και την τεταγμένη της παραπάνω εξίσωσης μπορούμε να υπολογίσουμε τους συντελεστές κατανομής και τη σταθερά προσκόλλησης των διαλυμένων ουσιών στο μικύλλιο. Η σταθερά αυτή συνδέεται με τον αντίστοιχα συντελεστή κατανομής με τη σχέση:

$$K_{mw} = (P_{mw}-1)V \quad 3.9$$

Η μέτρηση της K_{mw} με τη βοήθεια χρωματογραφικών δεδομένων είναι πολύ σημαντική, αν λάβουμε υπόψη, ότι η ποσοτικοποίηση της αλληλεπίδρασης μικυλλίου με τη διαλυμένη ουσία αποτελεί απαραίτητη προϋπόθεση της πρακτικής εφαρμογής των οργανωμένων δομών. Η προσέγγιση αυτή μπορεί επίσης να εφαρμοστεί και στην περίπτωση, που οι τασενεργές ουσίες και οι αναλύτες εμφανίζουν φασματική επικάλυψη. Επιπλέον με την κατάλληλη επιλογή στατικής φάσης μπορούμε να ελέγξουμε την τιμή του όρου P_{sw} της παραπάνω εξίσωσης. Έτσι, όταν πρέπει να μελετήσουμε την κατανομή πολύ υδρόφοβων ουσιών, τότε χρησιμοποιούνται πιο πολικές στατικές φάσεις όπως δεσμευμένο αλκυλονιτρίλιο, προκειμένου να μειωθεί η τιμή της P_{sw} και ταυτόχρονα να αυξηθεί η τιμή της τεταγμένης στην παραπάνω εξίσωση.

Όπως αναμένεται από την εξίσωση, μπορούμε να πετύχουμε την επιθυμητή εκλεκτικότητα ρυθμίζοντας κατάλληλα τη συγκέντρωση της τασενεργού ουσίας. Ενώσεις που ενώνονται

εύκολα με το μικύλλιο, έχουν μικρούς χρόνους κατακράτησης αυξάνοντας έτσι την συγκέντρωση. Επειδή όμως ο όρος Psw δεν έχει σημαντική εξάρτηση από τη συγκέντρωση του τασενεργού, ο ρυθμός μεταβολής του συντελεστή χωρητικότητας ως προς το c εμφανίζει διαφορετική συμπεριφορά για ουσίες με διαφορές στον υδρόφοβο χαρακτήρα και μπορεί να προκαλέσει αναστροφές στη σειρά κατακράτησης και έκλουσης, κάτι που παρατηρείται συχνά στην υγρή χρωματογραφία με χρήση μικυλλιακών ή άλλων ψευδοφάσεων.

Αν οι διαλυμένες ουσίες βρίσκονται στην ιοντική τους μορφή, τότε υπάρχει περίπτωση να συμβούν ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις ανάμεσα σε αυτές και τα ιοντικά μικύλλια αλλά και τα μονομερή σωματίδια του τασενεργού. Έτσι εισάγεται ένας επιπλέον παράγοντας, ο έλεγχος του οποίου επιτρέπει ρύθμιση της εκλεκτικότητας. Τα φαινόμενα αυτά είναι αρκετά πολύπλοκα. Για παράδειγμα μια αύξηση στην τιμή της P_{mw} ή της K_{mw} , που παρατηρείται κατά την ένωση μιας ιοντικής ουσίας με ένα αντίθετα φορτισμένο μικύλλιο, μπορεί αντί να προκαλέσει μείωση των χρόνων κατακράτησης, όπως θα αναμενόταν λόγω της επίδρασης της κινητής φάσης, να οδηγήσει σε αύξηση της κατακράτησης. Η παρατήρηση αυτή εξηγείται με το σχηματισμό ιοντικού ζεύγους ανάμεσα στη διαλυμένη ουσία και στα μόρια της τασενεργού ουσίας, που βρίσκονται προσροφημένα στη στατική φάση.

Το ενδιαφέρον για τις πρακτικές εφαρμογές της μικυλλιακής χρωματογραφίας αυξάνεται συνεχώς λόγω των δυνατοτήτων βελτίωσης της ευαισθησίας με τη χρήση ανιχνευτών φθορισμού και φωσφορισμού. Η χρήση για παράδειγμα μικυλλιακά σταθεροποιούμενου φωσφορισμού αποδεικνύεται ιδιαίτερα αποτελεσματική για τον προσδιορισμό αρωματικών ενώσεων, με τη βοήθεια αντιδράσεων μετά τη στήλη και χρησιμοποίηση μικτών μικυλλιακών διαλυμάτων.

3.3.6.2 Χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (TLC).

Οι πρώτες αναφορές στη μικυλλιακή TLC αφορούν την εφαρμογή των τασενεργών σε κινητές φάσεις προκειμένου να βελτιωθεί ο διαχωρισμός υδρόφοβων και υδρόφιλων ενώσεων. Για παράδειγμα έχει καταγραφεί από το 1979 ο διαχωρισμός χλωριωμένων φυτοφαρμάκων και πολυχλωροδιφαινυλίων με τη χρήση SDS και HDTB πάνω σε στατικές φάσεις από πολυαμίδιο ή αλουμίνα. Το SDS έχει επίσης χρησιμοποιηθεί για το διαχωρισμό των πολυκυκλικών αρωματικών υδρογονανθράκων πάνω σε πλάκες από πολυαμίδιο. Ο παράγοντας R_f αυξάνεται με την αύξηση της συγκέντρωσης του SDS αναλογικά με τον υδρόφοβο χαρακτήρα της ένωσης, κάτι που μπορεί να αποδοθεί στην αύξηση του κλάσματος που προσκολλάται στο μικύλλιο.

Λόγω του ότι τα ανεστραμμένα μικύλλια αποτελούν μια ετερογενή οργανική μικροφάση με ιδιότητες ανάλογες με αυτές των κανονικών μικυλλίων, έχουν χρησιμοποιηθεί αποτελεσματικά σε διαχωρισμούς υδρόφιλων ουσιών, όπως οι νουκλεοζίτες και τα αμινοξέα. Ο υδάτινος πυρήνας των ανεστραμμένων μικυλλίων π.χ. σε κυκλοεξάνιο έχει την ικανότητα να επιτυγχάνει την επιθυμητή κατανομή των διαχωριζόμενων ουσιών. Στην περίπτωση αυτή οι τιμές του R_f μεταβάλλονται σε συνάρτηση με τη συγκέντρωση του νερού στο μικύλλιο, μέχρι να πλησιάσουν ένα επίπεδο κορεσμού.

Η χρήση των μικυλλιακών διαλυμάτων σε συνδυασμό με μη πολικές στατικές φάσεις (χρωματογραφία λεπτής στιβάδας-αντίστροφης φάσης) περιορίζεται από την αστάθεια των φάσεων αυτών. Η δυνατότητα τέτοιων διαχωρισμών μελετήθηκε για διαλύματα μεγάλης ιοντικής ισχύος από τους Armstrong και Boui. Έτσι βρέθηκε, ότι υπάρχει μια βέλτιστη περιοχή συγκεντρώσεων αλάτων, στην οποία μπορούμε να χρησιμοποιηθούν μικύλλια ανιονικών ή κατιονικών τασενεργών. Η παρουσία ενός διπλού μετώπου διαλυτών, που το πρώτο αποτελείται από νερό, ενώ το δεύτερο περιέχει τα μικυλλιακά συσσωματώματα, αποτελεί ένα ιδιαίζον χαρακτηριστικό των παραπάνω χρωματογραφημάτων. Έτσι οι διαλυμένες ουσίες κατανέμονται ανάμεσα στα δύο μέτωπα με βάση τον υδρόφοβο χαρακτήρα τους.

Η χρήση της μικυλλιακής χρωματογραφίας λεπτής στιβάδας προτάθηκε επίσης σαν ένα μέσο υπολογισμού των παραμέτρων κατανομής των διαφόρων ουσιών μεταξύ της υδατικής και της μικυλλιακής φάσης. Σε αναλογία με τη μικυλλιακή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης, ο Armstrong πρότεινε μια σχέση, η οποία περιγράφει τη χρωματογραφική συμπεριφορά των διαφόρων ουσιών στη μικυλλιακή χρωματογραφία λεπτής στιβάδας:

$$R_f/(1-R_f) = (V_m / V_s P_{sw}) + (V_m/V_s) (C (P_{MW} - 1) V/P_{sw}) \quad 3.10$$

Όπου V_m και V_s είναι οι όγκοι της κινητής και της στατικής φάσης αντίστοιχα, ενώ οι άλλοι όροι είναι ίδιοι με αυτούς της προηγούμενης εξίσωσης.

3.3.6.3 Γενικές εφαρμογές της μικυλλιακής χρωματογραφίας.

Το αυξανόμενο ενδιαφέρον στον τομέα αυτόν οδήγησε σε μελέτες για την περιγραφή των πολύπλοκων μηχανισμών σχετικά με τις αλληλεπιδράσεις των διαλυμένων ουσιών με τα οργανωμένα συσσωματώματα. Οι παρατηρήσεις που προήλθαν από την καταγραφή μιας μη αναμενόμενης συμπεριφοράς κατά την έκλυση διαφόρων ουσιών (όπως αλκαλοειδή και

χρωστικές), οι οποίες δεν δεσμεύονται από τα μικύλλια, οδήγησαν στην κατάταξη των αναλυτών σε τρεις κατηγορίες ανάλογα με την τάση που εμφανίζουν για κατακράτηση, όταν αυξάνεται η συγκέντρωση του τασενεργού. Με βάση τις κλίσεις που προκύπτουν από τις δύο εξισώσεις οι διάφορες ενώσεις χαρακτηρίζονται ως δεσμικές, μη-δεσμικές και αντιδεσμικές. Από τις κλίσεις αυτές υπολογίστηκαν οι αντίστοιχοι συντελεστές αλληλεπίδρασης καθώς και η εξάρτηση των συντελεστών αυτών από την ιοντική ισχύ και τη φύση των αλάτων. Η τελευταία παράμετρος μας πληροφορεί και για το φορτίο των διαχωριζόμενων ενώσεων.

Τα φαινόμενα που παρατηρούνται για μη-δεσμικές και αντιδεσμικές ενώσεις σχετίζονται με το είδος της στατικής φάσης. Για παράδειγμα τα διάφορα νιτρίλια, τα οποία δεν προσροφούν τις τασενεργές ουσίες, δίνουν συνήθως αρνητικές κλίσεις, ενώ οι στήλες C_8 και C_{18} δίνουν μηδενικές. Μια εξήγηση της συμπεριφοράς αυτής προτάθηκε από τον Armstrong, ο οποίος την απέδωσε σε ηλεκτροστατικές απώσεις ανάμεσα στα μικύλλια και στις διαλυμένες ενώσεις. Έτσι η επίδραση των αλάτων είναι σημαντική.

Οι ιδιότητες της μικυλλιακής χρωματογραφίας βελτιώθηκαν με την προσθήκη μικρών ποσοτήτων οργανικών τροποποιητών (συνήθως αλκοολών) στη μικυλλιακή φάση και με θερμοστάτηση των χρωματογραφικών στηλών σε μεγαλύτερες θερμοκρασίες. Η αύξηση της αποτελεσματικότητας αποδίδεται κυρίως στην επιτάχυνση των φαινομένων μεταφοράς μάζας από τη στατική στην κινητή φάση. Έτσι ακόμα και στις καθαρά μη-πολικές στήλες, όπως η C_{18} , η διαπλάτυνση των κορυφών μειώνεται εντυπωσιακά και η εικόνα τους μοιάζει πλέον με αυτή της συμβατικής χρωματογραφίας.

3.4 ΜΙΚΚΥΛΙΑΚΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΣΤΗΝ ΕΚΧΥΛΙΣΗ

Η εκχύλιση μετάλλων με τη μορφή χηλικών συμπλόκων ή ιοντικών ζευγών με οργανικούς διαλύτες έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως και συνήθως τα εκχυλιζόμενα είδη προσδιορίζονται με φασματοφωτομετρική παρακολούθηση της οργανικής φάσης. Όπως είδαμε, σε μικυλλιακά διαλύματα υπάρχει η δυνατότητα σχηματισμού τριμερών συμπλόκων, που περιέχουν και την τασενεργό ουσία. Σε πολλές περιπτώσεις τα ουδέτερα μόρια, που σχηματίζονται μεταξύ των συμπλόκων και της τασενεργού ουσίας, μπορούν να εκχυλιστούν στην οργανική φάση και να μετρηθεί η απορρόφησή τους.

Η επιλογή του κατάλληλου τασενεργού εξαρτάται από το φορτίο του συμπλόκου. Έτσι τα ανιονικά σύμπλοκα σχηματίζουν εκχυλιζόμενα προϊόντα με τα κατιονικά τασενεργά και το αντίστροφο. Σε κάποιες περιπτώσεις μέσα στην οργανική φάση μπορεί να σχηματιστούν αντίστροφα μικύλλια.

Η σύνθεση και η διερεύνηση της δομής νέων υποκαταστατών που μπορούν να σχηματίσουν μικύλλια, σε συνδυασμό με τη λεπτομερή διερεύνηση του μηχανισμού εκχύλισης και της κινητικής της μπορεί να δώσει νέα προοπτική σε αυτόν τον τομέα. Μελέτες πάνω στο μηχανισμό μεταφοράς, από υδατικά διαλύματα σε χλωροφόρμιο, των χλωριούχων αλάτων του ψευδαργύρου και του σιδήρου παρουσία χλωριούχου μεθυλτρικοκυλαμμωνίου και αμινών με μεγάλη λιπαρή αλυσίδα, έδειξαν, ότι τα διεπιφανειακά σύμπλοκα σχηματίζονται με αντιδράσεις ανταλλαγής ιόντων(διπλή αντικατάσταση) και ότι το αργό στάδιο, που καθορίζει την ταχύτητα της αντίδρασης, είναι η υποκατάσταση των ουδέτερων τριμερών συμπλόκων από τα σωματίδια του υποκαταστάτη που παρέχονται από την οργανική φάση.

Τα μη ιοντικά τασενεργά έχουν μικρή εφαρμογή σε εκχυλίσεις με οργανικούς διαλύτες. Για παράδειγμα έχει αναφερθεί εκχύλιση του ψευδαργύρου από όξινα διαλύματα θειοκυανιούχων αλάτων του, παρουσία πολυαιθυλενογλυκόλης και του μονοαλκυλοφαινυλο-αιθέρα της. Η απόδοση της εκχύλισης αυξάνεται με τον αριθμό των αιθοξυ-ομάδων.

Ο διαχωρισμός φάσεων, που λαμβάνει χώρα σε μικυλλιακά διαλύματα μη ιοντικών τασενεργών πάνω από το αποκαλούμενο σημείο νεφέλωσης, έχει βρει επίσης εκτεταμένη εφαρμογή στην εκχύλιση μεταλλικών συμπλόκων³⁶. Με την τεχνική αυτή θα ασχοληθούμε εκτεταμένα σε ειδική παράγραφο.

Μια παραλλαγή στη χρήση μικυλλιακών διαλυμάτων είναι η χρήση μικρογαλακτωμάτων, τα οποία αντικαθιστούν τους συνήθεις οργανικούς διαλύτες. Η εκχύλιση του γαλλίου από υδατικό αλκαλικό του διάλυμα σε βενζόλιο με τη χρήση του υδρόφοβου υποκαταστάτη 7-(1-αιθενυλο-3,3,5,5-τετραμεθυλεξυλο)-8-κινολινόλη μπορεί να βελτιωθεί, για παράδειγμα, με την προσθήκη ενός καρβοξυλικού τασενεργού και μιας υδρόφοβης αλκοόλης. Έτσι προκύπτει ένα μικρογαλάκτωμα της μορφής νερό σε λάδι, το οποίο έχει ένα υδατικό περιεχόμενο ανάλογο της συγκέντρωσης του τασενεργού και της ανθρακικής αλυσίδας της αλκοόλης(συν-τασενεργό). Η αύξηση της ταχύτητας της αντίδρασης κατά 20 φορές αποδίδεται στην αύξηση της διεπιφανείας επαφής, στην ταχύτερη μεταφορά μάζας και στη συγκέντρωση των αντιδρώντων σε μικρή περιοχή μέσα στα σταγονίδια του μικρογαλακτώματος.

Ενδιαφέρον παρουσιάζει επίσης και η χρήση μακροκυκλικών αιθέρων στέμματος ως φορέων για τη μεταφορά μεταλλικών ιόντων μέσω μεμβρανών από μικρογαλακτώματα. Ήδη από το 1982 έχει αναφερθεί ο αποτελεσματικός και γρήγορος διαχωρισμός μολύβδου από υδατικά διαλύματα αλκαλίων. Πρακτικά στο τέλος της διαδικασίας όλη η ποσότητα του μολύβδου βρίσκεται στο εσωτερικό των σταγονιδίων του γαλακτώματος.

Μια ακόμα ενδιαφέρουσα πτυχή της μικυλλιακά τροποποιημένης εκχύλισης αφορά τον διαχωρισμό και ποσοτικό προσδιορισμό των ίδιων των τασενεργών ουσιών, που απαντούν συνήθως σε ίχνη στα νερά. Σκοπός των τεχνικών αυτών είναι ο σχηματισμός έγχρωμων συμπλόκων των τασενεργών στην οργανική φάση, τα οποία μπορούν να προσδιοριστούν φασματοφωτομετρικά. Πολλά μη ιοντικά τασενεργά μπορούν να συγκεντρωθούν σε οργανικούς διαλύτες σχηματίζοντας ιοντικό ζεύγος με το πικρικό κάλιο. Η όλη διαδικασία περιλαμβάνει το σχηματισμό ενός κατιονικού συμπλόκου ένταξης ανάμεσα στις αιθερικές ομάδες του τασενεργού και στο κατιόν του καλίου, το οποίο στη συνέχεια ενώνεται με το πικρικό ανιόν για να σχηματίσει ένα αφόρτιστο είδος, που απορροφά στην ορατή περιοχή και μπορεί να εκχυλιστεί στην οργανική φάση. Αντί για το πικρικό κάλιο μπορεί εναλλακτικά να χρησιμοποιηθεί το μετά καλίου άλας του αιθανικού εστέρα της τετραβρωμοφαινολοφθαλεΐνης, το προϊόν του οποίου με την τασενεργό ουσία είναι εκχυλίσιμο με διχλωροβενζόλιο. Οι παραπάνω μέθοδοι έχουν εφαρμοστεί με επιτυχία σε 20 και πλέον εμπορικά τασενεργά και η εφαρμογή τους σε νερά ποταμών έδωσε ανακτήσεις 94-100% για τα μη ιοντικά τασενεργά σε συγκεντρώσεις 4-80 ng mL⁻¹.

Μια έμμεση μέθοδος έχει επίσης προταθεί για τον προσδιορισμό μη ιοντικών τασενεργών, όπως το Triton X-100, η οποία περιλαμβάνει σχηματισμό ουδέτερων και άχρωμων συμπλόκων ανάμεσα στο τασενεργό και το μετά καλίου άλας του τετραθειοκυανιούχου ψευδαργύρου. Το σύμπλοκο αυτό εκχυλίζεται με 1,2 διχλωρο βενζόλιο και το τασενεργό προσδιορίζεται έμμεσα από τη μέτρηση του περιεχόμενου ψευδαργύρου. Ο ψευδάργυρος μπορεί ακόμα να επανεκχυλιστεί με όξινο υδατικό διάλυμα και να μετρηθεί με ατομική απορρόφηση ή να μετατραπεί σε έγχρωμο σύμπλοκο με κατάλληλο υποκαταστάτη και να μετρηθεί φωτομετρικά.

Ανάλογες πρακτικές έχουν εφαρμοσθεί και για τον προσδιορισμό ανιονικών τασενεργών. Ανάμεσα στα κατιονικά σύμπλοκα, που περιέχουν χρωμοφόρες ομάδες και μπορούν να σχηματίσουν ιοντικά ζεύγη με τα ανιονικά τασενεργά είναι : τα χηλικά σύμπλοκα του χαλκού και του νικελίου με την τριαιθυλοτετραμίνη, που χρησιμοποιούνται στην εκλεκτική εκχύλιση των καρβοξυλικών τασενεργών μακράς ανθρακικής αλυσίδας σε κυκλοεξάνιο και ισοβουτανόλη, το έντονα έγχρωμο σύμπλοκο δις [2-(2πυριδυλαζο)-5-δισαιθυλαμινοφαινολο] κοβάλτιο(III), το οποίο χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό θειωδών και θεικών τασενεργών στο νερό με εκχύλιση σε βενζόλιο, σύμπλοκα του χαλκού(II) με παράγωγα της αιθυλενοδιαμίνης για την εκχύλιση αλκυλοθειικών και αλκυλοσουλφονικών με χλωροφόρμιο. Στην τελευταία αυτή μέθοδο η συγκέντρωση του τασενεργού μετρείται έμμεσα από την

συγκέντρωση του χαλκού με φασματοφωτομετρία ατομικής απορρόφησης στην οργανική φάση ή στο υδατικό διάλυμα.

Λόγω του αυξανόμενου ενδιαφέροντος για την ανάπτυξη πρακτικών εκχύλισης από μικυλλιακά συστήματα μελετήθηκε η ισορροπία κατανομής διαφόρων ουσιών σε ένα ανταγωνιστικό περιβάλλον εκχύλισης ανάμεσα σε μικυλλιακό υδατικό διάλυμα και σε οργανικό διαλύτη. Από το 1983 έχει αναφερθεί ένα μοντέλο κατανομής διαλυμένων ουσιών μεταξύ της οκτανόλης και διαλύματος SDS. Στη μελέτη αυτή περιγράφεται η κατανομή διαφόρων πολικών μορίων, ενώ ταυτόχρονα επιτυγχάνεται ο σύγχρονος προσδιορισμός της σταθεράς σύνδεσης των διαλυμένων ουσιών με τα μικύλλια και των συντελεστών κατανομής στην υδατική και την οργανική φάση. Ο τρόπος με τον οποίο διενεργείται ο καταμερισμός ανάμεσα στις φάσεις, όπως για παράδειγμα η μεταφορά των διαλυμένων ουσιών στα αμφίφιλα συσσωματώματα, μπορεί να διευκρινισθεί καλύτερα με κινητικές μελέτες.

3.4.1 ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑ ΤΩΝ ΥΔΑΤΙΚΩΝ ΔΙΑΛΥΜΑΤΩΝ ΜΗ ΙΟΝΙΚΩΝ ΤΑΣΕΝΕΡΓΩΝ ΩΣ ΠΡΟΣ ΤΟ ΔΙΑΧΩΡΙΣΜΟ ΦΑΣΕΩΝ.

Τα υδατικά διαλύματα των περισσότερων μη ιοντικών τασενεργών θολώνουν, όταν θερμανθούν πάνω από μία ορισμένη θερμοκρασία. Η θερμοκρασία αυτή καλείται σημείο νέφωσης (cloud point), πάνω από την οποία, παρατηρούνται στο διάλυμα δύο ξεχωριστές φάσεις.

Η δημιουργία των δύο αυτών φάσεων οφείλεται στην ανταγωνιστική δράση ανάμεσα στην αύξηση της εντροπίας του συστήματος, η οποία ευνοεί την διασπορά και την πλήρη ανάμιξη των μικυλλίων με το νερό και στην ελάττωση της ενθαλπίας, που ευνοεί τον διαχωρισμό των μικυλλίων από το νερό. Αναλόγως της συνάρτησης των δύο αυτών παραμέτρων με τη θερμοκρασία του συστήματος έχουμε την εμφάνιση ελάχιστης (όπως στα μη ιονικά τασενεργά) ή μέγιστης (όπως στα αμφοτερικά) θερμοκρασίας σχηματισμού δύο φάσεων. Το φαινόμενο είναι ανάλογο με τη δημιουργία αζεοτροπικού ελαχίστου και μεγίστου^{37-42, 6}.

Στην περίπτωση των μη ιοντικών τασενεργών η αύξηση της θερμοκρασίας έχει ως αποτέλεσμα την αφυδάτωση των πολυοξαιθυλενικών αλυσίδων, την αύξηση του όγκου των μικυλλίων και τη μείωση της αναμιξιμότητας με το νερό. Η θολερότητα που αναπτύσσεται, οφείλεται στο σχηματισμό μεγάλων συσσωματωμάτων από μικύλλια, τα οποία σκεδάζουν το ορατό φως που διαπερνά το διάλυμα. Τυπικά ο διαχωρισμός των φάσεων πραγματοποιείται ακαριαία, με πολύ μικρή μεταβολή της θερμοκρασίας. Οι δύο φάσεις που δημιουργούνται αποτελούνται από μια ευρεία υδατική φάση με ελάχιστη περιεκτικότητα σε τασενεργό ουσία

και από μία μικυλλιακή φάση αποτελούμενη σχεδόν εξ'ολοκλήρου από τα μικύλλια του κολλοειδούς και από ελάχιστα προσροφημένα μόρια νερού. Η συγκέντρωση του τασενεργού στην υδατική φάση ισούται ή ξεπερνά την κρίσιμη μικυλλιακή συγκέντρωση, που σημαίνει ότι εκεί μπορεί να περιέχονται και μικύλλια ή άλλα συσσωματώματα τασενεργών ουσιών. Ο διαχωρισμός των δύο φάσεων επιτυγχάνεται στην πράξη με βάση τη διαφορετική πυκνότητά τους. Η δημιουργία διαφασικού συστήματος είναι αντιστρεπτή, αφού απλή μείωση της θερμοκρασίας κάτω από το σημείου νέφους επαναφέρει τη μία φάση και την αναμιξιμότητα του τασενεργού με το νερό. Το φαινόμενο αυτό (clouding phenomenon) έχει μελετηθεί πρόσφατα με τη χρήση φθορισμομετρικών και φασματοσκοπικών τεχνικών.

Ειδικά για τα πολυοξυεθυλενικά τασενεργά έχει παρατηρηθεί, ότι σε μια ομόλογη σειρά το σημείο νεφέλωσης αυξάνει με την ελάττωση του μήκους της υδρόφοβης ανθρακικής ή με την αύξηση του μήκους της οξυεθυλενικής αλυσίδας. Η κρίσιμη θερμοκρασία σχηματισμού νέφους επηρεάζεται δραστικά από πολλούς παράγοντες, όπως η συνύπαρξη άλλων τασενεργών ουσιών, ανόργανων οξέων, βάσεων, αλάτων και οργανικών ενώσεων.

3.4.2 ΕΚΧΥΛΙΣΗ ΣΗΜΕΙΟΥ ΝΕΦΕΛΩΣΗΣ. ΜΙΑ ΝΕΑ ΑΝΑΛΥΤΙΚΗ ΠΟΡΕΙΑ ΠΡΟΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗΣ ΚΑΙ ΔΙΑΧΩΡΙΣΜΟΥ.

Οι προοπτικές αναλυτικής εκμετάλλευσης του φαινομένου του σχηματισμού μικυλλιακών νεφελωμάτων με σκοπό την προσυγκέντρωση και τον διαχωρισμό διαφόρων αναλυτών μελετώνται ως μια εναλλακτική πρόταση στις μέχρι τώρα τεχνικές διαχωρισμού. Οι δυνατότητες εφαρμογής επεκτείνονται σε πολλούς τομείς όπως ανάλυση με έγχυση σε ροή και χρωματογραφία υψηλής απόδοσης, συνδεδεμένες με διάφορους ανιχνευτές, όπως φωτόμετρα, φθορισμόμετρα, ηλεκτροχημικούς αισθητήρες ή στοιχειακούς ανιχνευτές, όπως ατομική απορρόφηση και ατομική εκπομπή⁴³⁻⁴⁸.

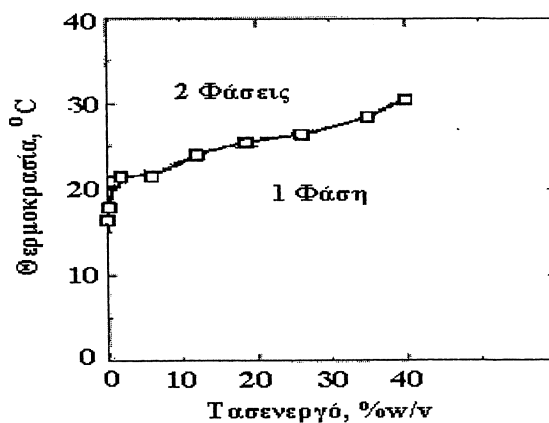
Οι δυνατότητες των μικυλλιακών συστημάτων και άλλων οργανωμένων σε μοριακό επίπεδο συσσωρεύσεων, όπως ασκίδια, μικρογαλακτώματα, κυκλοδεξτρίνες, και λιπосώματα, έχουν αναγνωριστεί τις δύο τελευταίες δεκαετίες και βρήκαν εκτεταμένη εφαρμογή σε όλους τους τομείς της αναλυτικής χημείας βελτιώνοντας τις υπάρχουσες μεθόδους και βοηθώντας στην ανάπτυξη νέων τεχνικών.

Οι δομές αυτές, αν και σε μακρομοριακό επίπεδο σχηματίζουν ομογενή συστήματα, σε μικρομοριακή κλίμακα αποτελούν ξεχωριστά ετερογενή συστήματα, τα οποία έχουν την ικανότητα να αλληλεπιδρούν, εκλεκτικά πολλές φορές, με μόρια διαφορετικής φύσης. Έτσι τροποποιούν δραστικά τη διαλυτότητά τους και ταυτόχρονα τις ταχύτητες αντίδρασης, τη θέση τις χημικής ισορροπίας και πολλές φορές τα προϊόντα και τα φασματικά και αναλυτικά τους χαρακτηριστικά. Επίσης η χρήση των συστημάτων αυτών επιτρέπει την εφαρμογή τους σε «παρθένες» αντιδράσεις και δίνει τη δυνατότητα λήψης κατάλληλης ευαισθησίας και εκλεκτικότητας σε κάποιους προσδιορισμούς.

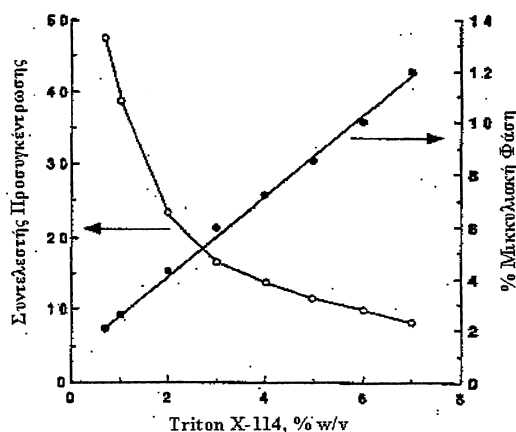
Επιπλέον μια από τις πιο χαρακτηριστικές ιδιότητες των μικυλλιακών συστημάτων είναι, ότι έχουν την ικανότητα να διαλυτοποιούν ουσίες πρακτικά αδιάλυτες στο νερό και να τις κάνουν συμβατές για ανάλυση σε συστήματα ροής, όπως έγχυση δείγματος και υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης.

Ο διαχωρισμός και η προσυγκέντρωση ενός αναλύτη από το αρχικό του δείγμα πριν τον ποσοτικό του προσδιορισμό αποτελεί ένα στάδιο πολλές φορές αναγκαίο και αναπόφευκτο, ώστε η συγκέντρωση του προσδιοριζόμενου είδους να βρεθεί μέσα στις αναλυτικές δυνατότητες του ανιχνευτή χωρίς παρεμποδίσεις. Για

το σκοπό αυτό έχουν αναπτυχθεί ποικίλες τεχνικές προσυγκέντρωσης και διαχωρισμού, οι οποίες βασίζονται στη χρήση τασενεργών ουσιών, ιδιαίτερα με την προοπτική της αντικατάστασης των οργανικών διαλυτών. Οι ουσίες αυτές διεύρυναν σημαντικά τις δυνατότητες της έρευνας, που είναι σχετική με τα αντικείμενα της αναλυτικής χημείας, όπως είναι η κλινική χημεία, η βιοτεχνολογία και η περιβαλλοντική ανάλυση.



Σχήμα 3.6 : Διάγραμμα Φάσεων $[T = f(C)]$ για το Triton X-



Σχήμα 3.7 : Μεταβολή του συντελεστή προσυγκέντρωσης και του % ποσοστού της μικυλλιακής φάσης σαν συνάρτηση της αρχικής συγκέντρωσης του τασενεργού.

Από τη σκοπιά του αναλυτικού χημικού η μικυλλιακή φάση, που προκύπτει μετά το σχηματισμό των νεφελωμάτων και το διαχωρισμό τους από το υδατικό διάλυμα, μπορεί να χρησιμεύσει ως μέσο για τον διαχωρισμό και την προσυγκέντρωση διαφόρων αναλυτών. Στη συνέχεια μπορεί να αναλυθεί άμεσα με κάποια από τις γνωστές τεχνικές ροής.

Παίρνοντας ως αντιπροσωπευτικό παράδειγμα το μη ιοντικό τασενεργό Triton X-114 μελετάμε τη συμπεριφορά του ως προς τις διάφορες ιδιότητες. Όπως φαίνεται από το διάγραμμα φάσεων του Σχήματος 3.6, για συγκεντρώσεις ανάμεσα σε 0,5 και 4% η θερμοκρασία που αντιστοιχεί στο σχηματισμό νεφελωμάτων παραμένει περίπου σταθερή στους 25 °C. Επιτρέπει έτσι την εκτέλεση της μικυλλιακής εκχύλισης σε μεγάλη περιοχή συγκεντρώσεων με σταθερά χαρακτηριστικά νεφέλωσης.

Στο Σχήμα 3.7 φαίνεται η συσχέτιση του ποσοστού της μικυλλιακής φάσης και του συντελεστή προσυγκέντρωσης, ως συναρτήσεις της αρχικής συγκέντρωσης της τασενεργού ουσίας. Η ευθεία γραμμή απεικονίζει τη μεταβολή του % ποσοστού της μικυλλιακής φάσης με την αύξηση της συγκέντρωσης της τασενεργού ουσίας. Είναι φανερό, ότι το κλάσμα της αρχικής ποσότητας του τασενεργού που θα βρεθεί στη μικυλλιακή φάση αυξάνεται γραμμικά με την αύξηση της ποσότητας του τασενεργού. Η καμπύλη γραμμή αντιστοιχεί στη μεταβολή του συντελεστή προσυγκέντρωσης, που επιτυγχάνεται για διαφορετικές συγκεντρώσεις της τασενεργού ουσίας. Από τον ορισμό του θεωρητικού συντελεστή προσυγκέντρωσης, που είναι ο λόγος των όγκων της υδατικής προς τη μικυλλιακή φάση, γίνεται κατανοητό ότι η προσυγκέντρωση είναι τόσο μεγαλύτερη όσο μικρότερη είναι η αρχικά χρησιμοποιούμενη ποσότητα του τασενεργού.

3.4.2.1 Εκχύλιση μέσω σχηματισμού νεφελωμάτων ως προκαταρκτικό στάδιο για ανάλυση σε ροή με έγχυση δείγματος.

Είναι γνωστό, ότι η ανάλυση σε ροή με έγχυση δείγματος είναι από τις πιο εύχρηστες τεχνικές στα πεδία της ανάλυσης ρουτίνας και της έρευνας, καθώς προσφέρει ευελιξία προσαρμογής σε διάφορους ανιχνευτές, απλότητα στη λειτουργία, ταχύτητα και επαναληπτικότητα και κυρίως χαμηλό κόστος. Παρά τα πλεονεκτήματα αυτά πολλές από τις εφαρμογές της τεχνικής αυτής υπολείπονται σε ευαισθησία και εκλεκτικότητα, ειδικότερα όταν απαιτείται η ανάλυση ιχνοποσοτήτων. Η ανάγκη αυτή κάνει απαραίτητη την προκατεργασία του δείγματος με σκοπό το διαχωρισμό και την προσυγκέντρωση του αναλύτη, πριν την εισαγωγή του στη διάταξη ροής.

Τα μικυλλιακά συστήματα μέχρι τα τέλη της δεκαετίας του '90 είχαν χρησιμοποιηθεί στις αναλύσεις σε ροή μόνο για να αυξήσουν τη διαλυτότητα κάποιων ουσιών και τη συμβατότητα οργανικών διαλυτών με υδατικά συστήματα. Η χρήση τους ως συστημάτων προσυγκέντρωσης και διαχωρισμού με την τεχνική του σχηματισμού νεφελωμάτων άρχισε την τελευταία δεκαετία και γενικεύτηκε τα τελευταία χρόνια. Αυτό αποδεικνύεται από την ραγδαία αύξηση του αριθμού των δημοσιεύσεων.

Σε αντιστοιχία με την τεχνική της έγχυσης σε ροή η μικυλλιακή εκχύλιση αποτέλεσε προκαταρκτικό στάδιο και της υγρής χρωματογραφίας.

3.4.2.2 Η μεθοδολογία εκχύλισης μέσω σχηματισμού νεφελωμάτων πριν από ανάλυση με υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης.

Μετά από τον διαχωρισμό της από την υδατική η μικυλλιακή φάση θα περιέχει τα υδρόφοβα συστατικά του αρχικού διαλύματος και μπορεί να εισαχθεί αμέσως στο σύστημα υγρής χρωματογραφίας, αφού είναι απολύτως συμβατή με τις συνήθεις κινητές φάσεις.

i) Ανίχνευση με φασματοφωτομετρία υπεριώδους.

Όταν η προσυγκέντρωση με χρήση σημείου νεφέλωσης γίνεται πριν από τον χρωματογραφικό διαχωρισμό, θα πρέπει να ληφθεί υπόψη ότι ο χρόνος κατακράτησης και έκλυσης του τασενεργού εξαρτάται από τη σύσταση της κινητής φάσης, που χρησιμοποιείται. Για παράδειγμα, όταν εισάγεται στη χρωματογραφική διάταξη μια καθαρή μικυλλιακή φάση του Triton X-114, ο χρόνος κατακράτησης για φορέα καθαρή μεθανόλη είναι 4 λεπτά και όλη η ποσότητα εκλύεται σχεδόν ταυτόχρονα παράγοντας μια κορυφή, ενώ όταν η κινητή φάση είναι μίγμα μεθανόλης, νερού 70:30, το χρωματογράφημα εμφανίζει πολλαπλές διαδοχικές κορυφές με χρόνους εμφάνισης από 8 ως 16 λεπτά.

Έτσι μπορούν να διαχωρισθούν και να προσδιορίσουμε ουσίες με διαφορετικούς χρόνους κατακράτησης. Για παράδειγμα σε καθαρή μεθανόλη απαιτούνται χρόνοι κατακράτησης πάνω από 8 λεπτά, ενώ για μικτά συστήματα οι χρόνοι αυτοί αυξάνονται κατακόρυφα και έτσι η μικυλλιακή εκχύλιση δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τέτοιους διαχωρισμούς.

ii) Φθορισμομετρικοί ανιχνευτές.

Τα περισσότερα τασενεργά και ιδιαίτερα τα μη-ιοντικά, που χρησιμοποιούνται συνήθως στα πειράματα νεφέλωσης, απορροφούν ισχυρά στην υπεριώδη περιοχή του φάσματος και

έτσι δεν επιτρέπουν εύκολα τη χρήση ανιχνευτών απορρόφησης. Αντίθετα οι ανιχνευτές φθορισμού είναι απαλλαγμένοι από αυτή την παρεμπόδιση. Δίνεται έτσι η δυνατότητα να χρησιμοποιηθούν οι απαγορευμένες στη φωτομετρική ανίχνευση μικτές κινητές φάσεις, αφού ο χρόνος κατακράτησης και έκλυσης της τασενεργού ουσίας δεν επηρεάζει τον ανιχνευτή.

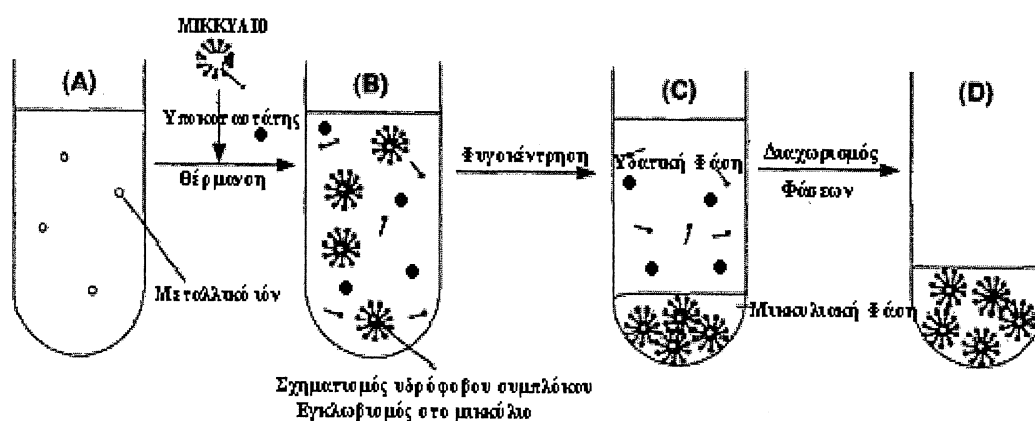
Πράγματι σε πειράματα ανίχνευσης λιποδιαλυτών βιταμινών με φθορισμό αποδεικνύεται, ότι το μικύλλιο όχι μόνο δεν δίνει παράσιτο σήμα, αλλά με την προσυγκέντρωση επιτυγχάνετε ο ποσοτικός προσδιορισμός συγκεντρώσεων σε επίπεδα, που διαφορετικά δεν είναι εφικτός.

iii) Ηλεκτροχημικοί ανιχνευτές.

Έχοντας υπόψη, ότι τα περισσότερα εμπορικά διαθέσιμα τασενεργά και ιδιαίτερα τα μη-ιοντικά δεν περιέχουν ομάδες που να συμμετέχουν σε οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις, μπορούμε να τα χρησιμοποιήσουμε σε ηλεκτροχημικές αντιδράσεις με αντίστοιχους αισθητήρες όπως ηλεκτρόδια, αφού δεν δίνουν παράσιτο σήμα. Έτσι μπορεί να προσδιορισθεί μια μεγάλη ποικιλία ουσιών με δραστικές ομάδες, που δεν είναι δυνατόν να ανιχνευθούν στο υπεριώδες λόγω παράσιτου σήματος. Επιπλέον υπάρχει το πλεονέκτημα της μεγάλης ευαισθησίας και εκλεκτικότητας της ηλεκτροχημικής ανίχνευσης σε συνδυασμό με την προσυγκέντρωση από τη μικυλλιακή εκχύλιση.

3.4.3 ΕΚΧΥΛΙΣΗ ΜΕΤΑΛΛΙΚΩΝ ΣΥΜΠΛΟΚΩΝ.

Η επιτυχής εφαρμογή της εκχύλισης με χρήση σημείου νεφέλωσης στην προσυγκέντρωση μεταλλικών κατιόντων έγινε εφικτή μετά από τη συμπλοκοποίησή τους με κατάλληλο



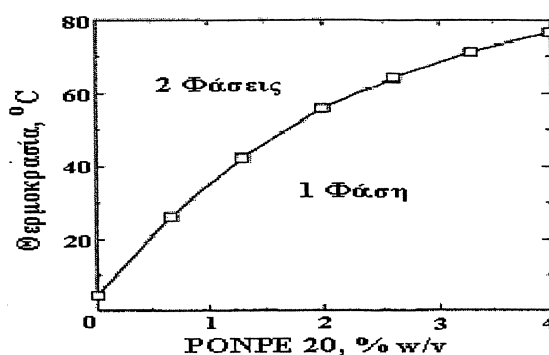
Σχήμα 3.8 : Σχηματική αναπαράσταση της εφαρμογής εκχύλισης μικκυλλιακής νεφέλωσης σε μέταλλα μετά από συμπλοκοποίηση.

αντιδραστήριο, ώστε να προκύψουν υδρόφοβα προϊόντα. Η πρώτη εφαρμογή της

μικυλλιακής εκχύλισης αναφέρεται το 1978 από τον Watanabe, ο οποίος απομόνωσε στη μικυλλιακή φάση τον ψευδάργυρο μετά από το σχηματισμό του υδρόφοβου συμπλόκου του με 1-(2-πυριδυλάζο)ναφθόλη (PAN). Η γενική πορεία μιας εκχύλισης μέσω σχηματισμού μικυλλιακών νεφελωμάτων φαίνεται στο Σχήμα 3.8.

Στα κεφάλαια 2-5 του πειραματικού μέρους γίνεται πιο εξειδικευμένη περιγραφή της πορείας για την επίτευξη συγκεκριμένων στόχων, όπως η ειδοταυτοποίηση.

Στο Σχήμα 3.9 φαίνεται η μεταβολή του σημείου νεφέλωσης ενός διαλύματος PONPE-7.5 0,4% με τη διαδοχική προσθήκη PONPE-20. Από το διάγραμμα αυτό παρατηρούμε, ότι το σημείο νεφέλωσης μίγματος τασενεργών ουσιών βρίσκεται ανάμεσα στα σημεία νεφέλωσης των τασενεργών, που το αποτελούν. Μπορούμε έτσι να παρασκευάσουμε μικτά διαλύματα τασενεργών με κατάλληλες συγκεντρώσεις, ώστε να ληφθούν επιθυμητά και ελεγχόμενα σημεία νεφέλωσης.



Σχήμα 3.9 : Μεταβολή του σημείου νεφέλωσης του PONPE-7.5 με τη διαδοχική προσθήκη PONPE-20.

Αναφερόμενοι στην προσυγκέντρωση και τον προσδιορισμό του ψευδαργύρου, όλη η αρχική του ποσότητα συγκεντρώθηκε από το αρχικό διάλυμα των 50 mL σε 2 mL δίνοντας ένα συντελεστή προσυγκέντρωσης ίσο με το λόγο των όγκων, δηλαδή 25. Μπορούμε να επιτύχουμε συντελεστές προσυγκέντρωσης με τιμές αρκετών δεκάδων με απλή μεταβολή του λόγου του αρχικού όγκου προς το τελικό διάλυμα. Στις πειραματικές συνθήκες του ψευδαργύρου ο όγκος της μικυλλιακής φάσης υπολογίστηκε στα 0,302 mL, ενώ του υδατικού διαλύματος 49,11 mL. Η πυκνότητα της μικυλλιακής φάσης είναι 1,016 g/mL ενώ της υδατικής 1,012 g/ mL. Η κρίσιμη μικυλλιακή συγκέντρωση για το PONPE-7.5 είναι 0,0004% w/w, δηλαδή περίπου το ένα πεντηκοστό της συγκέντρωσης του τασενεργού στο αρχικό διάλυμα.

Η παραπάνω αναλυτική πορεία, αν και δεν επιδέχεται πολλές μετατροπές είναι ευέλικτη και εύχρηστη για κάθε ουσία, που μπορεί να εκχυλιστεί μέσω σημείου νεφέλωσης. Ουσίες που συνδέονται με τα μικύλλια μπορούν να εκχυλιστούν με διαφορετικό ποσοστό επιτυχίας. Το ποσοστό αυτό εξαρτάται από τις δυνάμεις αλληλεπίδρασης της ουσίας με το μικύλλιο. Μετά την εκχύλισή τους η ανάλυση των προϊόντων μπορεί να γίνει με κάποια από τις συμβατικές αναλυτικές τεχνικές.

3.4.3.1 Εφαρμογή στην ανάλυση ιχνοστοιχείων.

Η διαδικασία που περιγράφεται για την εκχύλιση σημείου νεφέλωσης, μπορεί με λιγότερες ή περισσότερες τροποποιήσεις, να εφαρμοστεί με επιτυχία στην εκχύλιση και την προσυγκέντρωση διαφόρων μετάλλων. Η προκύπτουσα μικυλλιακή φάση μπορεί στη συνέχεια να υποστεί κατάλληλη επεξεργασία για την ανίχνευση και τον ποσοτικό τους προσδιορισμό. Η μικυλλιακή φάση που προερχόταν από εκχύλιση σημείου νεφέλωσης έχει βρει πρόσφατα εφαρμογή στον προσδιορισμό με φασματοφωτομετρία και ανάλυση με έγχυση σε ροή πολλών μετάλλων μετά από συμπλοκοποίηση με χηλιωτικά αντιδραστήρια.

Επιπλέον έγινε δυνατή σε μεγάλο βαθμό η προσυγκέντρωση με ικανοποιητικές ανακτήσεις φορτισμένων συμπλόκων με τη μορφή ιοντικών ζευγών. Για παράδειγμα το θετικά φορτισμένο σύμπλοκο του δισθενούς χαλκού με την $\alpha, \beta, \gamma, \delta$ -τετράκισ(1,μεθυλπυριδινίουμ-4-υλο)πορφίνη εκχυλίστηκε στη μικυλλιακή φάση με χρήση του θειικού δωδεκυλβενζολίου ως αντισταθμιστικού ιόντος. Η προοπτική αυτή είναι ιδιαίτερα ενδιαφέρουσα για τη μικυλλιακή εκχύλιση φορτισμένων ενώσεων με τη μορφή ιοντικών ζευγών.

3.4.3.2 Παράμετροι απόδοσης της εκχύλισης σημείου νεφέλωσης σε σύμπλοκα.

Υπάρχουν αρκετά πλεονεκτήματα, που υπαγορεύουν την εφαρμογή της μικυλλιακής εκχύλισης των μετάλλων με τη μορφή υδρόφοβων συμπλόκων. Έτσι επιτυγχάνονται συντελεστές προσυγκέντρωσης από 10 ως 100 με ικανοποιητικές ανακτήσεις και σημαντική μείωση του ορίου ανίχνευσης της μεθόδου. Ένα άλλο χρήσιμο χαρακτηριστικό είναι, ότι μπορεί να εφαρμοστεί σε δείγματα μικρού όγκου από 100 ως και 10 mL σε αντίθεση με τις συμβατικές εκχυλίσεις με οργανικούς διαλύτες, όπου για να πετύχουμε προσυγκέντρωση ανάλογη με αυτή της μικυλλιακής εκχύλισης χρειαζόμαστε αρχικούς όγκους της τάξης των 1000 mL. Το τρίτο και σημαντικότερο χαρακτηριστικό των μικυλλίων είναι η ασφάλεια. Η χρήση μικρών ποσοτήτων μη ιοντικών-τασενεργών(περίπου 100-500 μL) ελαχιστοποιεί τη χρήση μεγάλων ποσοτήτων πτητικών και εύφλεκτων οργανικών διαλυτών. Η μικυλλιακή φάση μπορεί να αποτεφρωθεί παρουσία ακετόνης ή αιθανόλης παρέχοντας έτσι μια λύση στην ασφαλή καταστροφή των αποβλήτων.

3.4.3.3 Εκχύλιση οργανικών ενώσεων.

Η εκχύλιση με τη διαμεσολάβηση μικυλλίων και χρήση του τασενεργού Triton X-100 εφαρμόστηκε με επιτυχία για την εκχύλιση υδρόφιλων και υδρόφοβων πορφυρινών από τα υδατικά τους διαλύματα. Το σημείο νεφέλωσης των μικυλλιακών διαλυμάτων του Triton X-100 μειώθηκε με την προσθήκη αλάτων. Επίσης λιπόφιλες βιταμίνες και φυτοφάρμακα έχουν εκχυλιστεί με μικύλλια του Triton X-114 πριν από τον ηλεκτροχημικό τους προσδιορισμό και διαχωρισμό με υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης. Άλλες οργανικές ενώσεις, που εκχυλίστηκαν και προσυγκεντρώθηκαν με την τεχνική αυτή είναι διάφορα φαινολικά παράγωγα και πολυκυκλικοί αρωματικοί υδρογονάνθρακες με περιβαλλοντικό ενδιαφέρον. Σε όλες αυτές τις εφαρμογές η μικυλλιακή εκχύλιση χρησιμοποιείται ως προκαταρκτικό στάδιο, ώστε τα μικυλλιακά εκχυλίσματα να υποβληθούν σε ανάλυση με μικυλλιακή χρωματογραφία.

3.4.3.4 Εκχύλιση υδρόφοβων πρωτεϊνών.

Η πιο σημαντική εφαρμογή της μικυλλιακής εκχύλισης είναι η απομόνωση και ο καθαρισμός μορίων βιολογικού ενδιαφέροντος όπως οι υδρόφοβες πρωτεΐνες. Η πρώτη αναφορά σε αυτού του είδους τη χρήση έγινε από τον Bordier το 1981. Με τη βοήθεια εκχύλισης με χρήση σημείου νεφέλωσης με μικύλλια του Triton X-114 έγινε δυνατός ο διαχωρισμός των πρωτεϊνών διαφόρων μεμβρανών από τις υδρόφιλες πρωτεΐνες. Όπως φαίνεται και στο Σχήμα 3.5 το Triton X-114 είναι αναμίξιμο με το νερό σε χαμηλές θερμοκρασίες, ενώ πάνω από τους 30 °C διαχωρίζεται από το υδατικό διάλυμα σχηματίζοντας ξεχωριστή φάση. Οι περισσότερες υδρόφιλες πρωτεΐνες παραμένουν στο διάλυμα, ενώ οι αντίστοιχες υδρόφοβες εκχυλίζονται στη μικυλλιακή φάση.

Λόγω της ευκολίας και της ταχύτητας με την οποία πραγματοποιείται, η μικυλλιακή εκχύλιση χρησιμοποιείται για το διαχωρισμό διαφόρων πρωτεϊνών, ενζύμων και υποδοχέων, όπως Βακτηριοροδοψίνη, Αιμογλοβίνη, Θυρακοειδή πολυπεπίδια του κυανοβακτηρίου *Anacystis nidulans* R2, Γλυκοπρωτεΐνες, Φωσφοπρωτεΐνες από ανθρώπινα αιμοπετάλια., Ρεδουκτάση του NADH-κυττοχρώματος b₅, αλκαλική φωσφατάση, τρεχαλάση, ενδογενής παράγοντας για την υποδοχή της κοβαλαμίνης κ.τ.λ.

3.4.3.5 Συνοπτικά πλεονεκτήματα

Τα χαρακτηριστικά γνωρίσματα και τα πλεονεκτήματα, που προκύπτουν από τη χρήση των μικυλλιακών συστημάτων ως προς άλλες τεχνικές διαχωρισμού, συνοψίζονται στα ακόλουθα:

1. Παρουσιάζουν μεγάλη ικανότητα και χωρητικότητα ως προς τη συγκέντρωση μιας μεγάλης ποικιλίας αναλυτών, οι οποίοι διαφέρουν ως προς τις ιδιότητες και τη χημική τους συμπεριφορά. Οι ανακτήσεις που επιτυγχάνονται είναι εξαιρετικά μεγάλες και πρακτικά ποσοτικές, ενώ παράλληλα οι συντελεστές προσυγκέντρωσης είναι αξιοσημείωτα μεγάλοι, καθώς όλη η ποσότητα της προσδιοριζόμενης ουσίας συσσωρεύεται σε ελάχιστο όγκο μικυλλιακής φάσης (0,2 – 0,4 mL). Η πληροφορία αυτή δίνει στον αναλυτικό χημικό τη δυνατότητα επίτευξης συντελεστών προσυγκέντρωσης της τάξης του 100 και πάνω, που είναι ισάξιοι και πολλές φορές μεγαλύτεροι από τους αντίστοιχους άλλων τεχνικών.

2. Η αποτελεσματικότητα στην απομόνωση και τον διαχωρισμό του αναλύτη-στόχου από το περιβάλλον του εξαρτάται από το ποσοστό του υδρόφοβου χαρακτήρα του. Με το σκεπτικό αυτό η μικυλλιακή εκχύλιση έχει τους ίδιους κανόνες, όπως και η εκχύλιση με υγρούς διαλύτες. Βέβαια ο συντελεστής προσυγκέντρωσης μπορεί να διαμορφωθεί κατάλληλα, με την αλλαγή του όγκου του χρησιμοποιούμενου τασενεργού και της τελικής μικυλλιακής φάσης. Η ευελιξία αυτή μας δίνει τη δυνατότητα να σχεδιάζουμε τα πειράματα μας έχοντας προαποφασίσει τον επιθυμητό συντελεστή προσυγκέντρωσης με βάση τη συγκέντρωση του αναλύτη στο δείγμα, τη διαθέσιμη ποσότητα του δείγματος και τα όρια ανίχνευσης της μεθόδου.

3. Οι τασενεργές ουσίες που χρησιμοποιούνται δεν είναι τοξικές, καθώς μοιάζουν με τα κοινά απορρυπαντικά και ο βαθμός επικινδυνότητάς τους είναι σαφώς μικρότερος από τους συνήθεις οργανικούς διαλύτες, που χρησιμοποιούνται στις εκχυλίσεις υγρών. Έτσι δεν είναι πτητικοί και εισπνεύσιμοι, αλλά ούτε και εύφλεκτοι. Επιπλέον η απαιτούμενη ποσότητα της τασενεργού ουσίας, που συνήθως δεν ξεπερνά τα λίγα χιλιοστά του γραμμαρίου, και η χαμηλή τιμή των εμπορικά διαθέσιμων τασενεργών ουσιών καθιστά τη χρήση τους εξαιρετικά φθηνή και οικονομικά συμφέρουσα ακόμη και σε ευρεία βιομηχανική κλίμακα.

4. Η μικυλλιακή φάση είναι ή μπορεί εύκολα να γίνει συμβατή με τους φορείς των υδροδυναμικών αναλυτικών διατάξεων, όπως η ανάλυση με έγχυση δείγματος σε ροή και οι διάφορες κινητές φάσεις (μικκυλλιακές, υδατικές οργανικές και μικτές), που χρησιμοποιούνται στην υγρή χρωματογραφία.

5. Η χαμηλή θερμοκρασία, στην οποία επιτυγχάνεται η νεφέλωση και η μικυλλιακή συσσωμάτωση ορισμένων τασενεργών, επιτρέπει την εφαρμογή της παραπάνω τεχνικής εκχύλισης στην προσυγκέντρωση και των εκλεκτικό διαχωρισμό θερμοευαίσθητων ουσιών, που συνήθως υπάρχουν σε δείγματα βιολογικού και περιβαλλοντικού ενδιαφέροντος.

6. Η πειραματική διαδικασία, που πρέπει να ακολουθηθεί για μια επιτυχημένη μικυλλιακή εκχύλιση μέσω σχηματισμού νεφελωμάτων, είναι απλή και σε τελική ανάλυση ταχεία με την έννοια της μαζικότητας, καθώς δίνει τη δυνατότητα ελαχιστοποίησης του μέσου χρόνου ανάλυσης με την ταυτόχρονη προσυγκέντρωση πολλών δειγμάτων.

7. Το φαινόμενο της μετάβασης από ένα μονοφασικό υδατικό διάλυμα σε ένα διφασικό σύστημα μικυλλίων-νερού είναι αντιστρεπτό και έτσι είναι δυνατή η γρήγορη αλληλομετατροπή από τη μια κατάσταση στην άλλη με απλή μεταβολή της θερμοκρασίας.

8. Τέλος πρέπει να τονισθεί, ότι εκτός από τα εμπορικά διαθέσιμα τασενεργά υπάρχει η δυνατότητα σύνθεσης και άλλων ειδών με συγκεκριμένες προδιαγραφές, ώστε να πληρούν κάποιες ιδιότητες. Επίσης υπάρχει η δυνατότητα ανάμιξης διαφόρων τασενεργών με αποτέλεσμα οι ιδιότητες και οι συμπεριφορά τους να μπορούν να τροποποιούνται ανάλογα με τις αναλυτικές απαιτήσεις.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Lienado, R.A.; Neubecker, T.A., *Anal. Chem.*, **1983**, 55, 93R.
2. Quina, F.H.; Hinze, W.L., *Ind. Eng. Chem.*, **1999**, 38, 4150.
3. Pelizzeti, E.; Pramauro, E., *Anal. Chim. Acta*, **1985**, 169, 1.
4. Mittal, K.L.(ed), *Solution Chemistry of Surfactants*, Vol. 1, Plenum Press, New York, **1978**.
5. Mittal, K.L.(ed), *Solution Chemistry of Surfactants*, Vol. 2, Plenum Press, New York, **1978**.
6. Schick, M.J., *Nonionic Surfactants, Physical Chemistry*, Marcel Dekker, New York, **1987**.
7. Blankschtein, D.; Thurston, G.M.; Benedek, G.B., *J. Chem. Phys.*, **1986**, 85, 7268.
8. Nikas, Y.J.; Liu, C.L.; Srivastane, T.; Abott, N.L.; Blankschtein, D., *Macromolecules*, **1992**, 25, 4797.
9. Briganti, G.; Puvvada, S.; Blankschtein, D., *J. Phys. Chem.*, **1991**, 95, 8989.
10. Van Os, N.M.; Haak, J.R.; Rupert, L.A., *Physicochemical Properties of Selected Anionic, Cationic and Nonionic Surfactants*, Elsevier, Amsterdam, **1993**.
11. Ortona, O.; Vitagliano, V.; Paduano, L.; Costantino, L., *J. Colloid Interf. Sci.*, **1998**, 203, 477.
12. Zoeller, N.; Lue, L.; Blankschtein, D., *Langmuir*, **1997**, 13, 5258.
13. Puvvada, S.; Blankschtein, D., *J. Chem. Phys.*, **1990**, 92, 3710.
14. Blankschtein, D.; Shiloach, A.; Zoeller, N., *J. Soc. Cosmet. Chem.*, **1997**, 48,71.
15. Puvvada, S.; Blankschtein, D., *J. Chem. Phys.*, **1992**, 96, 5579.
16. Shiloach, A.; Blankschtein, D., *Langmuir*, **1998**, 14, 7166.
17. Zoeller, N.; Shiloach, A.; Blankschtein, D., *CHEMTECH*, **1996**, 26,24.
18. Hartley, G.S., *Trans. Faraday Soc.*, **1934**, 30, 444.
19. Hartley, G.S.; Roe, J.W., *Trans. Faraday Soc.*, **1940**, 36, 101.
20. Cermakova, L., in Mitall. K.L.; Lindman, B (eds), *Surfactants in Solution*, Plenum Press, New York, **1984**.
21. Parker, R.T.; Freedlander, R.S.; Dunlap, R.B., *Anal. Chim. Acta*, **1980**, 119, 189.
22. Parker, R.T.; Freedlander, R.S.; Dunlap, R.B., *Anal. Chim. Acta*, **1980**, 120, 1.
23. Cline Love, L.J.; Skrilec, M.; Habarta, J.G., *Anal. Chem.*, **1980**, 52, 754.
24. Singh, H.N.; Hinze, W.L.; *Anal. Lett.*, **1982**, 15, 221.

25. Sanz-Medel, A.; Garcia Alonso, J.I.; Gonzalez, E.B., *Anal. Chem.*, **1985**, 57, 1681.
26. Fernandez de la Campa, M.R.; Diaz Garcia, M.E.; Sanz-Medel, A., *Anal. Chim. Acta*, **1988**, 235.
27. Sanz-Medel, A.; Garcia Martinez, P.L.; Diaz Garcia, M.E., *Anal. Chem.*, **1987**, 59, 774.
28. Kornahrens, H.; Cook, K.D.; Armstrong, D.W., *Anal. Chem.*, **1982**, 54, 1325.
29. Hernandez-Mendez, J.; Polo-Diez, L.; Bernal-Melchor, A., *Anal. Chim. Acta*, **1979**, 108, 39.
30. Kodama, M.; Miyagawa, S., *Anal. Chem.*, **1980**, 52, 2358.
31. Sanz-Medel, A.; Fernandez de la Campa, M.R.; Gonzalez, E.B.; Fernandez-Sanchez, M.L., *Spectrochim. Acta B*, **1999**, 54, 251.
32. Ward, T.J.; Armstrong, D.W.; Czech, B.P.; Koszduk, J.F.; Bartsch, R.A., *Anal. Chim. Acta*, **1986**, 188, 301.
33. Valdes-Hevia y Temprano, M.C.; Fernandez, B.A.; Fernandez de la Campa, M.R.; Sanz-Medel, A., *Anal. Chim. Acta*, **1993**, 283, 175.
34. Farino, J.; Browner, R.F., *Anal. Chem.*, **1984**, 56, 2709.
35. Moreno Cordero, B.; Perez Pavon, J.L.; Garcia Pinto, C.; Fernandez Laespada, E., *Talanta*, **1993**, 40, 1703.
36. Tani, H.; Kamidate, T.; Watanabe, H., *J. Chromatogr. A*, **1997**, 780, 229.
37. Fernandez Laespada, E.; Perez Pavon, J.L.; Moreno Cordero, B., *Analyst*, **1993**, 118, 209.
38. Codony, R.; Prat, M.D.; Beltran, J.L., *Talanta*, **2000**, 52, 225.
39. Murthy, K.; Easwar, N.; Singer, E., *Colloid Polym. Sci.*, **1998**, 276, 940.
40. Saitoh, T.; Segawa, H.; Kamidate, T.; Watanabe, H.; Haraguchi, K., *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **1993**, 66, 3676.
41. Revia, R.L.; Makharadze, G.A., *Talanta*, **1999**, 48, 409.
42. Casero, I.; Sicillia, D.; Perez-Bendito, D., *Anal. Chem.*, **1999**, 71, 4519.
43. Carabias-Martinez, R.; Rodriguez-Gonzalo, E.; Dominguez-Alvarez, J.; Hernandez-Mendez, J., *Anal. Chem.*, **1999**, 71, 2468.
44. Liu, C.; Kamei, D.T.; King, J.A.; Wang, D.I.C.; Blankschtein, D., *J. Chromatogr. B*, **1998**, 711, 127.
45. Sirimanne, S.R.; Barr, J.R.; Patterson, D.G.; Ma, L., *Anal. Chem.*, **1996**, 68, 1556.
46. Carabias-Martinez, R.; Rodriguez-Gonzalo, E.; Garcia Jimenez, M.G.; Garcia Pinto, C.; Perez Pavon, J.L.; Hernandez Mendez, J., *J. Chromatogr. A*, **1996**, 754, 85.

47. Sirimanne, S.R.; Patterson, D.G.; MA, L.; Justice, J.B., *J. Chromatogr. B.*, **1998**, 716, 129.
48. Sicilia, D.; Rubio, S.; Perez-Bendito, D.; Maniasso, N.; Zaggato, E.A.G., *Anal. Chim. Acta*, **1999**, 392, 29.

4.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Στο κεφάλαιο αυτό παρουσιάζονται οι σημαντικότερες τεχνικές στοιχειακής εξειδίκευσης, δηλαδή αυτές που αποσκοπούν στην εκλεκτική αναγνώριση και τον προσδιορισμό ενός στοιχείου, καθώς και οι κυριότερες μέθοδοι προσυγκέντρωσης, διαχωρισμού και ανίχνευσης, που χρησιμοποιούνται σήμερα στις αναλύσεις ειδοταυτοποίησης μετάλλων. Σε κάθε περίπτωση επιχειρείται μια αντιπαραβολή των διαφόρων τεχνικών με βάση τα συγκριτικά τους πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα.

4.2 ΑΤΟΜΙΚΗ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ

Στην παράγραφο αυτή αναφέρονται οι εφαρμογές της ατομικής φασματοσκοπίας στην ανάλυση ιχνοστοιχείων. Τα περισσότερα στοιχεία του Περιοδικού Πίνακα μπορούν να προσδιοριστούν με κάποια από τις τεχνικές ατομικής φασματοσκοπίας^{1,2}, αν και κατά προτίμηση προσδιορίζονται τα μέταλλα παρά τα αμέταλλα. Σε αυτή τη λίστα περιέχονται και μη μεταλλικά στοιχεία, όπως το βόριο, το πυρίτιο και ο φωσφόρος. Ακόμη υπάρχει η προοπτική της επέκτασης και σε άλλα στοιχεία με ορισμένες τροποποιήσεις του υπάρχοντος εξοπλισμού

Σε μια πρόσφατη έρευνα διαπιστώθηκε, ότι η ατομική φασματοσκοπία καλύπτει πάνω από το ένα τρίτο των αναλυτικών εφαρμογών στον προσδιορισμό ιχνοστοιχείων³⁻⁶. Η συνεισφορά των τεσσάρων κύριων παραλλαγών της είναι:

Φασματοσκοπία Ατομικής Απορρόφησης	63%
Φασματοσκοπία Ατομικής Εκπομπής	23%
Φασματοσκοπία Φθορισμού Ακτίνων-Χ	12%
Φασματοσκοπία Ατομικού Φθορισμού	2%

Μια ακόμη σημαντική μέθοδος, που συναγωνίζεται την ατομική φασματοσκοπία σε έκταση εφαρμογών, είναι η φασματοσκοπία μαζών, που θα περιγραφεί αργότερα.

Το μεγαλύτερο πλεονέκτημα της ατομικής φασματοσκοπίας είναι, ότι μπορεί να παρέχει ακρίβεια και ποσοτική πληροφόρηση σε μικρές αλλά και μεγάλες συγκεντρώσεις. Η δυναμική περιοχή κυμαίνεται από 1 ng mL^{-1} ως και 100 μg mL^{-1} .

Στην ατομική φασματοσκοπία το πιο σημαντικό στάδιο είναι η επιλογή της κατάλληλης μετρητικής διάταξης. Η επιλογή βασίζεται στη φύση του δείγματος και στους αναλύτες, που μας ενδιαφέρουν και γίνεται συνήθως ανάμεσα στις τεχνικές της ατομικής απορρόφησης και σε αυτές της εκπομπής με πλάσμα. Αυτό το διαπιστώνει κανείς εύκολα με μια σύντομη ματιά στις τεχνικές, που εφαρμόζονται περισσότερο στα αναλυτικά εργαστήρια. Για τον προσδιορισμό ενός μόνο στοιχείου αρκεί συνήθως η ατομική απορρόφηση. Στις περιπτώσεις που η ανάλυση αφορά πολλά στοιχεία ή τα στοιχεία έχουν σχηματίσει σταθερά σύμπλοκα, που πρέπει προηγουμένως να αποσυντεθούν (όπως κατά την ανάλυση πυρίμαχων υλικών) χρησιμοποιείται η εκπομπή με διέγερση πλάσματος. Αυτό που πρέπει να έχουμε υπόψη είναι, ότι οι τεχνικές με χρήση φλόγας μπορούν να αναλύσουν οργανικά υποστρώματα με μεγαλύτερη ασφάλεια από ότι οι τεχνικές ICP, ενώ τα πλάσματα συνεχούς ρεύματος είναι χρήσιμα σε κάθε υπόστρωμα ακόμα και σε στερεά.

Οι κύριες τεχνικές ατομικής φασματοσκοπίας είναι η Φασματοσκοπία Ατομικής Απορρόφησης(AAS), η Οπτική Φασματοσκοπία Εκπομπής(OES), η Φασματοσκοπία

Πίνακας 4.1 : Συνοπτικά χαρακτηριστικά των τεχνικών ατομικής φασματοσκοπίας.

	AAS	AES	AFS
Πολλαπλή Ανάλυση	Μόνο με κατάλληλες τροποποιήσεις	Ναι	Όχι
Αριθμός Αναλυόμενων Στοιχείων	Ικανοποιητικός	Ικανοποιητικός	Ικανοποιητικός
Δυναμική περιοχή	Μικρή	Μεγάλη	Μεγάλη
Εκλεκτικότητα	Πολύ καλή	Μέτρια	Καλή
Κόστος	Μέτριο	Μεγάλο	Μικρό

Ατομικής Εκπομπής(AES) και η Φασματοσκοπία Ατομικού Φθορισμού(AFS). Η διαμόρφωση των οργάνων που χρησιμοποιούν τις τεχνικές αυτές καθορίζει την ευκολία, με την οποία μπορούν να εφαρμοστούν σε πολλαπλές αναλύσεις.

4.3 ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ ΑΤΟΜΙΚΗΣ ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗΣ(AAS)⁷⁻⁹

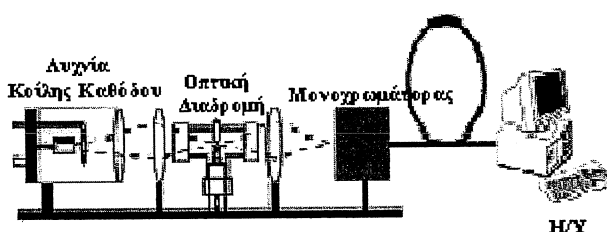
Χωρίζεται σε τρεις κατηγορίες:

FAAS: Σε αυτήν το δείγμα εισάγεται με τη μορφή λεπτομερούς αερολύματος, το οποίο αναμιγνύεται με τα απαραίτητα αέρια για τη δημιουργία οξυακετυλενικής φλόγας. Η συγκέντρωση των ατόμων μετρείται με την τοποθέτηση της φλόγας στην πορεία της οπτικής διαδρομής. Έτσι τα άτομα

βρίσκονται για μικρό χρονικό διάστημα στη ζώνη μέτρησης και παρασύρονται προς τα επάνω από το μίγμα που τροφοδοτεί τη φλόγα.

Εναλλακτικά για αναλύσεις σε μικρά μήκη κύματος μπορεί να

χρησιμοποιηθεί μια φλόγα, που συντηρείται από μίγμα υδρογόνου και αργού διεσπαρμένο σε αέρα.

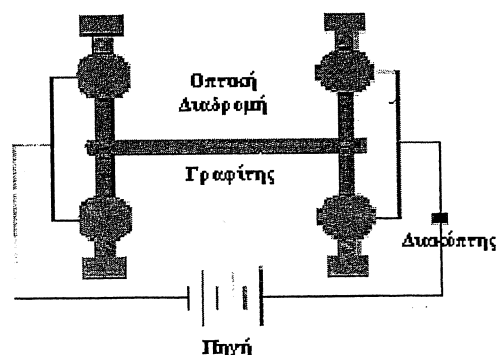


Σχήμα 4.1 : Σχηματική Αναπαράστασης Λειτουργίας Φασματοφωτομέτρου Ατομικής Απορρόφησης

Η φλόγα που δημιουργείται από πρωτοξείδιο του αζώτου δίνει μεγαλύτερες θερμοκρασίες ατομοποίησης και επιπλέον δημιουργεί ένα περιβάλλον φτωχό σε οξυγόνο. Και οι δύο αυτές παράμετροι καθιστούν τη φλόγα ιδανική για την ατομοποίηση πυρίμαχων υλικών, όπως το αργίλιο και το βανάδιο, τα οποία διαφορετικά σχηματίζουν σταθερά οξείδια μειώνοντας την ευαισθησία της μεθόδου.

ETAAS: Η τεχνική αυτή συνήθως εφαρμόζεται με τη χρήση ενός μιας κυλινδρικής κυψελίδας από γραφίτη^{10,11}. Ο γραφίτης ευθυγραμμίζεται κατά μήκος της οπτικής διαδρομής

του οργάνου. Το δείγμα εισάγεται στο γραφίτη μέσω μιας οπής στην επιφάνεια του κυλίνδρου. Η εισαγωγή γίνεται χειροκίνητα ή με αυτόματο συλλέκτη και ο συνήθης όγκος δείγματος είναι 5-50 μL . Ο φούρνος θερμαίνεται σταδιακά με την εφαρμογή ηλεκτρικής τάσης με αποτέλεσμα στο τελικό στάδιο να γίνεται η ατομοποίηση του αναλύτη. Η τεχνική αυτή απαιτεί αρκετές δεξιότητες από πλευράς του χειριστή.



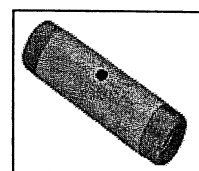
Σχήμα 4.2 : Διατομή βασικού τμήματος ETAAS.

Λόγω του ότι η όλη αναλυτική πορεία λαμβάνει χώρα σε ένα μικρό χώρο-αυτόν του γραφίτη-ο χρόνος παραμονής των ατόμων στην ακτινοβολία διέγερσης και στην οπτική διαδρομή είναι πολύ μεγαλύτερος από ότι στη διάταξη της φλόγας. Ο παράγοντας αυτός και το γεγονός, ότι σε αντίθεση με τη φλόγα, όλη η ποσότητα του δείγματος φθάνει στον ανιχνευτή, είναι υπεύθυνα για την πολύ αυξημένη ευαισθησία της AAS με φούρνο γραφίτη. Στην FAAS μόλις ένα 10-15% του εκνεφωμένου διαλύματος φτάνει στη φλόγα.

Πίνακας 4.2 : Συγκριτικά χαρακτηριστικά των τεχνικών ατομικής απορρόφησης.

	Κόστος	Εύρος εφαρμογών	Ταχύτητα	Ευαισθησία	Επικινδυνότητα
Αέρας/ C ₂ H ₂	Μικρό	Ικανοποιητικό	Καλή	Μικρή	Μέτρια
N ₂ O / C ₂ H ₂	Μέτριο	Μεγάλο	Καλή	Μικρή	Μεγάλη
ETAAS	Μεγάλο	Ικανοποιητικό	Μέτρια	Πολύ μεγάλη	Μικρή
HGAAS	Μέτριο	Περιορισμένο	Μέτρια	Μεγάλη	Μέτρια

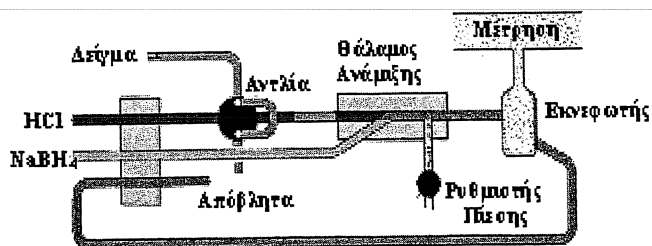
Υπάρχουν εναλλακτικές προσεγγίσεις στη χρήση φούρνου γραφίτη για την επίτευξη ηλεκτροθερμικής ατομοποίησης. Σε πολλές περιπτώσεις χρησιμοποιούνται συμπαγείς ράβδοι γραφίτη σε διάφορες μορφές καθώς και λεμβίδια από γραφίτη. Έχει όμως καθιερωθεί ο κοίλος σωλήνας. Οι κυριότεροι λόγοι γι' αυτό είναι η μεγάλη ευαισθησία, η αυτοματοποίηση με χρήση αυτόματων συλλεκτών, η δυνατότητα ανάλυσης στερεών και η κατανάλωση μικρών ποσοτήτων δείγματος. Βέβαια υπάρχουν και μειονεκτήματα, όπως η ανάγκη χρήσης προτύπων μεγάλης καθαρότητας, οι υψηλές τιμές, η πιθανότητα αλληλεπίδρασης του γραφίτη με το δείγμα και η συχνή ανάγκη χρήσης τροποποιητών του υποστρώματος με κίνδυνο εισαγωγής επιμολύνσεων. Η ανάπτυξη τεχνικών αποτελεσματικής διόρθωσης του σήματος υποστρώματος και η αυτοματοποίηση της εισαγωγής του δείγματος στο φούρνο μεγάλωσαν σημαντικά την αποδοτικότητα της Ηλεκτροθερμικής AAS. Βέβαια, όπως όλες οι τεχνικές απορρόφησης, έχει περιορισμένο δυναμικό πεδίο.



Σχήμα 4.3 : Γραφίτης

HGAAS / Ψυχρού Ατμού: Η τεχνική της δημιουργίας υδριδίων περιορίζεται στα στοιχεία Ge, As, Sb, Se, Te και Bi. Η τεχνική ψυχρού ατμού αποκλειστικά για τον προσδιορισμό του Hg μπορεί να προστεθεί σε αυτή την κατηγορία σαν ειδοεκλεκτική. Και στις δύο περιπτώσεις

το στάδιο της δημιουργίας των υδριδίων ή του ψυχρού ατμού μπορεί να θεωρηθεί ως ένα προκαταρκτικό στάδιο καθαρισμού και προσυγκέντρωσης.



Σχήμα 4.4 : Βασικά Τμήματα Διάταξης HGAAS.

Η μέθοδος σχηματισμού υδριδίων είναι ιδιαίτερα χρήσιμη για τα μεταλλοειδή στοιχεία. Τα στοιχεία αυτά παρουσιάζουν μια έμφυτη έλλειψη ευαισθησίας και ο σχηματισμός των υδριδίων τους προσφέρει έναν εύσχημο τρόπο για να

αντισταθμισθεί αυτός ο περιορισμός.

Τα πρώτα συστήματα που χρησιμοποιήθηκαν για τη δημιουργία υδριδίων, απαιτούσαν το στάδιο αυτό να γίνεται σε ξεχωριστό δοχείο. Ο περιορισμός αυτός ελάττωνε την ικανότητα επεξεργασίας πολλών δειγμάτων και μείωνε την ταχύτητα ανάλυσης. Τα σύγχρονα συστήματα έγχυσης σε ροή βελτιώνουν σημαντικά τη μέθοδο, ενώ ο αυτόματος έλεγχος της βαλβίδας επιτρέπει ολόκληρες παρτίδες δειγμάτων να αναλύονται διαδοχικά με ελάχιστη παρέμβαση από τον χειριστή.

4.4 ΜΕΘΟΔΟΙ ΑΤΟΜΙΚΗΣ ΕΚΠΟΜΠΗΣ.

Η κυριότερη διαφορά ανάμεσα στις τεχνικές αυτές και στις αντίστοιχες της απορρόφησης είναι, ότι επιτρέπουν την πολυστοιχειακή ανάλυση. Από όλες τις τεχνικές εκπομπής η ICP είναι η κυρίαρχη. Η ευαισθησία τους είναι συγκρίσιμη με αυτήν της ETAAS, αλλά πλεονεκτούν στο ότι επιτρέπουν τον ταυτόχρονο προσδιορισμό πολλών στοιχείων. Έχουν μεγάλη δυναμική περιοχή. Η σπειροειδής ροή του πλάσματος με το δείγμα να διέρχεται μέσα από ένα κεντρικό διάυλο, εξασφαλίζει την ικανοποιητική ατομοποίησή του και τη διέγερση με ελάχιστες χημικές παρεμποδίσεις και προβλήματα αυτοαπορρόφησης.

4.4.1 ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΕΚΠΟΜΠΗΣ ΜΕ ΔΙΕΓΕΡΣΗ ΑΠΟ ΦΛΟΓΑ.

Η οπτική φασματοσκοπία εκπομπής με διέγερση από φλόγα είναι ένας όρος που χρησιμοποιείται για συστήματα χαμηλών θερμοκρασιών, τα οποία διαμορφώνονται με αποκλειστικό στόχο τον προσδιορισμό των αλκαλίων. Είναι σχετικά οικονομικά συστήματα, τα οποία χρησιμοποιούνται στον προσδιορισμό καλά καθορισμένων στοιχείων με περιορισμένη επίδραση από το υπόστρωμα.

Πίνακας 4.3 : Συνοπτικά Χαρακτηριστικά Τεχνικών Ατομικής Εκπομπής

Τεχνική	Πλεονεκτήματα	Μειονεκτήματα
Εκπομπή σε Φλόγα		
Αέρας / C ₂ H ₂	Οικονομική	Μικρός αριθμός στοιχείων. Συνήθως εφαρμόζεται για ένα στοιχείο.
N ₂ O / C ₂ H ₂	Οικονομική. Ικανοποιητικός αριθμός στοιχείων	Επιτρέπει τον προσδιορισμό μόνο ενός στοιχείου.
Εκπομπή με Πλάσμα		
ICP	Πολυστοιχειακή. Μεγάλη δυναμική περιοχή. Ελάχιστες παρεμποδίσεις από το υπόστρωμα. Ευαίσθητη.	Ακριβή
DCP	Φθηνότερη από την ICP	Πιο επιρρεπής από την ICP σε χημικές παρεμποδίσεις
MIP	Χρήσιμη και για αμέταλλα	Μη ανθεκτική. Εφαρμόζεται μόνο σε αέρια δείγματα. Απαγορεύονται οι διαλύτες.
Εκκένωση Πυρακτώσεως	Χρήσιμη για στερεά. Αποφεύγει προβλήματα διαλυτοποίησης	Δύσκολα δίνει ποσοτικές μετρήσεις. Απαιτεί μεγάλη ποσότητα δείγματος
Σπινθήρα -Τόξου	Οικονομικός εξοπλισμός όμοιος με φωτογραφικό.	Μη ποσοτική. Η προετοιμασία των δειγμάτων είναι δύσκολη.

Οι τεχνικές εκπομπής με διέγερση από φλόγα περιορίζονται σε ορισμένα στοιχεία, το πλήθος των οποίων είναι συνάρτηση της θερμοκρασίας της φλόγας. Έτσι για πηγή εκπομπής Αέρας/Ακετυλένιο η θερμοκρασία είναι 2200 K, για Πρωτοξείδιο/Ακετυλένιο 3200 K, για DCP 5000K, για ICP 7000 K και τέλος για MIC 12000-15000 K.

4.4.2 ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΑ ΕΚΠΟΜΠΗΣ ΜΕ ΔΙΕΓΕΡΣΗ ΠΛΑΣΜΑΤΟΣ

Η φασματοφωτομετρία ατομικής εκπομπής με διέγερση πλάσματος βασίζεται σε ένα αδρανές ιοντισμένο αέριο, του οποίου η θερμοκρασία αυξάνεται σε μεγάλες τιμές με επαγωγή, μικροκύματα ή με παροχή συνεχούς ρεύματος. Το κύρια χαρακτηριστικό των

πλάσμάτων αυτών είναι ότι λειτουργούν σε κανονικές πιέσεις(ατμοσφαιρική). Μια περιγραφή των χαρακτηριστικών των τριών κύριων συστημάτων πλάσματος φαίνεται παρακάτω^{12,13}.

Πίνακας 4.4 : Βασικά Χαρακτηριστικά Διατάξεων Πλάσματος

	MIP	ICP	DCP
Αριθμός στοιχείων	Άριστη για αμέταλλα	Πολύ καλή για μέταλλα και B,P.	Ικανοποιητικός
Ανεκτικότητα σε διαλύτες	Αποκλειστικά αέρια	Άριστη για υδατικά διαλύματα. Οι οργανικοί διαλύτες απαιτούν προσοχή.	Χωρίς προβλήματα
Δυναμική περιοχή	Περιορισμένη	Άριστη	Καλή
Μη-φασματικές παρεμποδίσεις	Επιρρεπής σε προβλήματα	Ελάχιστες	Περισσότερες από την ICP
Κόστος	Μεγάλο κόστος λειτουργίας	Μεγάλο κόστος αγοράς	Μέτριο
Ανεκτικότητα σε στερεά	Κακή	Περιορίζεται σε μικρό μέγεθος σωματιδίων	Χωρίς προβλήματα

Γενικά το ICP είναι η προτιμότερη πηγή πλάσματος. Το πλάσμα που δημιουργείται με εφαρμογή μικροκυμάτων είναι ιδιαίτερα χρήσιμο για την ανάλυση αμετάλλων, ενώ το πλάσμα συνεχούς ρεύματος αποτελεί μια φθηνότερη και απλούστερη παραλλαγή του ICP.

Το πιο απλό σύστημα ανίχνευσης για μια πηγή εκπομπής με πλάσμα στηρίζεται σε έναν ηλεκτρονικά ελεγχόμενο μονοχρωμάτορα, προγραμματισμένο να σαρώνει τις επιλεγμένες φασματικές περιοχές. Αυτό συνήθως ορίζεται ως ένα όργανο συνεχούς ανάλυσης. Παραλλαγή αυτού του οργάνου είναι αυτό με ένα διασπείρον φράγμα περίθλασης με μια συστοιχία φωτοπολλαπλασιαστών ρυθμισμένων στο επιθυμητό μήκος κύματος.. Αυτό συνήθως αποτελεί έναν πολυχρωμάτορα με πραγματική ικανότητα ταυτόχρονης ανάλυσης πολλαπλών στοιχείων.

Μια πρόσφατη καινοτομία είναι ο συνδυασμός ενός δισδιάστατου συστήματος διασποράς(δηλαδή ένα κλιμακωτό διαθλαστικό φράγμα) με πολυάριθμες λωρίδες

ημιαγωγών(συσκευές φορτισμένου ζεύγους ή συσκευές φορτισμένης έγχυσης), που καλύπτει όλες τις περιοχές μήκους κύματος.

Στον παρακάτω πίνακα φαίνονται τα κύρια χαρακτηριστικά των διαφορετικών συστημάτων ανίχνευσης.

Πίνακας 4.5 : Χαρακτηριστικά Ανιχνευτών Ατομικής Εκπομπής.

	Κόστος	Ταχύτητα	Ευελιξία	Όρια Ανίχνευσης	Υπόστρωμα
Συνεχούς Λειτουργίας	Μέτριο	Μικρή	Καλή	Μέτρια	Καλό
Πολυχρωμάτορας	Μεγάλο	Μεγάλη	Κακή	Ικανοποιητικά	Δύσκολα ορίζεται
CCD/CID exhelle	Μεγάλο	Μεγάλη	Καλή	Πολύ χαμηλά	Καλό

Τα συστήματα με πολυχρωμάτορες απαιτούν πολύ αυστηρό έλεγχο της θερμοκρασίας. Αυτό προέρχεται από την ανάγκη να εξασφαλισθεί η σύμπτωση της θέσης των σχισμών των επιμέρους ανιχνευτών με τα ακριβή μήκη κύματος των γραμμών ατομικής εκπομπής. Στους σύγχρονους πολυχρωμάτορες αυτό επιτυγχάνεται με τη χρήση εσωτερικού συστήματος θερμοστάτησης.

Τόσο τα όργανα συνεχούς λειτουργίας, όσο και τα συστήματα κλιμακωτού ανακλαστικού φράγματος και CID έχουν τη δυνατότητα δυναμικής ρύθμισης, ώστε να εντοπίζουν τις ακριβείς θέσεις των γραμμών ατομικής εκπομπής. Ένα επιπλέον πλεονέκτημα των δύο αυτών συστημάτων είναι, ότι επιτρέπουν τον υπολογισμό του υποστρώματος στις περιοχές που γειτνιάζουν με τα επιλεγμένα μήκη κύματος, κάτι που συνήθως δε διαθέτουν οι πολυχρωμάτορες.

4.5 ΑΤΟΜΙΚΟΣ ΦΘΟΡΙΣΜΟΣ.

Ο ατομικός φθορισμός μπορεί να εφαρμοσθεί σε συστήματα φλόγας, πλάσματος και ψυχρού ατμού. Έχει εξελιχθεί σε σημαντικό βαθμό, ώστε να παίζει πρωτεύοντα ρόλο για ορισμένα στοιχεία. Ιδιαίτερα στοιχεία που προσδιορίζονται με σχηματισμό υδριδίων ή με ψυχρό ατμό έχουν προσαρμοστεί με επιτυχία σε όργανα μέτρησης ατομικού φθορισμού. Μια σύνοψη των τεχνικών ατομικού φθορισμού παρουσιάζεται στον Πίνακα 4.6.

Πίνακας 4.6 : Χαρακτηριστικά Τεχνικών Ατομικού Φθορισμού.

	Αριθμός στοιχείων	Κόστος	Γραμμικότητα	Ευαισθησία	Παρεμποδίσεις
Φλόγα / Υδρίδια	Περιορισμένος	Μικρό	Καλή	Πολύ καλή	Πολλές
Πλάσμα	Ικανοποιητικό	Μέτριο	Καλή	Μέτρια	Λίγες
Ψυχρός Ατμός	Μόνο Hg	Χαμηλό	Καλή	Καλή	Μέτριες

Θεωρητικά ο ατομικός φθορισμός σε συνδυασμό με ένα σύστημα πλάσματος προσφέρει σημαντικά οφέλη. Προκειμένου να απομονωθεί ο στοιχειακός φθορισμός, χωρίς τη χρήση φραγμάτων διασποράς υψηλής απόδοσης, αρκεί η τοποθέτηση φίλτρων αποκοπής. Παρόλο υπάρχει η δυνατότητα πολυστοιχειακής ανάλυσης, οι πρακτικοί περιορισμοί οδηγούν στην κατασκευή οργάνων για τον προσδιορισμό ενός στοιχείου κάθε φορά.

Υπάρχουν αρκετές πηγές διέγερσης. Οι συνήθεις λυχνίες κοίλης καθόδου μπορούν να χρησιμοποιηθούν, αλλά δεν παράγουν αρκετά έντονο φθορισμό. Ενισχυμένες λυχνίες αυξάνουν την ευαισθησία με καλύτερη πηγή αυτή των λέιζερ. Βέβαια όσο πιο πολύπλοκο είναι το όργανο, τόσο μεγαλύτερο το κόστος.

Η περίπτωση του σχηματισμού υδριδίων έχει αρκετά πλεονεκτήματα, όπως ακριβώς και στην ατομική απορρόφηση. Αποτελεί ταυτόχρονα στάδιο καθαρισμού και προσυγκέντρωσης, το οποίο μπορεί να μειώσει τις φασματικές και χημικές παρεμποδίσεις. Όμως πρέπει να σημειωθεί, ότι το στάδιο του σχηματισμού των υδριδίων μπορεί να επηρεαστεί από το υπόστρωμα και από την πέψη του δείγματος, που επιδρούν στην απόδοση σχηματισμού των υδριδίων.

Δύο είναι τα πλεονεκτήματα της εφαρμογής των υδριδίων με μέτρηση του φθορισμού. Αφενός το σύστημα ανίχνευσης φθορισμού είναι πιο οικονομικό και αφετέρου τα όρια ανίχνευσης είναι γενικά καλύτερα από αυτά της απορρόφησης.

4.5.1 ΦΘΟΡΙΣΜΟΣ ΑΚΤΙΝΩΝ-X

Ο Φθορισμός Ακτίνων-X μπορεί να εφαρμοστεί στην ποιοτική, ημι-ποσοτική και ποσοτική ανάλυση μεταλλικών κυρίως στοιχείων σε στερεά δείγματα. Η αρχή λειτουργίας του είναι η ακτινοβόληση του δείγματος με μια δέσμη ακτίνων-X αρκετής ενέργειας, ώστε να μετατοπίσει τα εσωτερικά ηλεκτρόνια των ατόμων στο δείγμα. Στη συνέχεια τα εξωτερικά

ηλεκτρόνια μεταπίπτουν στις κενές θέσεις που δημιουργήθηκαν και προκαλούν εκπομπή ακτινοβολίας-Χ. Αυτή η δευτερεύουσα ή φθορίζουσα ακτινοβολία, όταν ανιχνευθεί, μας παρέχει ποιοτικές και ποσοτικές πληροφορίες για το ακτινοβολημένο δείγμα. Τα κυριότερα ελαττώματα της τεχνικής αυτής είναι ότι τα όρια ανίχνευσης που επιτυγχάνονται είναι σχετικά μεγάλα σε σύγκριση με την φασματοφωτομετρία ατομικής απορρόφησης και τη ICP-MS. Επιπλέον οι αναλύσεις αναφέρονται στην επιφάνεια του δείγματος και όχι σε ολόκληρη τη μάζα του. Ιδιαίτερα χρήσιμη είναι, όταν εφαρμόζεται στην παρακολούθηση μιας παραγωγικής διαδικασίας όπως για παράδειγμα στη βιομηχανία χάλυβα. Στα πλαίσια αυτά μπορεί να παρέχει πολύ ακριβείς πληροφορίες σε σύντομο χρονικό διάστημα επιτρέποντας τον εντοπισμό προβλημάτων στην αρχή της γραμμής παραγωγής. Έτσι ο Φθορισμός Ακτίνων-Χ χρησιμοποιείται συνήθως ως μια πρώτη τεχνική παρακολούθησης και ελέγχου, πριν από την κυρίως ανάλυση με μια τεχνική επιβεβαίωσης.

4.6 ΠΑΡΕΜΠΟΔΙΣΕΙΣ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ ΑΠΟΦΥΓΗΣ ΤΟΥΣ.

4.6.1 ΦΑΣΜΑΤΙΚΕΣ ΠΑΡΕΜΠΟΔΙΣΕΙΣ.

Αποτελεί γενική διαπίστωση, ότι οι μετρήσεις ατομικής απορρόφησης υφίστανται λιγότερες φασματικές παρεμποδίσεις από τις αντίστοιχες μετρήσεις ατομικής εκπομπής. Έτσι στην περίπτωση της απορρόφησης σπάνια αναφέρονται παρεμποδίσεις. Για την εκπομπή όμως με φλόγα και με πλάσμα αργού τα προβλήματα των φασματικών παρεμποδίσεων απαιτούν προσεκτική αντιμετώπιση.

4.6.1.1 Μετρήσεις απορρόφησης.

Οι μετρήσεις ατομικής απορρόφησης έχουν το πλεονέκτημα, ότι βασίζονται σε μια πολύ στενή περιοχή του φάσματος, που αντιστοιχεί στην ακτινοβολία που εκπέμπεται από τη λυχνία κοίλης καθόδου. Κάποιο άλλο στοιχείο για να παρεμποδίζει αυτήν την ακτινοβολία θα πρέπει να έχει μια γραμμή απορρόφησης, η οποία να διαφέρει λιγότερο από 0,01 nm. Επιπλέον οι γραμμές στη χαμηλή υπεριώδη περιοχή υφίστανται το φαινόμενο της σκέδασης, που παράγει ένα σήμα ψευδο-απορρόφησης. Αυτό μπορεί να δημιουργήσει προβλήματα σε στοιχεία όπως το As, με απορρόφηση στα 193,7 nm

Ένα άλλο είδος φασματικών παρεμποδίσεων οφείλεται σε μοριακά είδη. Έχει βρεθεί, ότι το $\text{Ca}(\text{OH})_2$ απορροφά στο μήκος κύματος του Ba 553,55 nm δίνοντας αυξημένες τιμές για τη

συγκέντρωση του βαρίου. Η εκπομπή του κυανογόνου στα 357,4 nm παρεμποδίζει την ισότιμη γραμμή του La. Η λύση σε ανάλογα προβλήματα καθώς και σε αυτά με την υψηλή σκέδαση μπορούν να αντιμετωπιστούν με την εφαρμογή συνεχούς διόρθωσης του σήματος από το υπόστρωμα.

4.6.1.2 Μετρήσεις εκπομπής.

Για τις μελέτες εκπομπής το διαχωριστικό όριο ανάμεσα στα δυνητικά παρεμποδίζοντα μήκη κύματος καθορίζεται από τις οπτικές δυνατότητες του συστήματος ανίχνευσης. Αυτό σημαίνει, ότι φασματικές γραμμές εκπομπής στο όριο των 0,5 nm μπορεί να παρεμποδίζουν, ανάλογα με τη σχετική αφθονία του κάθε στοιχείου. Παράδειγμα αποτελεί το Al στα 396,15 nm και το Ca στα 396,84 nm. Εικοσαπλάσια περίσσεια του Ca σε βάρος του Al είναι αρκετή για να επηρεάσει την ένταση της εκπομπής του Al.

Στην ατομική απορρόφηση όσο και στην ατομική εκπομπή η πιο απλή λύση είναι να επιλέξουμε ένα εναλλακτικό μήκος κύματος. Με τον τρόπο αυτό μπορούμε να αποφύγουμε τις περιττές αραιώσεις.

Οι μοριακές παρεμποδίσεις εμφανίζονται και στην ατομική εκπομπή με τη χαρακτηριστική φασματική ταινία του OH⁻ από 295-310 nm. Η κυριότερη λύση είναι πάλι τα εναλλακτικά μήκη κύματος. Πολλά σύγχρονα όργανα ατομικής εκπομπής παρέχουν πίνακες φασματικών παρεμποδίσεων ως τμήμα του λογισμικού του υπολογιστή τους.

4.6.2 ΧΗΜΙΚΕΣ ΠΑΡΕΜΠΟΔΙΣΕΙΣ.

Οι τεχνικές ατομικής απορρόφησης αλλά και ατομικής εκπομπής υπόκεινται σε σημαντικές χημικές παρεμποδίσεις. Ο γενικός κανόνας είναι, ότι όσο πιο μεγάλη είναι η θερμοκρασία της φλόγας, τόσο μικρότερες οι χημικές παρεμποδίσεις. Αυτό οδήγησε στην εξέλιξη από τη φλόγα Αέρα/C₂H₂ στη φλόγα N₂O/C₂H₂ και στο πλάσμα αργού. Οι βελτιώσεις αυτές μειώνουν, αλλά δεν εξαλείφουν τις χημικές παρεμποδίσεις. Οι χημικές παρεμποδίσεις είναι αμέτρητες και δύσκολο να συνοψιστούν.

Χαμηλές συγκεντρώσεις των αναλυτών μπορεί να παρατηρηθούν λόγω μετατοπίσεων στις ισοροπίες ιοντισμού. Αυτό μπορεί να αντιμετωπιστεί με την προσθήκη ενός συμπιεστή ιοντισμού, όπως το νάτριο και το κάλιο που παρέχουν μεγάλες συγκεντρώσεις ηλεκτρονίων. Έτσι συνηθίζεται η προσθήκη περίσσειας τέτοιων στοιχείων τόσο στα δείγματα όσο και στα πρότυπα.

Κάποιες από τις τεχνικές που χρησιμοποιούνται για την άρση των χημικών παρεμποδίσεων είναι

- 1) παρασκευή των προτύπων σε παρόμοιο υπόστρωμα με το δείγμα
- 2) χρήση εσωτερικών προτύπων
- 3) μέθοδος προσθήκης γνωστής ποσότητας
- 4) χημικός διαχωρισμός ή εκχύλιση του αναλύτη.

4.7 ΣΤΟΙΧΕΙΑΚΗ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ ΜΑΖΑΣ

Η Φασματοσκοπία μάζας με επαγωγικά συζευγμένο πλάσμα (ICP-MS) αποτελεί την τελευταία εξέλιξη στην ανόργανη αναλυτική χημεία. Η τεχνική αυτή μπορεί να παρέχει ημιποσοτικά δεδομένα για τα περισσότερα από τα στοιχεία του Περιοδικού Πίνακα σε υδατικά και σε οργανικά διαλύματα, σε χρόνους μικρότερους από 2 λεπτά. Επίσης μπορεί να χρησιμοποιηθεί για ποσοτικούς προσδιορισμούς με όρια ανίχνευσης της τάξης του ng kg^{-1} και τυπικές αποκλίσεις της τάξης του 5%.

Υπάρχουν διάφορες τεχνικές φασματοσκοπίας μάζας. Οι περισσότερες όμως από αυτές χρησιμοποιούνται σπάνια. Η μόνη που βρίσκει όλο και μεγαλύτερη απήχηση είναι η ICP-MS¹⁴⁻¹⁶. Παρακάτω περιγράφονται συνοπτικά όλες οι τεχνικές με κύριο όμως άξονα την ICP.

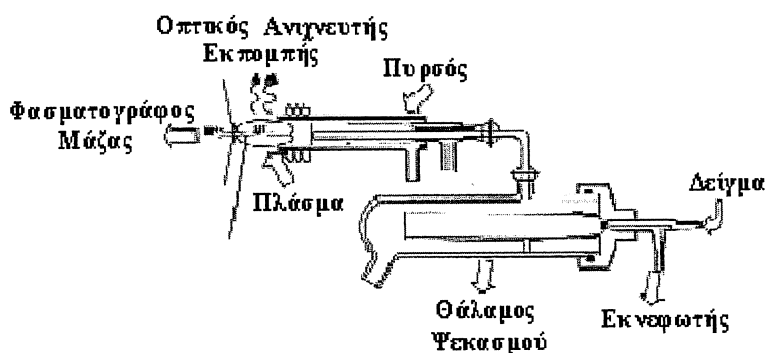
Το πρώτο φάσμα μαζών με τη βοήθεια πλάσματος αναφέρεται στις αρχές του 1980 και, παρόλο που η ευαισθησία της μεθόδου την εποχή εκείνη ήταν μικρή, φάνηκε αμέσως η ευκολία λειτουργίας της και κυρίως η απουσία παρεμποδίσεων. Η τεχνική της ICP-MS προέκυψε από την προγενέστερη οπτική φασματοσκοπία εκπομπής με επαγωγικά συζευγμένο πλάσμα, την οποία ήδη χρησιμοποιούσαν σε μεγάλη έκταση οι βιομηχανίες χάλυβα και η κλινική χημεία. Παρά το γεγονός όμως ότι η OES-ICP δίνει όρια ανίχνευσης της τάξης του ng g^{-1} , έχει προβλήματα φασματικής επικάλυψης των διαφόρων στοιχείων. Η ICP-MS, αν και η ίδια έχει προβλήματα παρεμποδίσεων, παρέχει ένα πολύ πιο απλό φάσμα με ικανότητα να ανιχνεύει συγκεντρώσεις χαμηλότερες από το ng g^{-1} . Πιο συγκεκριμένα είναι κατά 2 με 3 τάξεις μεγέθους πιο ευαίσθητη από την OES-ICP. Και οι δύο τεχνικές είναι πολυστοιχειακές. Η ICP-MS μπορεί να προσδιορίσει την πλειονότητα των στοιχείων του Περιοδικού Πίνακα με μια μόνο σάρωση, ενώ η OES-ICP περιορίζεται σε 35-45 στοιχεία ανά σάρωση. Συγκρινόμενη με την ETAAS τα όρια ανίχνευσης της ICP-MS είναι κατά μέσο όρο 10 φορές χαμηλότερα, ενώ παράλληλα η ETAAS είναι μονοστοιχειακή τεχνική.

Συγκριτικά με άλλες γνωστές τεχνικές η ICP-MS είναι σχετικά πρόσφατη. Το πρώτο εμπορικά διαθέσιμο όργανο χρονολογείται στα 1983. Η χρησιμότητα της στον τομέα της

αναλυτικής χημείας και όχι μόνο υποδηλώνεται από τον τεράστιο αριθμό δημοσιεύσεων σχετικά με το θεωρητικό υπόβαθρο και τις πρακτικές της εφαρμογές στα μόλις 18 αυτά χρόνια. Σήμερα ο τομέας εφαρμογών της ICP-MS επεκτείνεται σε όλα σχεδόν τα είδη υποστρωμάτων από νερά και έλαια σε εδάφη, πλαστικά, τρόφιμα και απόβλητα.

Τα βασικά πλεονεκτήματα της ICP-MS σε σχέση με τις άλλες τεχνικές είναι:

- 1) Χαμηλότερα όρια ανίχνευσης.
- 2) Μεγαλύτερη δυναμική περιοχή (6 ή και 7 τάξεις μεγέθους)
- 3) Ικανότητα ταυτόχρονης πολυστοιχειακής ανάλυσης (πάνω από 70 στοιχεία ή 35-45 για την OES-ICP σε μία μόνο σάρωση)
- 4) Ημιποσοτική ανάλυση μέσα σε 2 λεπτά.
- 5) Πληροφόρηση σχετικά με πληθυσμούς ισοτόπων.



Σχήμα 4.5 : Βασικά Τμήματα μιας Διάταξης ICP.

4.7.1 ΟΡΓΑΝΟΛΟΓΙΑ

Η σχηματική παράσταση ενός οργάνου ICP φαίνεται στο Σχήμα 4.5. Το πλάσμα αποτελείται από ιοντισμένο αργό. Η μεγάλες θερμοκρασίες τις οποίες αποκτά το πλάσμα (περίπου 7000 K) αποτελούν μια άριστη πηγή διέγερσης των ατόμων. Το ICP είναι επίσης μια πολύ καλή πηγή ιόντων, η οποία εκπέμπει κυρίως μονοφορτισμένα κατιόντα. Η ιδιότητα αυτή χρησιμοποιείται κυρίως στην OES-ICP, όπου οι πιο χρήσιμες γραμμές εκπομπής είναι αυτές των ιόντων.

Για την αποτελεσματική λειτουργία του οργάνου απαιτείται η λήψη ιόντων από το ICP υπό ατμοσφαιρική πίεση και στη συνέχεια η μεταβίβαση σε φασματογράφο μάζας, ο οποίος

λειτουργεί σε κενό ($\leq 10^{-5}$ torr ή 10^{-3} Pa). Τα ιόντα εξέρχονται από το ICP μέσω ενός κώνου συλλογής και στη συνέχεια εισάγονται στον πρώτο θάλαμο κενού. Από εκεί μέσω ενός αποκορυφωτή (κώνου διαλογής) τα ιόντα εισάγονται στον δεύτερο θάλαμο κενού. Από εκεί η ιοντική δέσμη εισάγεται με τη βοήθεια ιοντικών φακών στον φασματογράφο μάζας.

Ο διαχωρισμός των κλασμάτων μάζας των διαφόρων ιόντων μπορεί να επιτευχθεί με ένα μαγνητικό πεδίο (μεγάλη ευκρίνεια) ή με ένα τετράπολο (μικρή ευκρίνεια). Τα όργανα υψηλής ευκρίνειας δεν είναι πολύ κοινά και έτσι είναι συχνότερη η χρήση των τετραπόλων. Αν και υπάρχουν κάποιες διαφορές ανάλογα με τον κατασκευαστή, οι αρχές λειτουργίας και τα βασικά τμήματα των οργάνων είναι παρόμοια.

Τα δεδομένα για κάθε στοιχείο λαμβάνονται ανεξάρτητα το ένα από το άλλο και σχετικά χωρίς παρεμποδίσεις. Ο προσδιορισμός των δυσκολότερα ανιχνεύσιμων στοιχείων όπως τα αλογόνα και το θείο και αυτών για τα οποία δεν υπάρχουν δεδομένα, όπως τα ευγενή αέρια, το οξυγόνο και το άζωτο, επιτυγχάνεται με την τεχνική της φασματοσκοπίας μάζας με πλάσμα επαγόμενο με μικροκύματα. Η τεχνική αυτή θεωρείται συμπληρωματική της ICP-MS, είναι επίσης ταχεία και δίνει ημιποσοτικά αποτελέσματα για 70 περίπου στοιχεία μέσα σε 1 λεπτό, ενώ για ποσοτικές μετρήσεις αρκούν μόλις 5 λεπτά.

4.7.2 ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΤΕΧΝΙΚΩΝ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑΣ ΜΑΖΑΣ

Όπως έχει ήδη αναφερθεί στην εισαγωγή, υπάρχει μια ποικιλία τεχνικών με την οποία μπορούμε να μετατρέψουμε τα ιχνοστοιχεία σε ιόντα ώστε να προσδιοριστούν με τη φασματοσκοπία μαζών. Οι κύριες τεχνικές είναι οι ακόλουθες:

- 1) ICP-MS
- 2) MS- με εκκένωση πυρακτώσεως
- 3) MS δευτερεύοντος ιόντος
- 4) MS με θερμικό ιοντισμό

Πρέπει ακόμη να σημειωθεί, ότι η φασματοσκοπία μαζών με διέγερση από σπινθήρα τόξου έχει επίσης χρησιμοποιηθεί για τον προσδιορισμό στοιχείων μεταπτώσεως, αλλά η χρήση της έχει υπερκεραστεί τελευταία από τις παραπάνω τεχνικές.

4.7.2.1 Φασματοσκοπία μαζών με επαγωγικά συζευγμένο πλάσμα (ICP-MS)

Η τεχνική αυτή απευθύνεται αποκλειστικά σε διαλύματα και επομένως προκειμένου για στερεά δείγματα, πρέπει να προηγηθεί πέψη. Εξαίρεση αυτού του κανόνα είναι η αποκοπή με

λείζερ, που επιτρέπει την ανάλυση πτητικοποιημένων στερεών και η ηλεκτροθερμική ατμοποίηση, που επιτρέπει την εισαγωγή διαλυμάτων, αιωρημάτων και στερεών στην ICP-MS. Η τελευταία έχει το επιπλέον πλεονέκτημα, ότι με κατάλληλο θερμοκρασιακό πρόγραμμα μπορούν να αρθούν πλήθος παρεμποδίσεων, όπως αυτή του νερού. Τα κύρια χαρακτηριστικά της τεχνικής αυτής είναι η μεγάλη ευαισθησία σε ευρεία περιοχή στοιχείων, το συγκριτικά μέτριο κόστος, η μεγάλη δυναμική και γραμμική περιοχή συγκεντρώσεων και η δυνατότητα άμεσης πολυστοιχειακής βαθμονόμησης και ισοτοπικής ανάλυσης με μεγάλη ταχύτητα. Υπάρχουν όμως δυσκολίες, όπως η ανάγκη σχολαστικής προκατεργασίας, ώστε να προληφθούν παρεμποδίσεις από το υπόστρωμα, η μικρή διαχωριστική ικανότητα ισοβαρών επικαλύψεων και η μερική καταστροφή του δείγματος.

4.7.2.2 Φασματοσκοπία μαζών με εκκένωση πυρακτώσεως(GD-MS)

Η τεχνική αυτή διακρίνεται για την εφαρμογή της στον προσδιορισμό ιχνοστοιχείων απευθείας σε στερεά δείγματα. Σε συνδυασμό με τη Φασματοσκοπία Μαζών υψηλής ευκρίνειας αποτελεί μια πολύ ευαίσθητη μέθοδο για την ανάλυση ιχνοστοιχείων. Τα κυριότερα πλεονεκτήματα της μεθόδου είναι η μεγάλη ευαισθησία ακόμα και σε πολυστοιχειακές αναλύσεις, η μικρή κατανάλωση δείγματος(1-100 mg), η αποφυγή πέψης δύστηκτων υλικών και η δυνατότητα εγκάρσιας παρατήρησης. Αντίθετα η μέθοδος μειονεκτεί στην ταχύτητα, στον διαχωρισμό ισοβαρών και στην αναγνώριση ισοτόπων, ενώ επίσης απαιτεί χρήση προσομοιωμένων προτύπων.

4.7.2.3 Φασματοσκοπία μαζών δευτερογενών ιόντων(SI-MS)

Η τεχνική αυτή έχει παρόμοια όρια ανίχνευσης με την προηγούμενη και άριστες δυνατότητες πολυστοιχειακής ανάλυσης. Σε αντίθεση με τις δύο προηγούμενες μεθόδους παρουσιάζει ευρεία διακύμανση στα όρια ανίχνευσης, τα οποία εξαρτώνται σε μεγάλο βαθμό από τη σύσταση του υποστρώματος. Παρόλα αυτά αποτελεί τη μοναδική μέθοδο, που δίνει τη δυνατότητα ανάλυσης για την εύρεση της κατανομής στο χώρο, κατά τρόπο ανάλογο με αυτόν του μικροσκοπίου σάρωσης ηλεκτρονίων. Τα συνοπτικά θετικά χαρακτηριστικά της είναι η μεγάλη πολυστοιχειακή ευαισθησία, η ελάχιστη προκατεργασία και κατανάλωση δείγματος και η δυνατότητα εγκάρσιας και στο χώρο παρατήρησης. Στα αρνητικά χαρακτηριστικά της περιλαμβάνονται η ανάγκη χρήσης δύο πηγών ιόντων(οξυγόνου και καισίου) για την πλήρη κάλυψη του Περιοδικού Πίνακα, ο μεγάλος χρόνος ανάλυσης(ώρες),

η χρήση προτύπων όμοιου υποστρώματος με το δείγμα και η υψηλή τιμή αγοράς, λειτουργίας και συντήρησης.

4.7.2.4 Φασματοσκοπία μάζας με θερμικό ιοντισμό(TI-MS).

Αποτελεί μια τεχνική αποκλειστικά εφαρμόσιμη σε διαλύματα. Τα δείγματα ξηραίνονται σε νήμα πυρακτώσεως, το οποίο στη συνέχεια χρησιμοποιείται ως μια πηγή ιόντων ανθεκτική στη θέρμανση. Είναι μια τεχνική που έχει χρησιμοποιηθεί εκτεταμένα στη στοιχειακή φασματοσκοπία μάζας με ισοτοπική αραίωση, ώστε να επιτευχθεί το απόλυτο σε ότι αφορά την ακρίβεια και την επαναληπτικότητα. Τα χαρακτηριστικά της είναι η μεγάλη ακρίβεια και επαναληπτικότητα στις μετρήσεις αραίωσης ισοτόπων, η μικρή ποσότητα δείγματος που απαιτείται, η μεγάλη ευαισθησία και ο χαρακτηρισμός της ως ιδανικής για πιστοποίηση τιμών αναφοράς. Αντίθετα μειονεκτεί ως προς τη δυνατότητα πολυστοιχειακής ανάλυσης, την ταχύτητα και την ανάγκη εφαρμογής καθορισμένου πρωτοκόλλου δειγματοληψίας για διαφορετικό αναλύτη ή και υπόστρωμα.

Πίνακας 4.7 : Συνολική Συγκριτική Αντιπαραβολή των Τεχνικών Φασματοσκοπίας Μάζας.

	ICP-MS	GD-MS	SI-MS	TI-MS
Κόστος ^α	Μικρό	Μέτριο	Μέτριο	Υψηλό
Ακρίβεια	Καλή	Ικανοποιητική	Πολύ καλή	Κακή
Καταγραφή ισοτόπων	Ναι	Δύσκολη	Ναι	Όχι
Χρόνος Προκατεργασίας Δείγματος	Χρονοβόρος	Σύντομος	Μέτριος	Σύντομος
Ταχύτητα	Μεγάλη	Μικρή	Μικρή	Μικρή
Ανάλυση στερεών	Όχι	Ναι	Όχι	Ναι
Χωρική/εγκάρσια κατανομή.	Όχι	Ναι	Όχι	Ναι
^α Συγκριτικά με τα άλλα.				

4.8 ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΠΡΟΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗΣ ΚΑΙ ΔΙΑΧΩΡΙΣΜΟΥ

Μετά από το στάδιο της διαλυτοποίησης, ειδικά για δυσδιάλυτα στερεά και τρόφιμα, τα μέταλλα μπορεί να βρίσκονται σε διαλύματα με μεγάλες συγκεντρώσεις ισχυρών οξέων και βάσεων. Συνήθως οι συνθήκες αυτές δεν είναι απαραίτητες ούτε επιθυμητές. Έτσι προτιμάται η μεταφορά του αναλύτη σε ένα περιβάλλον καταλληλότερο για ασφαλείς και αξιόπιστες μετρήσεις.

Συχνά είναι δύσκολο ή αδύνατο να χρησιμοποιήσουμε τη μετρητική διάταξη που διαθέτουμε απευθείας στο δείγμα μας, ακόμα και μετά από τη διαλυτοποίηση, καθώς τις περισσότερες φορές οι συγκεντρώσεις του αναλύτη βρίσκονται κοντά στα όρια ανίχνευσης ή κάτω από αυτά, με αποτέλεσμα οι μετρήσεις να μην είναι αξιόπιστες ή να παρεμποδίζονται από άλλες ουσίες. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιείται η τεχνική της προσυγκέντρωσης. Με τον όρο αυτόν ή με τη λέξη εμπλουτισμός, εννοούμε συνήθως όλα εκείνα τα στάδια που ακολουθούνται προκειμένου να αυξήσουμε το λόγο της συγκέντρωσης του αναλύτη προς το υπόστρωμα. Αυτό μπορεί να σημαίνει αλλαγή του υποστρώματος ή μείωση της ποσότητάς του ή αύξηση της συγκέντρωσης του αναλύτη. Το καθένα από τα βήματα αυτά ή και όλα μαζί είναι προτιμότερο να επιτυγχάνονται σε ένα στάδιο.

Αυτό που συνήθως καθορίζει την πορεία διαχωρισμού και προσυγκέντρωσης, που θα υιοθετηθεί για ένα συγκεκριμένο δείγμα, είναι το είδος και οι δυνατότητες του ανιχνευτή.

4.8.1 ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΠΡΟΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗΣ.

Υπάρχουν πολλές μέθοδοι προσυγκέντρωσης στη διάθεση του αναλυτικού χημικού¹⁷. Οι περισσότερες βρίσκουν εφαρμογή σε υγρά δείγματα. Υπάρχουν όμως και κάποιες άλλες κατάλληλα τροποποιημένες για στερεά και αέρια. Αυτές που απευθύνονται σε υγρά δείγματα, κυρίως διαλύματα του αναλύτη, περιλαμβάνουν εξάτμιση, καταβύθιση, εκχύλιση με υγρούς διαλύτες, πτητικοποίηση, ιονανταλλαγή, ιοντική χρωματογραφία, ηλεκτροαπόθεση, προσρόφηση, μοριακά κόσκινα, επίπλευση, κατάψυξη, ηλεκτροφόρηση, διάλυση, εκχύλιση στερεάς φάσης και πρόσφατα εκχύλιση με χρήση σημείου νεφέλωσης^{18,19}. Η χρήση κάποιων τεχνικών (όπως υγρή αποτέφρωση, εκλεκτική διαλυτοποίηση, γένεση υδριδίων, μέθοδο ψυχρού ατμού και αναδιαλυτική βολταμετρία μετά από ηλεκτροαπόθεση) συνεπάγεται την προσυγκέντρωση. Οι πιο δημοφιλείς από τις τεχνικές είναι οι ακόλουθες^{20,21}:

i) Εξάτμιση και απόσταξη.

Αποτελεί την πιο διαδεδομένη τεχνική, διότι απαιτεί φτηνό εξοπλισμό και συνήθως αποφεύγεται η μετάγγιση του διαλύματος σε διαφορετικό δοχείο. Συχνά όμως είναι χρονοβόρα και χρειάζεται διαρκή παρακολούθηση. Με τα μη πτητικά στοιχεία η εξαέρωση μπορεί να προχωρήσει μέχρι πολύ μικρούς όγκους (ακόμα και μέχρι ξηρού), για την αποφυγή ανεπιθύμητης περίσσειας οξέων. Το στερεό υπόλειμμα μπορεί μετά να διαλυθεί σε κατάλληλο διαλύτη. Όταν πραγματοποιείται εξάτμιση μέχρι ξηρού, είναι χρήσιμο να προστεθεί μια μικρή ποσότητα ενός μη πτητικού, αδρανούς στερεού, όπως ένα αλκαλικό άλας, που λειτουργεί ως συλλέκτης του αναλύτη.

Βέβαια η εξάτμιση είναι επιρρεπής σε παρεμποδίσεις, αφού πραγματοποιείται σε ανοικτούς περιέκτες. Επίσης μπορεί να οδηγήσει σε συνάθροιση διαλυμένων στερεών, τα οποία συσσωρεύονται και φράζουν τον καυστήρα ενός φωτομέτρου ατομικής απορρόφησης.

Η απόσταξη χρησιμοποιείται για πολλά στοιχεία και κυρίως για το βόριο με τη μορφή του μεθυλεστέρα του, το αρσενικό ως AsCl_3 , το Γερμάνιο ως GeCl_3 , το Σελήνιο ως SeBr_4 , το Ρήνιο, το Ρουθίνιο και το Όσμιο με τα πτητικά τους οξείδια.

ii) Πτητικοποίηση-Γέννηση Υδριδίων

Η πτητικοποίηση χρησιμοποιείται κυρίως για την ανάλυση στοιχείων, τα οποία σχηματίζουν πτητικά υδρίδια, όπως As, Se, Sn, Ge, Te, Bi, Sb, Pb. Η πτητικοποίηση χρησιμοποιείται επίσης για τον προσδιορισμό του Υδραργύρου με τη μορφή των ατμών του μονοατομικού μετάλλου. Η διαδικασία πτητικοποίησης συνδέεται απευθείας με έναν κατάλληλο ανιχνευτή και μπορεί να θεωρηθεί ως μια συνδυασμένη τεχνική προσυγκέντρωσης και άμεσου προσδιορισμού. Θεωρείται αρκετά χρήσιμη για τους εξής λόγους:

- 1) Συνδέεται εν ροή με τον ανιχνευτή περιορίζοντας έτσι τις πιθανότητες απωλειών και επιμολύνσεων.
- 2) Αποτελεί ασφαλή μέθοδο για τον προσδιορισμό των πτητικών μεταλλικών και μεταλλοειδών ιχνοστοιχείων, τα οποία προσδιορίζονται δύσκολα με άλλες μεθόδους.
- 3) Αποτελεί μια ιδιαίτερα εκλεκτική προσέγγιση, η οποία εξαλείφει πολλές παρεμποδίσεις.

iii) Εκχύλιση με υγρούς διαλύτες^{22,23}.

Αποτελεί μια πολύ δημοφιλή τεχνική, καθώς μπορεί να προσυγκεντρώσει πολλά στοιχεία ταυτόχρονα επιτρέποντας διάφορες τροποποιήσεις και παρεμβάσεις. Με κατάλληλη επιλογή

των πειραματικών συνθηκών και κυρίως του pH μπορεί εκλεκτικά να αποκλεισθεί η εκχύλιση ανεπιθύμητων συστατικών.

Όταν τα προσδιοριζόμενα στοιχεία δεν βρίσκονται με τη μορφή ουδέτερων, μη πολικών και εκχυλίσιμων ενώσεων, θα πρέπει πρώτα να μετατραπούν σε αυτή τη μορφή. Η πιο συνηθισμένη προσέγγιση είναι η συμπλοκοποίηση των μεταλλικών ειδών με σκοπό να σχηματίσουν κατάλληλα σύμπλοκα κυρίως με χηλικά αντιδραστήρια, όπως τα διθειοκαρβαμικά ιόντα ή η 8-Υδροξυκινολίνη. Συστήματα ιοντικής σύνδεσης όπως για παράδειγμα το τριμερές σύμπλοκο του Fe^{2+} , της 4,7-διφαινυλο-1,10-φαιναθρολίνης²⁴ και των υπερχλωρικών ιόντων, μπορούν επίσης να εκχυλιστούν με ένα μεγάλο αριθμό μη πολικών διαλυτών.

Η μέθοδος προσυγκέντρωσης με το σχηματισμό χηλικών ενώσεων μας παρέχει τη δυνατότητα να επιλέξουμε τις κατάλληλες συνθήκες, ώστε να επιτύχουμε την εκλεκτική εκχύλιση και τον εμπλουτισμό ενός συγκεκριμένου στοιχείου. Η χηλίωση μπορεί ακόμη να χρησιμοποιηθεί για τη μαζική εκχύλιση μιας μεγάλης ποικιλίας μετάλλων πριν από τον προσδιορισμό τους με τεχνική πολυδιάστατης ανάλυσης. Για παράδειγμα τα περισσότερα μεταλλικά στοιχεία μετάπτωσης μπορούν να προσδιοριστούν μετά από συμπλοκοποίηση με διαιθυλοδιθειοκαρβαμικά ή πυρολιδινοδιθειοκαρβαμικά, εκχύλιση σε οργανικό διαλύτη, οξίνιση και επανεκχύλιση σε υδατικό διάλυμα. Έτσι η συγκέντρωση κάθε μετάλλου μπορεί να προσδιοριστεί ταυτόχρονα με AES-ICP²⁵.

Η εκχύλιση με οργανικό διαλύτη έχει το πλεονέκτημα ότι η επιφανειακή τάση και το ιξώδες του είναι μικρότερα από αυτά του υδατικού διαλύματος, ενώ έχει και μεγάλη τάση ατμών. Έτσι στις ατομικές τεχνικές προσδίνει αποτελεσματικότητα στο σχηματισμό σταγονιδίων και μεγαλύτερη ευαισθησία.

iv) Καταβύθιση.

Οι τεχνικές καταβύθισης χρησιμοποιούνται ευρύτατα για τον διαχωρισμό και την προσυγκέντρωση μεταλλικών ιχνοστοιχείων²⁶. Βέβαια η άμεση καταβύθιση και ο διαχωρισμός με φυγοκέντρωση ή διήθηση δεν μπορεί να εφαρμοσθεί στον προσδιορισμό ιχνοποσοτήτων. Αντ' αυτού προτιμάται η συγκαταβύθιση του αναλύτη μαζί με ένα κατάλληλα επιλεγμένο συλλέκτη ή φορέα. Η μέθοδος αυτή βρίσκει σημαντικές εφαρμογές ιδιαίτερα στο διαχωρισμό ραδιενεργών ισοτόπων και στην ανάλυση υδάτων, όπως το θαλασσινό, που θεωρείται ως πολύπλοκο υπόστρωμα.

ν) *Ιονανταλλαγή και προσρόφηση σε χρωματογραφικές στήλες*²⁷.

Η ανταλλαγή ιόντων μπορεί να εφαρμοστεί στην ανάλυση ιχνοστοιχείων για τον διαχωρισμό και την προσυγκέντρωση του αναλύτη στόχου από ένα ακατάλληλο υπόστρωμα ή από διάφορες παρεμποδίσεις. Η ιονανταλλακτική ρητίνη μπορεί να βρίσκεται με τη μορφή πακεταρισμένης μικροστήλης επιτρέποντας την άντληση του δείγματος σε συνθήκες ροής ή να προστίθεται στο διάλυμα σε στάσιμες συνθήκες και να διηθείται στη συνέχεια.

Με κατάλληλες τροποποιήσεις, οι στήλες ιονανταλλαγής μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την προσυγκέντρωση διαφόρων μετάλλων. Επίσης μπορούν να γίνουν διάφοροι διαχωρισμοί. Για παράδειγμα σε πυκνά διαλύματα HCl πολλά μέταλλα σχηματίζουν ανιονικά χλωρισύμπλοκα, τα οποία μπορούν να διαχωριστούν με τη βοήθεια μιας στήλης ως εξής: το HCl αραιώνεται προοδευτικά και έτσι τα μέταλλα με τους μικρότερους συντελεστές κατανομής εκλούνται πρώτα.

Σε περιπτώσεις όπως αυτές που υπάρχει μεγάλη συγκέντρωση αλκαλίων, μπορούν να χρησιμοποιηθούν χηλιωτικές ρητίνες. Οι ρητίνες αυτές περιέχουν χηλικές δραστικές ομάδες, όπως το ιμινοδιοξικό οξύ, το οποίο έχει παρόμοια δράση με το αιθυλενοδιαμινοτετραοξικό οξύ και σχηματίζει χηλικά σύμπλοκα με τα μεταλλικά ιόντα. Οι συντελεστές κατανομής σε τέτοιου είδους ρητίνες είναι πολύ μεγάλοι και τα συμπλοκοποιημένα μέταλλα μπορούν να ανακτηθούν από τη ρητίνη με μια σταδιακή διαδικασία συνήθως σε χαμηλά pH.

Η HPLC με στήλες ιονανταλλαγής προσφέρει σημαντικά πλεονεκτήματα ως προς την ταχύτητα και τη δυνατότητα αυτοματοποίησης των αναλύσεων με σημαντικό κέρδος στον έλεγχο, την ακρίβεια και την επαναληπτικότητα.

Η χρωματογραφία ιονανταλλαγής μπορεί να πραγματοποιηθεί σε συνθήκες ροής μειώνοντας τους χρόνους ανάλυσης και τον κίνδυνο επιμόλυνσης από τον αέρα. Ένα επιπλέον πλεονέκτημα της χρωματογραφίας ιονανταλλαγής στην ανάλυση ιχνοστοιχείων είναι η δυνατότητα της εν-ροή προσυγκέντρωσης του αναλύτη στόχου. Αυτό μπορεί να επιτευχθεί με συσσώρευση πάνω στη στήλη, με διάλυση πριν από την έγχυση ή με συλλογή πάνω σε μία προστήλη και επανέκπλυση στην κυρίως ροή. Η τελευταία περίπτωση, αν και έχει πολλές προοπτικές, δεν είναι άμεση. Ένα μειονέκτημα της ιονανταλλακτικής προσυγκέντρωσης είναι, ότι απαιτεί τη χρήση ρυθμιστικών διαλυμάτων όχι μόνο για το pH αλλά και γενικότερα. Τα διαλύματα αυτά προσυγκεντρώνονται επίσης πάνω στη ρητίνη και παρεμποδίζουν τον προσδιορισμό άμεσα ή έμμεσα (θόρυβος, μεγάλο σήμα υποστρώματος).

Για την προσυγκέντρωση μεταλλικών στοιχείων μπορούν να χρησιμοποιηθούν και άλλες στατικές φάσεις. Στήλες από πυρίτια έχουν χρησιμοποιηθεί αυτούσιες ή μετά από κατεργασία με κατάλληλο συμπλεκτικό αντιδραστήριο. Σε όλες τις περιπτώσεις το σύμπλοκο του

μετάλλου, το οποίο μπορεί να σχηματίζεται στο διάλυμα ή πάνω στη στήλη, συγκρατείται με χημική προσρόφηση πάνω σε αυτή. Έτσι συσσωρεύεται και διαχωρίζεται από το μητρικό διάλυμα. Στη συνέχεια το συσσωρευμένο σύμπλοκο εκπλύνεται με μικρό όγκο κατάλληλου διαλύτη και έτσι επιτυγχάνεται μεγάλη προσυγκέντρωση.

vi) Ηλεκτροαπόθεση²⁸

Ένας αριθμός ιχνοστοιχείων, που συνήθως παρεμποδίζουν τις διάφορες αναλύσεις και αλληλεπιδρούν μεταξύ τους παρεμποδίζοντας το ένα το άλλο, μπορούν να αποθεθούν ηλεκτρολυτικά και έτσι να προσυγκεντρωθούν πάνω σε μια κάθοδο από υδράργυρο με εφαρμογή κατάλληλου δυναμικού. Τέτοια στοιχεία είναι ο χαλκός, ο μόλυβδος, το κάδμιο, το νικέλιο και το κοβάλτιο, η απομάκρυνση των οποίων από το δείγμα αφήνει ανεπηρέαστα πολλά μέταλλα, όπως Be, Al, Ti, Zr, Nb, Ta, W και U, τα οποία μπορούν τότε να προσδιοριστούν ανενόχλητα.

Τα μέταλλα, που έχουν αποθεθεί στην κάθοδο, μπορούν με τη σειρά τους να προσδιορισθούν εκλεκτικά με διαδοχική ηλεκτρόλυση(αναδιάλυση) πάνω σε κατάλληλα καθοδικά ηλεκτρόδια(λευκοχρύσου, γραφίτη ή υδραργύρου) με την εφαρμογή κατάλληλου δυναμικού.

vii) Αναδιαλυτική Βολταμετρία.

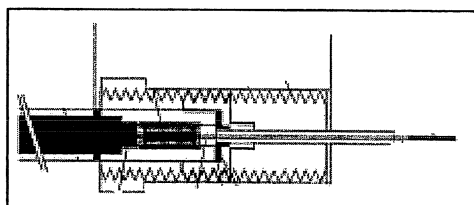
Αποτελεί μια τεχνική η οποία συνδυάζει τα στάδια προσυγκέντρωσης και διαχωρισμού. Τα όρια ανίχνευσης που επιτυγχάνονται, οφείλονται στη συσσώρευση του αναλύτη σε ένα από τα δύο ηλεκτρόδια. Μέχρι πρόσφατα η παραπάνω τεχνική περιοριζόταν στη μορφή της Ανοδικής Αναδιαλυτικής Βολταμετρίας και εύρισκε εφαρμογή κυρίως στην ανάλυση μεταλλικών ιόντων στο νερό. Σήμερα η Καθοδική και η Προσροφητική Αναδιαλυτική Βολταμετρία έχουν επεκτείνει τον ορίζοντα των εφαρμογών στην ανάλυση των περισσοτέρων ιοντικών και οργανικών μορίων με άμεσο ενδιαφέρον στη βιολογική και φαρμακευτική ανάλυση^{29,30}.

Τα ελκυστικά σημεία της μεθόδου είναι η ακρίβεια, η επαναληπτικότητα, η εύκολη αυτοματοποίηση και τα πολύ χαμηλά όρια ανίχνευσης, συγκρίσιμα με αυτά της ICP-MS μόλις με το 1/10 του κόστους. Παρόλα αυτά δεν είναι παγκόσμια αποδεκτή, επειδή πάσχει από σημαντικές παρεμποδίσεις. Συγκεκριμένα το διαλυτό οξυγόνο και το χλώριο επηρεάζουν το στάδιο της αναδιάλυσης. Έτσι είναι πολύ δύσκολο να παραχθούν διαλύματα αναφοράς με το ίδιο ακριβώς ποσοστό διαλυτού οξυγόνου με το άγνωστο δείγμα. Επομένως δεν μπορεί να εξασφαλισθεί η ακριβής διόρθωση του σήματος από την επίδραση του υποστρώματος.

Κάποιοι άλλοι παράγοντες, που απαιτείται να είναι επαναλήψιμοι, είναι οι ρυθμοί ανάδευσης και οι επιφάνειες των ηλεκτροδίων.

viii) *Εκχύλιση*³¹ και *Μικροεκχύλιση*^{32,33} *Στερεάς Φάσης(SPE, SPME)*

Η τεχνική αυτή αναπτύχθηκε σαν μια εναλλακτική λύση στη χρήση των χρωματογραφικών ή άλλων στηλών. Στην πραγματικότητα πρόκειται για μια διήθηση με φίλτρα χημικής συγγένειας, κατά την οποία το δείγμα διέρχεται μέσα από ένα πακεταρισμένο στρώμα προσροφητικού υλικού, που είναι ίδιο με το υλικό πλήρωσης των στηλών όπως αλούμινα, πυρίτια κ.τλ. Η διήθηση γίνεται με εφαρμογή κενού με αποτέλεσμα να κατακρατείται πάνω στο στρώμα του προσροφητικού υλικού μόνο το επιθυμητό συστατικό, το οποίο παραλαμβάνεται με κατάλληλο διαλύτη. Έτσι επιτυγχάνεται προσυγκέντρωση και διαχωρισμός ταυτόχρονα. Με κατάλληλη τροποποίηση του πληρωτικού υλικού μπορεί να διαχωρισθεί εκλεκτικά μεγάλος αριθμός οργανικών και ανόργανων ενώσεων με ιδιαίτερη έμφαση στα σύμπλοκα των μεταλλικών ιχνοστοιχείων.



Σχήμα 4.6 : Διάταξη SPME

Η μικροεκχύλιση στερεάς φάσης(SPME) αποτελεί μια σύγχρονη εξέλιξη της εκχύλισης στερεάς φάσης. Η κύρια διάταξη της SPME φαίνεται στο Σχήμα 4.6. Σε αυτήν η στατική φάση είναι μικροσκοπική με όγκο περίπου $0,001 \text{ cm}^{-3}$. Το υλικό από το οποίο αποτελείται η στατική φάση

είναι ένα υγρό πολυμερές μεγάλου μοριακού βάρους ή ένα στερεό προσροφητικό με μεγάλο επιφανειακό πορώδες. Με το υλικό αυτό επικαλύπτεται μια ίνα μικρής διαμέτρου από τηγμένη πυρίτια, που έρχεται σε επαφή με το δείγμα.

Τα κύρια πλεονεκτήματα της τεχνικής αυτής είναι η απλότητα και η ευελιξία χωρίς την αλλοίωση της ειδοκατανομής. Επειδή όμως είναι μια τεχνική, που στηρίζεται στην αποκατάσταση χημικής ισορροπίας, δεν μπορεί να εφαρμοστεί σε στερεά και σε αιωρήματα. Ακόμη επειδή η εκχύλιση δεν είναι ποσοτική, θα πρέπει να ελέγχεται η απόδοση και η γραμμικότητά της.

ix) *Εκχύλιση με Υπερκρίσιμο Υγρό*^{34,35}

Η τεχνική αυτή αναπτύχθηκε κυρίως για την προσυγκέντρωση οργανικών ενώσεων με σκοπό τον περιορισμό της χρήσης οργανικών διαλυτών. Βασίζεται στην εκχύλιση του αναλύτη με υδροποιημένο αέριο σε υπερκρίσιμες συνθήκες. Με τη διάλυση στο 'υγρό' αυτό κατάλληλων συμπλεκτικών αντιδραστηρίων, τα οποία σχηματίζουν με τα μέταλλα σύμπλοκα

με μεγάλους συντελεστές κατανομής, η τεχνική αυτή εφαρμόζεται τα τελευταία χρόνια με επιτυχία στην εκχύλιση, την προσυγκέντρωση και τον διαχωρισμό μετάλλων.

χ) Προσυγκέντρωση σε Μεμβράνες^{36,37}

Πρόσφατα χρησιμοποιήθηκε η τεχνική τροποποίησης πολυμερικών μεμβρανών με εγκλωβισμό κατάλληλων χημικών παραγόντων με σκοπό την εκλεκτική παγίδευση και προσυγκέντρωση μετάλλων. Η τεχνική αυτή δίνει τη δυνατότητα προσυγκέντρωσης στο σημείο της δειγματοληψίας, χωρίς μεταβολή της ειδοκατανομής, σε ένα μικρό και φθινό κομμάτι πολυμερούς, το οποίο μετά φυλάσσεται και μεταφέρεται άνετα.

4.8.2 ΜΕΘΟΔΟΙ ΔΙΑΧΩΡΙΣΜΟΥ.

Οι πιο συνηθισμένες τεχνικές διαχωρισμού, που συνδέονται με ειδοεκλεκτικούς ανιχνευτές, φαίνονται στον Πίνακα 4.8.

Αν εξαιρέσουμε την τεχνική δημιουργίας υβριδίων, όλες οι υπόλοιπες βασίζονται σε χρωματογραφικούς διαχωρισμούς. Από αυτές οι πλέον δημοφιλείς είναι η υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης και η χρωματογραφία ιονανταλλαγής.

4.8.2.1 Υγρή χρωματογραφία υψηλής πίεσης.

Η Υγρή Χρωματογραφία υψηλής πίεσης είναι μια από τις πλέον εύχρηστες τεχνικές, που χρησιμοποιούνται για το διαχωρισμό μη πτητικών ενώσεων. Έχει χρησιμοποιηθεί ένα ευρύ φάσμα κινητών και στατικών φάσεων για τον διαχωρισμό και την εκλεκτική ανίχνευση μεγάλου αριθμού στοιχείων και ενώσεων. Οι χηλικές φάσεις δεν συνηθίζονται, υπάρχει όμως πληθώρα εφαρμογών, οι οποίες χρησιμοποιούν χρωματογραφία αντίστροφης φάσης με C₁₈ σε συνδυασμό με αντιδραστήρια, που ενισχύουν το σχηματισμό ιοντικών ζευγών, όπως το φωσφορικό τετραβουτυλοαμμώνιο, τα διαιθυλοδιθειοκαρβαμικά άλατα και η 8-Υδροξυκινολίνη. Με την τεχνική αυτή μπορούν να διαχωριστούν διαφορετικές οξειδωτικές καταστάσεις του ίδιου στοιχείου.

Πίνακας 4.8 : Συνολική Συγκριτική Αντιπαραβολή των Τεχνικών Διαχωρισμού.

Μέθοδος Διαχωρισμού	Πλεονεκτήματα	Μειονεκτήματα
Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Απόδοσης (HPLC)	Αρκετά οικονομική. Μεγάλη ποικιλία στατικών φάσεων με ευρύτατες εφαρμογές και παραλλαγές. Εύκολη προσαρμογή σε πολλούς ανιχνευτές.	Οι κινητές φάσεις δεν είναι πάντα συμβατές με τον ανιχνευτή.
Χρωματογραφία Ιονανταλλαγής.	Αρκετά οικονομική. Εύχρηστη και προσιτή σε μεγάλο αριθμό αναλυτών. Εύκολη προσαρμογή σε πολλούς ανιχνευτές.	Η παρουσία αλάτων στα διαλύματα μπορεί να προκαλέσει έμφραξη του ανιχνευτή.
Αέρια Χρωματογραφία (GC)	Εξίσου οικονομική με την HPLC. Προσφέρεται για πτητικές ενώσεις.	Υπάρχει δυσκολία στην σύνδεση με τον ανιχνευτή.
Δημιουργία Υδριδίων.	Εύκολη και οικονομική.	Περιορισμένες εφαρμογές

Η μεγάλη ποικιλία των κινητών φάσεων, που χρησιμοποιούνται με σκοπό την επίτευξη ικανοποιητικού διαχωρισμού, περιορίζεται από την εμφάνιση προβλημάτων στη μέθοδο ανίχνευσης. Επειδή η πλειονότητα των τεχνικών που χρησιμοποιείται στην HPLC πραγματοποιούνται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, δεν παρατηρούνται προβλήματα με τη συνδεσμολογία και τη μεταφορά του δείγματος στον ανιχνευτή. Αυτό αποτελεί ένα από τα μεγάλα πλεονεκτήματα της τεχνικής ως προς την αέρια χρωματογραφία.

4.8.2.2 Χρωματογραφία ιονανταλλαγής.

Οι πιο πολλές από τις λειτουργίες της χρωματογραφίας αυτής είναι ίδιες με την HPLC. Όμως πολλοί από τους διαχωρισμούς είναι προτιμότερο να πραγματοποιούνται σε μικρές ροές-πίεσεις, ώστε να μπορούν να χρησιμοποιηθούν περισταλτικές αντλίες και μικροστήλες ροής με έγχυση του δείγματος, οι οποίες έχουν μικρό κόστος κατασκευής και λειτουργίας και μεγάλη ευκολία σύνδεσης με το σύστημα ανίχνευσης. Στην τεχνική αυτήν η ροή του δείγματος είναι συνήθως 1-2 ml min⁻¹, πράγμα που την καθιστά ιδανική για σύζευξη με

ανιχνευτές πλάσματος, μπορεί όμως να αυξηθεί όταν προσαρμοστεί σε ανιχνευτές ατομικής απορρόφησης.

4.8.2.3 Αέρια χρωματογραφία.

Παρόλο που η αέρια χρωματογραφία είναι μια πολύ διαδεδομένη αναλυτική τεχνική για τον διαχωρισμό πτητικών ειδών, η χρήση της στον προσδιορισμό μεταλλικών στοιχείων και γενικότερα ανόργανων ενώσεων είναι περιορισμένη. Αυτό οφείλεται κυρίως στα προβλήματα μεταφοράς του αναλύτη από την έξοδο της στήλης στον ατομοποιητή. Η κινητή φάση της αέριας χρωματογραφίας είναι ένα αέριο, το οποίο έχει μεγάλη θερμοκρασία, που πρέπει να διατηρείται σε όλη τη διάρκεια της μεταφοράς του αναλύτη. Αν κάτι τέτοιο δεν είναι εφικτό, μπορεί να δημιουργηθούν ψυχρά σημεία, στα οποία να προκαλείται συμπύκνωση του αναλύτη. Για πολύ πτητικές ενώσεις, όπως οι οργανομεταλλικές ενώσεις του μολύβδου, η γραμμή μεταφοράς είναι απλή και η θερμοκρασία δεν χρειάζεται να ξεπεράσει τους 200 °C. Αντίθετα για λιγότερο πτητικές ενώσεις, όπως οι πορφυρίνες, οι απαιτούμενες θερμοκρασίες μπορεί να ξεπεράσουν τους 400 °C και η διατήρησή τους καθ'όλη τη μεταφορά είναι δύσκολη. Άρα είναι δύσκολο να εξασφαλισθεί η απουσία ψυχρών σημείων.

Η πλειονότητα των αεριοχρωματογραφικών μεθόδων, που έχουν εφαρμοστεί σε συνδυασμό με ατομική απορρόφηση, χρησιμοποίησαν ατομοποίηση με φλόγα. Η χρήση της είναι γενικά διαδεδομένη για ουσίες που απαντούν σε μεγάλες συγκεντρώσεις, όπως ο οργανικός μόλυβδος στα καύσιμα ή στα αιωρούμενα σωματίδια στους αυτοκινητόδρομους. Η ευαισθησία της μεθόδου μπορεί να αυξηθεί με την τοποθέτηση ενός αγωγού από χαλαζία ή από κεραμικό κατά μήκος της οπτικής διαδρομής. Έτσι τα όρια ανίχνευσης μειώνονται στην περιοχή των ng mL^{-1} .

Το βασικό πρόβλημα της σύνδεσης της αέριας χρωματογραφίας με διατάξεις πλάσματος είναι, ότι ο μεταλλικός αγωγός μεταφοράς μπορεί να συλλάβει ραδιοσυχνότητες λειτουργώντας σαν κεραία. Αυτό δημιουργεί αστάθεια στο πλάσμα και μπορεί να βλάψει το μηχάνημα και να αποτελέσει πηγή κινδύνου για τους χειριστές.

Σε σύγκριση με τις αντίστοιχες τεχνικές της υγρής χρωματογραφίας η σύνδεση της αέριας χρωματογραφίας με τον εκλεκτικό ανιχνευτή ατομικής απορρόφησης αποδεικνύεται πιο δύσκολη, χρονοβόρα και δαπανηρή.

4.8.2.4 Γένεση υδριδίων.

Παρά το γεγονός ότι δεν είναι μια τεχνική διαχωρισμού, μπορεί να συνδυαστεί με κρυογονική παγίδευση για να ενισχύσει την ειδοταυτοποίηση. Αυτό επιτυγχάνεται ως εξής:

τα υδρίδια, που σχηματίζονται, μεταφέρονται από τον διαχωριστή υγρών-αερίων σε μια παγίδα υγρού αζώτου, με αποτέλεσμα να παγώσουν. Αν στη συνέχεια η γραμμή μεταφοράς θερμανθεί σταδιακά μέχρι τη θερμοκρασία του περιβάλλοντος, τα υδρίδια θα απελευθερωθούν διαδοχικά ανάλογα με το σημείο ζέσεώς τους και θα οδηγηθούν στον ανιχνευτή (συνήθως ατομική απορρόφηση). Η τεχνική αυτή δεν χρησιμοποιείται συχνά, αλλά παρέχει μια πρώτη ένδειξη, ότι η χρωματογραφία δεν η μοναδική λύση για την επίτευξη διαχωρισμών.

4.8.2.5 Ηλεκτροφόρηση σε τριχοειδή.

Η ηλεκτροφόρηση σε τριχοειδή είναι μια ταχέως αναπτυσσόμενη τεχνική. Βέβαια, επειδή οι ταχύτητες ροής που επιτρέπει είναι πολύ μικρές ($10 \mu\text{L min}^{-1}$), δεν είναι συμβατή με την ατομική απορρόφηση, διότι δεν αρκεί για την τροφοδοσία του εκνεφωτή και έτσι δεν έχει χρησιμοποιηθεί για τον εκλεκτικό προσδιορισμό μετάλλων. Δεν αποκλείεται όμως αυτό να γίνει δυνατό με κατάλληλες τροποποιήσεις.

4.9 ΑΝΤΙΠΑΡΑΒΟΛΗ ΤΕΧΝΙΚΩΝ ΚΑΙ ΑΝΙΧΝΕΥΤΩΝ ΣΕ ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ ΕΙΔΟΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ

Στις προηγούμενες παραγράφους γίνεται αναφορά στις διάφορες τεχνικές που χρησιμοποιούνται για τον διαχωρισμό, την προσυγκέντρωση και την ανάλυση μεταλλικών στοιχείων. Όμως οι τεχνικές αυτές δεν ανταποκρίνονται στον ίδιο βαθμό στις προδιαγραφές μιας ανάλυσης ειδοταυτοποίησης σε επίπεδο χημικού είδους, όπως αυτή ορίστηκε στο 2^ο Κεφάλαιο. Στον Πίνακα 4.9 συνοψίζονται οι τεχνικές αυτές, που προτιμώνται για την ειδοταυτοποίηση μεταλλικών στοιχείων. Παρά το γεγονός ότι οι πλέον ευαίσθητες είναι αυτές, που χρησιμοποιούν διέγερση με επαγωγικά συζευγμένο πλάσμα (φασματοσκοπία ατομικής εκπομπής ή μάζας), πιο προσιτή από οικονομικής άποψης είναι η φλογοφωτομετρία ατομικής απορρόφησης. Η τελευταία παρουσιάζει επίσης το πλεονέκτημα, ότι συνδυάζεται χωρίς σημαντικά προβλήματα με την HPLC και δεν απαιτεί ιδιαίτερα εξειδικευμένους χειριστές.

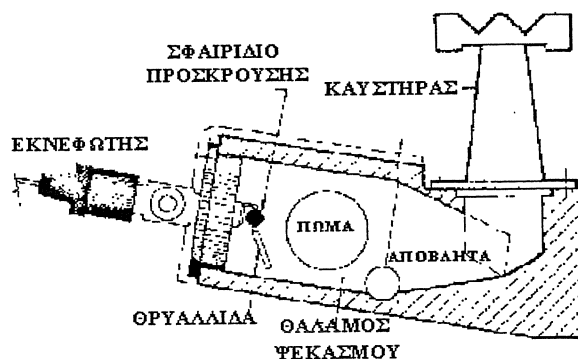
Πίνακας 4.9: Συγκριτική Αντιπαραβολή Τεχνικών Ειδοταυτοποίησης Μετάλλων.

Μέθοδος Ανίχνευσης	Πλεονεκτήματα	Μειονεκτήματα
FAAS	Σχετικά φτηνή. Συμβατή με οργανικούς διαλύτες. Δεν χρειάζεται εξειδικευμένους χειριστές.	Μικρή ευαισθησία.
ETAAS	Μεγαλύτερη ευαισθησία σε σχέση με τη φλόγα.	Πιο ακριβή. Απαιτεί ειδικές διατάξεις για να συνδεθεί σε ροή. Δεν είναι τεχνική ρουτίνας.
ICP-AES	Μεγαλύτερη ευαισθησία σε σχέση με την ατομική απορρόφηση. Ευρύτερη δυναμική περιοχή λειτουργίας.	Πολύ πιο ακριβή. Απαιτεί άριστα εκπαιδευμένους χειριστές.
ICP-MS	Η πλέον ευαίσθητη από τις τεχνικές με μεγάλη ακρίβεια και επαναληπτικότητα.	Η πλέον δαπανηρή. Επισφαλής στη χρήση οργανικών διαλυτών υγρής χρωματογραφίας. Απαιτεί εκπαιδευ-μένους χειριστές.

4.9.1 ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΑ ΑΤΟΜΙΚΗΣ ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗΣ ΜΕ ΦΛΟΓΑ.

Παρά το γεγονός ότι η τεχνική αυτή είναι από τις πιο κοινές στην ανάλυση μετάλλων, η εφαρμογή της στην ανάλυση ειδοταυτοποίησης σε επίπεδο ιχνών είναι περιορισμένη λόγω της χαμηλής της ευαισθησίας.

Αυτό οφείλεται στην περιορισμένη ικανότητα μεταφοράς του δείγματος από τον εκνεφωτή στη φλόγα (από το εισαγόμενο δείγμα μόνο ένα 10-15% φτάνει στη φλόγα) και στο μικρό χρόνο παραμονής του ατομοποιημένου αναλύτη στην



Σχήμα 4.7 : Εισαγωγή και ατομοποίηση δείγματος σε φλόγα.

οπτική διαδρομή. Τα φασματοφωτόμετρα ατομικής απορρόφησης είναι συγκριτικά φτηνά, απλά στη χρήση και δεν απαιτούν ειδικά εκπαιδευμένους χειριστές. Η δυνατότητα χρήσης

οργανικών διαλυτών είναι απεριόριστη, με μοναδικό κίνδυνο την πιθανή απόθεση άνθρακα. Οι οργανικοί διαλύτες προτιμούνται από τα υδατικά διαλύματα, επειδή μειώνουν την επιφανειακή τάση, το ιζώδες και την πυκνότητα. Έτσι αυξάνουν την αποτελεσματικότητα της εκνέφωσης και της ατομοποίησης. Με τον τρόπο αυτό μπορεί να επιτευχθούν χαμηλότερα όρια ανίχνευσης και αυξημένη ευαισθησία.

Τόσο η υγρή όσο και η αέρια χρωματογραφία μπορούν να προσαρμοστούν σε ανιχνευτές φλόγας. Βέβαια η σύζευξη με αέρια χρωματογραφία δεν είναι εύκολη, καθώς το είδος της διεπιφάνειας επαφής μεταξύ της στήλης και του ατομοποιητή είναι αρκετά προβληματικό. Πάντως ειδικά σε αναλύσεις ειδοταυτοποίησης ιχνοστοιχείων ο ανιχνευτής φλόγας συνδέεται συνήθως με αέρια χρωματογραφία. Η ευαισθησία της μεθόδου αυξάνεται, όταν η στήλη συνδέεται κατευθείαν με τη φλόγα και όχι μέσω του εκνεφωτή. Αυτό επιτυγχάνεται συνήθως με τη χρήση αγωγών από χαλαζία ή κεραμικό υλικό.

4.9.2 ΗΛΕΚΤΡΟΘΕΡΜΙΚΗ ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΑ ΑΤΟΜΙΚΗΣ ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗΣ (ETAAS).

Αυτή η τεχνική ατομοποίησης έχει περίπου 10-100 φορές χαμηλότερα όρια ανίχνευσης από την προηγούμενη. Γενικά όμως η αγορά και η χρήση ενός οργάνου για την τεχνική αυτή είναι ακριβότερη και πιο δύσκολη, ενώ πολλές φορές απαιτεί εξειδικευμένους χρήστες.

Δυστυχώς η ETAAS δεν παύει να είναι μια τεχνική στατική δηλαδή ασυνεχούς ανάλυσης, καθώς το δείγμα(10-100 μL) εισάγεται στο φούρνο, ξηραίνεται, αποτεφρώνεται(για να απομακρυνθούν οι παρεμποδίσσεις από το υπόστρωμα) και μετά ατομοποιείται, ώστε να διεγερθεί στην οπτική διαδρομή. Αυτό δυσκολεύει τη χρήση χρωματογραφικών μεθόδων. Συχνά τα επιθυμητά είδη συλλέγονται μετά από τον χρωματογραφικό διαχωρισμό αναλύονται χωριστά. Αυτή η διαδικασία είναι χρονοβόρα και απαιτεί σημαντική πειραματική προκατεργασία για να εξασφαλισθεί η παρουσία των επιθυμητών ειδών στα αντίστοιχα κλάσματα. Μια εναλλακτική προσέγγιση είναι η χρήση μιας διάταξης θερμοψεκασμού ή ηλεκτροψεκασμού, ώστε το δείγμα να εισαχθεί στον φούρνο όσο αυτός διατηρεί μια σταθερή θερμοκρασία ατομοποίησης. Η μέθοδος αυτή συχνά αποδεικνύεται όχι μόνο ακριβή αλλά και ανακριβής, επειδή προκαλεί ταχύτατη φθορά του γραφίτη.

Η χρήση οργανικών διαλυτών στην ETAAS είναι πολύ βολική αρκεί να εξατμίζονται εύκολα χωρίς εκτίναξη σταγονιδίων ή αφρισμό. Μάλιστα προτιμώνται από το νερό λόγω της αυξημένης συμβατότητας με το γραφίτη. Έτσι μπορούν να διαβρέχουν την επιφάνειά του αντί να σχηματίζουν σταγονίδια με μη επαναληπτικό τρόπο. Η εισαγωγή διαλυμάτων μεγάλης ιοντικής ισχύος(μεγάλη συγκέντρωση αλάτων) μπορεί να δημιουργήσει προβλήματα αυξάνοντας το σήμα του υποστρώματος, όταν δεν είναι δυνατή η αύξηση της θερμοκρασίας

αποτέφρωσης. Η αύξηση στο σήμα του υποστρώματος οφείλεται στην ταυτόχρονη ατομοποίηση των αλάτων αυτών με τον αναλύτη.

4.9.3 ΑΤΟΜΙΚΗ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ ΕΚΠΟΜΠΗΣ ΜΕ ΕΠΑΓΩΓΙΚΑ ΣΥΖΕΥΓΜΕΝΟ ΠΛΑΣΜΑ(ICP-AES).

Η τεχνική αυτή γίνεται όλο και πιο δημοφιλής στην ανάλυση ειδοταυτοποίησης. Αυτό οφείλεται στο γεγονός, ότι παρά τον ακριβό εξοπλισμό έχει πολύ χαμηλότερα όρια ανίχνευσης και μεγαλύτερη δυναμική περιοχή από τα φασματοφωτόμετρα φλόγας. Επιπλέον επιτρέπει την παρακολούθηση περισσότερων φασματικών γραμμών ταυτόχρονα ή πιο γρήγορα από την ατομική απορρόφηση. Βέβαια για τη βέλτιστη απόδοση θα πρέπει η διάταξη να χρησιμοποιείται από καταρτισμένους χειριστές. Οι πιο σημαντικές παράμετροι, που πρέπει να λαμβάνονται υπόψη κατά τη βελτιστοποίηση, είναι η ροή των αερίων, η ισχύς και το ύψος παρακολούθησης, τα οποία επηρεάζουν σημαντικά το σήμα. Για το σκοπό αυτό προτείνεται η πολυπαραμετρική προσέγγιση.

Οι επιπτώσεις των οργανικών διαλυτών στο πλάσμα ποικίλλουν ανάλογα με την ποιότητα του εξοπλισμού. Έτσι π.χ κάποιες διατάξεις λειτουργούν χωρίς προβλήματα σε απόλυτη μεθανόλη, ενώ άλλες όμως εμφανίζουν αντανάκλαση ισχύος πάνω από 40 W. Αυτό ενέχει τον κίνδυνο βλάβης στη γεννήτρια συχνοτήτων. Σε ακραίες καταστάσεις το πλάσμα μπορεί να καταστραφεί ακόμα και από μικρές σχετικά ποσότητες οργανικών διαλυτών, όπως π.χ. 30% ακετονιτρίλιο. Όταν επιβάλλεται η χρήση οργανικού διαλύτη, θα πρέπει η εισαγωγή του να γίνεται σταδιακά, ώστε να υπάρχει αρκετός χρόνος για να εξισορροπηθεί η επίδρασή του.

Οι ροές εισροής ενός εκνεφωτή ICP(1-2 ml min⁻¹) είναι συμβατές με αυτές της HPLC και έτσι η σύζευξη των δύο τεχνικών είναι πολύ απλή, τουλάχιστον θεωρητικά.

Αντίθετα η σύνδεση μιας διάταξης ICP-AES με αέρια χρωματογραφία είναι δύσκολη, επειδή οι πυρσοί ιοντισμού του αερίου είναι ενσωματωμένοι στη διάταξη, ώστε να προστατεύουν τους χρήστες από τα ραδιοκύματα και από βλάβες στα μάτια. Αυτό σημαίνει, ότι προκειμένου να συνδέσουμε τη στήλη με τους πυρσούς πλάσματος θα πρέπει να δημιουργήσουμε κατάλληλες οπές, κάτι που δεν προτιμάται από τα αναλυτικά εργαστήρια.

4.9.4 ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ ΜΑΖΩΝ ΜΕ ΕΠΑΓΩΓΙΚΑ ΣΥΖΕΥΓΜΕΝΟ ΠΛΑΣΜΑ (ICP-MS).

Παρά το γεγονός ότι έχουν κατασκευαστεί πιο φθηνά και ευέλικτα μοντέλα τα μηχανήματα ICP-MS είναι απαγορευτικά ακριβά. Οι φασματογράφοι μαζών είναι σχεδόν αποκλειστικά τετράπολα, ενώ όταν απαιτείται μεγάλη διακριτική ικανότητα μπορεί να χρησιμοποιηθούν ακόμα πιο ακριβά μηχανήματα μαγνητικών τομέων. Παρά το υψηλό της

κόστος η χρήση της ICP-MS επεκτείνεται συνεχώς. Τα μηχανήματα που απαιτούνται είναι πολύπλοκα και για αξιόπιστα αποτελέσματα απαιτούνται καταρτισμένοι χειριστές. Η ευαισθησία τους είναι εκπληκτική, καθώς επιτρέπουν όρια ανίχνευσης μέχρι 1 ng L^{-1} χωρίς καμία προσυγκέντρωση, με μια γραμμική περιοχή 5-6 τάξεων μεγέθους. Έτσι αποτελούν τα πλέον κατάλληλα όργανα για αναλύσεις ειδοταυτοποίησης.

Οι διατάξεις ICP-MS έχουν τα ίδια πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα με την AES-ICP. Έχουν όμως και κάποια μειονεκτήματα επιπλέον. Έτσι σε αντίθεση με την AES-ICP όλες οι διατάξεις ICP-MS υφίστανται σημαντικές αλλοιώσεις από τους οργανικούς διαλύτες.

Τα όργανα ICP-MS είναι ιδιαίτερα προηγμένα και έτσι η χρήση τους ενδείκνυται μόνο, όταν οι συγκεντρώσεις των αναλυτών είναι χαμηλότερες από τα όρια ανίχνευσης των άλλων τεχνικών.

4.9.5 ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ ΑΤΟΜΙΚΟΥ ΦΘΟΡΙΣΜΟΥ

Η τεχνική αυτή έχει περιορισμένες εφαρμογές στην ανάλυση ειδοταυτοποίησης. Ο ατομικός φθορισμός έχει πολλά μειονεκτήματα, όπως σκέδαση της ακτινοβολίας, αλλά με τη χρήση κατάλληλων διατάξεων τα περισσότερα προβλήματα έχουν εξαλειφθεί ειδικά στην περίπτωση συγκεκριμένων αναλυτών. Για παράδειγμα ο υδράργυρος έχει προσδιοριστεί με σύζευξη αέριας χρωματογραφίας σε έναν ανιχνευτή ατομικού φθορισμού δίνοντας όρια ανίχνευσης χαμηλότερα από 1 ng mL^{-1} . Οι χρησιμοποιούμενες διατάξεις έχουν μικρό κόστος και μεγάλη εκλεκτικότητα. Δεν απαιτούν μεγάλη εξειδίκευση, αλλά συνήθως χρειάζονται ένα επιπλέον στάδιο δημιουργίας ατμών, το οποίο απαιτεί καλές γνώσεις χημείας, ώστε να σχεδιαστεί η ελαχιστοποίηση των παρεμποδίσεων.

4.9.6 ΠΛΑΣΜΑ ΣΥΝΕΧΟΥΣ ΡΕΥΜΑΤΟΣ(DCP) ΚΑΙ ΠΛΑΣΜΑ ΕΠΑΓΟΜΕΝΟ ΜΕ ΜΙΚΡΟΚΥΜΑΤΑ(MIP).

Τα μηχανήματα αυτά δεν είναι συνηθισμένα σε αναλύσεις ειδοταυτοποίησης. Το DCP έχει μια ευρεία περιοχή γραμμικότητας(αρκετές τάξεις μεγέθους) και είναι λίγο πιο ευαίσθητο από τη φλόγα. Τα πλεονεκτήματά του είναι η συμβατότητά του με τη χρήση οργανικών διαλυτών και διαλυμάτων με μεγάλη συγκέντρωση αλάτων. Επίσης είναι συγκριτικά φθηνότερο από τις διατάξεις ICP-AES, ενώ παράλληλα διατηρεί τη δυνατότητα πολυεπίπεδης ανάλυσης. Δυστυχώς το μεγάλο του μειονέκτημα είναι, ότι υπόκειται σε μεγάλες παρεμποδίσεις από στοιχεία που ιοντίζονται εύκολα. Για την αντιμετώπιση του προβλήματος αυτού συνηθίζεται η προσθήκη μεγάλης περιόσεως νιτρικού λιθίου σε όλα τα πρότυπα και τα δείγματα. Η

χρήση μια τέτοιας περίπτωσης όμως δεν είναι συμβατή με τη χρωματογραφία και έτσι η τεχνική DCP δεν χρησιμοποιείται ως ανιχνευτής για αναλύσεις ειδοταυτοποίησης.

Η τεχνική του MIP έχει συνδεθεί με μεγάλη επιτυχία με την αέρια χρωματογραφία. Έτσι η χρήση της αφορά κυρίως την ανάλυση αερίων δειγμάτων διότι ελάχιστα μικρόλιτρα υγρού διαλύτη καταστρέφουν το πλάσμα.

4.9.7 ΆΛΛΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ ΓΙΑ ΑΝΑΛΥΣΗ ΕΙΔΟΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ.

Υπάρχουν αρκετές άλλες τεχνικές, που μπορεί να χρησιμεύσουν σε αναλύσεις ειδοταυτοποίησης, χωρίς να χρειαστεί ο συνδυασμός χρωματογραφικών στηλών με ανιχνευτές ατομικής φασματοσκοπίας. Οι τεχνικές αυτές απλά αναφέρονται, αφού η εφαρμογή τους είναι σπάνια και περιορισμένη. Είναι κατανοητό, ότι η HPLC μπορεί να συνδεθεί με πληθώρα ανιχνευτών συμπεριλαμβανομένης και της φασματοσκοπίας υπεριώδους(αν και σπάνια λόγω μικρής μοριακής απορροφητικότητας των ενώσεων) και της ηλεκτροχημικής ανίχνευσης. Η αέρια χρωματογραφία έχει προσαρμοσθεί σε ανιχνευτές σύλληψης ηλεκτρονίου για τον προσδιορισμό οργανομεταλλικών ενώσεων του κασσιτέρου, του αρσενικού, του μολύβδου και του υδραργύρου. Αυτός ο τύπος ανιχνευτή δεν εμφανίζει μεγάλη εκλεκτικότητα και έτσι η παρουσία κορυφών λόγω υποστρώματος μπορεί να προκαλέσει σύγχυση. Οι ηλεκτροχημικές μέθοδοι, όπως η ανοδική αναδιαλυτική βολταμετρία, τα εκλεκτικά ηλεκτρόδια ιόντων και η πολαρογραφία, βρίσκουν περιορισμένη εφαρμογή στην ανάλυση ειδοταυτοποίησης. Τα εκλεκτικά ηλεκτρόδια ιόντων έχουν μικρή ευαισθησία και μπορούν να χρησιμοποιηθούν μόνο σε πολύ ρυπασμένα ύδατα, ενώ οι άλλες δύο τεχνικές δεν προσφέρονται για διάκριση ανάμεσα σε διαφορετικές οξειδωτικές καταστάσεις του ίδιου στοιχείου. Επίσης στη βιβλιογραφία απαντούν μια σειρά λιγότερο γνωστών τεχνικών, όπως Φθορισμός Ακτίνων-X, Περίθλαση Ακτίνων-X, Φασματοσκοπία Εσωτερικών(Auger) ηλεκτρονίων και Φασματοσκοπία Ηλεκτρονικού Παραμαγνητικού Συντονισμού(EPR).

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Vandecasteele, C; Block, C.B., *Modern Methods for Trace Element Determination*, John Wiley, Chichester, UK, **1993**.
2. Ohls, K.; Sommer, D. *Anal. Spectrosc. Libr.*, **1991**, 5, 227.
3. Prichard, E.; MacKay, G.M.; Points, J., *Trace Analysis*, Royal Society of Chemistry, Cambridge, **1996**.
4. Komaromy-Hiller, G., *Anal. Chem.*, **1999**, 71, 338R.
5. Jackson, K.W.; Lu, S., *Anal. Chem.*, **1998**, 70, 363R
6. Jackson, K.W.; Qiao, H., *Anal. Chem.*, **1992**, 64, 50R.
7. Haswell, S.J., *Atomic Absorption Spectrometry. Theory, design and applications.*, Elsevier, Amsterdam, **1992**.
8. Ebdon, L., *An Introduction to Atomic Absorption Spectrometry*, Heyden, London, **1982**.
9. Taylor, A.; Branch, S.; Crews, H.M.; Halls, D.J., *J. Anal. At. Spectrom.*, **1993**, 8, 79R.
10. Sturgeon, R.E., *Spectrochim. Acta B*, **1997**, 52, 1451.
11. Tahan, J.E.; Granadillo, V.A.; Romero, R.A., *Anal. Chim. Acta*, **1994**, 295, 187.
12. Winge, R.K.; Fassel, V.A.; Peterson, V.J., Floyd, M.A., *Inductively Coupled Plasma – Atomic Emission Spectroscopy: an Atlas of Spectral Information*, Elsevier, Amsterdam, **1985**.
13. Moore, G.L., *Introduction to Inductively Coupled Plasma-Atomic Emission Spectrometry*, Elsevier, Amsterdam, **1989**.
14. Zsindely, S.; Braun, T., *Trends Anal. Chem.*, **1992**, 11, 267.
15. Durrant, S.F., *Trends Anal. Chem.*, **1992**, 11, 68.
16. Kanicky, V.; Otruba, V.; Mermet, J.M., *Talanta*, **1999**, 48, 859.
17. Bond, A.H.; Dietz, M.L.; Rogers, R.D.(eds), *Metal-Ion Separation and Preconcentration progress and opportunities*, American Chemical Society, Oxford University Press, Washington, **1999**.
18. Tomlinson, A.J.; Benson, L.M.; Guzman, N.A.; Naylor, S., *J. Chromatogr. A*, **1996**, 744, 3-15.
19. Tolg, G.; Mizuike, A.; Zolotov, Y.A.; Hiraide, M.; Kuzmin, N.M., *Pure Appl. Chem.*, **1988**, 60, 1417
20. Zolotov, T.A., *Pure Appl. Chem.*, **1978**, 50, 129.

21. Minczewski, J.; Chwastowska, J.; Dybczynski, R., *Separation and Preconcentration Methods in Inorganic Trace Analysis*, Ellis Horwood, Chichester, UK, **1982**.
22. Cresser, M.S., *Solvent extraction in Flame Spectroscopic Analysis*, Butterworth London, **1978**.
23. Jin, G.; Kan, J.; Zhu, Y.; Lei, N.; Chen, B., *Microchem. Journal*, **2000**, 64, 111.
24. Ali, A.; Yin, X.; Shen, H.; Ye, Y.; Gu, X., *Anal. Chim. Acta*, **1999**, 392, 283.
25. Abollino, O.; Aceto, M.; Bruzzoniti, M.C.; Mentasti, E.; Sarzanini, C., *Anal. Chim. Acta*, **1998**, 375, 293.
26. Townshend, A.; Jackwerth, E., *Pure Appl. Chem.*, **1989**, 61, 1643
27. Sarzanini, C., *J. Chromatogr. A*, **1999**, 850, 213.
28. Song, F.Y.; Shiu, K.K., *J. Electroanal. Chem.*, **2001**, 498, 161.
29. Keller, O.C.; Buffle, J., *Anal. Chem.*, **2000**, 72, 943.
30. Pretty, J.R.; Deng, H.; Goeringer, D.E.; Van Berkel, G.J., *Anal. Chem.*, **2000**, 72, 2066.
31. Johnson, W.E.; Fendinger, N.J.; Plimmer, J.R., *Anal. Chem.*, **1991**, 63, 1510.
32. Mester, Z.; Sturgeon, R.; Pawliszyn, J., *Spectrochim. Acta Part B*, **2001**, 56, 233.
33. Wu, J.; Pawliszyn, J., *J. Chromatogr. A*, **2001**, 909, 37.
34. Khorassani, M.H.; Combs, M.T.; Teylor, L.T., *J. Chromatogr. A*, **1997**, 774, 37.
35. Wai, C.M.; Wang, S., *J. Chromatogr. A*, **1997**, 785, 369.
36. Kantipuly, C.; Katragadda, S; Chow, A.; Gesser, H.D., *Talanta*, **1990**, 37, 491.
37. Chen, Y.; Ding, C.M.; Zhou, T.Z.; Qi, D.Y., *Fresenius J. Anal. Chem.*, **1999**, 363, 119.

ΠΡΟΟΙΜΙΟ

Το χρώμιο είναι ένα ιχνοστοιχείο με αξιοσημείωτη διατροφική αξία. Παίζει σημαντικό ρόλο στην ενεργοποίηση της ινσουλίνης ρυθμίζοντας έτσι τη μείωση της γλυκόζης στο αίμα, ενώ ταυτόχρονα αποτελεί συστατικό του *Παράγοντα Ανοχής της Γλυκόζης* (Glucose Tolerance Factor)¹ σε έναν οργανισμό. Δεν παύει όμως να είναι και ένα τοξικό, βαρύ μέταλλο. Η τοξικότητά του αυτή εξαρτάται από την οξειδωτική κατάσταση στην οποία απαντά. Έτσι το Cr(VI) είναι πιο τοξικό από το Cr(III), λόγω της δραστηριότητας-κινητικότητάς του στα υδατικά διαλύματα². Αποτελεί επίσης δυνητικό καρκινογόνο ακόμη και σε ιχνοποσότητες, καθώς η οξειδωτική του δραστηριότητα οδηγεί στο σχηματισμό ελευθέρων ριζών, οι οποίες συμβάλλουν στη δημιουργία όγκων³. Ο διπλός αυτός ρόλος του Cr κάνει κατανοητή την ανάγκη για διάκριση και προσδιορισμό των δύο αυτών μορφών του. Η κύρια πηγή απελευθέρωσης Cr(VI) στο περιβάλλον είναι η οξείδωση του Cr(III) είτε μέσω των κατεργασιών, που αυτό υφίσταται στις βιομηχανίες ή λόγω της παρουσίας (κυρίως στο έδαφος) άλλων ισχυρών οξειδωτικών, όπως τα υπερμαγγανικά ιόντα. Η αυξανόμενη

παραγωγή του Cr(VI) ενέχει τον κίνδυνο της συσσώρευσής του στο περιβάλλον και επομένως την πιθανότητα εναπόθεσής του σε τμήματα διαφόρων φυτικών οργανισμών, όπως φρούτα και λαχανικά. Έτσι μέσω της τροφικής αλυσίδας δημιουργείται κίνδυνος και για τον άνθρωπο⁴⁻⁹.

Με βάση τα παραπάνω και έχοντας υπόψη το διατροφικό ρόλο του Cr(III) γίνεται κατανοητό, ότι ο προσδιορισμός των δύο αυτών ειδών του χρωμίου (ακόμη και σε ιχνοποσότητες) με χρήση απλών, ευαίσθητων και ταχειών τεχνικών, αποκτά ιδιαίτερη σημασία^{10,11}.

Για την αξιόπιστη ειδοταυτοποίηση των δύο αυτών ειδών του χρωμίου υπάρχει διαρκής συζήτηση και διεθνής απαίτηση για την ανάπτυξη καλά τεκμηριωμένων και οικονομικών τεχνικών που να επιτρέπουν εύκολη προσαρμογή τους στα οικονομικά δεδομένα των συμβατικών αναλυτικών εργαστηρίων. Κάποιες από τις αναλυτικές τεχνικές, που έχουν προταθεί για την ανάλυση ειδοταυτοποίησης του χρωμίου, περιλαμβάνουν χρωματογραφία ιονανταλλαγής¹²⁻¹⁴, συγκαταβύθιση¹⁵, ηλεκτροαπόθεση σε φούρνο γραφίτη¹⁶, χημειοφωταύγεια με ανάλυση έγχυσης δείγματος σε συνεχή ροή¹⁷, ηλεκτροφόρηση με τριχοειδείς στήλες^{18,19} και φθορισμομετρία²⁰⁻²². Η άμεση ανάλυση ειδοταυτοποίησης του χρωμίου μπορεί να πραγματοποιηθεί μόνο με εξαιρετικά ευαίσθητους ανιχνευτές, όπως το ICP-MS, ο οποίος όμως δεν είναι οικονομικά προσιτός για κάθε αναλυτικό εργαστήριο. Σχετικά πρόσφατα έχουν δημοσιευθεί εκτεταμένες ανασκοπήσεις των τεχνικών, που έχουν αναπτυχθεί και εφαρμοστεί στην ανάλυση ειδοταυτοποίησης χρωμίου στο περιβάλλον²³⁻²⁸.

Είναι σχεδόν δεδομένο, ότι η φασματοφωτομετρία ατομικής απορρόφησης με φλόγα μπορεί να μετρήσει το χρώμιο αξιόπιστα σε συγκεντρώσεις περίπου 100-250 $\mu\text{g L}^{-1}$ (ή και 1 $\mu\text{g L}^{-1}$ με χρήση ηλεκτροθερμικής ατομοποίησης), δεν μπορεί όμως να χρησιμοποιηθεί για την ειδοταυτοποίηση των δύο οξειδωτικών βαθμίδων του Cr, καθώς το μετρούμενο είδος είναι σε κάθε περίπτωση τα άτομα του χρωμίου²⁹⁻³². Έτσι συνηθίζεται, να προηγείται ένας χρωματογραφικός διαχωρισμός των δύο οξειδωτικών καταστάσεων με μια απλή ιονανταλλακτική στήλη, λόγω του διαφορετικού πρόσημου του φορτίου τους. Πιο συχνά όμως η ειδοταυτοποίηση επιτυγχάνεται με διατάξεις οπτικής ανίχνευσης (απορρόφησης ή φθορισμού). Στις μεθόδους αυτές το Cr(III) λόγω της περιορισμένης χημικής του

δραστηριότητας οξειδώνεται σε Cr(VI), το οποίο αντιδρά πλέον εύκολα με τα διάφορα αντιδραστήρια. Η πρακτική αυτή εμφανίζει πάντα προβλήματα ιδιαίτερα σε χαμηλές συγκεντρώσεις, όπου η ποσοτική οξείδωση του Cr(III) είναι δύσκολη και απαιτεί μεγάλες συγκεντρώσεις αντιδραστηρίων. Επίσης προϋποθέτει καταστροφή της περίσσειας του οξειδωτικού, πράγμα που δυσκολεύει την προσαρμογή σε συστήματα ροής, στα οποία προσδίδει μεγάλο παράσιτο σήμα από το υπόστρωμα (background signal). Το σίγουρο είναι, ότι οι τεχνικές αυτές δύσκολα μπορούν να αποδώσουν αξιόπιστα στα όρια των $\mu\text{g L}^{-1}$, που είναι οι συγκεντρώσεις του χρωμίου σε περιβαλλοντικά δείγματα, χωρίς προσυγκέντρωση. Μια πρώτη προσέγγιση προς την κατεύθυνση αυτή ήταν η αντίδραση με κατάλληλα οργανικά αντιδραστήρια και η εκχύλιση των συμπλόκων σε οργανικούς διαλύτες³³⁻³⁵. Επίσης χρησιμοποιήθηκε η εκλεκτική προσρόφηση-εκρόφιση ενώσεων του χρωμίου σε κατάλληλα προσροφητικά ή τροποποιημένα υλικά³⁶⁻³⁸. Για παράδειγμα χρωματογραφικές στήλες αλλά και μικροστήλες πληρωμένες με C₁₈ (octadecylsilica) χρησιμοποιήθηκαν για την προσυγκέντρωση του χρωμίου με ακινητοποίηση διαφόρων αντιδραστηρίων(μεταξύ των οποίων και το APDC) και μέτρηση με ατομική ή μοριακή απορρόφηση, χημειοφωταύγεια και ηλεκτροχημικούς αισθητήρες³⁹⁻⁴⁵.

Οι τασενεργές ή επιφανειακά δραστικές ουσίες είναι μια μεγάλη κατηγορία ενώσεων, οι οποίες εμφανίζουν ποικίλες ενδιαφέρουσες ιδιότητες. Στα υδατικά τους διαλύματα, τα περισσότερα τασενεργά και ιδιαίτερα τα μη ιοντικά(αφόρτιστα), σχηματίζουν μικύλλια. Τα μικύλλια αυτά σε συνήθεις θερμοκρασίες, που είναι διαφορετικές για κάθε τασενεργό, διασπείρονται ομοιόμορφα στην υδατική φάση σχηματίζοντας διαλύματα, τα οποία από μακροσκοπική άποψη είναι ομογενή και μονοφασικά. Τα ομογενή και διαυγή αυτά διαλύματα αρχίζουν να θολώνουν και να αποκτούν μεγαλύτερο ιξώδες, όταν η θερμοκρασία τους ξεπεράσει μια συγκεκριμένη τιμή. Η θερμοκρασίας αυτή αποκαλείται σημείο νεφέλωσης(CPT)⁴⁶ λόγω των νεφελωμάτων, που σχηματίζουν τα μικύλλια συσσωματούμενα σε μορφή υδρόφοβων μεγαλομορίων. Πάνω από την τιμή αυτή το διάλυμα παύει να είναι ομογενές και διακρίνονται καθαρά δύο ξεχωριστές φάσεις. Η μία είναι η μικυλλιακή και αποτελείται σχεδόν εξολοκλήρου από τα μικύλλια του τασενεργού, στα οποία έχουν

προσροφηθεί ή συνδεθεί αμελητέες ποσότητες νερού. Εξακολουθεί βέβαια να υπάρχει η κυρίως υδατική φάση, στην οποία η ποσότητα των μικυλλίων αντιστοιχεί στη λεγόμενη κρίσιμη μικυλλιακή συγκέντρωση(cmc). Στην πραγματικότητα η cmc αντιστοιχεί στην τιμή της διαλυτότητας της τασενεργού ουσίας στη συγκεκριμένη θερμοκρασία. Το φαινόμενο της νεφέλωσης αποδίδεται στη ραγδαία αύξηση του αριθμού συσώρευσης, δηλαδή του πλήθους των μονομερών, που απαρτίζουν το μικύλλιο με την αύξηση της θερμοκρασίας^{47,48}. Αν και το φαινόμενο αυτό δεν έχει εξηγηθεί πλήρως, μπορεί να αποδοθεί στον προσανατολισμό των πολικών ομάδων των μονομερών με μηχανισμούς όμοιους με αυτούς της κροκίδωσης των κολλοειδών. Το φαινόμενο της νεφέλωσης είναι αντιστρεπτό και όταν η θερμοκρασία πέσει κάτω από το CPT, το διάλυμα ξαναγίνεται ομογενές και μονοφασικό. Τα μικύλλια που σχηματίζονται σε υδατικά διαλύματα παρουσιάζουν διάφορα σχήματα. Πάντοτε όμως ο προσανατολισμός των δραστικών ομάδων των μονομερών σωματιδίων της τασενεργού ουσίας είναι τέτοιος, ώστε η εξωτερική επιφάνεια του μικυλλίου να έχει υδρόφιλο χαρακτήρα ενώ η εσωτερική υδρόφοβο. Στον υδρόφοβο αυτόν πυρήνα εγκλωβίζονται λόγω παγίδευσης ή με μηχανισμούς εκχύλισης-κατανομής υδρόφοβα μόρια ή μακρομοριακά συστήματα. Η ικανότητα αυτή των μικυλλιακών συστημάτων έχει βρει ποικίλες εφαρμογές στη συλλογή και εκχύλιση τέτοιων υδρόφοβων συστημάτων από το οργανικό περιβάλλον τους⁴⁹⁻⁵¹. Οι αναλυτικές δυνατότητες της τεχνικής αυτής έχουν περιγραφεί τις τελευταίες 3 δεκαετίες και πολλά αναλυτικά σχήματα έχουν εφαρμοσθεί με επιτυχία ως εναλλακτικές λύσεις στη χρήση οργανικών διαλυτών⁵²⁻⁵⁷.

Πρόσφατα η τεχνική εκχύλισης με σχηματισμό νεφελωμάτων εφαρμόστηκε για την προσυγκέντρωση Cd, Ni και Zn, ως προκαταρκτικό στάδιο για τον προσδιορισμό τους σε ίχνη με φλογοφασματοφωτομετρία ατομικής απορρόφησης(FAAS)^{58,59}. Η διερεύνηση της δυνατότητας ειδοταυτοποίησης με την τεχνική αυτή, με την ταυτόχρονη δυνατότητα προσυγκέντρωσης και προσδιορισμού των διακριτών ειδών σε επίπεδα συγκεντρώσεων $\mu\text{g L}^{-1}$, αποτελεί μια πρόκληση λόγω της διαφορετικής συμπεριφοράς τους στις χημικές αντιδράσεις και της βιολογικής τους σημασίας. Με βάση τη διαφορετική χημική συμπεριφορά των διαφόρων ειδών, εφαρμόστηκε ο συνδυασμός του CPE με κατάλληλα

αντιδραστήρια, με τα οποία το επιλεγόμενο είδος αντιδρά εκλεκτικά σχηματίζοντας υδρόφοβες μοριακές ενώσεις. Ειδικότερα, όταν η ανάλυση ειδοταυτοποίησης στοχεύει στην διάκριση διαφορετικών οξειδωτικών καταστάσεων του ίδιου στοιχείου, η χρήση της τεχνικής αυτής προσφέρει μια νέα προοπτική καθώς τα μικυλλιακά εκχυλίσματα έχουν μια σειρά από ευεργετικές ιδιότητες⁶⁰⁻⁶³, ενώ παράλληλα δίνουν τη δυνατότητα ανάλυσης με μια ποικιλία αναλυτικών τεχνικών⁶⁴⁻⁷¹.

Η ταυτόχρονη προσυγκέντρωση που επιτυγχάνεται επιτρέπει τον προσανατολισμό της μελέτης στην ειδοταυτοποίηση σε περιβαλλοντικά δείγματα, όπως τα φυσικά ύδατα, στα οποία οι συγκεντρώσεις των μορφών αυτών είναι πολύ χαμηλές.

Στη συνέχεια παρουσιάζονται πέντε πειραματικές πορείες. Με αυτές γίνεται προσπάθεια να επιτευχθεί η ειδοταυτοποίηση του χρωμίου σε ένα ευρύ φάσμα υποστρωμάτων και συγκεντρώσεων, με ακρίβεια, ταχύτητα και κυρίως οικονομία.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Wilson, C.I.; Wilson, D.W., *Comprehensive Analytical Chemistry*, Vol I^c, Amsterdam, **1962**.
2. Moore, J.W.; Ramamoorthy, S., *Heavy Metals in Natural Water*, Springer Verlag, N.Y., **1984**.
3. Langard, S.; Norseth, T., *Br. J. Ind. Med.*, **1975**, 32, 62.
4. Ciavatta, C.; Sequi, P., *Fertilizer Research*, **1979**, 19, 7.
5. Stomberg, A.L.; Hemphill, D.D.; Volk, V.V.; Wickliff, C., *Agronomy Journal*, **1984**, 76, 719.
6. Cary, E.E.; Kubota, K., *J. Agric. Food Chem.*, **1990**, 38(1), 109.
7. Bartlett, R.; James, B., *J. Environ. Qual.*, **1979**, 8(1), 31.
8. Dreiss, S.J., *Ground Water*, **1986**, 24(3), 312.
9. Beccari, M.; Campanella, L.; Cardarelli, E.; Majone, M.; Rolle, E., *Metals Speciation Separation and Recovery*, **1989**, 2, 587.
10. Nriagu, J.O.; Nieboer, E., *Chromium in Natural and Human Environment*, Wiley Interscience, New York, **1988**
11. Gad, C.S., *Sci. Total Environ.*, **1989**, 86, 149.
12. Gammelgaard, B., Liao, Y-p., and Jøns, O., *Anal. Chim. Acta*, **1997**, 354, 107.
13. Prokisch, J.; Kovacs, B.; Györi, Z.; Loch, J., *J. Chromatogr. A*, **1994**, 683, 253.
14. Pobozy, E.; Wojasinska, E.; Trojanowicz, M., *J. Chromatogr. A.*, **1996**, 736, 141.
15. Sun, Y.C.; Yang, J.Y., *Anal. Chim. Acta*, **1999**, 395, 293.
16. Batley, G.E., and Matousek, J.P., *Anal. Chem.*, **1980**, 52, 1570.
17. Gammelgaard, B., Jøns, O., and Nielsen, B., *Analyst*, **1992**, 117, 637.
18. Timerbaer, A.R.; Semanova, O.P.; Buchberger, W.; Bonn, G.K., *Fresenius J. Anal. Chem.*, **1996**, 354, 414.
19. Baraj, B.; Niencheski, L.F.H.; Soares, J.A.; Martinez, M.; Merkoci, M., *Fresenius J. Anal. Chem.*, **2000**, 376, 12.

20. Pilipenko, A.T.; Shevchenko, A.I.; Volkova, A.I., *Zh. Anal. Khim.*, **1977**, 32, 731.
21. Zhang, Z., Qin, W., and Liu, S., *Anal. Chim. Acta*, **1995**, 318, 71.
22. Paleologos, E.K., Lafis, S.I., Tzouwara-Karayanni, S.M., and Karayannis, M.I., *Analyst*, **1998**, 123, 1005.
23. Walsh, A.R.; O'Halloran, J., *Water Res.*, **1996**, 30, 2393.
24. Ellis, L.A.; Roberts, D.J., *J. Chromatogr. A*, **1997**, 774, 3.
25. Marques, M.J.; Salvador, A.; Morales-Rubio, A.E.; de la Guardia, M., *Fresenius J. Anal. Chem.*, **1998**, 362, 239.
26. Marques, M.J.; Salvador, A.; Morales-Rubio, A.E.; de la Guardia, M., *Fresenius J. Anal. Chem.*, **2000**, 367, 601.
27. Camara, C.; Cornelis, R.; Quevauviller, P., *Trends Anal. Chem.*, **2000**, 19, 189.
28. Kotas, J.; Stasicka, Z., *Environ. Pollut.*, **2000**, 107, 263.
29. Isozaki, A.; Kumagai, K.; Utsumi, S., *Anal. Chim. Acta*, **1983**, 153, 5.
30. Miyazaki, A.; Barnes, R.M., *Anal. Chem.*, **1981**, 53, 364.
31. Yanagisawa, M.; Suzuki, M.; Takeuchi, T., *Microchim. Acta*, **1973**, 45.
32. Paniagua, A.R.; Vazquez, M.D.; Tascon, M.L.; Batanero-Sanchez, P., *Electroanalysis*, **1993**, 5, 155.
33. Subramanian, K.S., *Anal. Chem.*, **1988**, 60, 11.
34. Wang, W.J., *Anal. Chim. Acta*, **1980**, 119, 157.
35. Berceiro-González, E., Bermejo-Barrera, P., Bermejo-Barrera, A., Barciela-García, J., and Barciela-Alfonso, C., *J. Anal. At. Spectrom.*, **1993**, 8, 649.
36. Sperling, M., Yin, X.F., and Welz, B., *Analyst*, **1992**, 117, 629.
37. Posta, J., Berndt, H., Luo, S.K., and Schaldach, G., *Anal. Chem.*, **1993**, 65, 2590.
38. Posta, J., Alimonti, A., Petrucci, F., and Caroli, S., *Anal. Chim. Acta*, **1996**, 325, 185.
39. Pratt, K.W.; Koch, K.H., *Anal. Chem.*, **1986**, 58, 124.
40. Williams, T., Jones, P., and Ebdon, L., *J. Chromatogr.*, **1989**, 482, 361.
41. Martin, Y.D., and Ryley, J.K., *At. Spectrosc.*, **1982**, 3, 174.
42. Mullins, T.L., *Anal. Chim. Acta*, **1980**, 113, 131.

43. Katz, S.A., Mcnabb, W.M., and Hazel, J.F., *Anal. Chim. Acta*, **1962**, 27, 405.
44. Wai, C.M., Tsay, L.M., and Yu, J.C., *Mikrochim. Acta*, **1987**, 11, 73
45. Boussemart, M., van den Berg, C.M.G., Ghaddaf, M., *Anal. Chim. Acta*, **1992**, 262, 103.
46. Watanabe, H., and Tanaka, H., *Talanta*, **1978**, 25, 585.
47. Rosen, M.J., *Surfactants and Interfacial Phenomena*, Wiley Interscience, New York, **1987**.
48. DeGiorgio, V., in *Physics of Amphiphiles: Micelles, Vesicles and Microemulsions*, ed DeGiorgio, V., and Corti, M., North Holland; Amsterdam, **1985**.
49. Corti, M., Minero, C., and DeGiorgio, V., *J. Phys. Chem.*, **1984**, 88, 309.
50. Goldstein, R.E., *J. Phys. Chem.*, **1986**, 84, 3367.
51. Bordier, C., *J. Biol. Chem.*, **1981**, 256, 1604.
52. Hoshino, H., Saitoh, T., Taketomi, H., Yotsuyanagi, T., Watanabe, H., and Tachikawa, K., *Anal. Chim. Acta*, **1983**, 147, 339.
53. Pramauro, E., *Ann. Chim.*, **1990**, 80, 101.
54. Moreno Cordero, B., Pérez Pavón, J.L., García Pinto, C., and Fernández Laespada, M.E., *Talanta*, **1993**, 40, 1703.
55. Frankewich, R.P., Hinze, W.L., *Anal. Chem.*, **1994**, 66, 944.
56. García Pinto, C., Pérez Pavón, J.L., and Moreno Cordero, B., *Anal. Chem.*, **1994**, 66, 874.
57. García Pinto, C., Pérez Pavón, J.L., and Moreno Cordero, B., *Anal. Chem.*, **1995**, 67, 2606.
58. García Pinto, C., Pérez Pavón, J.L., Moreno Cordero, B., Romero Beato, E., and García Sánchez, S., *J. Anal. At. Spectrom.*, **1996**, 11, 37.
59. Oliveros Cerrato, M.C., Jimenez de Blas, O., Pérez Pavón, J.L., and Moreno Cordero, B., *J. Anal. At. Spectrom.*, 1998, **13**, 547.
60. Kodoma, M.; Miyagawa, S., *Anal. Chem.*, **1980**, 52, 1054.
61. Yin Yan, Z.; Zang, W., *J. Anal. At. Spectrom.*, **1989**, 4, 797.
62. Mora, J.; Canals, A.; Hernandis, V., *J. Anal. At. Spectrom.*, **1991**, 6, 139.

63. Sanz-Medel, A.; Fernandez de la Campa, M.R.; Gonzalez, E.B.; Fernandez-Sanchez, M.L., *Spectrochim. Acta Part B*, **1999**, 54, 251.
64. Valdes-Hevia y Temprano, M.C.; Aizpun Fernandez, B.; Fernandez de la Campa, M.R.; Sanz-Medel, A., *Anal. Chim. Acta*, **1993**, 283, 175.
65. Valdes-Hevia y Temprano, M.C.; Fernandez de la Campa, M.R.; Sanz-Medel, A., *J. Anal. At. Spectrom.*, **1993**, 8, 821.
66. Valdes-Hevia y Temprano, M.C.; Fernandez de la Campa, M.R.; Sanz-Medel, A., *J. Anal. At. Spectrom.*, **1994**, 9, 231.
67. Laespada, M.E.F.; Pavon, J.L.P.; Cordero, B.M., *Analyst*, **1993**, 118, 209.
68. Gana-Gutierrez, N.; Sanchez-Rojas, F.; Cano-Pavon, J.M., *Fresenius J. Anal. Chem.*, **1996**, 355, 88.
69. Tani, H.; Kamidate, T.; Watanabe, H., *J. Chromatogr. A*, **1997**, 780, 229.
70. Garcia Pinto, C.; Perez Pavon, J.L.; Moreno Cordero, B.; Romero Beato, E.; Garcia Sanchez, S., *J. Anal. At. Spectrom.*, **1996**, 11, 37.
71. Oliveros Cerrato, M.C.; Jimenez de Blas, O.; Perez Pavon, J.L.; Moreno Cordero, B., *J. Anal. At. Spectrom.*, **1998**, 13, 547.

ΑΝΑΛΥΣΗ ΕΙΔΟΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ Cr(III)-Cr(VI) ΜΕ ΈΓΧΥΣΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ ΣΕ ΣΥΝΕΧΗ ΡΟΗ ΚΑΙ ΦΘΟΡΙΣΜΟΜΕΤΡΙΚΗ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ.

1.1 ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην εργασία αυτή περιγράφεται η ανάπτυξη μιας πρωτότυπης, σχετικά απλής, ευαίσθητης και εκλεκτικής μεθόδου, η οποία βρίσκει εφαρμογή στο σύγχρονο προσδιορισμό των ιόντων Cr(III) και Cr(VI)- υπό τη μορφή $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ με χρήση της τεχνικής της ανάλυσης με έγχυση δείγματος σε συνεχή ροή(F.I.A). Η προτεινόμενη μέθοδος βασίζεται στη χρησιμοποίηση της ιδιότητας του οργανικού αντιδραστηρίου, (2-α-πυριδυλ)θειοκινναλδινιδίου(P.T.Q.A) να οξειδώνεται εκλεκτικά από το Cr(VI) σε ισχυρά όξινο περιβάλλον προς ένα εντόνωσ φθορίζον προϊόν, με χαρακτηριστικά μήκη κύματος διεγέρσεως ($\lambda_{\text{ex}}=360 \text{ nm}$) και εκπομπής ($\lambda_{\text{em}}=500 \text{ nm}$), ενώ η ανηγμένη του μορφή δε φθορίζει.

Το Cr(III) δε δίνει την αντίδραση παρά μόνο αφού οξειδωθεί σε Cr(VI). Η οξείδωση αυτή επιτυγχάνεται εν ροή στο σύστημα της F.I.A, με την επίδραση αλκαλικού διαλύματος meta-

υπεριωδικού νατρίου. Το προϊόν της οξείδωσης Cr(VI), αντιδρά με το P.T.Q.A εκπέμποντας ακτινοβολία φθορισμού με τα ίδια χαρακτηριστικά όπως προηγουμένως. Κατά συνέπεια το μετρούμενο σήμα οφείλεται, την πρώτη φορά στη δράση αποκλειστικά του Cr(VI), ενώ τη δεύτερη στη δράση του συνολικού χρωμίου μετά την οξείδωση του Cr(III) σε Cr(VI). Έτσι το Cr(III) μπορεί να προσδιοριστεί έμμεσα από τη διαφορά των δύο σημάτων.

Για την εύρεση των βέλτιστων πειραματικών συνθηκών, μελετήθηκαν διάφορες αναλυτικές παράμετροι, οι οποίες επηρεάζουν τόσο το υπό μελέτη σύστημα όσο και τη διάταξη της F.I.A. Έτσι μελετήθηκε η επίδραση της οξύτητας, οι ταχύτητες ροής των διαφόρων διαλυμάτων, ο όγκος του εγχόμενου δείγματος, η θερμοκρασία, οι συγκεντρώσεις των αντιδραστηρίων και η παρεμποδιστική δράση διαφόρων ουσιών.

Ως συνέπεια της μελέτης αυτής κατασκευάστηκαν καμπύλες αναφοράς στην περιοχή συγκεντρώσεων 0,1 – 10 $\mu\text{g/ml}$ για το Cr(VI) και 0,1 – 1,0 $\mu\text{g/ml}$ για το Cr(III). Η προτεινόμενη μέθοδος ελέγχθηκε για την αξιοπιστία της, με την εκτέλεση πειραμάτων ανάκτησης του Cr από διάφορα πιστοποιημένα υλικά αναφοράς (φύλλα ροδάκινου, ιζήματα, τεία). Εφαρμόστηκε επίσης στον ταυτόχρονο προσδιορισμό Cr(III) - Cr(VI), σε διάφορα περιβαλλοντικά ύδατα (μεταλλικό νερό, νερό βρύσης και απεσταγμένο), σε δείγματα τροφίμων (τοματοχυμός) καθώς και σε συνθετικά μίγματα.

Με τη μέθοδο αυτή δίνεται η δυνατότητα ανάλυσης περίπου 30 δειγμάτων την ώρα, με μια σχετική ακρίβεια 0,1 – 2%.

1.2 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Στόχος της μελέτης αυτής είναι η ανάπτυξη μιας απλής διάταξης συνεχούς ροής (F.I.A) για τον ταυτόχρονο προσδιορισμό του Cr(III) και Cr(VI). Αυτό επιτυγχάνεται με την επίδραση αλκοολικού διαλύματος P.T.Q.A και χρήση αλκαλικού διαλύματος μετα-υπεριωδικού νατρίου. Το τελευταίο αποτελεί το μέσο για την εν ροή οξείδωση του Cr(III) σε Cr(VI).

Το αντιδραστήριο (P.T.Q.A) που χρησιμεύει ως παράγων φθορισμού, έχει αναφερθεί ως φθορισμομετρική ουσία και έχει χρησιμοποιηθεί για τον προσδιορισμό μετάλλων και μεταλλοειδών¹⁻⁴, όπως Cr(VI), Mn(VII), Se(IV), αλλά όχι για την σύγχρονη ανάλυση μίγματος Cr(III)/ Cr(VI) σε σύστημα F.I.A.

Στην εργασία αυτήν, η χρήση του P.T.Q.A συνδυάζεται με μια ευαίσθητη και εκλεκτική μέθοδο για τον ταυτόχρονο προσδιορισμό Cr(III)/Cr(VI). Η μέθοδος βασίζεται στην εκλεκτική οξείδωση του P.T.Q.A από το Cr(VI), η οξειδωμένη μορφή του οποίου φθορίζει έντονα σε μίγματα αιθανόλης/νερού και ισοπροπανόλης/νερού. Όλες οι αντιδράσεις που λαμβάνουν χώρα είναι αρκετά ταχείες και δεν απαιτούνται διαδικασίες εικχύλισης ή διαχωρισμού του Cr από τα πραγματικά δείγματα. Με χρήση κατάλληλων καλυπτικών αντιδραστηρίων η αντίδραση μπορεί να γίνει ιδιαίτερα εκλεκτική.

1.3 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1.3.1 ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Όλα τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν ήταν αναλυτικού βαθμού ή του μέγιστου διαθέσιμου βαθμού καθαρότητας. Κατά τη διάρκεια των μετρήσεων χρησιμοποιήθηκαν απεσταγμένο νερό και ισοπροπανόλη, που δε φθορίζουν με την επίδραση υπεριώδους ακτινοβολίας.

- Πρότυπο διάλυμα Cr(III). Παρασκευάστηκαν 100 ml διαλύματος Cr(III) (0,52 mg/ml) με διάλυση 266,5 mg ένυδρου χλωριούχου χρωμίου $\text{CrCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ σε απεσταγμένο νερό. Το διάλυμα φυλάσσεται σε ψυγείο σε ογκομετρική φιάλη και τα διάφορα διαλύματα εργασίας παρασκευάζονται καθημερινά με κατάλληλες αραιώσεις του προτύπου αυτού.
- Πρότυπο διάλυμα Cr(VI). Παρασκευάστηκαν 100 ml διαλύματος Cr(VI) (1,00 mg/ml) με διάλυση 294,2 mg διχρωμικού καλίου $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ σε απεσταγμένο νερό. Το διάλυμα φυλάσσεται σε ψυγείο σε ογκομετρική φιάλη και τα διάφορα διαλύματα εργασίας παρασκευάζονται καθημερινά με κατάλληλες αραιώσεις του προτύπου αυτού.
- Διάλυμα υπεριωδικών (0,01 M). Παρασκευάστηκε με διάλυση σε απεσταγμένο νερό 218,3 mg μετα-υπεριωδικού νατρίου, m- NaIO_4 . Το διάλυμα φυλάσσεται σε σκοτεινόχρωμη φιάλη προς αποφυγή φωτοδιάσπασης.
- Διάλυμα NaOH 0,1 M. Παρασκευάστηκε με διάλυση 4,061 gr καυστικού νατρίου NaOH 1 λίτρο ύδατος. Το διάλυμα φυλάσσεται σε καλά κλεισμένη πλαστική φιάλη για την αποφυγή μολύνσεων και αλλοιώσεων από τον αέρα.

- Διάλυμα H_2SO_4 . Παρασκευάστηκε 0,5 L διαλύματος H_2SO_4 9M με αραιώση 250 ml πυκνού H_2SO_4 .

- Διαλύματα φορείς: I) Για τον προσδιορισμό του Cr(VI), ως φορέας χρησιμοποιήθηκε απεσταγμένο νερό.

II) Για τον προσδιορισμό του Cr(III) ο φορέας που χρησιμοποιήθηκε ήταν διάλυμα υπεριοδικών (10^{-4} M) σε διάλυμα NaOH 0,01 M.

- Διάλυμα PTQA (10^{-3} M). Το αντιδραστήριο PTQA συνετέθη σύμφωνα με την μέθοδο που προτείνεται από τον Porter. Τα συστατικά του στοιχεία: 2-αμινοπυριδίνη (2 mol), κινναλδίνη (1 ml) και στοιχειακό θείο σε σκόνη (1,5 mol), αφέθηκαν να αποστάξουν με κάθετο ψυκτήρα για 6 ώρες σε σφαιρική φιάλη των 250 ml, υπό σταθερή, ελεγχόμενη θερμοκρασία 140-150 °C σε πίεση 1 atm. Το μίγμα παρέμεινε για να αντιδράσει και να κρυστάλλει κατά τη διάρκεια της νύχτας. Η θειο-ένωση που προέκυψε διηθήθηκε και κρυσταλλώθηκε με χρήση πετρελαϊκού αιθέρα. Έτσι προέκυψε ένα βελονοειδές, κίτρινο, κρυσταλλικό στερεό, το οποίο ανακρυσταλλώθηκε από θερμή αιθανόλη και ξηράνθηκε υπό κενό (0,1 mm Hg) για 24h⁵.

Το σημείο τήξης της παραπάνω ένωσης βρέθηκε ίσο με 155 ± 2 °C και η στοιχειακή του ανάλυση (C=72,25%, N=13,35%, και H=4,25%) συμφωνούσε ικανοποιητικά με τις αναμενόμενες θεωρητικές τιμές⁵.

Διάλυμα παρακαταθήκης (stock) PTQA (10^{-3} M) παρασκευάστηκε με διάλυση της απαιτούμενης ποσότητας (26,6 mg) σε ισοπροπανόλη (100ml). Τα διαλύματα εργασίας του PTQA (2×10^{-4} M) παρασκευάζονταν καθημερινά με αραιώση του πυκνού διαλύματος με κατάλληλους όγκους H_2SO_4 και νερού.

Άλλα διαλύματα: Ένας μεγάλος αριθμός διαλυμάτων ανόργανων ιόντων και συμπλεκτικών αντιδραστηρίων, με ενδεχόμενη παρεμποδιστική δράση, παρασκευάστηκε με διάλυση των υδατοδιαλυτών τους αλάτων σε απεσταγμένο νερό. Όπου χρειάστηκε, υιοθετήθηκαν ειδικές τεχνικές διάλυσης⁶.

1.3.2 ΟΡΓΑΝΑ ΚΑΙ ΔΙΑΤΑΞΕΙΣ

Η διάταξη F.I.A που χρησιμοποιείται για τον ταυτόχρονο προσδιορισμό Cr(III) και Cr(VI) σε μίγμα, είναι σχετικά απλή, ώστε να μπορεί να έχει ευρεία αναλυτική εφαρμογή. Το δείγμα

εγχέεται στο φορέα μέσω μιας περιστροφικής βαλβίδας τεσσάρων διαδρομών (Rheodyne Type 50 Teflon, Cotati, CA, USA), που ενεργοποιείται πνευματικά και συνδέεται με βρόχο(loop), του οποίου ο όγκος μπορεί να μεταβάλλεται. Ο φορέας(carrier), ο οποίος παραλαμβάνει το δείγμα και το οδηγεί στην κυρίως ροή, προωθείται μέσω μιας περισταλτικής αντλίας 12 διαύλων(Ismatec Glattbrug, Zurich, Swiss). Η επιλογή του φορέα γίνεται μέσω ενός διακόπτη ροής τριών θέσεων. Οι σωλήνες που χρησιμοποιούνται στην αντλία για το αντιδραστήριο και τον εκάστοτε φορέα, είναι κατασκευασμένοι από PVC ή Teflon διαφόρων διαμέτρων.

Η όλη διάταξη συνδέεται με φθορισμόμετρο(RF-551, Shimadzu, Japan) εξοπλισμένο με κυψελίδα ροής όγκου 12 μλ.

Για τη συλλογή των δεδομένων, την επεξεργασία του σήματος και τη γενικότερη λειτουργία του συστήματος χρησιμοποιείται ένας IBM συμβατός ηλεκτρονικός υπολογιστής(Toulip 8088), εφοδιασμένος με σκληρό δίσκο και δύο θέσεις για εύκαμπτους δίσκους(floppy drives), με μνήμη 512K, με ασπρόμαυρη κάρτα γραφικών και μια κάρτα διασύνδεσης(interface board) RT1 800/815 (Analog Devices). Όλες οι ρουτίνες του προγράμματος που χρησιμοποιήθηκε, είναι γραμμένες σε γλώσσα QuickBASIC(Microsoft). Για την καταμέτρηση του χρόνου χρησιμοποιήθηκε ο μετρητής/χρονομέτρης(counter/timer) AM9513A, που αποτελεί μέρος του πίνακα διασύνδεσης. Ο έλεγχος του πνευματικού ενεργοποιητή για το άνοιγμα και το κλείσιμο της βαλβίδας έγχυσης πραγματοποιείται με σύνδεση με την αναλογική έξοδο του πίνακα διασύνδεσης και έναν ενισχυτή ισχύος(booster), που μετατρέπει την τάση εξόδου των 5V σε 12V, η οποία απαιτείται για τη λειτουργία του πνευματικού ενεργοποιητή. Ένα κυτίο διασυνδέσεων(interface box) από αλουμίνιο κατασκευάστηκε για να διευκολύνει τη σύνδεση του πίνακα διασύνδεσης με το αναλυτικό σύστημα F.I.A μέσω καταλλήλων καλωδίων.

Για τη σύγκριση και τον έλεγχο κάποιων πειραματικών αποτελεσμάτων χρησιμοποιήθηκε φασματοφωτόμετρο ατομικής απορρόφησης τύπου Varian AA-300 με αναφλέξιμο μίγμα αέρα/ακετυλενίου.

Η λήψη κινητικών δεδομένων, με σκοπό την επιλογή του καταλληλότερου οξειδωτικού συστήματος για τη μετατροπή του Cr(III) σε Cr(VI), έγινε με μια διάταξη αναχαίτισης ροής,

«The bio sequential SX17MV» κατασκευασμένο από την Applied Photophysics Ltd., England με ανιχνευτή φασματοφωτόμετρο τύπου «Varian E-109».

1.3.3 ΠΟΡΕΙΑ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Τα προς μέτρηση διαλύματα του μίγματος Cr(III) και Cr(VI) και τα άγνωστα δείγματα, εισάγονται στο ρεύμα του φορέα μέσω της βαλβίδας, προωθούμενα από την περισταλτική αντλία. Για τα δείγματα, ανάλογα με το προσδιοριζόμενο είδος [Cr(VI) ή ολικό Cr], ακολουθείται διαφορετική πορεία επεξεργασίας. Αυτό γίνεται με τη βοήθεια διακόπτη ροής τριών εισόδων(double switch). Αρχικά ο διακόπτης επιτρέπει τη ροή απεσταγμένου νερού ως φορέα. Αυτό μεταφέρει το δείγμα στην κυρίως ροή, όπου συναντά το διάλυμα του PTQA(2×10^{-4} M), το οποίο εισάγεται μετά τη βαλβίδα. Τέλος το μίγμα περνά από την κυψελίδα του φθορισμομέτρου, όπου μετρείται ο παραγόμενος φθορισμός, λόγω της επίδρασης του Cr(VI) στο PTQA. Η μέτρηση γίνεται στα 500 nm, με διέγερση στα 360 nm. Όταν ο διακόπτης στραφεί στη θέση 2, το ρόλο του φορέα αναλαμβάνει το διάλυμα $\text{IO}_4^-/\text{OH}^-$, το οποίο οξειδώνει το υπάρχον Cr(III) σε Cr(VI). Στη συνέχεια το οξειδωμένο δείγμα συναντά τη ροή του PTQA και το μίγμα διέρχεται από την κυψελίδα του φθορισμομέτρου, όπου μετρείται ο φθορισμός, που πλέον οφείλεται στο συνολικό χρώμιο $\text{Cr} = \{\text{Cr(VI)} + \text{Cr(III)}\}$.

Και οι δύο αντιδράσεις, τόσο η οξείδωση όσο και η αντίδραση παραγωγής φθορισμού, είναι αρκετά ταχείες και ο παραγόμενος φθορισμός παραμένει σταθερός τουλάχιστον για 24 h.

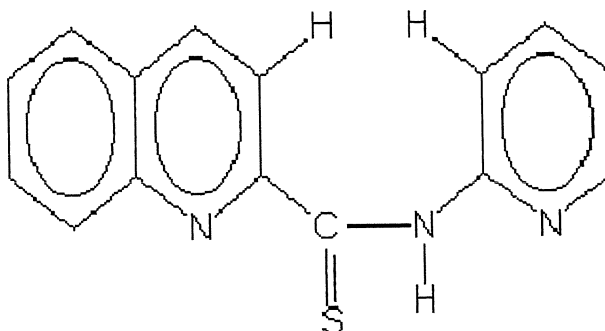
Εδώ πρέπει να σημειωθεί, ότι ο φθορισμός του όξινου διαλύματος του PTQA είναι αμελητέος σε σύγκριση με το σήμα που εκπέμπεται από το σύστημα Cr(VI)-PTQA(Σχήμα 1.6).

Η συγκέντρωση του Cr(VI) και/ή του Cr(III) είναι ανάλογη με το ύψος της κορυφής της καμπύλης F.I.A, το οποίο μετρείται αυτόματα και καταχωρείται στη μνήμη H/Y με χρήση του λογισμικού, που περιγράφηκε παραπάνω. Με πρότυπα διαλύματα γνωστής συγκέντρωσης, χαράχθηκαν καμπύλες αναφοράς τόσο για το Cr(VI) όσο και για το Cr(III).

1.4 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ

1.4.1 ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΦΘΟΡΙΣΜΟΥ.

Το P.T.Q.A όπως φαίνεται και στο 1.1 είναι ένα αρκετά μεγάλο οργανικό μόριο, το οποίο δε φθορίζει κάτω από φυσιολογικές συνθήκες. Η επίδραση διαφόρων ενώσεων σε ισχυρά όξινο περιβάλλον επάγει ένα έντονο σήμα φθορισμού, του οποίου τα μέγιστα

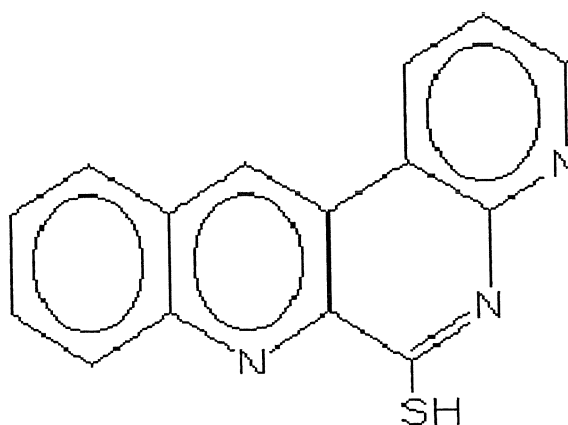


Σχήμα

Σχήμα 1.1 : Συντακτικός τύπος του P.T.Q.A.

βρίσκονται στην περιοχή 320-360 nm για το μήκος κύματος διέγερσης και από 470-510 nm για το μήκος κύματος εκπομπής.

Το γεγονός ότι ο φθορισμός εμφανίζεται από μέταλλα αλλά και μη μέταλλα με έντονη οξειδωτική δράση όπως το H_2O_2 και το I_3^- , οδήγησε τους Ryan και Pal, οι οποίοι εισήγαγαν τη χρήση του P.T.Q.A σε αναλυτικά σχήματα, να αποκλείσουν την περίπτωση της συμπλοκοποίησης και να προτείνουν ένα μηχανισμό οξειδοαναγωγής, που οδηγεί στην κυκλοποίηση και στο φθορισμό λόγω ακαμψίας του παραγόμενου προϊόντος^{2,3}.



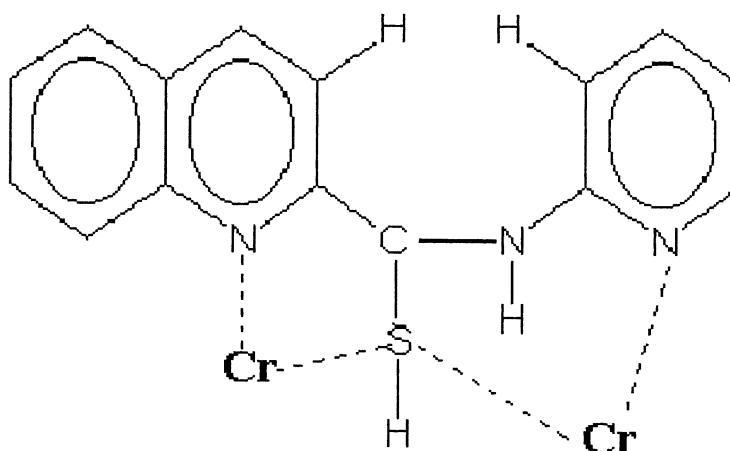
Σχήμα 1.2 : Προτεινόμενο φθορίζον προϊόν οξείδωσης-κυκλοποίησης του P.T.Q.A.

Η πρόταση αυτή αν και κάλυπτε τα αμέταλλα οξειδωτικά, δεν εξηγούσε

την παρεμπόδιση όλων των αναλυτικών σχημάτων από τον Cu^{2+} και ερχόταν σε αντίθεση με την εκτεταμένη χημεία παρόμοιων αντιδραστηρίων, όπως η πυριδυλάζο-ναφθόλη (PAN) και πυριδυλάζο-ρεσορκινόλη (PAR), τα οποία δίνουν έγχρωμα σύμπλοκα με τα μεταλλικά ιόντα.

Περαιτέρω μελέτη του PTQA σε λιγότερο όξινο περιβάλλον έδειξε ότι η οξειδοαναγωγική του συμπεριφορά περιορίζεται σημαντικά, χωρίς όμως να σταματήσει να δίνει φθορίζοντα προϊόντα με μεταλλικά στοιχεία (όπως Βανάδιο). Η απομόνωση του προϊόντος της αντίδρασης του PTQA με το Βανάδιο και η μελέτη του με φασματοσκοπία υπερύθρου (I.R) φανερώνει, ότι πράγματι σχηματίζεται ένα σύμπλοκο⁷.

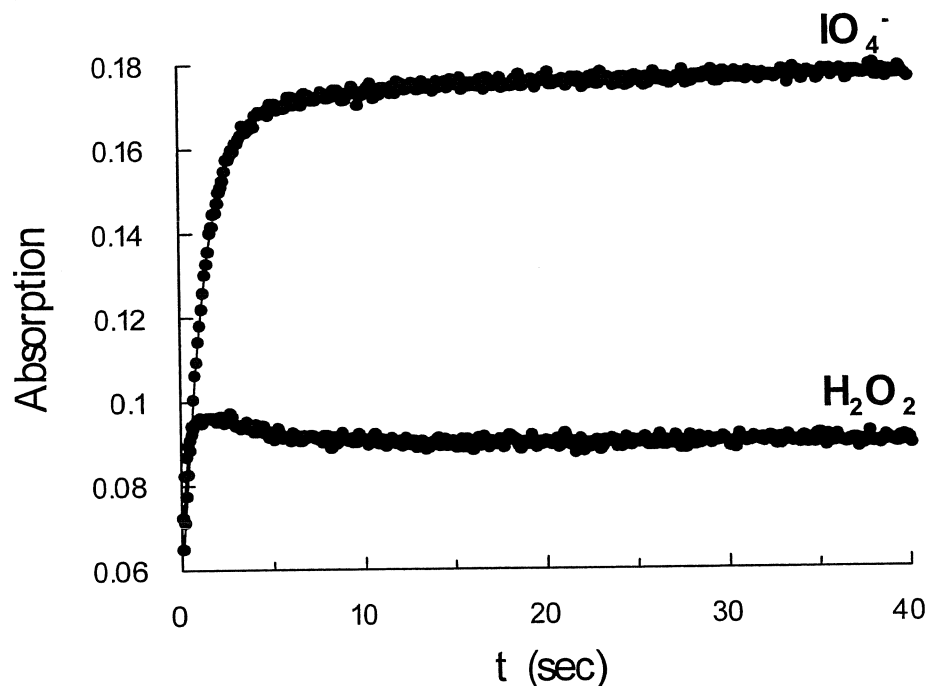
Με βάση τα δεδομένα αυτά η παραγωγή του φθορισμού εξηγείται με την υπόθεση, ότι το Cr(VI) ανάγεται σε Cr(III) από το PTQA και στη συνέχεια συμπλέκεται *in situ* σχηματίζοντας ένα σταθερό πενταμελή ή εξαμελή δακτύλιο, που οδηγεί στην ακαμψία του συστήματος και στο φθορισμό.



Σχήμα 1.3 : Προτεινόμενο φθορίζον προϊόν συμπλοκοποίησης του P.T.Q.A

1.4.2 ΕΠΙΛΟΓΗ ΚΑΤΑΛΛΗΛΟΥ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΥ ΜΕΣΟΥ ΓΙΑ ΤΗΝ ΟΞΕΙΔΩΣΗ ΤΟΥ Cr(III) ΣΕ Cr(VI).

Η μελέτη για το πιο κατάλληλο αντιδραστήριο έγινε με σκοπό αυτό να πληροί τις εξής προϋποθέσεις: Να οξειδώνει το Cr(III) σε Cr(VI), γρήγορα και ποσοτικά, χωρίς ταυτόχρονα να δημιουργεί παρεμποδίσεις στην αναλυτική πορεία και στη λειτουργία της διάταξης F.I.A. Από τα διάφορα οξειδωτικά μέσα, που έχουν αναφερθεί και χρησιμοποιηθεί για τη μετατροπή του Cr(III) σε Cr(VI), όπως είναι τα υπερμαγγανικά ιόντα, τα υπερθειικά, το υπεροξείδιο του υδρογόνου και τα υπεριωδικά ιόντα⁸⁻¹⁰, μόνο τα δύο τελευταία εκπληρώνουν θεωρητικά τα



Σχήμα 1.4: Κινητικές καμπύλες της οξείδωσης του Cr(III) σε Cr(VI) από διαλύματα IO_4^- και H_2O_2 αντίστοιχα, όπως προέκυψαν μετά από μελέτη με φασματοφωτόμετρο αναχαίτισης ροής(stopped-flow) στα 373 nm.

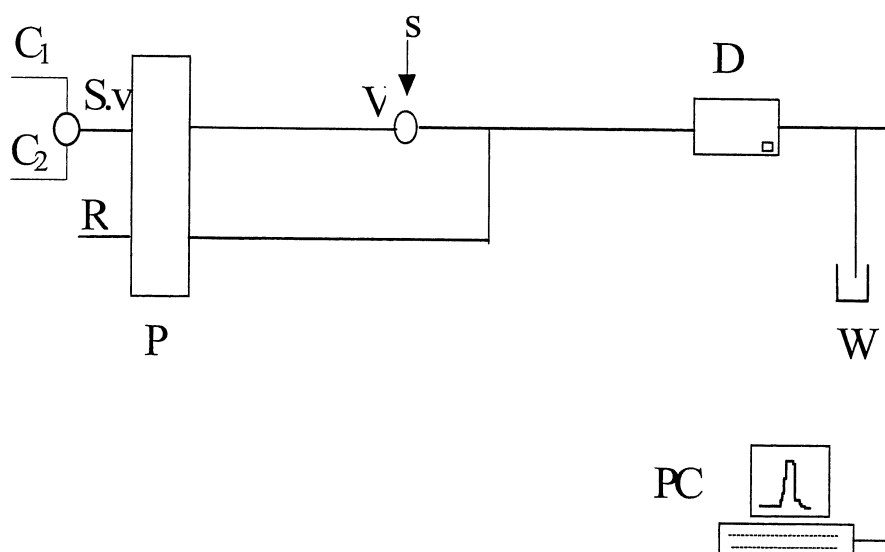
παραπάνω κριτήρια.

Η οξειδωτική επίδραση των δύο αυτών αντιδραστηρίων επί του Cr(III), μελετήθηκε κινητικά με την τεχνική της αναχαίτισης ροής(stopped flow) και τα αποτελέσματα όπως φαίνεται από το Σχήμα 1.4 δείχνουν ότι τα υπεριωδικά είναι σαφώς πιο αποτελεσματικό και γρήγορο μέσο οξείδωσης του Cr.

1.4.3 ΒΕΛΤΙΣΤΟΠΟΙΗΣΗ ΤΩΝ ΣΥΝΘΗΚΩΝ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ ΤΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ΡΟΗΣ.

Με τη διάταξη F.I.A έγιναν αρκετές προκαταρκτικές δοκιμές, για να βρεθεί το βέλτιστο, ως προς την ταχύτητα, την απλότητα και την αποτελεσματικότητα των μετρήσεων. Με τη διάταξη του Σχήματος 1.5 επιτυγχάνονται τελικά οι βέλτιστες συνθήκες. Η διάταξη αυτή συνδυάζει τις καλύτερες συνθήκες ανάμιξης των αντιδραστηρίων και χημικής αντίδρασης με την παραγωγή των βέλτιστων κορυφών, από πλευράς ύψους και σχήματος.

Την κατάληξη για τη χρήση αυτής της διάταξης ακολούθησε η περαιτέρω βελτίωση των



Σχήμα 1.5 : Αναπαράσταση της διάταξης ροής (F.I.A), που χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό Cr(III)/Cr(VI). C₁, φορέας 1, H₂O. C₂, φορέας 2, μίγμα NaIO₄/NaOH. R, αντιδραστήριο, P.T.Q.A σε H₂SO₄. S.v., διακόπτης τριπλής εισόδου. P, αντλία. V, βαλβίδα. s, δείγμα D, ανιχνευτής (φθορισμόμετρο) W, απόβλητα P.C., προσωπικός υπολογιστής

συνθηκών λειτουργίας της με βάση την επίδραση, την οποία έχουν οι διάφορες υδροδυναμικές και χημικές παράμετροι, στο ύψος της λαμβανόμενης κορυφής, στο σχήμα και την επαναληπτικότητα της καμπύλης F.I.A.

Για τη βελτιστοποίηση των συνθηκών ακολουθήθηκε η μέθοδος μελέτης μίας μεταβλητής. Σύμφωνα με τη μέθοδο αυτή, μεταβάλλεται κάθε φορά μία από τις παραμέτρους του πειράματος, ενώ οι υπόλοιπες παράμετροι διατηρούνται σταθερές.

Πίνακας 1.1 : Τιμές χημικών παραμέτρων και συνθηκών F.I.A., οι οποίες προέκυψαν μετά τη μελέτη βελτιστοποίησης.

Παράμετρος	Περιοχή μελέτης	Επιλεγθείσα τιμή
Μέγεθος βρόχου έγχυσης δείγματος (μL)	50-500	150
Συνολική ροή (mL min ⁻¹)	0.5-1.5	0.9
Ροή αντιδραστήριο (mL min ⁻¹)	0.25-0.75	0.45
Θερμοκρασία (°C)	20-70	25.0
Συγκέντρωση αντιδραστηρίων (M):		
H ₂ SO ₄	0.20-1.80	1.08
P.T.Q.A	10 ⁻⁵ -10 ⁻³	2 x 10 ⁻⁴
NaIO ₄ /NaOH	10 ⁻⁶ - 10 ⁻² /10 ⁻⁴ -10 ⁻¹	10 ⁻⁴ /10 ⁻²

Στον Πίνακα 1.1 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της μελέτης βελτιστοποίησης, που έγινε με τη χρησιμοποίηση πρότυπων διαλυμάτων Cr(III) και Cr(VI) συγκεντρώσεων 0,25 και 1 mg L⁻¹ αντίστοιχα.

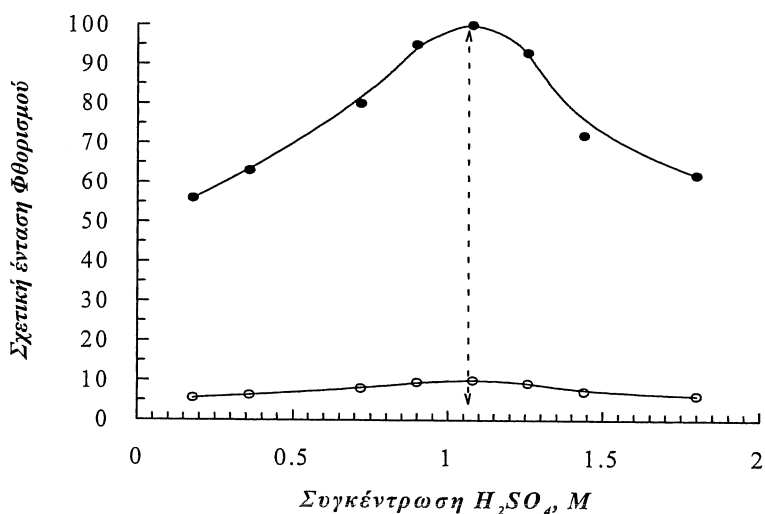
Για τον προσδιορισμό της καταλληλότερης συγκέντρωσης του αλκαλικού διαλύματος υπεριοδικών, σε συνδυασμό με την ταχύτητα ροής και τον απαιτούμενο, για την οξείδωση του Cr(III) χρόνο παραμονής του μίγματος στο σύστημα, χρησιμοποιήθηκε πρότυπο διάλυμα Cr(III) συγκέντρωσης 0,5 μg ml⁻¹. Ελέγχθηκε η αποτελεσματικότητα διαλυμάτων υπεριοδικού νατρίου συγκεντρώσεων μεταξύ 10⁻⁶ και 10⁻² M σε περιβάλλον καυστικού

νατρίου, του οποίου η συγκέντρωση σε ιόντα υδροξυλίου κυμαινόταν από 10^{-4} ως 0.1 M. Ο όγκος του εγχεομένου δείγματος και η συνολική ροή διατηρήθηκαν σταθερά στα 100 μl και στα $0,5 \text{ ml min}^{-1}$ αντίστοιχα. Στη συνέχεια εξετάστηκε η επίδραση του όγκου του εγχεομένου δείγματος μεταξύ των τιμών 50 και 500 μl καθώς και της συνολικής ροής –από 0,5 ως 1,5 ml/min- με σταθερή τώρα τη σύσταση του οξειδωτικού διαλύματος στην τιμή, που προέκυψε από την προαναφερθείσα μελέτη.

Από τη συνεκτίμηση των αποτελεσμάτων, που προέκυψαν από όλα των πειράματα βελτιστοποίησης, προκύπτει, ότι πρέπει να επιλεγθούν κάποιες συμβιβαστικές τιμές, ώστε να εξασφαλιστεί η αποτελεσματική συμπλήρωση των αντιδράσεων, η ικανοποιητική ταχύτητα ροής και οι μεγαλύτερες αλλά και πιο ομοιόμορφες κορυφές F.I.A. Έτσι για το οξειδωτικό διάλυμα επιλέχθηκαν συγκεντρώσεις 10^{-4} και 10^{-2} M για τα IO_4^- και OH^- αντίστοιχα. Για τον όγκο του βρόχου εισαγωγής του δείγματος η τιμή 150 μl χρησιμοποιήθηκε ως η πιο κατάλληλη, ενώ για τις ταχύτητες ροής οι βέλτιστες τιμές ήταν $0,90 \text{ ml min}^{-1}$ για τη συνολική και $0,45 \text{ ml min}^{-1}$ για κάθε μια από τις ροές του δείγματος και του φορέα αντίστοιχα. Όλα τα πειράματα έγιναν σε θερμοκρασία δωματίου 20-25 °C.

1.4.4 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΟΞΥΤΗΤΑΣ.

Από τα γνωστά ανόργανα οξέα(θειικό, υδροχλωρικό, νιτρικό και φωσφορικό), των οποίων μελετήθηκε η επίδραση, το θειικό παρουσίασε την καλύτερη συμπεριφορά. Όπως φαίνεται

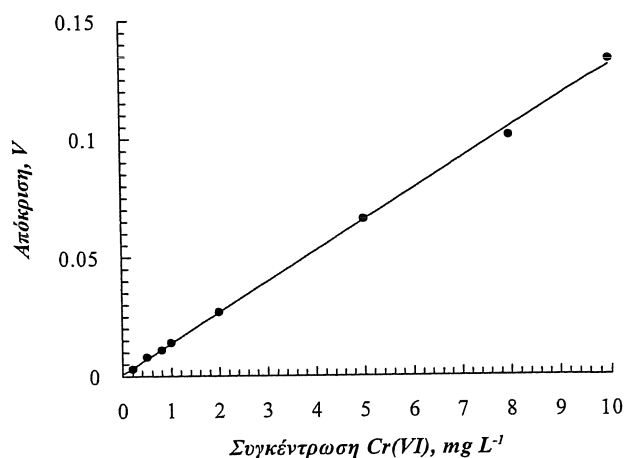


Σχήμα 1.6. Επίδραση της συγκέντρωσης H_2SO_4 στο φθορισμό του PTOA(○) και τον συστήματος Cr(VI)-PTOA(●).

στον Πίνακα 1.1, έγινε έλεγχος της επίδρασης του θεικού οξέος σε μια μεγάλη περιοχή συγκεντρώσεων. Η επιλογή της βέλτιστης τιμής έγινε, με σκοπό η ένταση με την οποία φθορίζει το PTQA, να θεωρείται αμελητέα σε σχέση με το παραγόμενο από το σύστημα Cr(VI)-PTQA σήμα φθορισμού. Ταυτόχρονα η οξύτητα, που οφείλεται στην παρουσία του θεικού οξέος, πρέπει να είναι αρκετά μεγάλη, ώστε η ανάμιξή του με το 0,1 M αλκαλικό διάλυμα να μην επιφέρει σημαντική μεταβολή. Βρέθηκε, ότι το PTQA και το σύστημα Cr(VI)-PTQA παρουσιάζουν μέγιστα φθορισμού για συγκέντρωση θεικού οξέος 1,08 M. Ο φθορισμός του PTQA όμως στην συγκέντρωση αυτή είναι δέκα φορές μικρότερος από τον αντίστοιχο του συστήματος. Έτσι όλες οι μετρήσεις έγιναν σε περιβάλλον θεικού οξέος 1,08 M.

1.4.5 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΔΙΑΛΥΤΩΝ.

Μελετήθηκε επίσης η επίδραση διαφόρων διαλυτών, ώστε να βγουν συμπεράσματα για την επίδρασή τους στην ένταση του φθορισμού. Διαλύτες όπως το χλωροφόρμιο, το βενζόλιο, ο τετραχλωράνθρακας και η ισοβουτανόλη προκαλούν πλήρη απόσβεση του φθορισμού. Από τους διαλύτες, στους οποίους ευνοείται η εμφάνιση του φθορισμού, όπως η n-βουτανόλη, η αιθανόλη και η ισοπροπανόλη, η τελευταία έδωσε τα καλύτερα αποτελέσματα από πλευράς έντασης και σταθερότητας φθορισμού καθώς και διαλυτότητας για το PTQA. Τελικά στο σύνολο των πειραμάτων χρησιμοποιήθηκε ένα μίγμα ισοπροπανόλης/νερού σε αναλογία 20:80.



Σχήμα 1.7 : Καμπύλη αναφοράς για το φθορισμομετρικό

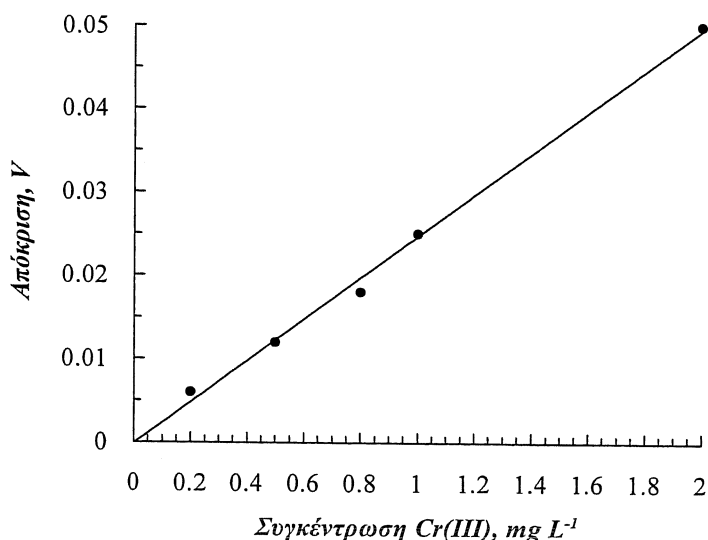
Η αντίδραση που οδηγεί στην παραγωγή του φθορισμού, είναι πολύ γρήγορη και το παραγόμενο σήμα παραμένει σταθερό για 24 h τουλάχιστον. Μελετήθηκαν διάφορες

συγκεντρώσεις του αντιδραστηρίου στην περιοχή, που φαίνεται στον Πίνακα 1.1. Τα βέλτιστα αποτελέσματα προέκυψαν με διάλυμα PTQA 2×10^{-4} M.

1.5 ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Οι μετρήσεις για την επαναληπτικότητα και την ταχύτητα ανάλυσης της μεθόδου πραγματοποιήθηκαν με επαναλαμβανόμενες εγχύσεις προτύπου διαλύματος, περιεκτικότητας $0,5 \mu\text{g ml}^{-1}$ σε Cr(III) και $0,5 \mu\text{g ml}^{-1}$ σε Cr(VI). Η σχετική τυπική απόκλιση(RSD) της μεθόδου υπολογίστηκε $0,1-2,0\%$ ($n=5$) για περιοχή συγκεντρώσεων Cr(III) $0,1-1,0 \mu\text{g ml}^{-1}$ και Cr(VI) $0,1-10 \mu\text{g ml}^{-1}$. Οι τιμές αυτές υποδηλώνουν, ότι η μέθοδος έχει μεγάλη ακρίβεια και επαναληπτικότητα για μια μεγάλη περιοχή συγκεντρώσεων. Για την παραπάνω περιοχή συγκεντρώσεων χαράχθηκαν καμπύλες αναφοράς. Ως μέτρο της συγκεντρώσεως θεωρήθηκε το ύψος της κορυφής του σήματος F.I.A, το οποίο εκφράζεται σε μονάδες ηλεκτρικού δυναμικού(Volt) μετά από επεξεργασία από τον αλγόριθμο του λογισμικού. Οι μαθηματικές εξισώσεις που περιγράφουν τις παραπάνω καμπύλες αναφοράς, είναι για το Cr(VI) $I[V] = 0,013 [\text{mg L}^{-1}] + 0,001$ με ένα συντελεστή συσχέτισης $r=0,9994$ και για το συνολικό Cr $I[V] = 0,025 [\text{mg L}^{-1}] + 0,001$ με $r = 0,9982$.

Το όριο ανίχνευσης, το οποίο ορίζεται ως το τριπλάσιο του θορύβου, υπολογίστηκε ως $0,05 \text{ mg L}^{-1}$ για το Cr(VI) και $0,02 \text{ mg L}^{-1}$ για το Cr(III). Αν χρησιμοποιηθεί ένας αυτόματος



Σχήμα 1.8 : Καμπύλης αναφοράς για τον φθορισμομετρικό

δειγματολήπτης, είναι δυνατή η πραγματοποίηση αναλύσεων με ρυθμό 30 δειγμάτων ανά ώρα. Ο συντελεστής διάχυσης για το σύστημα F.I.A που χρησιμοποιήθηκε προσδιορίστηκε με τη χρήση προτύπων διαλυμάτων Cr(III) και Cr(VI) συγκέντρωσης $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ αντίστοιχα, όπως αναφέρθηκε προηγουμένως.

Η αναλυτική απόδοση και η επαναληπτικότητα της προτεινόμενης μεθόδου, παρουσιάζονται στους πίνακες 1.2, 1.4 και 1.5. Ο έλεγχος για την αξιοπιστία της μεθόδου έγινε με την ανάλυση δειγμάτων από υλικά αναφοράς γνωστής περιεκτικότητας σε χρώμιο. Η σύγκριση των αποτελεσμάτων, που προέκυψαν με την προτεινόμενη μέθοδο, με τις τιμές αναφοράς, έδειξε ότι αυτές συμπίπτουν σε μεγάλο βαθμό, όπως φαίνεται και στον πίνακα 1.2.

Πίνακας 1.2. Ανάκτηση του συνολικού Cr για πιστοποιημένα υλικά αναφοράς.

Υλικό αναφοράς	Cr(VI) ^{a,b} ± s ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Cr(III) ^{a,b} ± s ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Συνολικό Cr Τιμή αναφοράς ($\mu\text{g g}^{-1}$)
Τσάι	$0,78 \pm 0.05$	$0,80 \pm 0.05$	0,80
Φύλλα Ροδάκινου	$0,96 \pm 0.14$	$0,93 \pm 0.14$	$0,94 \pm 0,14$
Τζημα	190 ± 1	190 ± 1	192

^a μέσος όρος πέντε μετρήσεων

^b οι τιμές αναφοράς αφορούν το συνολικό Cr. Προκειμένου να αξιολογηθεί η μέθοδος, όλο το περιεχόμενο Cr οξειδώθηκε πλήρως σε Cr(VI) και έτσι προσδιορίστηκε. Στη συνέχεια μετατράπηκε σε Cr(III)- με κατεργασία με Na_2SO_3 σε όξινες συνθήκες- και έτσι μετρήθηκε.

Επιπλέον έλεγχος για την πιστότητα των αναλύσεων με την προτεινόμενη μέθοδο έγινε με την ανάλυση συνθετικών δειγμάτων τα οποία περιείχαν Cr(III) και Cr(VI) σε γνωστές ποσότητες. Τα αποτελέσματα των παραπάνω αναλύσεων και τα αποτελέσματα από μετρήσεις ανάκτησης, παρουσιάζονται στον Πίνακα 1.5. Όπως φαίνεται οι μέσες ανακτήσεις που προέκυψαν από δείγματα νερού και τοματοχυμό, στα οποία έγινε προσθήκη χρωμίου, ήταν

ποσοτικές. Δηλαδή το προστιθέμενο Cr(III) και Cr(VI) προσδιορίστηκε με σχεδόν απόλυτη ακρίβεια.

1.6 ΠΑΡΕΜΠΟΔΙΣΕΙΣ

Με σκοπό να επεκταθεί η εφαρμογή της μεθόδου και σε δείγματα με πιο πολύπλοκη σύσταση, τα οποία ενδεχομένως να περιέχουν ουσίες, που αλληλεπιδρούν με κάποιο από τα αντιδραστήρια, που χρησιμοποιούνται κατά την ανάλυση, μελετήθηκε η παρεμποδιστική δράση ενός μεγάλου αριθμού ιόντων, των οποίων η παρουσία σε περιβαλλοντικά κυρίως δείγματα είναι σημαντική. Ο έλεγχος έγινε με τη χρήση διαλύματος Cr(III) και Cr(VI) συγκέντρωσης $0,5 \mu\text{g ml}^{-1}$ για το καθένα, στο οποίο γινόταν προσθήκη διαφόρων ποσοτήτων των υπό εξέταση παρεμποδιστικών ουσιών.

Παρεμποδίζουσα ουσία	Μέγιστη επιτρεπόμενη συγκέντρωση $\mu\text{g ml}^{-1}$ *	
	Cr(VI)	Cr(III)
EDTA, NO_3^- , Τρυγικά	1000	1000
Li^+ , Na^+ , K^+ , NH_4^+ , Cl^- , F^- , PO_4^{3-} , κιτρικά, Br^- , Οξαλικά, N_3^- , ClO_4^-	500	500
Se(IV)	200	200
Co (II), Ni (II), Cd (II)	200	----
Pb(II), Fe(II,III), Sn(IV), Zn, Sb(V), Mn(II)	50	----
Cu(II), Ce(IV), Hg(II)	10	----
Be, Ca, Mg, As(III), Mo(VI)	50	50

Πίνακας 1.3. Παρεμποδιστική δράση διαφόρων ιόντων στον προσδιορισμό Cr(VI) και Cr(III), σε διαλύματα συγκέντρωσης $0.5 \mu\text{g ml}^{-1}$ αντίστοιχα, για το καθένα.

Η απόκλιση υπολογίστηκε με σύγκριση της κορυφής του σήματος F.I.A πριν και μετά την προσθήκη του παρεμποδιστικού. Ως παρεμπόδιση θεωρήθηκε η συγκέντρωση, που παρήγαγε σήμα με απόκλιση κατά 5% από το σήμα του διαλύματος Cr(III) ή Cr(VI). Τα αποτελέσματα της μελέτης συνοψίζονται στον πίνακα 1.3. Πρέπει να σημειωθεί ότι, αν κατά τη μελέτη των παρεμποδίσεων, σχηματιζόταν ίζημα, αυτό απομακρυνόταν με διήθηση. Η θετική παρεμποδιστική δράση από τα υπερμαγγανικά και τα υπερθειικά ιόντα παρακάμπτεται με προσθήκη αζιδίου του νατρίου και θέρμανση μέχρι βρασμού. Το αζίδιο του νατρίου NaN_3 έχει την ιδιότητα να ανάγει τα παραπάνω οξειδωτικά, όχι όμως και τα διχρωμικά. Η παρεμποδιστική δράση των περισσότερων μετάλλων μπορεί να μειωθεί ακόμη περισσότερο με κατεργασία του δείματος με EDTA, το οποίο συμπλέκει τα περισσότερα από αυτά. Αντίθετα το Cr(VI) δεν συμπλέκεται, ενώ το σύμπλοκο του Cr(III) δεν προλαβαίνει να σχηματιστεί στις συνθήκες του πειράματος λόγω της κινητικής αδράνειας του Cr(III).

1.7. ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ

Η προτεινόμενη μέθοδος χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό του συνολικού χρωμίου σε υλικά αναφοράς, γνωστής περιεκτικότητας σε χρώμιο, όπως ιζήματα και φύλλα τσαγιού και ροδακίνου και τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον Πίνακα 1.2. Η μέθοδος εφαρμόστηκε επίσης για τον ταυτόχρονο προσδιορισμό Cr(III) και Cr(VI) σε μίγματα, των οποίων η περιεκτικότητα σε Cr(III) και Cr(VI) ήταν γνωστή. Επιπλέον η εφαρμογή της μεθόδου επεκτάθηκε στον σύγχρονο προσδιορισμό Cr(III) και Cr(VI) σε περιβαλλοντικά ύδατα και σε χυμό τομάτας. Στα δείγματα έγινε προσθήκη Cr(III) και/ή Cr(VI) και προσδιορίστηκαν οι ανακτήσεις (πίνακας 1.5). Τα αποτελέσματα των αναλύσεων των παραπάνω δειγμάτων για χρώμιο πριν από την προσθήκη ήταν αρνητικά, πράγμα που επιβεβαιώθηκε με μέτρηση των δειγμάτων με φασματοφωτομετρία ατομικής απορρόφησης σε φλόγα αέρα/ακετυλενίου στα 357,9 nm.

1.7.1 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΟΛΙΚΟΥ ΧΡΩΜΙΟΥ ΣΕ ΥΛΙΚΑ ΑΝΑΦΟΡΑΣ

Τα προς ανάλυση υλικά αναφοράς(standard reference materials) περιέχουν εκτός από το χρώμιο ένα πλήθος στοιχείων, των οποίων η παρεμποδιστική δράση έπρεπε να αρθεί πριν την πραγματοποίηση των μετρήσεων. Για το σκοπό αυτό υιοθετείται η παρακάτω πορεία κατεργασίας. 1-2 g από το υλικό αναφοράς (ίζημα, φύλλα τσαγιού ή ροδάκινου) τοποθετούνται σε ποτήρι ζέσεως των 50 ml. Το δείγμα υφίσταται χώνευση, σύμφωνα με την πορεία που περιγράφεται από τον Cutter¹¹ και στη συνέχεια θερμαίνεται με πυκνό υδροχλωρικό οξύ, ώστε όλο το χρώμιο να μετατραπεί σε Cr(VI) . Το περιεχόμενο του ποτηριού διηθείται μέσω ηθμού Whatman No. 40 και το διήθημα χωρίζεται σε δύο ίσα μέρη.

Το ένα μέρος του διηθήματος εξατμίζεται σχεδόν μέχρι ξηρού, παραλαμβάνεται με ένα διάλυμα EDTA και τρυγικών, διηθείται και πάλι μέσω ηθμού Whatman No. 40 σε ογκομετρική φιάλη των 10 ml και αραιώνεται μέχρι χαραγής. Το διάλυμα που προκύπτει μετά από την επεξεργασία αυτήν, εισάγεται στη F.I.A και μετρείται το συνολικό χρώμιο ως Cr(VI).

Στη συνέχεια, το δεύτερο μέρος του αρχικού διηθήματος υφίσταται κατεργασία με διάλυμα θειώδους νατρίου, ώστε το Cr(VI) να αναχθεί πλήρως σε Cr(III). Η αναγωγή υποβοηθείται με παρατεταμένο βρασμό, ο οποίος χρησιμεύει και για τη συμπύκνωση του διαλύματος. Στο συμπύκνωμα προστίθεται διάλυμα καυστικού νατρίου, EDTA και τρυγικών συγκέντρωσης 0,01 M και το προκύπτον μίγμα διηθείται όπως και παραπάνω. Το καυστικό νάτριο προστίθεται για να καταβυθιστούν και να απομακρυνθούν με διήθηση τα διάφορα κατιόντα. Διαφορετικά τα μεταλλικά αυτά κατιόντα θα καταβυθίζονταν ως υδροξείδια στην πορεία της F.I.A, με την επίδραση του αλκαλικού οξειδωτικού μίγματος, δημιουργώντας τεράστια προβλήματα στην όλη διαδικασία.

Για το δείγμα από φύλλα τσαγιού η παρεμποδιστική δράση από τα υπερμαγγανικά ιόντα αίρεται εύκολα με την προσθήκη NaN_3 και ζέση του διαλύματος πριν τη μέτρηση. Τα αποτελέσματα των αναλύσεων για το συνολικό χρώμιο, προσδιοριζόμενο ως Cr(III) ή ως Cr(VI), προσεγγίζουν ικανοποιητικά τις πιστοποιημένες τιμές αναφοράς, όπως φαίνεται και στον Πίνακα 1.2.

1.7.2 ΤΑΥΤΟΧΡΟΝΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ Cr(III) ΚΑΙ Cr(VI) ΣΕ ΣΥΝΘΕΤΙΚΑ ΜΙΓΜΑΤΑ.

Παρασκευάστηκαν μίγματα προτύπων διαλυμάτων Cr(III) και Cr(VI) διαφόρων συγκεντρώσεων. Τα παραπάνω μίγματα αναλύθηκαν σύμφωνα με την προτεινόμενη μέθοδο και το περιεχόμενό τους σε Cr(III) και Cr(VI) προσδιορίστηκε φθορισμομετρικά. Προσδιορίστηκε η ακρίβεια ανάλυσης μιγμάτων Cr(III) και Cr(VI) για τα δείγματα που αναφέρονται στον Πίνακα 1.3 (n=5). Το σχετικό σφάλμα για όλα τα δείγματα ήταν <2%.

1.7.3 ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΝΕΡΟΥ ΚΑΙ ΤΟΜΑΤΟΧΥΜΟΥ, ΣΤΑ ΟΠΟΙΑ ΕΧΕΙ ΠΡΟΣΤΕΘΕΙ ΧΡΩΜΙΟ.

Η προτεινόμενη μέθοδος εφαρμόστηκε για τον προσδιορισμό Cr(III) και Cr(VI), που έχει προστεθεί σε δείγματα περιβαλλοντικών υδάτων, από την περιοχή των Ιωαννίνων, και σε δείγμα τοματοχυμού. Μια πρώτη ανάλυση των δειγμάτων πριν από την προσθήκη Cr(III) και Cr(VI) έδειξε, ότι το περιεχόμενό τους σε χρώμιο ήταν κάτω από το όριο ανίχνευσης. Εξαίρεση αποτελεί το δείγμα του νερού της λίμνης (Πίνακας 1.4), όπου ανιχνεύτηκε Cr(III), κάτι που άλλωστε αναμενόταν, λόγω της ύπαρξης χρωμίου στην υλή του βυθού της λίμνης^{12,13}. Αντίθετα παρουσία Cr(VI) δε διαπιστώθηκε λόγω της αφθονίας της οργανικής ύλης που παίζει το ρόλο του αναγωγικού.

Πίνακας 1.4 : Προσδιορισμός Cr(III) και Cr(VI) σε πραγματικά δείγματα

Δείγμα	Cr(VI)*	Cr(III)*
Μεταλλικό νερό	nd	nd
Νερό βρύσης	nd	nd
Νερό λίμνης	nd	0.25 $\mu\text{g g}^{-1}$
Τοματοχυμός	nd	nd

* Μέσος όρος πέντε αναλύσεων nd: δεν ανιχνεύτηκε

Στα δείγματα έγινε προσθήκη διαφορετικών ποσοτήτων Cr(III) και Cr(VI) και προσδιορίστηκαν οι ανακτήσεις τους. Πριν φτάσουμε στον προσδιορισμό του περιεχόμενου Cr(III) και Cr(VI), τα δείγματα υπέστησαν κατεργασία με διάλυμα συγκέντρωσης 1M σε OH⁻

, EDTA και τρυγικά και στη συνέχεια διηθήθηκαν μέσω ηθμού Whatman No. 40, με σκοπό να αρθούν οι παρεμποδίσσεις. Στην περίπτωση του τοματοχυμού οι φυτικές ίνες και τα διάφορα άλλα αδιάλυτα μέρη απομακρύνθηκαν με φυγοκέντρηση και διήθηση μέσω μεμβράνης με διάμετρο πόρων 0,45 μm. Το διήθημα αποχρωματίστηκε με κατεργασία με πολυαμίδιο¹⁴. Σε όλες τις περιπτώσεις οι ανακτήσεις ήταν πολύ ικανοποιητικές (μεταξύ 95 και 104%), όπως φαίνεται και στον Πίνακα 1.5.

Πίνακας 1.5 Ταυτόχρονος προσδιορισμός Cr(III) και Cr(VI) σε συνθετικά μίγματα προστιθέμενης γνωστής ποσότητας προτύπου Cr(III) και Cr(VI) σε απεσταγμένο νερό και σε πραγματικά δείγματα

Δείγμα	Πρόσθετο Cr(VI) (ng ml ⁻¹)	Πρόσθετο Cr(III) (ng ml ⁻¹)	Ευρεθέν	Ευρεθέν	Ανάκτηση%	
			Cr(VI) (ng ml ⁻¹)	Cr(III)* (ng ml ⁻¹)	Cr(VI)	Cr(III)
Απεσταγμένο νερό	0	200	0	200	----	100
	200	200	195	200	98	100
	200	400	200	404	100	101
	300	500	300	500	100	100
	200	0	200	0	100	----
Νερό βρύσης	300	300	285	310	95	102
	250	400	245	405	98	101
Μεταλλικό νερό	300	300	300	300	100	100
	400	250	405	260	101	104
Χυμός τομάτας	300	300	300	310	100	103
	200	200	195	195	98	98

* υπολογίστηκε από τη διαφορά του Cr(VI) από το συνολικό Cr

1.7.4 ΠΡΟΕΛΕΥΣΗ ΤΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

Ο τοματοχυμός παρασκευάστηκε από φρέσκιες τομάτες μετά την αποχύμωσή τους με τη βοήθεια οικιακού αποχυμωτή (blender). Τα δείγματα νερού προήλθαν από τυχαίο σημείο της παράκτιας περιοχής της λίμνης των Ιωαννίνων Παμβώτιδας και από μια βρύση του Παν/μίου Ιωαννίνων.

1.8 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η εφαρμογή της εν ροή οξειδωσης του Cr(III) σε Cr(VI) από τα υπεριοδικά ιόντα και ο φθορισμομετρικός προσδιορισμός του τελευταίου, μέσω της αντίδρασής του με PTQA και της προσαρμογής συστήματος F.I.A, αποδείχτηκε αποτελεσματική για τον σύγχρονο προσδιορισμό Cr(III) και Cr(VI) και συνεπώς για την ανάλυση ειδοαυτοποίησης του χρωμίου. Η αυτοματοποίηση του συστήματος οδήγησε σε μικρότερους χρόνους ανάλυσης με τη βέλτιστη δυνατή απόδοση.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Ahmed, M.J.; Chakraborti, A.K., *Chem. Environ. Res.*, **1992**, 1(4), 397.
2. Pal, B.K.; Chakraborti, A.K.; Ahmed, M.J., *Mikrochim. Acta*, **1989**, I, 393.
3. Pal, B.K.; Chakraborti, A.K.; Ahmed, M.J., *Anal. Chim. Acta*, **1988**, 206, 345.
4. Ahmed, M.J.; Stalikas, C.D.; Veltsistas, P.G.; Tzouwara-Karayanni, S.M.; Karayannis, M.I., *Analyst*, **1997**, 129, 221.
5. Porter, H.D., *J. Am. Chem. Soc.*, **1954**, 76, 127.
6. Pal, B.K.; Chowdyr, B., *Mikrochim. Acta*, **1984**, II, 121.
7. Paleologos, E.K.; Giokaw, D.L.; Tzouwara-Karayanni, S.M.; Karayannis, M.I., *Anal. Chem.*, 2002, in press
8. Bailar, J.C.; Emeleus H.J.; Nyholm, R.; Trotman-Dickenson, A.F., *Comprehensive Inorganic Chemistry*, Vol. 3, N.Y., **1975**.
9. Kassim, A.Y.; Sulfab, Y., *Inorg. Chem.*, **1981**, 20, 506.
10. Abdel-Khalek, A.A.; Elsemogny, M.M., *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **1988**, 61, 4407.
11. Cutter, G.A., *Anal. Chem.*, **1985**, 57, 2951.
12. Stalikas, C.D.; Pilidis, G.A.; Karayannis, M.I., *Fresenius Envir. Bull.*, **1994**, 3, 575.
13. Kalogeropoulos, N.; Karayannis, M.I.; Vassilaki-Grimani, M.; Grimani, A.P., *Fresenius Envir. Bull.*, **1994**, 3, 187.
14. *Biochemical Analysis, Food Analysis*, Boehringer, Mannheim, Cat.No. 139068

**ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑΣ ΕΙΔΟΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ
ΧΡΩΜΙΟΥ ΜΕ ΔΙΑΜΕΣΟΛΑΒΗΣΗ ΜΙΚΥΛΛΙΑΚΩΝ
ΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΑ ΑΤΟΜΙΚΗΣ
ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗΣ.**

2.1 ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στο κεφάλαιο αυτό περιγράφεται η ανάπτυξη της τεχνικής του σημείου νεφέλωσης (Cloud Point) και η προσαρμογή της στην ειδοταυτοποίηση μεταλλικών στοιχείων. Τα προς ανάλυση είδη αντιδρούν με κατάλληλους, οργανικούς συνήθως υποκασταστάτες σχηματίζοντας ομοιοπολικά μοριακά σύμπλοκα, τα οποία λόγω του υδρόφοβου χαρακτήρα τους εγκλωβίζονται μέσα στα μικύλλια της επιφανειοδραστικής ουσίας. Ειδικότερα γίνεται ειδοταυτοποίηση ιχνοποσοτήτων Cr(III) και Cr(VI) σε δείγματα, με σκοπό την ανάλυση δειγμάτων με σύνθετα υποστρώματα, όπως το θαλασσινό νερό. Η ειδοταυτοποίηση του Χρωμίου πραγματοποιείται με συμπλοκοποίηση του Cr(VI) και του Cr(III) με τα κοινά συμπλεκτικά αντιδραστήρια πυρρολιδίνιο-διθειοκαρβαμικό αμμώνιο (APDC) και 8-Υδροξυκινολίνη (8-HQ) και εγκλωβισμό των υδρόφοβων συμπλόκων στα μικύλλια του μη ιονικού τασενεργού Triton X-114, που σχηματίζονται με τη μέθοδο του σημείου νεφέλωσης.

Για τον ποσοτικό προσδιορισμό χρησιμοποιείται φλογοφωτομετρία ατομικής απορρόφησης. Μελετήθηκαν σχολαστικά διάφορες παράμετροι, που επηρεάζουν τόσο το σχηματισμό των συμπλόκων και των μικυλλίων όσο και την απόδοση της εκχύλισης και του διαχωρισμού των ειδών του χρωμίου. Με πρότυπα διαλύματα Cr(III) και Cr(VI) έγιναν καμπύλες αναφοράς, ενώ ταυτόχρονα προσδιορίστηκαν και οι συντελεστές προσυγκέντρωσης. Οι περιοχές γραμμικότητας που προέκυψαν είναι 5-130 $\mu\text{g L}^{-1}$ για το Cr(III) και 2-85 $\mu\text{g L}^{-1}$ για το Cr(VI). Τα αντίστοιχα όρια ανίχνευσης των δύο ειδών είναι 1,4 και 0,65 $\mu\text{g L}^{-1}$. Η παρεμποδιστική δράση διαφόρων μεταλλικών ιόντων αλλά και άλλων αντιδραστηρίων, που απαντούν σε πραγματικά δείγματα χρωμίου μελετήθηκε με τη μέθοδο των μικτών διαλυμάτων. Οι συντελεστές ανάκτησης της μεθόδου κυμαίνονται από 96-104%, ενώ η τυπική της απόκλιση είναι 2,2% [$n=5$ για 10 $\mu\text{g L}^{-1}$ Cr(III) ή Cr(VI)]. Η εφαρμογή της μεθόδου σε πραγματικά δείγματα έδωσε πολύ καλά αποτελέσματα επιτρέποντας τον προσδιορισμό σε επίπεδα κοντά στο 1 $\mu\text{g L}^{-1}$ με φλογοφωτομετρία ατομικής απορρόφησης, στην οποία το όριο ανίχνευσης για τον προσδιορισμό του χρωμίου χωρίς προσυγκέντρωση είναι περίπου 100 $\mu\text{g L}^{-1}$. Είναι έτσι φανερό, ότι αξιοποιείται η δυνατότητα προσυγκέντρωσης του Cr(VI) κατά 120 και του Cr(III) κατά 75 φορές σε σχέση με τη συγκέντρωσή τους στα αρχικά δείγματα.

2.2 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Στην εργασία αυτήν, η μέθοδος εκχύλισης με μικύλλια εφαρμόζεται για την ειδοταυτοποίηση των δύο, βιολογικά σημαντικών, σταθερών οξειδωτικών καταστάσεων του χρωμίου, δηλαδή του Cr(III) και του Cr(VI). Η προτεινόμενη μέθοδος στηρίζεται στην εκλεκτική αντίδραση του Cr(III) με την 8-Υδρξυκινολίνη και του Cr(VI) με το APDC. Και στις δύο περιπτώσεις σχηματίζονται υδρόφοβα προϊόντα, τα οποία απομονώνονται στα μικύλλια της τασενεργού ουσίας, ενώ ταυτόχρονα προσυγκεντρώνονται αρκετές δεκάδες φορές. Η τελική ειδοταυτοποίηση επιτυγχάνεται με ανιχνευτή ατομικής απορρόφησης, ο οποίος επιτρέπει ακριβείς μετρήσεις και των δύο ειδών στην περιοχή συγκεντρώσεων της τάξης των $\mu\text{g L}^{-1}$.

2.3 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.

2.3.1 ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ.

Η τασενεργός ουσία Triton X-114 είναι προϊόν της εταιρίας Fluka και χρησιμοποιήθηκε χωρίς περαιτέρω καθαρισμό. Τα συμπλεκτικά αντιδραστήρια πυρολιδινοδιθειοκαρβαμικό αμμώνιο ($C_5H_9NS_2 \cdot NH_3$, APDC) και 8-Υδροξυκινολίνη (C_9H_7NO) είναι προϊόντα της εταιρίας Sigma-Aldrich Chemie GmbH (Steinheim, Germany). Τα άλατα διχρωμικό κάλιο ($K_2Cr_2O_7$) $Cr(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$ και ένυδρο νιτρικό χρώμιο(III) ($Cr(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$) είναι επίσης προϊόντα της εταιρίας Sigma Aldrich. Όλα τα υπόλοιπα αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν είναι αναλυτικού βαθμού καθαρότητας, απηλλαγμένα από ίχνη ποσοτήτων χρωμίου.

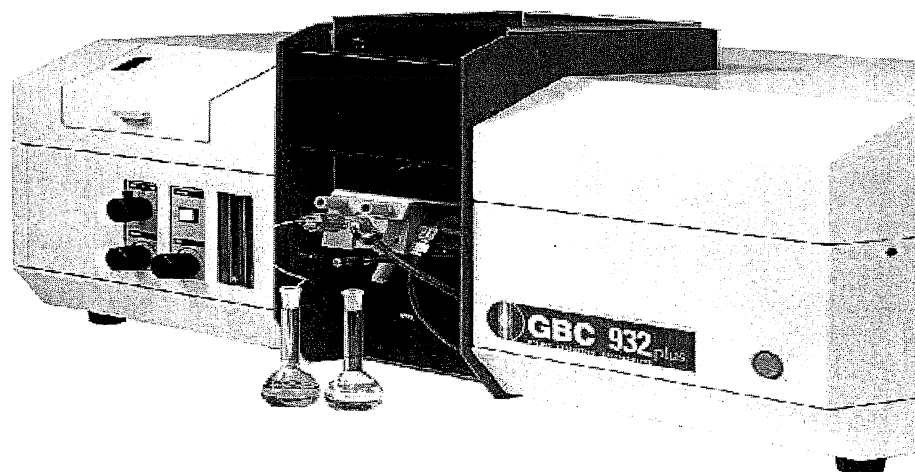
Τα πρότυπα διαλύματα του Cr(III) και Cr(VI) παρασκευάστηκαν με διάλυση καταλλήλων ποσοτήτων των αντίστοιχων αλάτων τους σε δις-απεσταγμένο ύδωρ. Το διάλυμα του APDC παρασκευάστηκε επίσης σε δις-απεσταγμένο ύδωρ σε αντίθεση με την 8-Υδροξυκινολίνη, η οποία είναι δυσδιάλυτη σε αυτό και διαλύθηκε σε μεθανόλη 99,8%. Τα χρησιμοποιούμενα πρότυπα διαλύματα μετάλλων και ειδικά του χρωμίου, το οποίο χρησιμοποιείται για τη ρύθμιση του οργάνου παρασκευάζονται από πυκνά πρότυπα διαλύματα ατομικής απορρόφησης (Titrisol) συγκέντρωσης 1000 mg L^{-1} . Άλλα διαλύματα ουσιών, τα οποία χρησιμοποιήθηκαν για τη μελέτη των παρεμποδίσεων, παρασκευάστηκαν από τα αντίστοιχα άλατα των ουσιών.

Για τη ρύθμιση του pH κατά τα πειράματα νεφέλωσης χρησιμοποιήθηκαν ρυθμιστικά διαλύματα NH_3/NH_4Cl τιμής pH 8,5 ενώ η τιμή pH 2,0 ρυθμίστηκε με προσθήκη διαλύματος HCl 1 N. Η γενικότερη ρύθμιση του pH κατά τα πειράματα βελτιστοποίησης έγινε με προθήκη σταγόνων διαλυμάτων HCl 0,1 N ή NaOH 0,1 N. Το διάλυμα διάσπασης των μικυλλίων παρασκευάζεται με αραιώση 3,125 mL πυκνού διαλύματος HNO_3 σε μεθανόλη μέχρι όγκο 50 mL. Το πρότυπο διάλυμα του τασενεργού Triton X-114 φυλάσσεται στο ψυγείο μέχρι τη χρήση του.

2.3.2 ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ.

Τα πειράματα της νεφελωματικής εκχύλισης πραγματοποιούνται σε πωματιζόμενους φυγοκεντρικούς σωλήνες όγκου 50 mL Για τα προκαταρκτικά στάδια της νεφέλωσης και του διαχωρισμού των μικυλλίων από το διάλυμα χρησιμοποιήθηκε υδατόλουτρο(Memmert) ρυθμισμένο στην επιθυμητή θερμοκρασία, ενώ για το διαχωρισμό των φάσεων τα διαλύματα φυγοκεντρώνται με τη βοήθεια φυγόκεντρου(Hettich Universal) με χωρητικότητα 16 θέσεων και δυνατότητα προσαρμογής κεφαλών διαφόρων μεγεθών .

Οι μετρήσεις ατομικής απορρόφησης έγιναν με φασματοφωτόμετρο ατομικής απορρόφησης της εταιρίας GBC Australia. Το φασματοφωτόμετρο είναι μοντέλο GBC-2000 εξοπλισμένο με λάμπα κοίλης καθόδου και φαίνεται στο Σχήμα 2.1. Οι συνθήκες λειτουργίας για τον προσδιορισμό του χρωμίου είναι: ρεύμα 6 mA(συνιστώμενο από τον κατασκευαστή), μήκος κύματος 357,9 nm και εύρος σχισμής μονοχρώματα 0,5 nm. Για την ατομοποίηση χρησιμοποιήθηκε φλόγα αέρα : ακετυλενίου (3:1). Το σήμα εξόδου του οργάνου εμφανίζεται σε ψηφιακή μορφή στην οθόνη και λαμβάνεται με χρόνο συλλογής 0,5 s. Ως μέτρο της συγκέντρωσης του χρωμίου λαμβάνεται το ύψος της κορυφής, το οποίο υπολογίζεται ηλεκτρονικά από το λογισμικό του οργάνου μετά από κατάλληλη εντολή. (Peak Hight Mode).

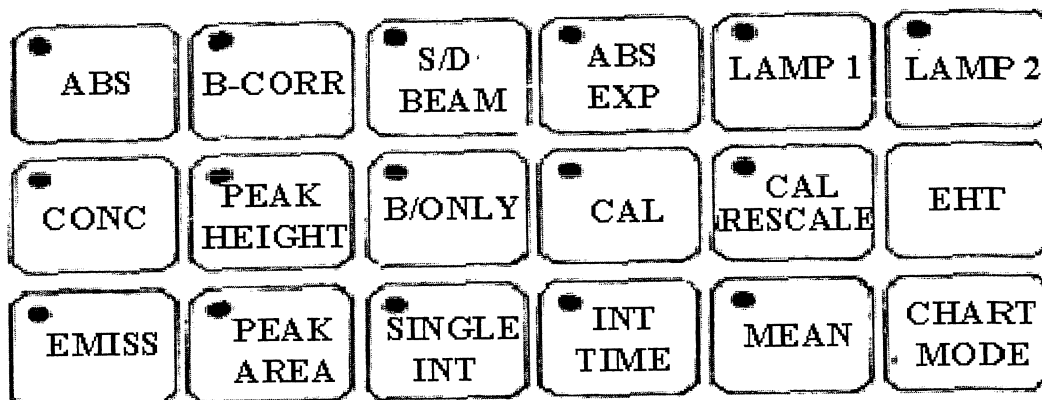


Σχήμα 2.1 : Άποψη του φασματοφωτομέτρου ατομικής απορρόφησης GBC-2000

Στον πίνακα ελέγχου του οργάνου τονίζονται τα βασικά πλήκτρα λειτουργίας.

ABS : Απευθείας έκφραση του σήματος σε μονάδες απορρόφησης.

CONC : Μετατροπή του μετρούμενου σήματος σε συγκέντρωση μετά από κατάλληλη βαθμονόμηση.



Σχήμα 2.2 : Πίνακας ελέγχου του φασματοφωτομέτρου Ατομικής Απορρόφησης CBC-2000

EMISS : Μέτρηση του σήματος εκπομπής.

B-CORR : Δυνατότητα διόρθωσης του σήματος μετά από μέτρηση του σήματος υποστρώματος και άμεση αφαίρεσή του από το μετρούμενο σήμα (background correction).

PEAK HEIGHT : Υπολογισμός του ύψους της κορυφής του σήματος ως μέτρο της συγκέντρωσης.

PEAK AREA : Υπολογισμός του εμβαδού της κορυφής του σήματος ως μέτρο της συγκέντρωσης(κυρίως σε μετρήσεις με φούρνο).

S/D BEAM : Εναλλακτική μετατροπή του οργάνου σε φασματοφωτόμετρο απλής/διπλής δέσμης.

B-ONLY : Καταγραφή μόνο του σήματος υποστρώματος.

SINGLE INT. : Απλή ολοκλήρωση του σήματος.

ABS EXP. : Επέκταση της κλίμακας απορρόφησης.

CAL : Αρχή διαδικασίας αυτόματης βαθμονόμησης.

INT. TIME. : Διάρκεια ολοκλήρωσης του σήματος.

LAMP 1 : Λειτουργία λάμπας του στοιχείου που πρόκειται να μετρηθεί.

LAMP 2 : Λειτουργία λάμπας δευτερίου.

CAL RESCALE : Προσαρμογή και αναθεώρηση της βαθμονόμησης σε περίπτωση ολίσθησης του σήματος.

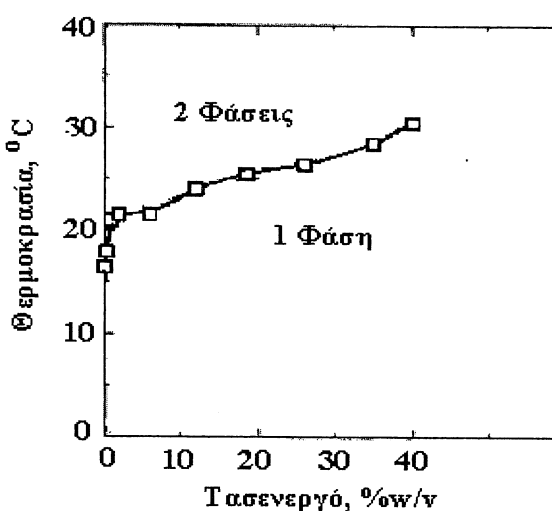
MEAN : Υπολογισμός μέσης τιμής διαδοχικών μετρήσεων.

EHT : Αυτόματη ρύθμιση του 0 και του 100% της διαπερατότητας.

Εκτός από την λάμπα μέτρησης το όργανο διαθέτει λάμπα δευτερίου με δυνατότητα υπολογισμού και διόρθωσης του σήματος του υποστρώματος. Επίσης έχει τη δυνατότητα αυτόματης βαθμονόμησης με καμπύλη αναφοράς ή σταθερή προσθήκη. Τέλος μπορεί να μετατραπεί σε όργανο ηλεκτροθερμικής ατομοποίησης και να συνδεθεί με γεννήτρια υδριδίων.

2.3.3 ΠΟΡΕΙΑ ΕΡΓΑΣΙΑΣ.

Ο τελικός όγκος της μικυλλιακής φάσης υπολογίστηκε με μέτρηση του συνολικού όγκου μετά την προσθήκη του μεθανολικού διαλύματος. Οι τιμές που αναφέρονται αποτελούν το μέσο όρο τριών μετρήσεων. Το σημείο νεφέλωσης καθώς και η κρίσιμη μικυλλιακή συγκέντρωση του Triton X-114 υιοθετήθηκαν από τη μελέτη άλλων ερευνητών¹.

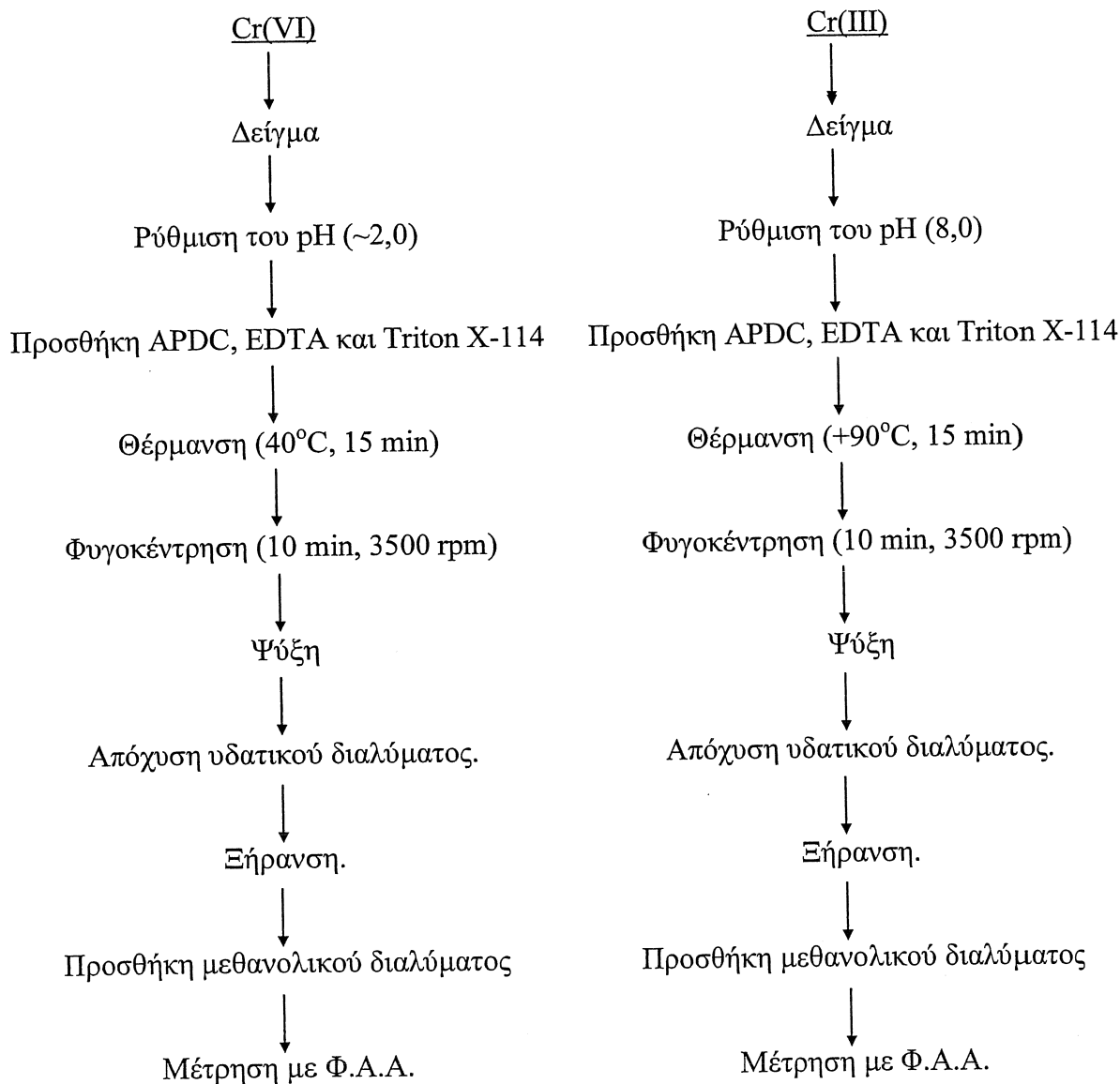


Σχήμα 2.3 : Διάγραμμα Φάσεων του Triton X-114

Το κύριο στάδιο κάθε πειράματος που στηρίζεται σε εκχύλιση σημείου νεφέλωσης είναι ο σχηματισμός των μικυλλίων και η απομόνωση σε αυτά των αναλυτών. Η πορεία εργασίας για την ειδοταυτοποίηση του χρωμίου μετά από προσυγκέντρωση σε μικύλλια με την τεχνική σχηματισμού νεφελωμάτων ακολουθεί την παρακάτω σχηματική διαδικασία.

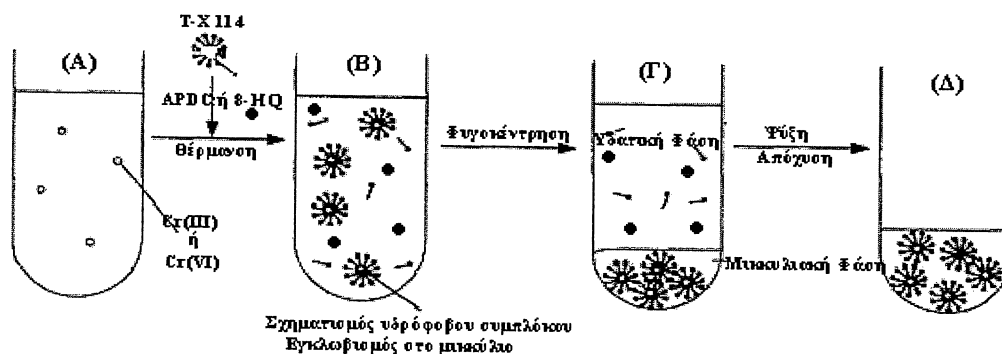
Συνοπτικά σε 30 mL διαλύματος (προτύπου ή αγνώστου), το οποίο μπορεί να περιέχει ένα ή και τα δύο είδη χρωμίου, προστίθεται Triton X-114 (600 ή 300 μL από το πυκνό διάλυμα 10% w/v), ώστε το τελικό διάλυμα να περιέχει 2.0 ή

Πίνακας 2.1 : Διαγραμματική παράσταση της πορείας εργασίας κατά τη μικυλλιακή εκχύλιση για την ειδοταντοποίηση του Χρωμίου με Φασματοφωτομετρία Ατομικής Απορρόφησης.



1.0 g L⁻¹ αντίστοιχα. Στη συνέχεια προστίθεται το συμπλεκτικό αντιδραστήριο (8-Υδροξυκινολίνη ή APDC), ώστε το διάλυμα να περιέχει 1.0 ή 4.0 mmol L⁻¹ αντίστοιχα και το pH του διαλύματος ρυθμίζεται στην επιθυμητή τιμή (8.0 και 2.0) με προσθήκη σταγόνων διαλύματος NaOH 1 N ή HCl 1 N. Το διάλυμα ομοιογενοποιείται με ανατάραξη σε Vortex για 1 λεπτό

και στη συνέχεια βυθίζεται σε θερμοστατούμενο υδρόλουτρο ρυθμισμένο στην επιθυμητή θερμοκρασία, που είναι 85 °C και 40 °C αντίστοιχα. Εκεί παραμένει για 15 λεπτά για την πλήρη μορφοποίηση των μικυλλιακών νεφελωμάτων και την ολοκλήρωση της εκχύλισης. Ο πλήρης διαχωρισμός των φάσεων επιτυγχάνεται με φυγοκέντρηση για 10 λεπτά στις 3500-4000 στροφές το λεπτό. Μετά τη φυγοκέντρηση η πυκνή μικυλλιακή φάση αποτίθεται με τη μορφή διαυγούς γέλης στον πυθμένα του φυγοκεντρικού σωλήνα. Για την εύκολη απομόνωση της μικυλλιακής φάσης και την ποσοτική της παραλαβή, το μίγμα ψύχεται σε παγόλουτρο (μέγιστη θερμοκρασία 0 °C) για 3-5 λεπτά με αποτέλεσμα να αυξηθεί το ιξώδες της μικυλλιακής φάσης. Η απομόνωση επιτυγχάνεται με απλή απόχυση του υπερκείμενου υδατικού περιβάλλοντος, επειδή η μικυλλιακή φάση είναι παχύρρευστη και αποκολλάται δύσκολα, από τον πυθμένα του σωλήνα. Στη συνέχεια στη μικυλλιακή αυτή φάση προστίθεται μεθανολικό διάλυμα, που περιέχει 1 mol L⁻¹ HNO₃, ώστε να μειωθεί το ιξώδες. Το διάλυμα αυτό εισάγεται στη φλόγα και καταγράφεται η απορρόφηση, που είναι ανάλογη της συγκέντρωσης του χρωμίου.



Σχήμα 2.4 : Σχηματική αναπαράσταση των τεσσάρων βασικών σταδίων μιας μικκυλλιακής εκχύλισης για την ανάλυση ειδοταυτοποίησης του Χρωμίου.

2.3.4 ΑΝΑΛΥΣΗ ΜΕ ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΑ ΑΤΟΜΙΚΗΣ ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗΣ ΜΕ ΦΛΟΓΑ

Για το μέγιστο αναλυτικό σήμα οι ρυθμίσεις του οργάνου προσαρμόζονται στις ανάγκες του μικυλλιακού εκχυλίσματος. Έτσι οι ρυθμίσεις του οργάνου δηλαδή η θέση του καυστήρα, η ταχύτητα αναρρόφησης και η σύσταση των αερίων της φλόγας επιτυγχάνονται, χρησιμοποιώντας για τη ρύθμιση, διάλυμα χρωμίου 5 mg L^{-1} , το οποίο περιέχει 10% w/v Triton X-114 και $1 \text{ mol L}^{-1} \text{ HNO}_3$ σε μεθανόλη, ώστε να ανταποκρίνονται στο ιξώδες των εκχυλισμάτων, που λαμβάνονται μετά την εφαρμογή της μικυλλιακής εκχύλισης στα πρότυπα διαλύματα και τα άγνωστα δείγματα.

Η τελική μέτρηση απαιτεί εξοικείωση και εξάσκηση για τον άνετο χειρισμό των μικρών όγκων του δείγματος, στους οποίους καταλήγουμε αναγκαστικά για να επιτευχθεί μεγάλος βαθμός προσυγκέντρωσης. Έτσι το σήμα ολοκληρώνεται κάθε 0,5 δευτερόλεπτο, ώστε ακόμα και για πολύ μικρούς όγκους να μπορούμε να πάρουμε 3-5 μετρήσεις. Το πρόβλημα της επαναληπτικής εισαγωγής του δείγματος και της μέτρησης λύθηκε στη συνέχεια με χρήση ανάλυσης με έγχυση δείγματος σε συνεχή ροή και προσαρμογή της στη ροή του εκνεφωτή.

2.3.5 ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

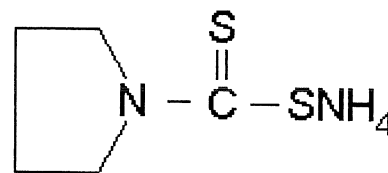
Τα δείγματα νερού λαμβάνονται από τους ποταμούς της Ηπείρου Λούρο, Άραχθο και Καλαμά στα πλαίσια ερευνητικού προγράμματος δειγματοληψίας και μελέτης και από τη θαλάσσια περιοχή του Αμβρακικού κόλπου στην Πρέβεζα. Όλα τα δείγματα διηθούνται με ηθμούς Whatman No 40 για την απομάκρυνση των αιωρούμενων στερεών. Ποσότητα 30 mL από κάθε δείγμα υποβάλλεται στην κατεργασία, που περιγράφεται παραπάνω για την εκχύλιση με μικύλλια. Η ανάλυση σε δείγμα καπνού πραγματοποιήθηκε σε εμπορικό κατεργασμένο καπνό (Old Holburn). Έχει αναφερθεί η ύπαρξη χρωμίου σε διάφορες ποικιλίες καπνού, το οποίο κατά το κάπνισμα ενδέχεται να οξειδώνεται σε Cr(VI), που ελέγχεται για καρκίνο των πνευμόνων και του λάρυγγα. Έτσι 3 γραμμάρια δείγματος αποτεφρώνονται με θέρμανση στους $800 \text{ }^\circ\text{C}$ για μία ώρα. Το περιεχόμενο χρώμιο εκχυλίζεται με 30 mL θερμού ύδατος και τα εκχυλίσματα μετά τη διήθηση υποβάλλονται σε εκχύλιση με τη μέθοδο του σημείου νεφέλωσης. Σε οποιαδήποτε περίπτωση η συγκέντρωση των ειδών του χρωμίου

είναι κάτω από τα όρια ανίχνευσης της μεθόδου, εφαρμόζεται η μέθοδος της προσθήκης γνωστής ποσότητας. Έτσι στα δείγματα προστίθενται γνωστές ποσότητες προτύπων διαλυμάτων, με σκοπό την προσομοίωση των πραγματικών δειγμάτων και πραγματοποιούνται πειράματα ανάκτησης. Όλα τα δείγματα μετά από τη μικυλλιακή εκχύλιση, το διαχωρισμό των φάσεων και την κατεργασία με το μεθανολικό διάλυμα αναλύονται με φασματοφωτομετρία ατομικής απορρόφησης.

2.4 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ.

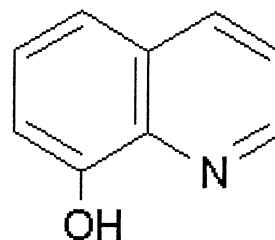
2.4.1 ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΣΥΜΠΛΟΚΟΠΟΙΗΣΗΣ ΚΑΙ ΔΙΑΧΩΡΙΣΜΟΥ

Ο μηχανισμός των αντιδράσεων, που εξυπηρετούν το σχηματισμό των υδρόφοβων συμπλόκων των δύο μορφών του χρωμίου, είναι ο εξής. Όπως αναφέρθηκε και στο θεωρητικό μέρος, το Cr(VI) δε σχηματίζει σύμπλοκα. Αντίθετα έχει έντονη οξειδωτική δράση και ιδιαίτερα σε όξινες συνθήκες εμφανίζει ισχυρή τάση να οξειδώνει τα οργανικά μόρια και να ανάγεται σε Cr(III), που αποτελεί και τη σταθερότερη οξειδωτική βαθμίδα. Στην περίπτωση που μελετάμε, το Cr(VI) ανάγεται σε Cr(III) από το APDC. Τα προϊόντα οξείδωσης του APDC συμπλέκουν το παραγόμενο Cr(III) 'in situ' πριν αυτό προλάβει να εφυδατωθεί και να μεταπέσει στο κινητικά αδρανές εξαεφυδατωμένο σύμπλοκο $\text{Cr}(\text{H}_2\text{O})_6^{3+}$. Σχηματίζονται έτσι δύο μοριακά και υδρόφοβα σύμπλοκα τα Bis[-pyrrolidine-1-dithioato-S,S']-pyrrolidine-1-peroxydithioato-O,S]-Cr(III) και Tris[-pyrrolidine-1-dithioato-S,S']-Cr(III).



Σχήμα 2.5 : Συντακτικός τύπος του APDC.

Αντίθετα το Cr(III), που υπάρχει αρχικά στο δείγμα, δεν αντιδρά στις επιλεγμένες συνθήκες (pH =2, T=40 °C) με το APDC, λόγω της κινητικής του αδράνειας. Έτσι εξασφαλίζεται η εκλεκτικότητα ως προς το Cr(VI). Για το σχηματισμό του υδρόφοβου συμπλόκου του Cr(III) χρησιμοποιείται η 8-Υδροξυκινολίνη(8-HQ). Πρόκειται για έναν οργανικό υποκαταστάτη χωρίς αναγωγικές ιδιότητες,



Σχήμα 2.6 : Συντακτικός τύπος 8-Hydroxyquinoline.

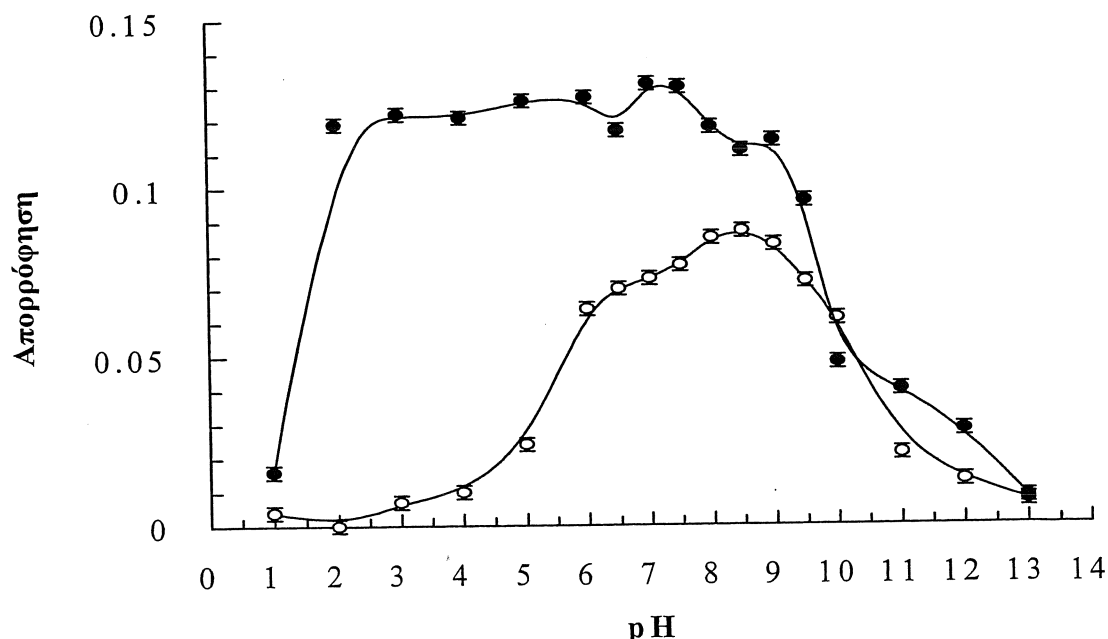
που με το χρώμιο(III) δίνει την ένωση τρις-κινολινάτο-Cr(III) (CrQ_3), ενώ δεν αντιδρά με το Cr(VI). Θα πρέπει εδώ να τονιστεί, ότι η εκλεκτικότητα των αντιδραστηρίων αφορά τα δύο είδη του χρωμίου και όχι άλλα μέταλλα. Δηλαδή το APDC και η 8-Υδροξυκινολίνη αντιδρούν όχι μόνο με το χρώμιο, αλλά και με άλλα μέταλλα δίνοντας υδρόφοβα και υδρόφιλα σύμπλοκα. Η δράση αυτή των αντιδραστηρίων και η επίδραση των μετάλλων στο σύστημα θα αναλυθούν στην παράγραφο, που αναφέρεται στις παρεμποδίσεις. Επιπλέον συνεργικός παράγοντας στην εκλεκτικότητα είναι και οι εξαιρετικά χαμηλές συγκεντρώσεις των δύο ειδών, τις οποίες επιδιώκουμε.

Για να μεγιστοποιηθεί την απόδοση της μεθόδου με μέγιστες ανακτήσεις και ελάχιστα όρια ανίχνευσης, μελετήθηκαν και βελτιστοποιήθηκαν όλες οι παράμετροι που είναι κρίσιμες και επηρεάζουν το σχηματισμό των υδρόφοβων μορίων, όπως επίσης και τη μορφοποίηση, το διαχωρισμό, την απομόνωση και την επεξεργασία των μικυλλιακών νεφελωμάτων.

2.4.2 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΩΝ ΣΥΝΘΗΚΩΝ.

2.4.2.1 Επίδραση του pH.

Το pH αποτελεί έναν από τους ρυθμιστικούς παράγοντες για τον διαχωρισμό και την



Σχήμα 2.7 : Επίδραση του pH στην απόδοση της μικυλλιακής εκχύλισης. Cr(VI)(●), 30 $\mu\text{g L}^{-1}$ Cr(III)(○), 30 $\mu\text{g L}^{-1}$. Triton X-114: 1 g L^{-1} για το Cr(VI), 2 g L^{-1} για το Cr(III). Θερμοκρασία: 40 °C για το Cr(VI), > 80 °C για το Cr(III). APDC: 4,0 mmol L^{-1} . 8-HQ: 1,0 mmol L^{-1} .

ειδοταυτοποίηση του χρωμίου, καθώς επηρεάζει τη χημική του συμπεριφορά. Όπως αναφέρεται και στο κεφάλαιο του χρωμίου στο τμήμα ΧΗΜΕΙΑ, το Cr(III) είναι αδρανές σε χαμηλά pH, ενώ η δραστηριότητα και η κινητικότητα του αυξάνεται κυρίως σε μεγάλα pH, όπου το αδρανές υδατο-σύμπλοκο μετατρέπεται στο ευκίνητο υδροξυ-σύμπλοκο². Όπως φαίνεται και από το Σχήμα 2.7, η απόδοση της μεθόδου αυξάνεται με την αύξηση του pH δίνοντας μια στενή βέλτιστη περιοχή μεταξύ των τιμών 7,5 και 9,5. Η ελάττωση του σήματος σε αλκαλικότερα διαλύματα αποδίδεται μάλλον στη συμπεριφορά των μικυλλίων παρά στην αντίδραση. Η τιμή 8,0 επιλέχθηκε ως βέλτιστη και υιοθετήθηκε στη συνέχεια των πειραμάτων, σε συμφωνία και με τα πειράματα άλλων ερευνητικών ομάδων. Συγκεκριμένα οι Sary et.al³ δίνουν την τιμή 8,0 ως την πιο ευνοϊκή για το σχηματισμό του συμπλόκου του Cr(III) με την 8-Υδροξυκινολίνη. Όσον αφορά το Cr(VI), του οποίου η κινητικότητα και η χημική δραστηριότητα είναι σαφώς μεγαλύτερη, αφού υπάρχει ως ελεύθερο ιόν, η αντίδρασή του με το APDC είναι πρακτικά ανεπηρέαστη από το pH στην περιοχή από 2,0-10,0. Η όξινη περιοχή pH=2 επιλέχθηκε για την εκτέλεση των πειραμάτων, ώστε να ελαχιστοποιηθεί η πιθανότητα αντίδρασης και του Cr(III) με το APDC λόγω ενεργοποίησής του σε υψηλότερα pH. Επιπλέον, επειδή είναι γνωστό, ότι η οξειδωτική ικανότητα και επομένως και η αναγωγή του Cr(VI) αυξάνεται σε όξινες συνθήκες, προτιμάται η τιμή 2,0, ώστε να εξασφαλιστεί η διατήρηση της δραστηριότητας ακόμα και σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις ($\mu\text{g L}^{-1}$). Χαμηλότερες τιμές pH δεν είναι επιθυμητές, όχι γιατί επηρεάζουν την αντίδραση, αλλά γιατί περιορίζουν τη διαλυτότητα του APDC, το οποίο καταβυθίζεται σχηματίζοντας το αδιάστατο μόριο, που παρεμποδίζει την πορεία διάσπασης του μικυλλίου και την αναρρόφηση από τη φλόγα.

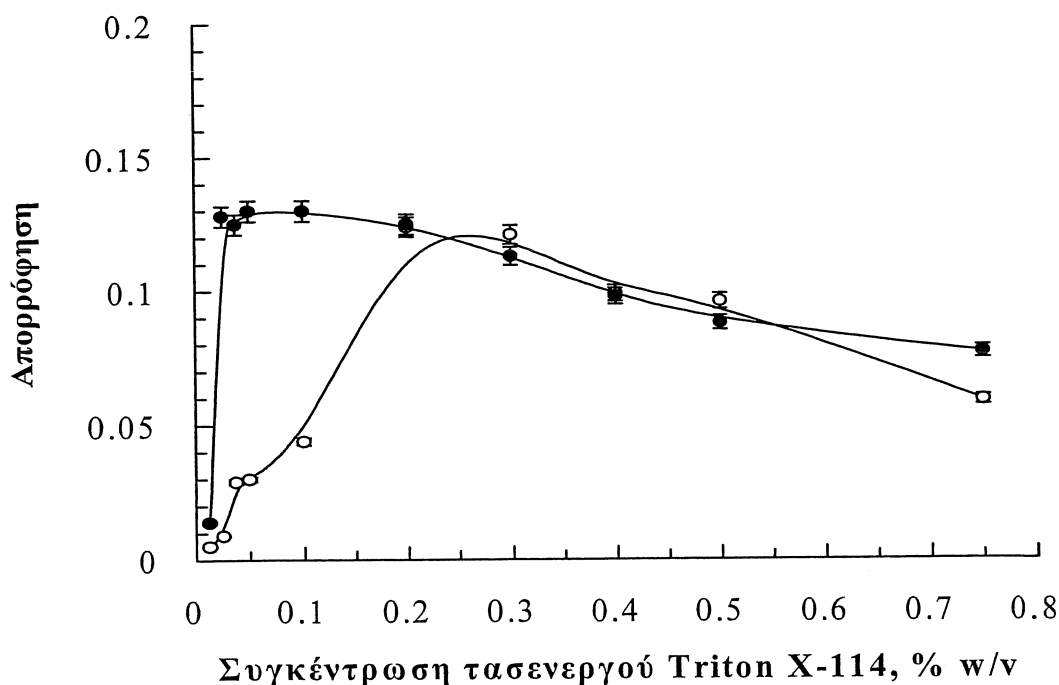
2.4.2.2 Επιλογή τύπου και συγκέντρωσης της τασενεργού ουσίας .

Κατά την εφαρμογή της εκχύλισης μέσω σχηματισμού νεφελωμάτων, οποιαδήποτε μελέτη της αποτελεσματικότητας της εκχύλισης ως προς τον βαθμό προσυγκέντρωσης, γίνεται με σκοπό την ποσοτική συλλογή του προσδιοριζόμενου αναλύτη στο μικρότερο δυνατό τελικό όγκο μικυλλίου. Η μη ιοντική τασενεργός ουσία Triton X-114, η οποία είναι εύκολα προσιτή και εμπορικά, επιλέχθηκε διότι παρέχει μια σειρά από πλεονεκτήματα. Έχει χαμηλό σημείο

νεφέλωσης, που διευκολύνει το πείραμα, ώστε να γίνει σε μεγάλη περιοχή θερμοκρασιών, μεγάλη πυκνότητα της μικυλλιακής φάσης, που ευνοεί το διαχωρισμό της από το υδατικό διάλυμα, είναι ευρέως διαθέσιμη στο εμπόριο σε χαμηλή τιμή και τέλος δεν περιέχει ηλεκτροενεργές ομάδες, που ενδέχεται να δώσουν διάφορες οξειδοαναγωγικές αλληλεπιδράσεις.

Το Cr(III) απαιτεί διπλάσια συγκέντρωση Triton X-114 από ότι το Cr(VI), (2.0 έναντι 1.0 g L⁻¹), για να εγκλωβιστεί ποσοτικά στα μικύλλια και να δώσει το βέλτιστο αναλυτικό σήμα. Το φαινόμενο αυτό αποδίδεται στον λιγότερο υδρόφοβο χαρακτήρα του συμπλόκου με την 8-Υδροξυκινολίνη και στο αλκαλικό περιβάλλον, που αυξάνει τη διαλυτότητα των μονομερών σωματιδίων της τασενεργού ουσίας και την κρίσιμη συγκέντρωση. Κυρίως όμως οφείλεται στη μικρή αλλά όχι αμελητέα ποσότητα μεθανόλης, η οποία εισάγεται με την προσθήκη της δυσδιάλυτης στο νερό 8-Υδροξυκινολίνης. Η επίδραση αυτή της συγκέντρωσης της τασενεργού ουσίας στην

εκχύλιση και απομόνωση των δύο ειδών φαίνεται στο Σχήμα 2.8. Είναι φανερό, ότι μικρές ποσότητες τασενεργού είναι ανεπαρκείς για να εγκλωβίσουν ποσοτικά τα υδρόφοβα μόρια,

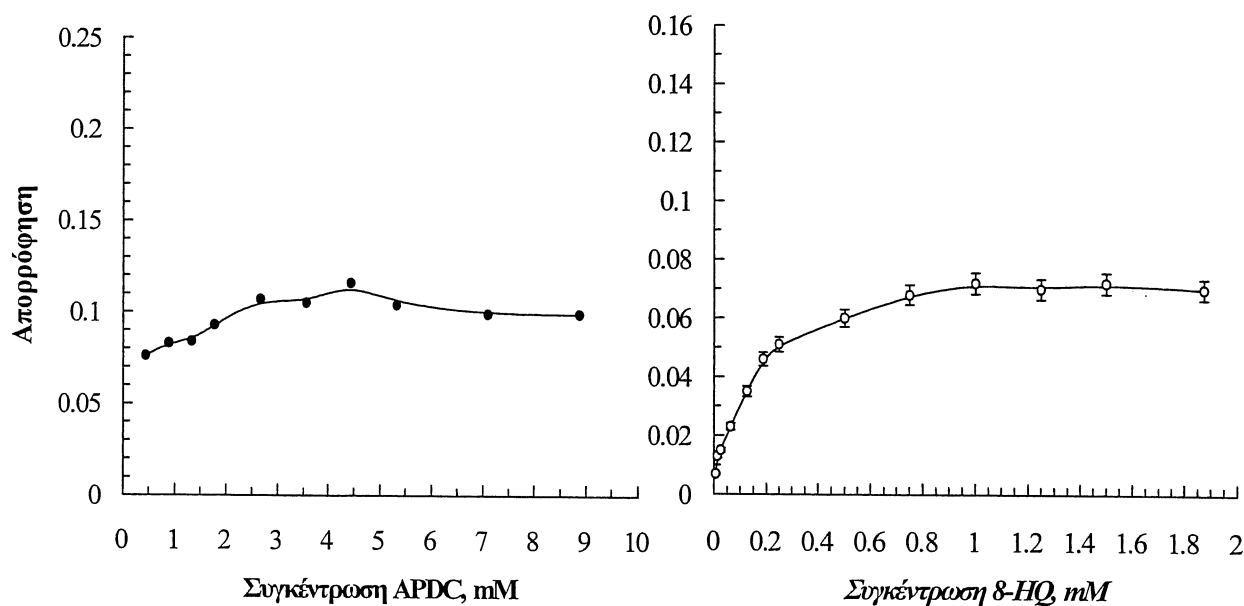


Σχήμα 2.8 : Υπολογισμός της βέλτιστης ποσότητας Triton X-114 για την ποσοτική εκχύλιση των ειδών του χρωμίου στα μικκυλλιακά νεφελώματα. . Cr(VI)(●), 30 μg L⁻¹ Cr(III)(○), 30 μg L⁻¹. Θερμοκρασία: 40 °C για το Cr(VI), > 80 °C για το Cr(III). APDC: 4,0 mmol L⁻¹. 8-HQ: 1,0 mmol L⁻¹.

ενώ πολύ μεγάλες μειώνουν το αναλυτικό σήμα, διότι αυξάνουν τον τελικό όγκο και έτσι μειώνουν το συντελεστή προσυγκέντρωσης. Πάρα τη διαφορά των βέλτιστων τιμών συγκεντρώσεων του τασενεργού για τις δύο μορφές, η ανάλυση μπορεί να γίνει με 1 g L^{-1} σε βάρος όμως της ευαισθησίας για τον προσδιορισμό του Cr(III). Ακόμα όμως και σε αυτή την περίπτωση αποδεικνύεται, ότι τα μικύλλια του Triton X-114 απομονώνουν αποτελεσματικά τα υδρόφοβα σύμπλοκα του χρωμίου στην επιθυμητή περιοχή συγκεντρώσεων, επιτυγχάνοντας πρακτικά ποσοτικές ανακτήσεις με μία εφαρμογή.

2.4.2.3 Συγκέντρωση αντιδραστηρίων.

Ο επόμενος σημαντικός παράγοντας, λόγω των επιδιωκόμενων χαμηλών συγκεντρώσεων, είναι η συγκέντρωση του συμπλεκτικού αντιδραστηρίου, το οποίο πρέπει να είναι αρκετό, ώστε να σχηματίζει με το κάθε είδος υδρόφοβα σύμπλοκα γρήγορα, ποσοτικά και με μη αντιστρεπτό τρόπο. Για συγκεντρώσεις της τάξης των $30 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ για κάθε αναλύτη αποδεικνύεται, ότι η αύξηση της συγκέντρωσης του συμπλεκτικού αντιδραστηρίου οδηγεί σε μεγαλύτερες ανακτήσεις. Από μια τιμή συγκέντρωσης και πάνω, οπότε επιτυγχάνεται ποσοτική συμπλοκοποίηση, το αναλυτικό σήμα παραμένει σταθερό. Αυτό αποτελεί ένα

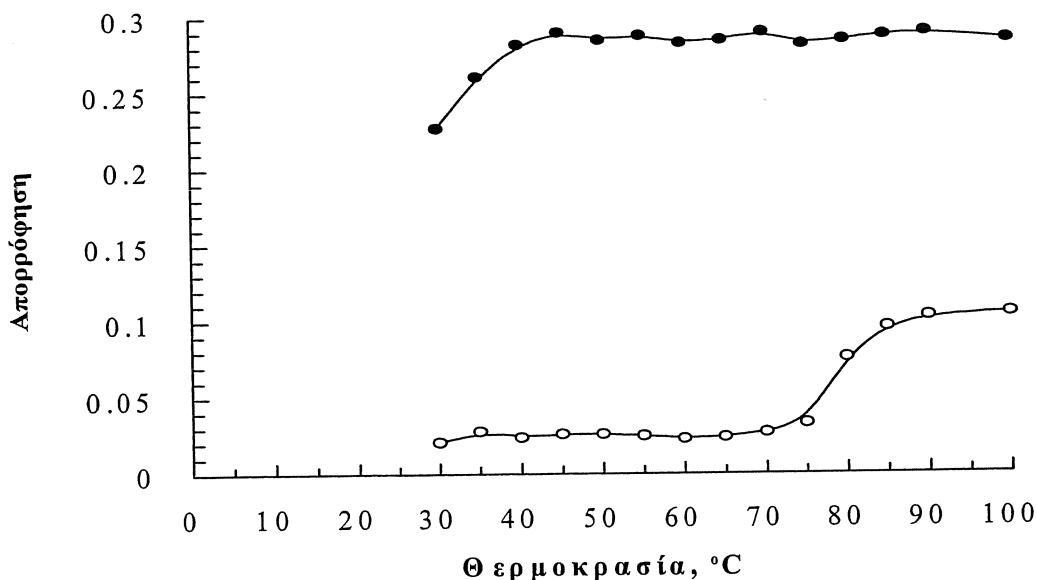


Σχήμα 2.9 : Εύρεση βέλτιστης συγκέντρωσης APDC και 8-HQ για την ποσοτική συμπλοκοποίηση και εκχύλιση του Cr(VI) και του Cr(III) αντίστοιχα. Cr(VI)(●), $30 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ Cr(III)(○), $30 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$. Triton X-114: 1 g L^{-1} για το Cr(VI), 2 g L^{-1} για το Cr(III). Θερμοκρασία: $40 \text{ } ^\circ\text{C}$ για το Cr(VI), $> 80 \text{ } ^\circ\text{C}$ για το

ακόμη θετικό αποτέλεσμα, καθώς φανερώνει, ότι περίσσεια αντιδραστηρίου δεν αντιστρέφει το φαινόμενο οδηγώντας σε επαναδιάλυση των συμπλόκων. Επιτρέπει έτσι τη χρήση μεγαλύτερων συγκεντρώσεων από τις βέλτιστες βοηθώντας στη διατήρηση της απαιτούμενης ποσότητας, έστω και αν μέρος του αντιδραστηρίου καταναλώνεται σε αντιδράσεις συμπλοκοποίησης και με άλλα μέταλλα. Συγκεντρώσεις APDC 4.0 mmol L^{-1} και 8-HQ 1.0 mmol^{-1} αποδεικνύονται ικανοποιητικές ακόμη και σε δείγματα βεβαρημένα με πλήθος και άλλων μεταλλικών στοιχείων εκτός του χρωμίου.

2.4.2.4 Επίδραση θερμοκρασίας.

Όπως φαίνεται και στο Σχήμα 2.10, σημαντικός παράγοντας στο σχεδιασμό της μεθόδου είναι η θερμοκρασία, η οποία επηρεάζει όχι μόνο την ταχύτητα και την αποτελεσματικότητα του σχηματισμού των συμπλόκων, αλλά και τις παραμέτρους και ιδιότητες της μορφοποίησης

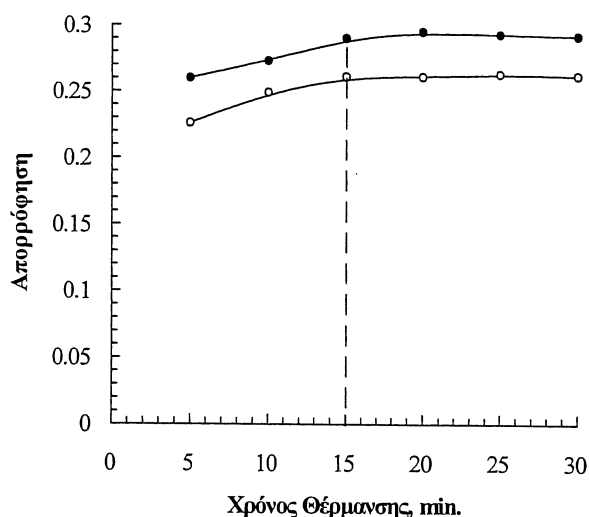


Σχήμα 2.10 : Επίδραση της θερμοκρασίας στην ποσοτική εκχύλιση του Cr. Cr(VI)(●), $50 \mu\text{g L}^{-1}$ Cr(III)(○), $30 \mu\text{g L}^{-1}$. Triton X-114: 1 g L^{-1} για το Cr(VI), 2 g L^{-1} για το Cr(III). APDC: $4,0 \text{ mmol L}^{-1}$. 8-HQ: $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$.

των μικυλλίων. Επιθυμητό είναι να επιτευχθεί η πλήρης συμπλοκοποίηση των αναλυτών και ο ποσοτικός εγκλωβισμός τους στα μικύλλια. Επίσης πρέπει, ο διαχωρισμός των φάσεων να γίνεται εύκολα, δηλαδή στο μικρότερο χρόνο και με όσο το δυνατόν μικρότερες θερμοκρασίες. Τα πειράματα αποδεικνύουν, ότι ο σχηματισμός του CrQ_3 απαιτεί

αναπόφευκτα μεγάλες θερμοκρασίες, λόγω της κινητικής αδράνειας του Cr(III), η οποία μειώνεται εκθετικά με την αύξηση της θερμοκρασίας και λόγω της παρουσίας της μεθανόλης, που αυξάνει την κρίσιμη μικυλλιακή συγκέντρωση και τη θερμοκρασία νεφέλωσης. Από το Σχήμα 2.10 γίνεται φανερό, ότι το σήμα του Cr(III), που είναι πρακτικά μηδενικό σε χαμηλές θερμοκρασίες, αυξάνει κατακόρυφα μετά τους 70 °C για να αποκτήσει μια μέγιστη τιμή στην περιοχή 85-100 °C. Αντίθετα το Cr(VI) λόγω της μεγάλης του ευκινησίας αντιδρά εύκολα με το συμπλεκτικό αντιδραστήριο σχηματίζοντας το επιθυμητό προϊόν ακόμα και σε θερμοκρασία δωματίου. Δεδομένου ότι τα μικύλλια του Triton X-114 συσσωματώνονται πάνω από τους 25 °C, επιλέχθηκε μια ήπια θέρμανση στους 40 °C. Αυτή η σχετικά μεγαλύτερη, σε σύγκριση με το σημείο νεφέλωσης, θερμοκρασία επιτρέπει στο μικύλλιο να αποβάλλει τα προσροφημένα μόρια νερού και να σχηματίσει πιο συμπαγή συσσωματώματα, που έχουν όγκο 1,5 ως 3,6 φορές μικρότερο από αυτόν των αρχικών μικυλλίων. Με τον τρόπο αυτόν αυξάνεται η συνοχή των μικυλλίων, ο λόγος του αρχικού προς τον τελικό όγκο και επομένως ο συντελεστής προσυγκέντρωσης^{4,5}. Σε όλες τις περιπτώσεις, η επιθυμητή θερμοκρασία διατηρείται για 15 λεπτά τουλάχιστον. Μικρότερη περίοδος επώασης ή μικρότερες θερμοκρασίες από τις επιλεγθείσες, για κάθε οξειδωτική κατάσταση του χρωμίου τιμές, δεν συνιστάται αν θέλουμε να πετύχουμε την ποσοτική ολοκλήρωση όλων των φυσικοχημικών φαινομένων που λαμβάνουν χώρα. Η επίδραση του χρόνου θέρμανσης δείχνεται στο Σχήμα 2.11.

Για να εξασφαλισθεί η ακρίβεια και η επαναληψιμότητα των μετρήσεων του τελικού όγκου, το μεθανολικό εκχύλισμα μπορεί να εξατμισθεί μέχρι ξηρού. Έτσι ο όγκο της μικυλλιακής φάσης μηδενίζεται και το υπόλειμμα μπορεί να επαναδιαλυθεί σε επιλεγμένο, γνωστό όγκο του μεθανολικού διαλύματος. Η εξάτμιση μπορεί να πραγματοποιηθεί με εφαρμογή ρεύματος αζώτου ή με



Σχήμα 2.11 : Μελέτη του χρόνου επώασης για την ολοκλήρωση της μικυλλιακής εκχύλισης των ειδών του χρωμίου. Cr(VI)(●), 30 $\mu\text{g L}^{-1}$ Cr(III)(○), 30 $\mu\text{g L}^{-1}$. Triton X-114: 1 g L^{-1} για το Cr(VI), 2 g L^{-1} για το Cr(III). Θερμοκρασία: 40 °C για το Cr(VI), > 80 °C για το Cr(III). APDC: 4,0 mmol L^{-1} . 8-HQ: 1,0 mmol L^{-1} .

θέρμανση σε πυριατήριο. Η τελευταία προτιμήθηκε τελικά, επειδή επιτρέπει την μαζική κατεργασία των εκχυλισμάτων σε λιγότερο από 10 λεπτά, με επαναληπτικά αποτελέσματα. Αποδεικνύεται, ότι με 10 επιπλέον λεπτά του συνολικού χρόνου ανάλυσης -λιγότερο από μισό λεπτό για κάθε δείγμα- επιτυγχάνεται όχι μόνο επαναληψιμότητα στις μετρήσεις αλλά και διπλασιασμός του αναλυτικού σήματος, αφού ακόμα και το χημικά προσροφημένο ύδωρ εξατμίζεται, με αποτέλεσμα να μειώνεται ο τελικός όγκος και να αυξάνεται η προσυγκέντρωση.

Η ταυτόχρονη πα-ρουσία ενός εύφλεκτου και πτητικού οργανι-κού διαλύτη, όπως η μεθανόλη και μιας τασενεργού ουσίας στο δείγμα, που πρόκειται να εισαχθεί στον καυστήρα της ατομικής απορρόφησης, εν-δέχεται να επηρεάζει τις φυσικοχημικές ιδιότητές του, δημιουργώντας ένα διαφορετικό περιβάλλον σε σχέση με το υδατικό. Χρειάζεται επομένως να μελετηθεί, αν και με ποιον τρόπο οι παράμετροι αυτές επηρεάζουν την απόδοση της μεθόδου. Για το σκοπό αυτό παρασκευάστηκαν συνθετικά μίγματα χρωμίου διαφορετικής περιεκτικότητας σε μεθανόλη και τασενεργό ουσία και μετρήθηκαν οι απορροφήσεις τους ως προς τα αντίστοιχα πρότυπα. Όπως αναμενόταν, υδατικά διαλύματα του τασενεργού μειώνουν την απόκριση της ατομικής απορρόφησης, καθώς αυξάνεται η συγκέντρωση και το ιξώδες τους λόγω μείωσης του ρυθμού αναρρόφησης του δείγματος^{6,7}.

Αντίθετα η καθαρή μεθανόλη και τα μεθανολικά διαλύματα της τασενεργού ουσίας ενισχύουν το σήμα του χρωμίου στη φλόγα. Το αποτέλεσμα αυτό δικαιολογείται από την αύξηση της θερμοκρασίας της φλόγας λόγω της καύσης της μεθανόλης, οπότε αυξάνεται ο ρυθμός ατομοποίησης. Επιπλέον η παρουσία της τασενεργού ουσίας σε συνδυασμό με τον οργανικό διαλύτη επιτρέπει το σχηματισμό σταγονιδίων μικρότερης διαμέτρου, τα οποία σύμφωνα με τη βιβλιογραφία ενισχύουν το σήμα της φλόγας⁸.

<u>Υπό εξέταση Διάλυμα*</u>	<u>Απόκριση(%)**</u>
Υδατικό Διάλυμα Cr	100
Υδατικό Διάλυμα Cr + Triton X-114, 0.1 %	100
Υδατικό Διάλυμα Cr + Triton X-114, 0.2%	99
Υδατικό Διάλυμα Cr + Triton X-114, 0.5%	100
Μεθανολικό Διάλυμα Cr	110
Μεθανολικό Διάλυμα Cr + Triton X-114, 0.1 %	120
Μεθανολικό Διάλυμα Cr + Triton X-114, 0.2 %	118
Μεθανολικό Διάλυμα Cr + Triton X-114, 0.5 %	122

* Συγκέντρωση του διαλύματος Cr, 2 mg L^{-1}

** Επίσης αναλύονται και τυφλά διαλύματα για να υπάρχει σαφές μέτρο σύγκρισης

Πίνακας 2.2 : Επίδραση της μεθανόλης και της τασενεργού ουσίας στο αναλυτικό σήμα του χρωμίου κατά τη μέτρησή του με Ατομική Απορρόφηση.

Επειδή ένας από τους στόχους της μεθόδου ήταν η ειδοταυτοποίηση του χρωμίου σε θαλασσινό νερό εξετάστηκε μια επιπλέον παράμετρος. Αυτή είναι η επίδραση της ιοντικής ισχύος του αρχικού διαλύματος στην ικανότητα σχηματισμού των μικυλλίων και η αποτελεσματικότητα της παραλαβής του αναλύτη από αυτό. Η ρύθμιση της ιοντικής ισχύος πραγματοποιήθηκε με διάλυμα KCl στην περιοχή συγκεντρώσεων 0-200 mmol L⁻¹. Βρέθηκε, ότι στις συνθήκες του πειράματος η απόκριση της μεθόδου παραμένει ανεπηρέαστη, σύμφωνα και με τη βιβλιογραφία⁹. Επιπλέον σε διαλύματα αυξημένης ιοντικής ισχύος ευνοείται ο διαχωρισμός των φάσεων και ο εγκλωβισμός των υδρόφοβων μορίων λόγω μείωσης του σημείου νεφέλωσης, που προκαλείται από ένα φαινόμενο εισαλάτωσης (salting in)^{10,11}.

Μελετήθηκε ακόμη ένας αριθμός τεχνικών παραμέτρων, όπως ο χρόνος φυγοκέντρωσης και η επίδραση των υπερήχων. Οι παράμετροι αυτές αφορούν τον ικανοποιητικό διαχωρισμό των φάσεων, την ικανότητα εκχύλισης των μικυλλιακών συστημάτων και την πλήρη διαλυτοποίηση του μικυλλιακού εκχυλίσματος¹². Λόγω του έντονου υδρόφοβου χαρακτήρα

των σχηματιζόμενων συμπλόκων, τα οποία δεσμεύονται από τα μικύλλια και εγκλωβίζονται ποσοτικά σε αυτά και του μεγάλου ειδικού βάρους των μικυλλίων, κανένας από τους παραπάνω παράγοντες δε βρέθηκε να επηρεάζει το σύστημα. Μια περίοδος φυγοκέντρησης 10-15 λεπτών υιοθετήθηκε για τον πλήρη διαχωρισμό των φάσεων.

Πίνακας 2.3 : Περιοχή ελέγχου και επιλογή βέλτιστων τιμών των παραμέτρων για την ανάλυση ειδοταυτοποίησης του Cr(III) / Cr(VI).

<u>Παράμετρος</u>	<u>Περιοχή Ελέγχου</u>		<u>Τιμή Επιλογής</u>	
	<u>Cr(VI)</u>	<u>Cr(III)</u>	<u>Cr(VI)</u>	<u>Cr(III)</u>
pH	1-13	1-13	2	8.5
Ιοντική Ισχύς, mM KCl	0-200	0-200	κ.ε	κ.ε
Συγκέντρωση Αντιδραστηρίου, mM	1.2-30	0.1-8.0	4.0	1.0
Συγκέντρωση Τασενεργού, %	0.05-0.75	0.05-0.75	0.1	0.2
Θερμοκρασία, °C	30-100	30-100	45	>90
Χρόνος Επώασης, min	5-30	5-30	10-15	10-15
Όγκος διαλύματος, ml	25-500	25-500	200	200

κ.ε= καμία επίδραση.

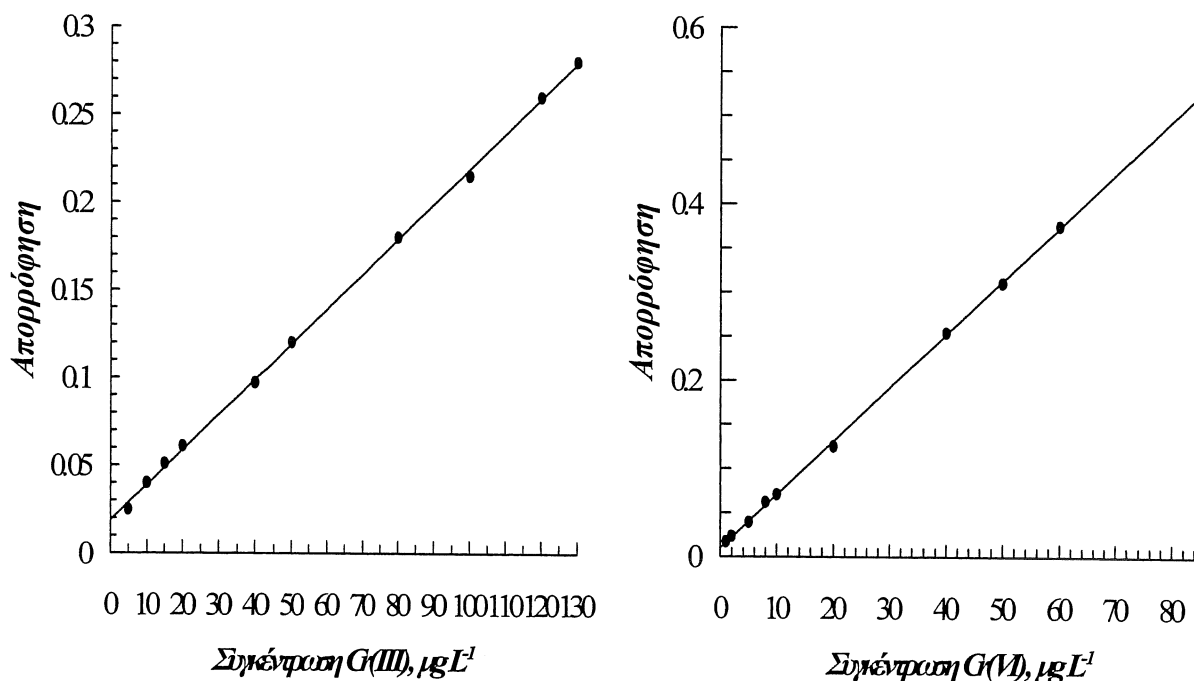
Οι τιμές ελέγχου και οι βέλτιστες τιμές των διαφόρων παραμέτρων φαίνονται στον Πίνακα 2.3. Είναι αξιοσημείωτο, ότι όλες παρουσιάζουν ομόρροπη συμπεριφορά δηλαδή επηρεάζουν το σήμα προς την ίδια φορά, με αποτέλεσμα να μη χρειάζεται να γίνουν συμβιβασμοί ως προς τις συνολικές βέλτιστες συνθήκες εργασίας.

2.5 ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ ΚΑΙ ΑΠΟΔΟΣΗΣ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Με την εφαρμογή της τεχνικής σχηματισμού μικυλλιακών νεφελωμάτων σε 30 ml προτύπων διαλυμάτων Cr(III) και Cr(VI) έγιναν καμπύλες αναφοράς με την πορεία εργασίας

που φαίνεται στον Πίνακα 2.1. Οι βέλτιστες συνθήκες, που χρησιμοποιήθηκαν, απεικονίζονται στον Πίνακα 2.3. Η περιοχή γραμμικότητας είναι $5\text{-}130\ \mu\text{g L}^{-1}$ για το Cr(III) και $1\text{-}85\ \mu\text{g L}^{-1}$ για το Cr(VI), ενώ η τυπική απόκλιση της μεθόδου στην περιοχή αυτή δεν υπερβαίνει το 2,2 %. Οι συντελεστές προσυγκέντρωσης για τα δύο είδη είναι 75 και 120 φορές αντίστοιχα.

Τα όρια ανίχνευσης ($1,4$ και $0,65\ \mu\text{g L}^{-1}$ αντίστοιχα) είναι ιδιαίτερα χαμηλά, αν συγκριθούν με αυτά που επιτυγχάνονται με φλόγα ($100\ \mu\text{g L}^{-1}$) και μπορούν να συγκριθούν μόνο με την τεχνική της άφλογης φασματοφωτομετρίας ατομικής απορρόφησης (φούρνος γραφίτη) με πλεονέκτημα έναντι αυτής την ταχύτητα και την επαναληπτικότητα.



Σχήμα 2.12 : Καμπύλες βαθμονόμησης για την ανάλυση ειδοταυτοποίησης Cr(III) και Cr(VI) μετά από μικκυλιακή εκχύλιση

2.5.1 ΈΛΕΓΧΟΣ ΠΑΡΕΜΠΟΔΙΣΕΩΝ.

Τα συμπλεκτικά αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν για τη μελέτη αυτήν είναι εκλεκτικά ως προς τα δύο είδη του χρωμίου. Αντιδρούν δηλαδή με το ένα από τα δύο και όχι και με τα δύο μαζί στις συνθήκες, που έχουν επιλεγεί. Αυτό όμως δε σημαίνει, ότι είναι γενικότερα εκλεκτικά και ειδικά. Αντίθετα μάλιστα, επειδή ένα από τα αντικείμενα της

μελέτης είναι η χρήση κοινών και οικονομικών αντιδραστηρίων, αυτά που χρησιμοποιήθηκαν αντιδρούν και με ένα μεγάλο αριθμό άλλων μεταλλικών στοιχείων δίνοντας σύμπλοκα φορτισμένα ή και ουδέτερα. Δύο είναι οι πιθανοί τρόποι, με τους οποίους τα μέταλλα αυτά μπορούν να δράσουν παρεμποδιστικά.

Πίνακας 2.4 : Συνοπτικά αναλυτικά χαρακτηριστικά της μεθόδου.

<u>Παράμετρος</u>	<u>Cr(III)</u>	<u>Cr(VI)</u>
Λόγος Φάσεων	0.012	0.008
Συντελεστής προσυγκέντρωσης	75	120
Συντελεστής ανάκτησης	~1	~1
Όριο ανίχνευσης ($\mu\text{g l}^{-1}$)	1.4	0.65
Σχετική Τυπική Απόκλιση (%)	2.2	1.9
Εξίσωση Συμμεταβολής	$A = 0,018 + 0,002 [\mu\text{g l}^{-1}]$	$A = 0,010 + 0,006 [\mu\text{g l}^{-1}]$
Συντελεστής Συσχέτισης (r)	0.9996	0.9999

Λόγος Φάσεων: Είναι ο λόγος του όγκου της μικυλλιακής φάσης προς αυτόν του αρχικού διαλύματος.

Συντελεστής Προσυγκέντρωσης: Ορίζεται ως ο λόγος της συγκέντρωσης του αναλύτη στο διάλυμα μετά την προσυγκέντρωση προς αυτήν στο αρχικό δείγμα.

Το *όριο ανίχνευσης* της μεθόδου ορίζεται ως το τριπλάσιο του λόγου του σήματος προς τον θόρυβο.

Συντελεστής ανάκτησης: Είναι ο λόγος της ποσότητας του αναλύτη που βρίσκεται στη μικυλλιακή φάση, σε σχέση με την αρχική ποσότητά του στο δείγμα.

Καταρχήν κατά την προσυγκέντρωση, όπου ενδέχεται να δεσμεύσουν μεγάλο ποσοστό του αντιδραστηρίου καθιστώντας τη συμπλοκοποίηση του χρωμίου ατελή. Επιπλέον, επειδή σε βεβαρημένα δείγματα τα περισσότερα ιόντα σχηματίζουν με το APDC ιζήματα, αυτά(ειδικά ο σίδηρος) μπορεί να συμπαρασύρουν το χρώμιο με συγκαταβύθιση προκαλώντας αρνητικό σφάλμα. Ο δεύτερος σημαντικός παράγοντας είναι οι φασματικές παρεμποδίσεις, που προέρχονται από στοιχεία, όπως το κοβάλτιο, το νικέλιο και ο σίδηρος, τα οποία μειώνουν το σήμα του χρωμίου στη φλόγα ειδικά σε μεγάλες αναλογίες. Κάποιες από τις παρεμποδίσεις αυτές μπορούν να αρθούν με καθαρά τεχνικά μέσα, όπως χρήση ισχυρότερων οξειδωτικών

συνθηκών, αντικατάσταση της φλόγας αέρα-ακετυλενίου από πρωτοξειδίο του αζώτου-ακετυλένιο κ.τ.λ. Σε όλες τις περιπτώσεις όμως η άρση των παρεμποδίσεων γίνεται σε βάρος της ευαισθησίας της μεθόδου. Για το σκοπό αυτό πρέπει οι παρεμποδίσεις να ελεγχθούν με χημικά μέσα στο στάδιο της προσυγκέντρωσης. Όπως είναι γνωστό, το αιθυλενοδιαμινοτετραοξικό οξύ EDTA αντιδρά με την πλειονότητα των μεταλλικών κατιόντων σχηματίζοντας αρνητικά φορτισμένα σύμπλοκα, ευδιάλυτα στο νερό. Τα σύμπλοκα αυτά παραμένουν έτσι στην υδατική φάση και αποκλείονται από τα μικύλλια λόγω του φορτίου αλλά και του όγκου τους. Το Cr(VI) δεν αντιδρά με το EDTA. Αλλά και το Cr(III), οποίο αν και είναι δυνατόν να σχηματίσει με το EDTA σταθερότατα σύμπλοκα, ο σχηματισμός αυτός είναι κινητικά ελεγχόμενος και δεν πραγματοποιείται. Τα παρεμποδιστικά ιόντα μελετήθηκαν σε αναλογίες 1:1, 1:10 και 1:100 για δεδομένη συγκέντρωση Cr(III) ή Cr(VI) ίση με $30 \mu\text{g L}^{-1}$. Από τις λαμβανόμενες ανακτήσεις έγινε φανερό, ότι παρουσία του EDTA ο εγκλωβισμός των ειδών του χρωμίου στα μικύλλια είναι πρακτικά ποσοτικός και ότι τα παρεμποδίζοντα μέταλλα αποκλείονται σχεδόν εξ'ολοκλήρου από την μικυλλιακή φάση λόγω του υδρόφιλου χαρακτήρα τους. Επιπλέον αποδεικνύεται, ότι στο ανταγωνιστικό περιβάλλον της αντίδρασης μεταξύ της 8-Υδροξυκινολίνης και του EDTA, ο σχηματισμός του υδρόφοβου μορίου και η απομάκρυνσή του από το υδατικό περιβάλλον της αντίδρασης λόγω του εγκλωβισμού του, μετατοπίζει την αντίδραση σχηματισμού προς όφελος του υδρόφοβου μορίου, όπως ακριβώς ο σχηματισμός ενός ιζήματος μετατοπίζει την αντίδραση προς την κατεύθυνση αυτή.

Εκτός από την επίδραση των μεταλλικών ιόντων εξετάστηκε η πιθανή παρεμποδιστική δράση ανιονικών ειδών, τα οποία ενδέχεται να συμπλοκοποιούν το χρώμιο σε ιοντικές μορφές αυξάνοντας τη διαλυτότητά του και εμποδίζοντας την ποσοτική μεταφορά και ανάκτησή του από τα μικύλλια. Ιόντα όπως τα χλωριούχα, τα φθοριούχα, τα φωσφορικά, τα νιτρικά, τα ανθρακικά, τα θειικά, τα θειούχα, τα κιτρικά, τα τρυγικά και το αμμώνιο, τα οποία αφθονούν στα πραγματικά δείγματα και ιδιαίτερα στα φυσικά νερά, μελετήθηκαν και βρέθηκε, ότι δεν παρεμποδίζουν σε συγκεντρώσεις μέχρι και 3 mg L^{-1} τον προσδιορισμό $30 \mu\text{g L}^{-1}$ χρωμίου. Σχετικά με την παρεμποδιστική δράση που ενδέχεται να έχουν ουσίες, όπως τα χουμικά και φουλβικά οξέα, τα οποία συμπλέκουν το χρώμιο σε συσσωματώματα, που προσομοιάζουν με τα μικύλλια^{13,14}, το φαινόμενο μελετήθηκε σε διαλύματα χρωμίου

συγκεντρώσεως $30 \mu\text{g L}^{-1}$, στα οποία είχε προστεθεί από 0,1 ως 10mg L^{-1} χουμικού οξέος. Τα αποτελέσματα έδειξαν, ότι ακόμα και σε τόσο μεγάλες συγκεντρώσεις χρωμίου ο προσδιορισμός του δεν παρεμποδίζεται, αφού οι ανακτήσεις που προέκυψαν ήταν πρακτικά ποσοτικές.

2.5.2 ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΚΑΙ ΠΡΟΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ Cr(III) ΚΑΙ Cr(VI) ΑΠΟ ΠΡΑΓΜΑΤΙΚΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ.

Όπως αναφέρεται στο κεφάλαιο του χρωμίου του θεωρητικού μέρους της διατριβής, το κυρίαρχο είδος χρωμίου στο θαλασσινό νερό είναι το Cr(VI) με τη μορφή CrO_4^{2-} , λόγω της αλατότητας και του pH που επικρατεί, ενώ το Cr(III) βρίσκεται συνήθως αδιάλυτο ή αιωρούμενο ως $\text{Cr}(\text{OH})_3$ και λιγότερο διαλυμένο ως $\text{Cr}(\text{OH})_2^+$.¹⁵ Δείγματα γλυκού(από ποτάμι) και αλμυρού(θαλασσινού) νερού αναλύθηκαν για να εκτιμηθεί η ειδοκατανομή του χρωμίου. Τα αποτελέσματα, τα οποία φαίνονται στον Πίνακα 2.5, αποκαλύπτουν την ύπαρξη Cr(VI) στο θαλασσινό νερό και τη συνύπαρξη και των δύο μορφών στο νερό του ποταμού, κάτι επίσης αναμενόμενο λόγω της ύπαρξης κοιτασμάτων χρωμίτη στα πετρώματα της περιοχής.

Πίνακας 2.5 : Αναλυτικά αποτελέσματα και πειράματα ανάκτησης από την εφαρμογή της μεθόδου σε πραγματικά δείγματα

Δείγμα	Συγκέντρωση ($\mu\text{g L}^{-1}$)*		Προσθήκη ($\mu\text{g L}^{-1}$)		Τιμή ($\mu\text{g L}^{-1}$)		Ανάκτηση (%)	
	<u>Cr(III)</u>	<u>Cr(VI)</u>	<u>Cr(III) and Cr(VI)</u>		<u>Cr(III) and Cr(VI)</u>		<u>Cr(III) and Cr(VI)</u>	
Θαλασσινό νερό	-	2.6±0.1	0	5	0	7.65	-	101
			10	0	10.4	0	104	-
			20	10	19.4	12.6	97	100
			30	20	28.9	21.9	96	96
Νερό ποταμού	9.5±0.4	20.5±0.9	10	10	19.7	30.9	102	104
			20	20	29.8	40.5	102	100
Καπνός	-	30.0±1.0						
*Μέσος όρος τριών μετρήσεων								

Η ανάλυση του καπνού έδειξε, ότι περιέχει μόνο Cr(VI), γεγονός που πιθανόν να οφείλεται και στην οξειδωτική επεξεργασία που προηγήθηκε της ανάλυσής του. Στα προς ανάλυση δείγματα έγιναν και πειράματα ανάκτησης, ώστε να εκτιμηθούν οι όποιες επιδράσεις του υποστρώματος, καθώς η μελέτη των ανακτήσεων αποτελεί μία πρώτη αξιολόγηση μιας ανάλυσης ειδοταυτοποίησης, όπως αναφέρθηκε και στο θεωρητικό μέρος.

2.6 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η διαμεσολάβηση μικυλλιακών συστημάτων σε καθαρά υδατικά διαλύματα για την απομόνωση, εκχύλιση και προσυγκέντρωση διαφόρων ειδών αποτελεί μια καινούργια ευοίωνη προσέγγιση στον τομέα της ανάλυσης ειδοταυτοποίησης. Δεδομένου, ότι κάθε στάδιο μπορεί να διαμορφωθεί κατάλληλα ως προς την εκλεκτικότητά του, η μέθοδος προσφέρει μια άκρως εκλεκτική, ευαίσθητη και κυρίως οικονομική εναλλακτική προσέγγιση στην ανάλυση ειδοταυτοποίησης ιχνοστοιχείων, σε σχέση με τη χρήση παραδοσιακών τεχνικών προσυγκέντρωσης και διαχωρισμού.

Επειδή τα τελευταία χρόνια έχει δοθεί έντονη προσοχή στην ανάλυση ειδοταυτοποίησης του χρωμίου στο περιβάλλον, η μέθοδος προσανατολίστηκε προς αυτή την κατεύθυνση και επετεύχθη ο προσδιορισμός ιχνών χρωμίου σε δείγματα με πολύπλοκο υπόστρωμα, όπως το θαλασσινό νερό, με τη χρήση ατομικής απορρόφησης με φλόγα. Η διαδικασία που ακολουθήθηκε είναι απλή και δεν χρειάστηκε φούρνος γραφίτη, με τον οποίο, αν και επιτυγχάνονται τα απαιτούμενα όρια ανίχνευσης, απαιτεί προσεκτική ρύθμιση, διότι η πολυπλοκότητα του υποστρώματος οδηγεί σε τυπικές αποκλίσεις που μπορεί να ξεπερνούν το 10 ή και 20%, ακόμα και με τη χρήση τροποποιητών.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Moreno Cordero, B.; Perez Pavon, J.L.; Garcia Pinto, C.; Fernandez Laespada, M.E., *Talanta*, **1993**, 40, 1703.
2. Tande, T., Pattersen, J.E., and Torgrimsen, T., *Chromatographia*, **1980**, 9, 997.
3. Stary, J. *Solvent Extraction of Metal Chelates*, Pergamon Press, Oxford, **1964**.
4. Okada, T., *Anal. Chem.*, **1992**, 62, 2138.
5. Ganong, B.R., and Delmore, J.P., *Anal. Biochem.*, **1991**, 193, 35.
6. Yin Yan, Z., and Zang, W., *J. Anal. At. Spectrom.*, **1989**, 4, 797.
7. Farino, J., and Browner, R.F., *Anal. Chem.*, **1984**, 56, 2709.
8. Sanz-Medel, A., Fernandez de la Campa, M.R., Gonzalez, E.B., Fernandez-Sanchez, M.L., *Spectrochim. Acta Part B*, **1999**, 54, 251.
9. Alcaraz, G., Kivet, J.P., Kumai, N., Wark, S.A., and Metzger, H., *J. Biol. Chem.*, **1984**, 259, 14922.
10. Schick, M.J.(ed), *Non-Ionic Surfactants*, Marcel Dekker, New York, **1987**.
11. Mittal, K.L.(ed), *Solution Chemistry of Surfactants*, Plenum, New York, **1979**.
12. Frankewich, R.P., Hinze, W.L., *Anal. Chem.*, **1994**, 66, 944.
13. Wershaw, R.L., *J. Contam. Hydrol.*, **1986**, 1, 29.
14. Chiou, C.T., Malcolm, R.L., Brinton, T.I., and Kile, D.E., *Environ. Sci. Technol.*, **1986**, 20, 502.
15. Cranston, R.E., and Murray, J.W., *Anal. Chim. Acta*, **1978**, 99, 275.

**ΒΕΛΤΙΩΜΕΝΗ ΚΑΙ ΒΕΛΤΙΣΤΟΠΟΙΗΜΕΝΗ ΜΕΘΟΔΟΣ ΓΙΑ
ΤΗΝ ΕΙΔΟΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥ ΧΡΩΜΙΟΥ ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΕΝΟΣ
ΜΟΝΟ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΟΥ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΕΚΧΥΛΙΣΗ-
ΠΡΟΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΜΕ ΜΙΚΥΛΛΙΑΚΑ ΝΕΦΕΛΩΜΑΤΑ.**

3.1 ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, η τοξικότητα του χρωμίου εξαρτάται από τη μορφή, στην οποία βρίσκεται και ειδικότερα από την οξειδωτική του κατάσταση. Στο κεφάλαιο αυτό προτείνεται μια μέθοδος για την ανάλυση ειδοταυτοποίησης των σταθερών οξειδωτικών καταστάσεων του χρωμίου με χρήση ενός μόνο αντιδραστήριου μετά από εκχύλιση και προσυγκέντρωση μέσω νεφελωμάτων. Η διαφοροποίηση των δύο οξειδωτικών καταστάσεων γίνεται με απλή μεταβολή του pH και προσθήκη αιθυλενοδιαμινοτετραοξικού οξέος (EDTA). Το αντιδραστήριο που χρησιμοποιήθηκε είναι το πυρρολιδινοδιθειοκαρβαμικό αμμώνιο (ammonium pyrrolidinedithiocarbamate, APDC), το οποίο με κατάλληλη ρύθμιση των πειραματικών συνθηκών αντιδρά μόνο με το Cr(VI) ή και με τις δύο μορφές σχηματίζοντας υδρόφοβα σύμπλοκα. Τα σύμπλοκα αυτά εγκλωβίζονται, απομονώνονται και προσυγκεντρώνονται στα μικύλλια μιας τασενεργού ουσίας (Triton X-114). Η μικυλλιακή φάση, μετά την απομόνωση και διαλυτοποίησή της σε μεθανόλη, εισάγεται στη φλόγα ενός

καυστήρα ατομικής απορρόφησης και ανάλογα με την πορεία απομόνωσης που έχει ακολουθηθεί, μετρείται το Cr(VI) ή το συνολικό Cr. Το Cr(III) υπολογίζεται από τη διαφορά του Cr(VI) από το συνολικό χρώμιο. Λόγω της αλληλεπίδρασης των διαφόρων παραμέτρων, οι οποίες επηρεάζουν τη διάκριση των δύο μορφών του χρωμίου και τη βέλτιστη απόδοση της προτεινόμενης μεθόδου, παράλληλα με την συνήθη μονοπαραμετρική προσέγγιση έγινε σχεδιασμός μιας πολυπαραμετρικής μελέτης ώστε να εκτιμηθούν οι παραπάνω αλληλεπιδράσεις. Στις βέλτιστες συνθήκες που δημιουργήθηκαν, έγιναν καμπύλες αναφοράς κοινές πλέον και για τα δύο είδη χρωμίου. Σε αυτές τις καμπύλες αναφοράς η περιοχή γραμμικότητας ήταν 2-100 $\mu\text{g L}^{-1}$ και τα όρια ανίχνευσης 0,6 $\mu\text{g L}^{-1}$. Πιστοποίηση της αξιοπιστίας της προτεινόμενης τεχνικής έγινε με πειράματα ανάκτησης σε περιβαλλοντικά και βιολογικά δείγματα, τα οποία έδωσαν πολύ καλές αποδόσεις (96-107%) και με ανάλυση πιστοποιημένων υλικών αναφοράς.

3.2 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Στο προηγούμενο κεφάλαιο η τεχνική μικυλλιακής εκχύλισης μέσω σχηματισμού νεφελωμάτων χρησιμοποιήθηκε για την ειδοταυτοποίηση του χρωμίου με τη χρήση δύο ειδικών αντιδραστηρίων για κάθε μία οξειδωτική βαθμίδα. Το γεγονός ότι το Cr(VI) ανάγεται και τα τελικά υδρόφοβα προϊόντα είναι σύμπλοκα του Cr(III) γέννησε την ιδέα ότι είναι δυνατόν και αυτό να αντιδράσει τελικά με το APDC σε κατάλληλες συνθήκες. Έτσι πραγματοποιήθηκαν παράπλευρα πειράματα προκειμένου να ελεγχθεί η δυνατότητα αυτή. Κατά τα πειράματα αυτά αποδείχθηκε η τάση του Cr(III) να αντιδρά με το APDC [το οποίο έχει χρησιμοποιηθεί για τον προσδιορισμό του Cr(VI)] με την αύξηση του pH του διαλύματος προς την αλκαλική περιοχή. Η παρατήρηση αυτή οδήγησε στη διερεύνηση της δυνατότητας να εφαρμοσθεί η τεχνική της νεφέλωσης και του διαχωρισμού των δύο ειδών με ένα μόνο αντιδραστήριο και απλή μεταβολή του pH του αρχικού διαλύματος.

Έτσι στη μελέτη αυτή χρησιμοποιήθηκε το APDC ως το μοναδικό αντιδραστήριο και η διάκριση των δύο οξειδωτικών καταστάσεων του χρωμίου έγινε με βάση τη διαφορετική δραστηριότητα του καθενός στις επιλεγμένες πειραματικές συνθήκες. Πιο συγκεκριμένα το Cr(VI) αντιδρά με το APDC, όπως αναπτύχθηκε στο δεύτερο κεφάλαιο του πειραματικού

μέρους¹ (δηλαδή σε όξινες συνθήκες και σχετικά χαμηλές θερμοκρασίες), ενώ το συνολικό χρώμιο προσδιορίζεται με κατάλληλο σχεδιασμό της πειραματικής διεργασίας, ώστε το κινητικά αδρανές Cr(III) να γίνει εξίσου δραστικό με το Cr(VI). Με την προοπτική αυτή η προτεινόμενη μέθοδος αποτελεί όχι μόνο μια εναλλακτική προσέγγιση, αλλά και μια βελτίωση της προηγούμενης μεθόδου ειδοταυτοποίησης χρωμίου. Αυτό γίνεται με τη χρήση της τεχνικής του σημείου νεφέλωσης, που προσφέρει τη δυνατότητα μιας βαθμονόμησης με κοινή καμπύλη αναφοράς και για τα δύο είδη χρωμίου, βελτίωση της γραμμικής περιοχής και χαμηλότερα όρια ανίχνευσης του Cr(III). Ταυτόχρονα απαλλάσσεται από τη χρήση οργανικού πρόσθετου(μεθανόλη) και γενικά εξασφαλίζει ομοιόμορφη συμπεριφορά για τα επιμέρους είδη και για το συνολικό χρώμιο.

Προκειμένου να καθοριστούν οι ακριβείς συνθήκες, που θα επιτρέψουν την μέγιστη απόδοση της μεθόδου και τη βελτίωσή της ως προς την προηγούμενη, ακολουθήθηκε μια πολυπαραμετρική προσέγγιση βελτιστοποίησης. Ο αλγόριθμος που υιοθετήθηκε ονομάζεται μέθοδος σύνθεσης κεντρικού σημείου (Central Composite Design, CCD). Η πολυπαραμετρική αυτή προσέγγιση έχει σαφή πλεονεκτήματα σε σχέση με την απλή μονοπαραμετρική. Τα πιο σημαντικά είναι, ότι περιλαμβάνει ένα μικρό μόνο αριθμό πειραμάτων, τα οποία οδηγούν στον καθορισμό των βέλτιστων συνθηκών, και επιτρέπει την αναγνώριση των αλληλεπιδράσεων ανάμεσα στις μεταβλητές και το ποσοστό συνεισφοράς των αλληλεπιδράσεων αυτών στο αναλυτικό σήμα²⁻⁴.

3.3 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

3.3.1 ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Η τασενεργός ουσία Triton X-114 είναι προϊόν της εταιρίας Fluka και χρησιμοποιήθηκε χωρίς περαιτέρω καθαρισμό. Το συμπλεκτικό αντιδραστήριο πυρολιδινοδιθειοκαρβαμιδικό αμμώνιο ($C_5H_9NS_2 \cdot NH_3$, APDC) είναι της εταιρίας Sigma-Aldrich Chemie GmbH (Steinheim, Germany). Τα άλατα διχρωμικό κάλιο ($K_2Cr_2O_7$) και ένυδρο νιτρικό χρώμιο(III) ($Cr(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$) είναι επίσης της εταιρίας Sigma Aldrich. Όλα τα υπόλοιπα αντιδραστήρια

που χρησιμοποιήθηκαν είναι αναλυτικού βαθμού καθαρότητας, απαλλαγμένα από ίχνη ποσοτήτων χρωμίου.

Τα πρότυπα διαλύματα του Cr(III) και Cr(VI) παρασκευάστηκαν με διάλυση καταλλήλων ποσοτήτων των αντίστοιχων αλάτων τους σε δις-απεσταγμένο ύδωρ. Το διάλυμα του APDC παρασκευάστηκε σε δις-απεσταγμένο ύδωρ. Τα χρησιμοποιούμενα πρότυπα διαλύματα μετάλλων και ειδικά του χρωμίου, το οποίο χρησιμοποιείται για τη ρύθμιση του οργάνου, παρασκευάζονται από πυκνά πρότυπα διαλύματα ατομικής απορρόφησης (Titrisol) συγκεντρώσεως 1000 mg L^{-1} . Το πρότυπο διάλυμα του EDTA παρασκευάζεται με αραιώση αμπούλας πυκνού διαλύματος της εταιρείας Riedel de Häen με δις απεσταγμένο νερό σε τελικό όγκο 1000 mL. Άλλα διαλύματα ουσιών, τα οποία χρησιμοποιήθηκαν για τη μελέτη των παρεμποδίσεων, παρασκευάστηκαν από τα αντίστοιχα άλατα των ουσιών.

Για τη ρύθμιση του pH 8 κατά τα πειράματα νεφέλωσης χρησιμοποιήθηκαν ρυθμιστικά διαλύματα $\text{NH}_3/\text{NH}_4\text{Cl}$, ενώ η τιμή 2 ρυθμίστηκε με προσθήκη διαλύματος HCl 1 N. Η γενικότερη ρύθμιση του pH κατά τα πειράματα βελτιστοποίησης έγινε με σταγόνες διαλυμάτων HCl 0,1 N ή NaOH 0,1 N. Το διάλυμα διάσπασης των μικυλλίων παρασκευάζεται με αραιώση 3,125 mL πυκνού διαλύματος HNO_3 σε μεθανόλη μέχρι όγκου 50 mL. Το πρότυπο διάλυμα του τασενεργού Triton X-114 (10% w/v) παρασκευάζεται με ζύγιση 10 g Triton X-114 και αραιώση με νερό σε ογκομετρική φιάλη των 100 mL και φυλάσσεται στο ψυγείο ($0-4^\circ\text{C}$) μέχρι τη χρήση του.

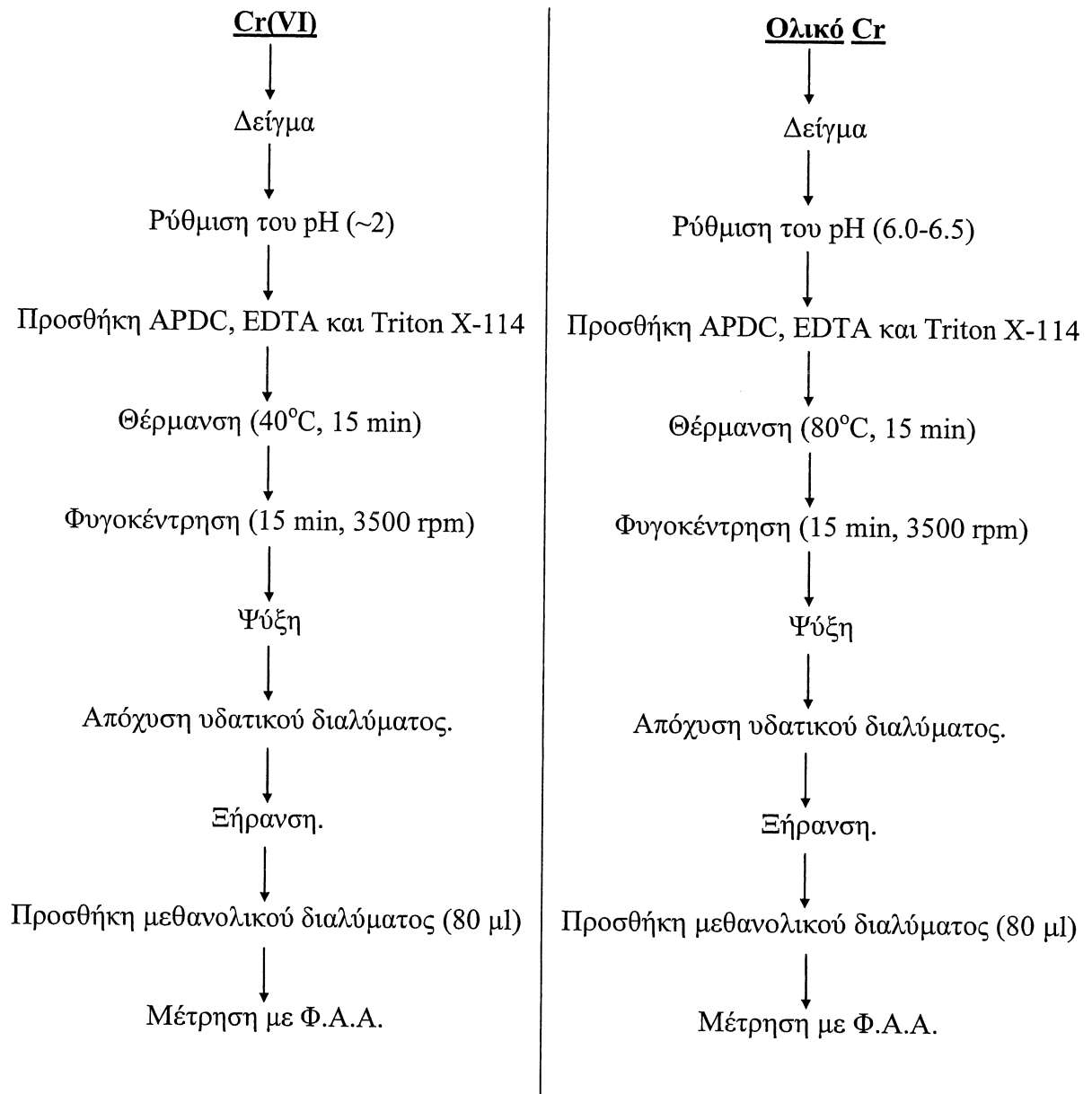
3.3.2 ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ.

Η μέτρηση της συγκέντρωσης του χρωμίου στη μικυλλιακή φάση έγινε με φασματοφωτόμετρο ατομικής απορρόφησης μοντέλο GBC 2000 (GBC, Victoria Australia), το οποίο λειτουργούσε με φλόγα ακετυλενίου : αέρα σε αναλογία όγκων 3:1. Η πηγή διέγερσης ήταν λάμπα κοίλης καθόδου της εταιρείας PHOTRON με βέλτιστες συνθήκες λειτουργίας : μήκος κύματος 357,9 nm και ένταση ρεύματος τροφοδοσίας 6 mA. Το εύρος της σχισμής του μονοχρωμάτορα ρυθμίστηκε στα 0,5 nm, ενώ η συλλογή των δεδομένων έγινε για 1.0 δευτερόλεπτο ως προς το ύψος της κορυφής.

Για το σχηματισμό των νεφελωμάτων τα πρότυπα και τα άγνωστα διαλύματα θερμαίνονται σε θερμοστατούμενο υδρόλουτρο, ενώ ο διαχωρισμός των φάσεων γίνεται με τη βοήθεια φυγοκέντρησης. Οι πειραματικές διατάξεις και οι δυνατότητες λειτουργίας τους περιγράφονται στο δεύτερο κεφάλαιο του πειραματικού μέρους.

3.3.3 ΠΟΡΕΙΑ ΕΡΓΑΣΙΑΣ.

Η θερμοκρασία νεφέλωσης του Triton X-114 είναι $24-30^{\circ}\text{C}$ ^{1,5} και συνεπώς η συσσωμάτωση των μικυλλίων επιτυγχάνεται πάνω από τη θερμοκρασία αυτή. Το νεφελογενές θόλωμα των μικυλλίων γίνεται ευδιάκριτο και διαχωρίζεται πλήρως από το υδατικό περιβάλλον πάνω από τους 40°C σχηματίζοντας δύο πλήρως διακριτές και καθορισμένες φάσεις. Η πορεία εργασίας η οποία περιγράφεται στο Σχήμα 3.1 ακολουθεί τα εξής στάδια: Σε 30 ml του αρχικού δείγματος ρυθμίζεται το pH σε τιμή 2 με διαδοχικές προσθήκες αραιών διαλυμάτων HCl ή και NaOH. Στη συνέχεια προστίθενται οι απαραίτητες ποσότητες αντιδραστηρίων APDC, EDTA και Triton X-114 και το δείγμα θερμαίνεται στους 40°C για μέγιστο χρόνο 15 λεπτών. Σκοπός των εργασιών αυτών είναι να συμπλεχθεί με το APDC μόνο το Cr(VI) και όχι το Cr(III), ενώ ταυτόχρονα να εμποδιστεί και η συμπλοκοποίηση των άλλων μεταλλικών ιόντων, που δίνουν μοριακές ενώσεις με το APDC. Παράλληλα με την πορεία αυτή σε 30 ml του δείγματος ακολουθείται παρόμοια διαδικασία για το συνολικό χρώμιο. Η πορεία αυτή διαφέρει ως προς το γεγονός ότι το pH ρυθμίζεται στο 6.0-6.5 (όπου και οι δύο οξειδωτικές καταστάσεις είναι εξίσου δραστικές ως προς το APDC), ενώ η θερμοκρασία σχηματισμού των νεφελωμάτων διατηρείται σε πολύ πιο υψηλά επίπεδα (80°C για 15 λεπτά), ώστε να ολοκληρωθεί η απομόνωση και του Cr(III) στα μικύλλια.



Σχήμα 3.1 : Πορεία εργασίας για την εκχύλιση σημείου νεφέλωσης και ειδοταντοποίηση του χρωμίου με ένα αντιδραστήριο και μέτρηση σε Φ. Α. Α.

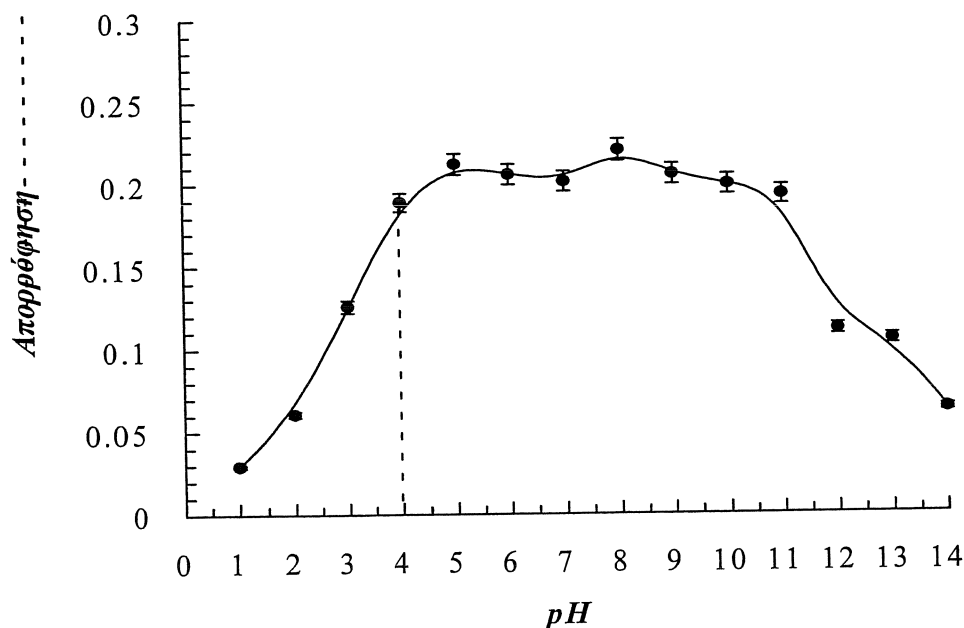
Και στις δύο περιπτώσεις τα νεφελώδη διαλύματα φυγοκεντρούνται στις 3500 στροφές το λεπτό, ώστε να διαχωριστούν οι δύο φάσεις, ψύχονται για να αυξηθεί το ιξώδες των μικυλλίων, η υδατική φάση αποχύνεται και το υπόλειμμα εξατμίζεται μέχρι ξηρού.

Στο στεγνό υπόλειμμα προστίθεται κάθε φορά 150 μL μεθανολικού διαλύματος HNO_3 συγκέντρωσης 1M και τα μεθανολικά εκχυλίσματα μετρούνται με φασματοφωτομετρία ατομικής απορρόφησης, όπως περιγράφεται προηγουμένως.

3.4 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ.

3.4.1 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΚΑΙ ΜΕΛΕΤΗ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΩΝ ΣΥΝΘΗΚΩΝ

Οι συνολικές πειραματικές συνθήκες για την αντίδραση του APDC με το Cr(VI) μελετήθηκαν και αναπτύχθηκαν με λεπτομέρεια στο προηγούμενο κεφάλαιο¹. Αυτό που αποτελεί το κέντρο βάρους στη μελέτη αυτή, είναι τα κοινά σημεία, που παρουσιάζουν οι συνθήκες αυτές με τις αντίστοιχες του Cr(III) και του συνολικού χρωμίου. Όπως έχει αναφερθεί, αν και το Cr(VI) αντιδρά με το APDC σε μεγάλο εύρος pH (2-8), επιλέχθηκε η τιμή 2 για την πραγματοποίηση των πειραμάτων, επειδή το χαμηλό pH συνεισφέρει στην κινητική αδράνεια του Cr(III) και στη διαφοροποίηση του ως προς το Cr(VI). Αντίθετα με το σχηματισμό του συμπλόκου Cr(VI)-APDC, που γίνεται εύκολα και σε μεγάλη περιοχή διακύμανσης των πειραματικών συνθηκών, στην περίπτωση του Cr(III) τα όρια αυτά



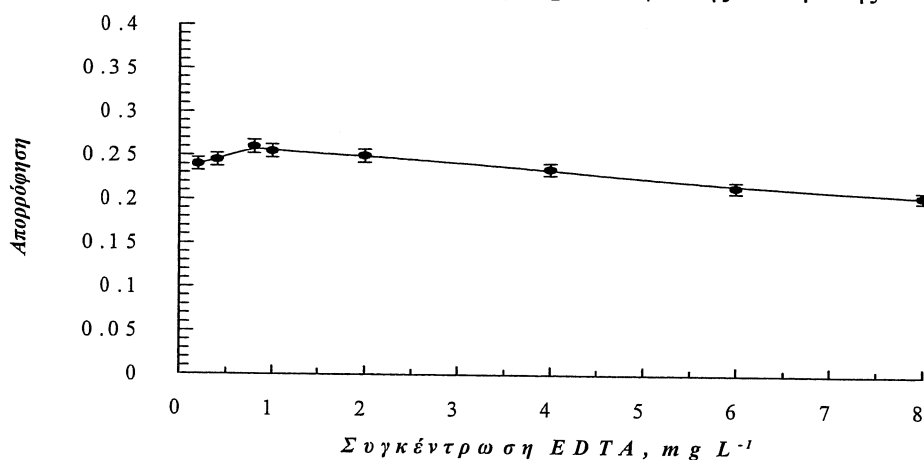
Σχήμα 3.2 : Επίδραση του pH στην εκχύλιση μικροβιακής νεφέλωσης του Cr(III) με APDC. Cr(III) $20 \mu\text{g L}^{-1}$. Triton X-114 $0,6 \text{ g L}^{-1}$. Θερμοκρασία 90°C . APDC $0,6 \text{ mg L}^{-1}$.

περιορίζονται και οι τιμές των διαφόρων παραμέτρων καθορίζουν σε μεγάλο βαθμό την ταχύτητα και την αποτελεσματικότητα της αντίδρασης σχηματισμού του Cr(III)-APDC. Έτσι η διάκριση μεταξύ των δύο μορφών είναι δύσκολη και πρέπει να βρεθούν οι κατάλληλες

συνθήκες. Με δεδομένη την ευελιξία του συστήματος Cr(VI)-APDC μελετήθηκαν αρχικά οι παράμετροι που επηρεάζουν το Cr(III).

Στη συνολική μελέτη του προηγούμενου κεφαλαίου είχε βρεθεί, ότι η παρεμποδιστική δράση κάποιων μεταλλικών ιόντων^{6,7} κατά την απομόνωση του χρωμίου και κατά τον προσδιορισμό του μπορούσε να αρθεί με την προσθήκη EDTA, το οποίο απέκλειε τα μέταλλα αυτά από το σχηματισμό των μικυλλίων δίνοντας ιοντικά σύμπλοκα. Βέβαια ανάμεσα στα μεταλλικά αυτά ιόντα βρίσκεται και το Cr(III), το οποίο(αν και κινητικά αδρανές) συμπλέκεται με το EDTA δίνοντας σταθερότατα σύμπλοκα. Η δυνατότητα αυτή του Cr(III) να συμπλέκεται με το EDTA απαιτεί ιδιαίτερη προσοχή, επειδή μπορεί να δημιουργήσει προβλήματα στην προτεινόμενη μέθοδο και να παρεμποδίσει σημαντικά τον προσδιορισμό του συνολικού χρωμίου, ενώ με κατάλληλο χειρισμό μπορεί να προσφέρει λύσεις⁸.

Η επίδραση του pH στην αντίδραση του Cr(III) με το APDC φαίνεται στο Σχήμα 3.2. Είναι προφανές, ότι σε σύγκριση με τη στενή περιοχή της 8-υδροξυκινολίνης υπάρχει τώρα ένα ευρύ φάσμα τιμών pH (4-11) στο οποίο διευκολύνεται η εργασία. Βέβαια οι τιμές αυτές ανταποκρίνονται σε υψηλές θερμοκρασίες, αφού σε χαμηλές τα πιο αλκαλικά περιβάλλοντα υπερσχύουν και δίνουν καλύτερα αποτελέσματα. Είναι γνωστό από κινητικές μελέτες, ότι το σύμπλοκο του Cr(III) με το EDTA, αν και από θερμοδυναμικής άποψης είναι εξαιρετικά σταθερό και ευνοείται ο σχηματισμός του, εντούτοις κινητικά είναι δύσκολο να σχηματιστεί. Συστηματικά πειράματα έδειξαν, ότι και τα δύο σύμπλοκα του Cr(III) με το APDC και με το EDTA σχηματίζονται δύσκολα σε χαμηλά pH, λόγω της δεδομένης κινητικής αδράνειας του

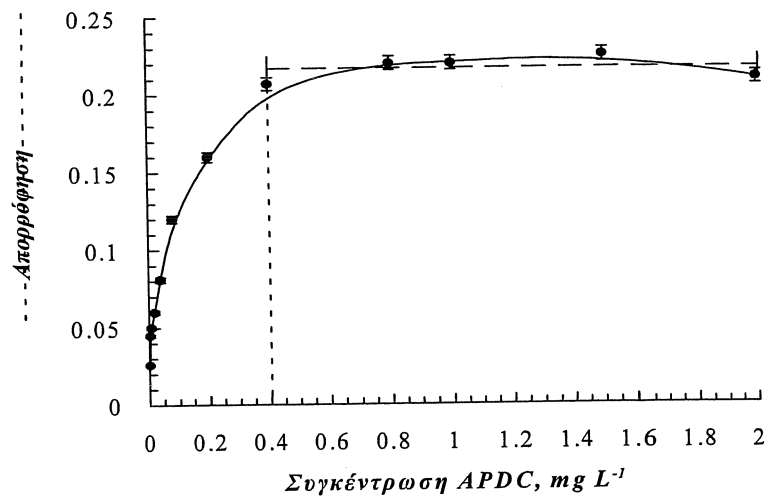


Σχήμα 3.3 : Επίδραση του EDTA στο αναλυτικό σήμα του Cr(III) μετά από εκχύλιση σημείου νεφέλωσης και μέτρηση με Φ.Α.Α...Cr(III) 20 μg L⁻¹. Triton X-114 0,6 g L⁻¹. Θερμοκρασία 90 °C. APDC 0,6 mg L⁻¹.

χρωμίου. Η δραστηριότητα του χρωμίου αυξάνεται με την αύξηση του pH, όπως εξηγήθηκε και στο θεωρητικό μέρος, καθώς τα μόρια νερού από τη σφαίρα ένταξης του ιόντος αντικαθίστανται από τα πολύ πιο ευκίνητα ιόντα υδροξυλίου (OH⁻).

Όπως φαίνεται και από το Σχήμα 3.3 η μεταβολή της συγκεντρώσεως του EDTA σε ένα διάλυμα Cr(III) 20 μg L⁻¹ παρουσία APDC έχει ελάχιστη επίδραση στο αναλυτικό σήμα του χρωμίου καθώς η συγκέντρωση του EDTA αυξάνεται μέχρι τα 10 mg L⁻¹, δηλαδή σε αναλογία 500:1. Η επιτρεπόμενη αυτή αναλογία γίνεται στην πράξη πολύ μεγαλύτερη, αν ληφθεί υπόψη η ποσότητα του EDTA, που καταναλώνεται κατά προτεραιότητα από τα συνυπάρχοντα μεταλλικά ιόντα..

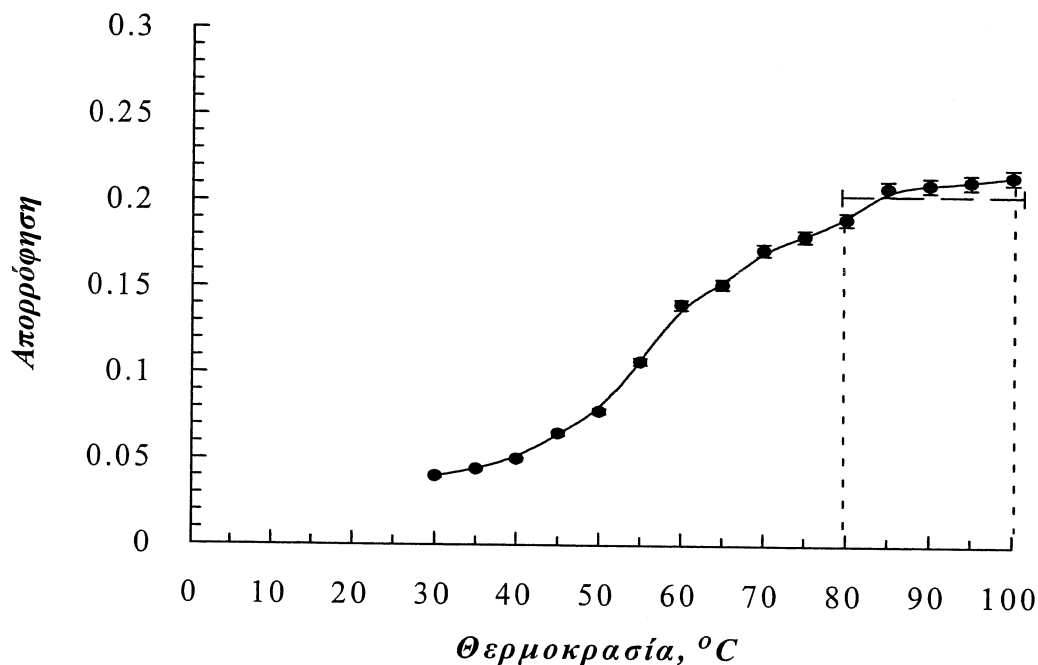
Μετά την επιλογή των βέλτιστων τιμών pH και EDTA, έγινε μελέτη της αποτελεσματικότητας της σύμπλεξης του Cr(III) από το APDC, με τη μεταβολή της συγκέντρωσης του συμπλεκτικού αντιδραστηρίου για σταθερή συγκέντρωση χρωμίου. Είναι φανερό ότι στις βέλτιστες συνθήκες η συμπεριφορά του Cr(III) ως προς το APDC μοιάζει και σχεδόν ταυτίζεται με την αντίστοιχη του Cr(VI)



Σχήμα 3.4 : Συμπλοκοποίηση του Cr(III) συναρτήσει της συγκέντρωσης του APDC. . Cr(III) 20 μg L⁻¹. Triton X-114 0,6 g L⁻¹. Θερμοκρασία 90 °C.

παρέχοντας το ίδιο αναλυτικό σήμα. Αν και συγκεντρώσεις APDC της τάξης των 0,6 mg L⁻¹ (δηλαδή αναλογία 30:1), είναι ικανοποιητικές, επιλέγονται συνήθως μεγαλύτερες τιμές, με σκοπό να αντισταθμίσουν τυχόν απώλειες από τα συνυπάρχοντα μέταλλα, που επίσης αντιδρούν με το APDC.

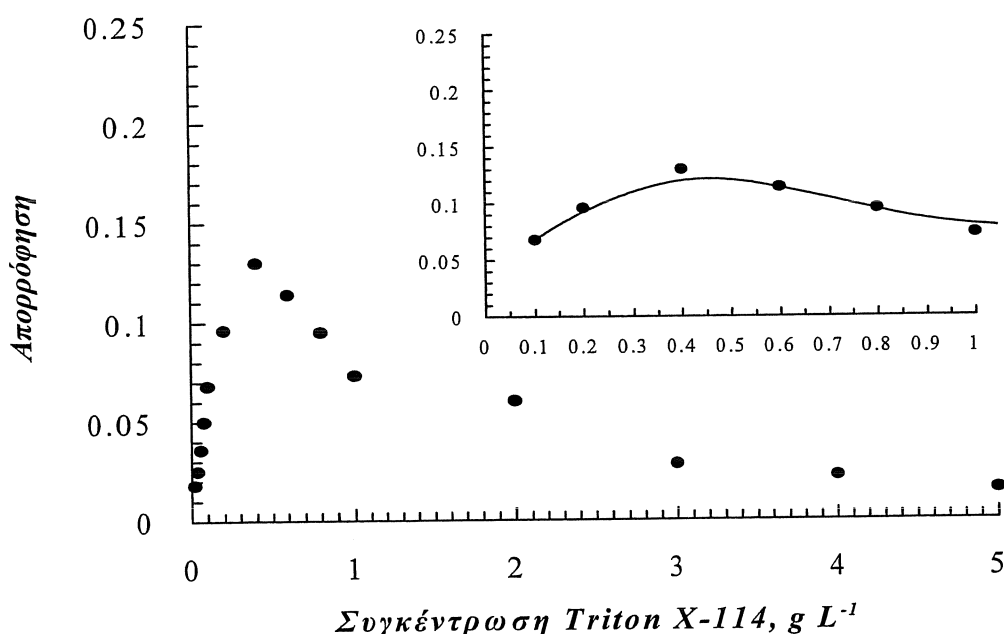
Η θερμοκρασία στην περίπτωση του Cr(III) πρέπει να είναι τέτοια, ώστε να ευνοεί την πλήρη συμπλοκοποίησή του από το APDC, το σχηματισμό των μικυλλίων και τον ποσοτικό



Σχήμα 3.5 : Θερμοκρασιακό προφίλ του συστήματος Cr(III)/APDC. .
Cr(III) 20 $\mu\text{g L}^{-1}$. Triton X-114 0,6 g L^{-1} . APDC 0,6 mg L^{-1} .

εγκλωβισμό του συμπλόκου μέσα σε αυτά. Άλλωστε είναι γνωστή η επίδραση της θερμοκρασίας στα σχηματιζόμενα μικύλλια, τα οποία γίνονται πιο στεγανά χωρίς να προσροφούν νερό και έτσι επιτυγχάνεται μικρότερος όγκος μικυλλιακής φάσης κατά 1,5 ως 3,6 φορές^{9,10}. Αντίστοιχα αυξάνονται και οι συντελεστές προσυγκέντρωσης. Το Cr(VI) αντιδρά με το APDC εύκολα ακόμα και εν ψυχρώ, ενώ το Cr(III) με δεδομένη την κινητική του αδράνεια απαιτεί αυξημένες θερμοκρασίες. Όπως φαίνεται και από το θερμοκρασιακό προφίλ στο Σχήμα 3.5 το μικρό σχετικά σήμα του χρωμίου(III) αυξάνει σχεδόν γραμμικά στους 60-85 °C, καταλήγοντας μετά σε ένα πλατώ.

Ο χρόνος παραμονής των δειγμάτων στην επιθυμητή θερμοκρασία επηρεάζει με διάφορους τρόπους τη διαδικασία ολοκλήρωσης των αντιδράσεων, της μορφοποίησης των μικυλλίων και της απομόνωσης των υδρόφοβων ειδών. Ο σχηματισμός του συμπλόκου Cr(III)-APDC σε συνδυασμό με τον εγκλωβισμό του στα νεφελώματα ολοκληρώνεται σε 15 λεπτά. Στον ίδιο χρόνο το θερμοδυναμικά σταθερό σύμπλοκο του Cr(III) με το EDTA δεν σχηματίζεται λόγω κινητικού ελέγχου της αντίδρασης αλλά και θερμοδυναμικής μετατόπισης της ισορροπίας σχηματισμού του Cr(III)-APDC, που ευνοείται με την απομάκρυνσή του από το σύστημα μέσω εγκλωβισμού.



Σχήμα 3.6. Επίδραση της συγκέντρωσης του Triton X-114 στο αναλυτικό σήμα. Cr(III) 20 $\mu\text{g L}^{-1}$. Θερμοκρασία 90 °C. APDC 0,6 mg L^{-1} .

Η επίδραση της ποσότητας της τασιενεργού ουσίας φαίνεται στο Σχήμα 3.6. Οι μεταβολές του σχήματος αναφέρονται σε δύο φαινόμενα. Αρχικά τα σχηματιζόμενα μικύλλια δεν είναι αρκετά ώστε να εγκλωβίσουν όλα τα υδρόφοβα προϊόντα. Όπως φαίνεται μέγιστη απόδοση του συστήματος επιτυγχάνεται για συγκεντρώσεις τασιενεργού 0,2-0,8 g L^{-1} . Στη συνέχεια το αναλυτικό σήμα στην ατομική απορρόφηση φθίνει και πάλι, όχι όμως λόγω αναστροφής του εγκλωβισμού αλλά λόγω φυσιολογικής αύξησης του όγκου και μείωσης της τελικής συγκέντρωσης και του αντίστοιχου συντελεστή προσυγκέντρωσης. Ο συντελεστής αυτός ορίζεται ως το πηλίκο των αρχικών συγκεντρώσεων δύο διαλυμάτων, που δίνουν την ίδια τιμή απορρόφησης (το ένα χωρίς και το άλλο μετά από προσυγκέντρωση). Π.χ. συντελεστής

προσυγκέντρωσης 100 σημαίνει ότι ένα διάλυμα χρωμίου $20 \mu\text{g L}^{-1}$ δίνει μετά από προσυγκέντρωση (με τη διαδικασία της νεφέλωσης) το ίδιο σήμα στην ατομική απορρόφηση με ένα πρότυπο διάλυμα χρωμίου $20 \times 100 = 2000 \mu\text{g L}^{-1}$ ή 2mg L^{-1} .

3.4.2 ΕΞΗΓΗΣΗ ΤΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΤΟΥ EDTA

Συχνά η εκλεκτικότητα μιας ανάλυσης ως προς το χρώμιο ενισχύεται από την παρουσία του EDTA. Το σύμπλοκο του Cr(III) με το EDTA είναι θερμοδυναμικά πολύ σταθερό ($K_f = 10^{23}$), αλλά από κινητικής άποψης σχηματίζεται εξαιρετικά αργά. Όλα ή τα περισσότερα άλλα μέταλλα, τα οποία παρεμποδίζουν την ανίχνευση του χρωμίου, αντιδρούν με το EDTA ταχύτατα σχηματίζοντας σταθερά και προπαντός αδρανή σύμπλοκα. Αποδεικνύεται, ότι με παρατεταμένη θέρμανση σχηματίζεται και το σύμπλοκο του χρωμίου και απομακρύνεται από το σύστημα.

Οι κινητικές μελέτες του Hamm¹¹ στην αντίδραση σχηματισμού του συμπλόκου Cr(III)-EDTA έδειξαν, ότι ο ρυθμός σχηματισμού του είναι ανεξάρτητος από τη συγκέντρωση του EDTA, όπως έδειξαν και τα δικά μας πειράματα. Η παρατήρηση αυτή έδωσε τη δυνατότητα ελεύθερης μεταβολής της συγκέντρωσης του EDTA χωρίς αρνητικές επιδράσεις στο αναλυτικό σήμα.

Όπως αποδεικνύεται πειραματικά ο ρυθμός σχηματισμού του συμπλόκου αυξάνει με το pH από 1 μέχρι 6, ενώ παρατηρείται και μια εκθετική αύξηση με τη θερμοκρασία.

Πρέπει επίσης να σημειωθεί, ότι η ταχύτητα σχηματισμού αυξάνει με τη συγκέντρωση του χρωμίου. Όμως, αν και σε μεγάλες συγκεντρώσεις χρωμίου η αύξηση αυτή είναι γραμμική, κάτι τέτοιο δεν παρατηρείται σε μικρές συγκεντρώσεις και ειδικά της τάξης του $\mu\text{g L}^{-1}$, δηλαδή του 10^{-8} ως $10^{-7} \text{mol L}^{-1}$.

Τέλος η ανταγωνιστική δράση του APDC, η κινητική αντίδρασή του και η διαρκώς μετατοπιζόμενη ισορροπία προς τον σχηματισμό του συμπλόκου, είναι ένας επιπλέον παράγοντας, που επιτρέπει μια ευελιξία στη ρύθμιση των πειραματικών συνθηκών.

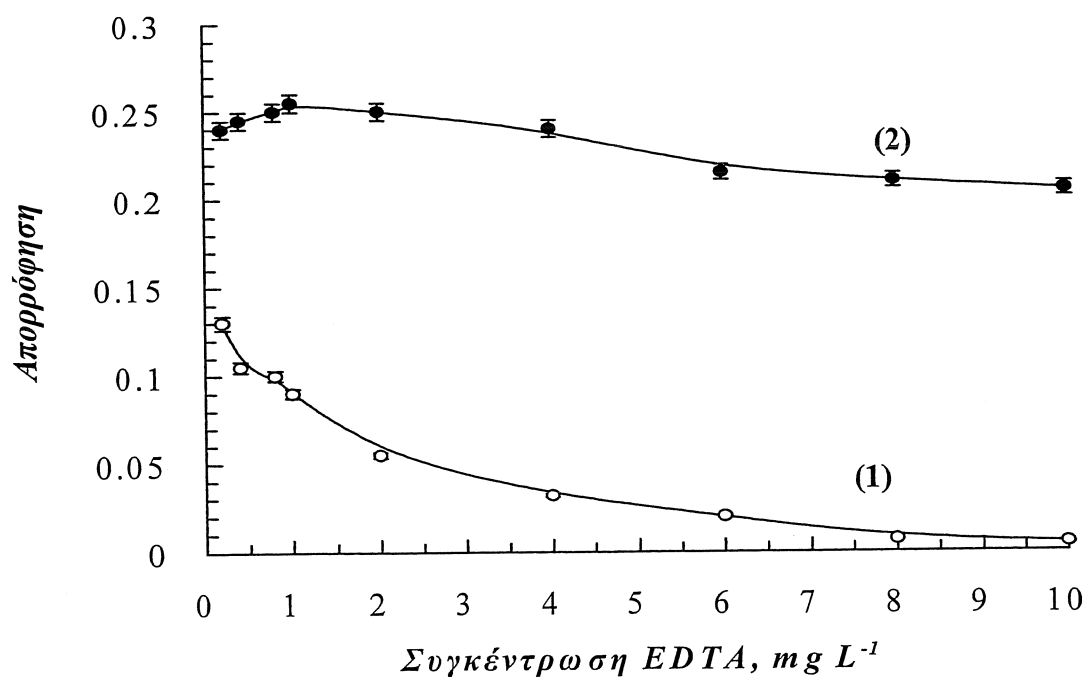
Για τον έλεγχο των αποτελεσμάτων της ανταγωνιστικής αυτής δράσης και της επίπτωσης που θα είχε η παρουσία του EDTA στο δείγμα, πραγματοποιήθηκαν τα εξής πειράματα. Με



Σχήμα 3.7. Αναπαράσταση της ανταγωνιστικής δράσης APDC και EDTA στη συμπλοκοποίηση του Cr(III). Το σύμπλοκο του APDC εγκλωβίζεται στο μικύλλιο και απομακρύνεται από το σύστημα μετατοπίζοντας την ισορροπία προς όφελός του.

ρυθμισμένες τις υπόλοιπες παραμέτρους στις βέλτιστες τιμές, προστίθενται διάφορες ποσότητες EDTA σε διαλύματα Cr(III) συγκέντρωσης $20 \mu\text{g L}^{-1}$, και το μίγμα θερμαίνεται επί 10 λεπτά. Στα διαλύματα αυτά εφαρμόστηκε στη συνέχεια η διαδικασία μικυλλιακής εκχύλισης όπως περιγράφεται στην παράγραφο 3.2.2. Σε μια άλλη σειρά διαλυμάτων χρωμίου η πορεία μικυλλιακής εκχύλισης πραγματοποιήθηκε με ταυτόχρονη ανάμιξη και θέρμανση όλων των αντιδραστηρίων.

Όπως φαίνεται και στο Σχήμα 3.8, το σήμα της ατομικής απορρόφησης φανερώνει τον



Σχήμα 3.8 : Επίδραση της ανταγωνιστικής δράσης του APDC και του EDTA στο αναλυτικό σήμα. Cr(III) $20 \mu\text{g L}^{-1}$. Triton X-114 $0,6 \text{ g L}^{-1}$. Θερμοκρασία 90°C . APDC $0,6 \text{ mg L}^{-1}$.

σταδιακό και τελικά πλήρη αποκλεισμό του χρωμίου από τα μικύλλια στην πρώτη περίπτωση(καμπύλη 1), ενώ στη δεύτερη(καμπύλη 2) η επίδραση του EDTA είναι αμελητέα. Έτσι αποδεικνύεται, ότι οι παράμετροι του πειράματος συντελούν αθροιστικά στην επικράτηση της αντίδρασης του Cr(III) με το APDC.

3.4.3 ΠΟΛΥΠΑΡΑΜΕΤΡΙΚΗ ΒΕΛΤΙΣΤΟΠΟΙΗΣΗ ΤΩΝ ΣΥΝΘΗΚΩΝ ΤΟΥ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ

Μέχρι τώρα εκτέθηκαν αποκλειστικά οι περιοριστικές παράμετροι, οι οποίες αφορούν το σχηματισμό και τον εγκλωβισμό του συμπλόκου του Cr(III) με το APDC. Επειδή όμως το APDC δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί εκλεκτικά για τον προσδιορισμό του Cr(III) παρουσία του Cr(VI), είναι προτιμότερη μια προσέγγιση που θα επιτρέπει τον ταυτόχρονο προσδιορισμό των δύο οξειδωτικών καταστάσεων με τη χρήση ενός μόνο αντιδραστηρίου. Η επιδίωξη αυτή δεν είναι γενικά εύκολη και σύμφωνα με τους περιορισμούς που αναπτύχθηκαν προηγουμένως, απαιτείται προσεχτική επεξεργασία και εκτίμηση όλων των εξαρτώμενων παραμέτρων.

Από τη μέχρι τώρα μελέτη του συστήματος σε συνδυασμό και με τις γνώσεις του δευτέρου κεφαλαίου του πειραματικού μέρους φαίνεται, ότι οι πλέον σημαντικές παράμετροι για την πλήρη κάλυψη της αντίδρασης και των μικυλλίων είναι οι συγκεντρώσεις του συμπλεκτικού αντιδραστηρίου (APDC), του EDTA και του τασενεργού Triton X-114, το pH της αντίδρασης, η θερμοκρασία και ο χρόνος παραμονής του μίγματος σε αυτή. Για τη μελέτη της εξάρτησης του αναλυτικού σήματος του χρωμίου στην ατομική απορρόφηση, από το σύνολο αυτών των παραμέτρων, σχεδιάστηκε μια πολυπαραμετρική προσέγγιση βασισμένη στη μέθοδο σύνθεσης κεντρικού σημείου (Central Composite Design, CCD)^{12,3}. Με βάση τη μέχρι τώρα μελέτη αποφασίστηκε το pH και η συγκέντρωση του τασενεργού να μη συμπεριληφθούν στην πολυπαραμετρική μελέτη αλλά να διατηρηθούν σε σταθερές τιμές, αφού επιδεικνύουν σταθερή συμπεριφορά από τη στιγμή που εξασφαλίζουν πλήρη αντίδραση και ποσοτικό εγκλωβισμό των υδρόφοβων μορίων. Η μέθοδος CCD επιλέχθηκε ώστε να επιτρέπει την ξεχωριστή διερεύνηση των υπολοίπων τεσσάρων παραμέτρων ως τετραγωνικών όρων και τη μελέτη των αλληλεπιδράσεων των μεταβλητών αυτών ανά δύο. Η εκτίμηση των αποτελεσμάτων της μεθόδου CCD έγινε με τη βοήθεια αλγορίθμων πολλαπλής

γραμμικής ανάλυσης συμμεταβολής(multiple linear regression analysis). Σε κάθε μεταβλητή δόθηκαν τιμές μέσα σε κάποια όρια, τα οποία είχαν καθοριστεί με τη βοήθεια προκαταρκτικών πειραμάτων για την επίδρασή τους στο αναλυτικό σήμα του χρωμίου στη φλόγα. Οι τιμές αυτές κωδικοποιήθηκαν αντιστοιχιζόμενες στους αριθμούς -2, -1, 0, +1, +2. Οι αντιστοιχίες αυτές φαίνονται στον Πίνακα 3.1.

Πίνακας 3.1 : Απόδοση κωδικοποιημένων τιμών στους συντελεστές τις πολυπαραμετρικής βελτιστοποίησης.

<u>Κωδικοποιημένα επίπεδα</u>	<u>APDC (mg l⁻¹)</u>	<u>EDTA (mg l⁻¹)</u>	<u>Θερμοκρασία (°C)</u>	<u>Χρόνος επώασης (min)</u>
-2	200	0.05	30	0
-1	350	1.5	45	10
0	500	3.0	60	20
+1	650	4.5	75	30
+2	950	6.0	90	40

Με την εφαρμογή του προτεινόμενου πίνακα σχεδίασης του πολυπαραμετρικού μοντέλου δημιουργήθηκε μια σειρά 27 συνδυασμών πειραματικών τιμών (που αντιπροσωπεύουν 24 διαφορετικά σημεία και 3 επαναλήψεις του κεντρικού σημείου δηλαδή του 0,0,0,0). Σε κάθε περίπτωση η αναλυτική συγκέντρωση του χρωμίου στο αρχικό δείγμα είναι 15 μg L⁻¹. Η μελέτη των παραμέτρων έγινε ως προς το σήμα της απορρόφησης, που έδινε η συγκέντρωση αυτή στη φλόγα της ατομικής απορρόφησης, μετά από την απαραίτητη διαδικασία προσυγκέντρωσης με εκχύλιση μέσω μικυλλιακών νεφελωμάτων.

Τα αποτελέσματα της πολλαπλής γραμμικής ανάλυσης και της ανάλυσης διακύμανσης (Analysis of Variance, ANOVA) παρουσιάζονται στον Πίνακα 3.2.

Πίνακας 3.2 : Συνδυασμοί κωδικοποιημένων τιμών και αναλυτικά αποτελέσματα για τον Σχεδιασμό Κεντρικού Σημείου.

No	<u>APDC</u> (mg l⁻¹)	<u>EDTA</u> (mg l⁻¹)	<u>Θερμοκρασία</u> (°C)	<u>Χρόνος επώασης</u> (min)	<u>Αναλυτικό</u> <u>Σήμα Cr</u>
1	+1	+1	+1	+1	0.138
2	+1	+1	+1	-1	0.128
3	+1	+1	-1	-1	0.094
4	+1	-1	-1	-1	0.084
5	+1	-1	+1	+1	0.109
6	-1	+1	+1	+1	0.086
7	-1	-1	+1	+1	0.094
8	-1	-1	-1	+1	0.084
9	-1	+1	-1	-1	0.082
10	-1	+1	-1	+1	0.088
11	-1	+1	+1	-1	0.096
12	+1	-1	-1	+1	0.102
13	+1	+1	-1	+1	0.084
14	-1	-1	+1	-1	0.096
15	+1	-1	+1	-1	0.104
16	-1	-1	-1	-1	0.086
17	0	0	0	0	0.088
18	0	0	0	0	0.090
19	0	0	0	0	0.088
20	-2	0	0	0	0.099
21	+2	0	0	0	0.141
22	0	-2	0	0	0.131
23	0	+2	0	0	0.106
24	0	0	-2	0	0.097
25	0	0	+2	0	0.120
26	0	0	0	-2	0.024
27	0	0	0	+2	0.104

Για αξιοπιστία 95% ($P < 0,05$) κάποιες από τις μεταβλητές φαίνεται, ότι είναι στατιστικά σημαντικές, ενώ κάποιες άλλες έχουν μικρή στατιστική βαρύτητα. Ο τετραγωνικός όρος της θερμοκρασίας καθώς και όλες οι αλληλεπιδράσεις της μεταβλητής αυτής φαίνεται, ότι έχουν αμελητέα επίπτωση στο σήμα. Γενικότερα η μικρή συνεισφορά των γινομένων στη στατιστική μελέτη δείχνει την έλλειψη αλληλεπιδράσεων μεταξύ των μεταβλητών και την ανεξάρτητη επιρροή της καθεμιάς στο σήμα. Το συμπέρασμα αυτό βρίσκεται σε συμφωνία με τα θεωρητικώς αναμενόμενα

Έτσι από τα συνολικά αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης, γίνεται επιλογή ενός υποσυνόλου, το οποίο λαμβάνει υπόψη μόνο τις στατιστικά σημαντικές συνεισφορές. Η τεταγμένη επί την αρχή αντιπροσωπεύει την απόκριση στο κεντρικό σημείο, κωδικοποιημένο ως 0.

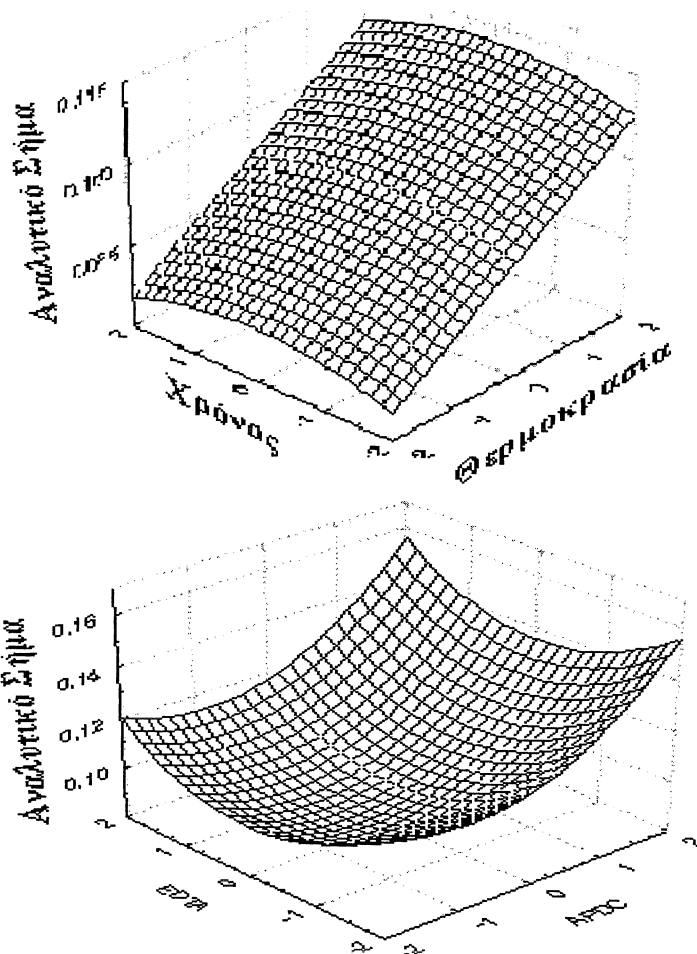
Πίνακας 3.3 : Αποτελέσματα και στατιστικά σημαντικές τιμές της ανάλυσης διακύμανσης (ANOVA).

<u>Παράμετρος</u>	<u>Συντελεστής</u>	<u>Άθροισμα τετραγώνων</u>	<u>DF</u>	<u>Τιμή-p</u>
Τεταγμένη επί την αρχή	0.096			
APDC	0.0089		1	0.0074
Θερμοκρασία	0.0081		1	0.0138
Χρόνος	0.0072		1	0.0252
APDC * APDC	0.0054		1	0.0865
EDTA * EDTA	0.0051		1	0.1010
Χρόνος * Χρόνος	-0.0083		1	0.0114
<u>Παλινδρόμηση</u>		0.0087	6	
Πρωτοβάθμιοι όροι		0.0047	3	0.0141
Δευτεροβάθμιοι όροι		0.0040	3	0.0355
<u>Υπολειμματικοί όροι</u>		0.0043	20	
Συνολικοί όροι			26	

$$R=0.818, \quad R^2=0.669$$

Οι πρωτοβάθμιοι όροι των παραμέτρων APDC, θερμοκρασίας και χρόνου έχουν θετικά πρόσημα, υποδηλώνοντας, ότι η αύξησή τους προκαλεί μια συνεχή αύξηση του σήματος του χρωμίου στην ατομική απορρόφηση. Το γεγονός ότι οι συντελεστές των πρωτοβάθμιων όρων είναι της ίδιας τάξης μεγέθους δηλώνει, ότι επηρεάζουν εξίσου το αναλυτικό σήμα. Οι τιμές που υπολογίζονται για τις εξαρτημένες μεταβλητές, με την εφαρμογή της εξίσωσης, φαίνεται να αναπαράγουν τις πειραματικές τιμές με ποσοστό σφάλματος μικρότερο του 7%. Αυτό σημαίνει, ότι η προτεινόμενη εξίσωση μεταβολής $A = f(x, y, z, x^2, y^2, z^2)$ αποτελεί μια ικανοποιητική προσέγγιση της πειραματικής συμπεριφοράς τους συστήματος.

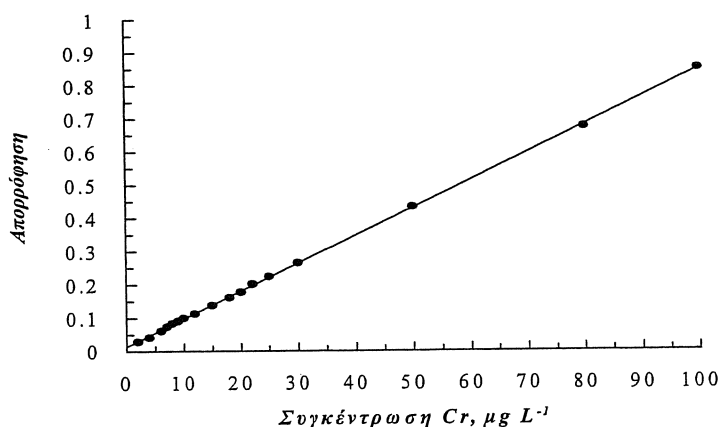
Το αναλυτικό σήμα του χρωμίου στην ατομική απορρόφηση μελετήθηκε επιπλέον ως συνάρτηση δύο μεταβλητών με τις άλλες δύο μεταβλητές σταθερές στην κωδικοποιημένη τιμή 0 (κεντρική τιμή). Οι τρισδιάστατες καμπύλες απόκρισης για την πολυωνυμική αυτή συνάρτηση φαίνονται στο Σχήμα 3.9, όπου οι βέλτιστες πειραματικές συνθήκες αντιστοιχούν



Σχήμα 3.9 : Τρισδιάστατη γραφική

στις πραγματικές(μη κωδικοποιημένες τιμές): APDC $950 \mu\text{g L}^{-1}$, EDTA 3 mg L^{-1} , θερμοκρασία 90°C και χρόνος θέρμανσης περίπου 15 λεπτά.

Το μέγιστο σήμα προκύπτει, όταν το EDTA και το APDC αποκτούν τη μέγιστη τιμή τους. Οι διακυμάνσεις του σήματος γύρω από την κεντρική τιμή (0) του EDTA μπορούν να θεωρηθούν αμελητέες για οποιαδήποτε τιμή της συγκέντρωσης του APDC. Το αποτέλεσμα αυτό επικυρώνει και τα προηγούμενα αποτελέσματα, όπου η εξάρτηση του σήματος από τη συγκέντρωση του EDTA ήταν επίσης μηδαμινή για μια ευρεία περιοχή (Σχήμα 3.8, καμπύλη 2). Η μεταβολή του σήματος ατομικής απορρόφησης, ως συνάρτηση της συγκέντρωσης του APDC, εμφανίζει μια μικρή μείωση στην περιοχή της κωδικοποιημένης τιμής -1 και μια υπολογίσιμη αύξηση στην περιοχή της ακραίας τιμής $+2$. Σχετικά με το χρόνο θέρμανσης και τη θερμοκρασία, η μέγιστη τιμή του αναλυτικού σήματος προέκυψε για χρόνο 20 λεπτών (κωδικοποιημένη τιμή 0) και για θερμοκρασία 90°C (κωδικοποιημένη τιμή $+2$). Η μείωση του σήματος με την παράταση του χρόνου θέρμανσης ενισχύει την άποψη των ανταγωνιστικών αντιδράσεων του Cr(III) με το APDC και το EDTA, ενώ ταυτόχρονα επιβεβαιώνει, ότι ο κινητικά ευνοούμενος σχηματισμός του Cr(III)-APDC υπερισχύει στην αρχή της θέρμανσης, ενώ μετά τα 20 λεπτά(που οι θερμοδυναμικές συνθήκες το επιτρέπουν) επικρατεί το θερμοδυναμικά σταθερότερο Cr(III)-EDTA, το οποίο οδηγεί στη μείωση του αναλυτικού σήματος.



Σχήμα 3.10 : Καμπύλη αναφοράς για την ειδοταυτοποίηση του χρωμίου μετά από μικροκλιμακή εκχύλιση με χρήση APDC και διαφοροποίηση με βάση το pH. Triton X-114 $0,6 \text{ g L}^{-1}$. Θερμοκρασία 90°C . APDC $0,6 \text{ mg L}^{-1}$.

3.4.4 ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΣΗ ΤΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ.

Έχοντας ρυθμίσει τις βέλτιστες συνθήκες εργασίας, γίνεται βαθμονόμηση του συστήματος με καμπύλης αναφοράς, η οποία αντιστοιχεί στο συνολικό χρώμιο. Το είδος του χρωμίου που προσδιορίζεται καθορίζεται από την ακολουθούμενη πορεία κατά την εκχύλιση σημείου νεφέλωσης.

Η καμπύλη αναφοράς εμφανίζει γραμμικότητα στην περιοχή 2-100 $\mu\text{g L}^{-1}$. Το μέγιστο της γραμμικής περιοχής και τα όρια ανίχνευσης εξαρτώνται από την ποσότητα της τασενεργού ουσίας. Έτσι για την επιλεγμένη τιμή (0,6 g L^{-1}) τα μικκύλια του τασενεργού μπορούν να παγιδεύσουν ποσοτικά μέχρι 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ χρωμίου. Για μεγαλύτερες συγκεντρώσεις θα πρέπει να χρησιμοποιηθούν μεγαλύτερες ποσότητες Triton X-114. Αυτό όμως οδηγεί σε μείωση του συντελεστή προσυγκέντρωσης και σε αύξηση των ορίων ανίχνευσης, όπως φαίνεται και στο Σχήμα 3.6. Ο συντελεστής συσχέτισης r είναι σχεδόν απόλυτος με τιμή 0,9999. Η εξίσωση συμμεταβολής της καμπύλης είναι: $A = (0,014 \pm 0,001) + (0,008 \pm 0,0005) [\mu\text{gL}^{-1} \text{ Cr}]$. Το όριο ανίχνευσης (L.O.D), για λόγο σήματος προς θόρυβο ίσο με 3, ήταν 0,5 $\mu\text{g L}^{-1}$, ενώ το αντίστοιχο όριο ποσοτικοποίησης (L.O.Q), για λόγο σήματος προς θόρυβο ίσο με 10, ήταν 2 $\mu\text{g L}^{-1}$. Οι τιμές αυτές αναφέρονται στην ολική συγκέντρωση και των δύο οξειδωτικών καταστάσεων του χρωμίου, στο αρχικό δείγμα. Όπως φαίνεται, η ευαισθησία της μεθόδου είναι πολύ καλή αφού η κλίση της καμπύλης αναφοράς (0,008 μονάδες απορρόφησης / $\mu\text{g L}^{-1}$) επιτρέπει διακριτική ικανότητα μικρότερη από 1 $\mu\text{g L}^{-1}$. Ταυτόχρονα τα όρια ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης είναι τόσο χαμηλά που μπορούν να συγκριθούν μόνο με τεχνικές ηλεκτροθερμικής ατομοποίησης ή ατομοποίησης με πλάσμα.

Τα αποτελέσματα των μετρήσεων είναι ο μέσος όρος τριπλών πειραμάτων νεφέλωσης και επίσης τριπλών μετρήσεων στη φλόγα. Επομένως $n = 3 \times 3 = 9$. Η σχετική τυπική απόκλιση της μεθόδου για πρότυπο διάλυμα Cr(VI) συγκέντρωσης 10 $\mu\text{g L}^{-1}$ υπολογίστηκε ίση με 1,8 % RSD.

3.4.5 ΈΛΕΓΧΟΣ ΠΑΡΕΜΠΟΔΙΣΕΩΝ

Το APDC είναι κοινό συμπλεκτικό αντιδραστήριο, το οποίο αντιδρά με πλήθος μετάλλων και έχει χρησιμοποιηθεί κατά καιρούς σε διάφορα αναλυτικά σχήματα με σκοπό την προσυγκέντρωση και τον προσδιορισμό των μεταλλικών ιόντων με διάφορους ανιχνευτές και κυρίως με Ατομική Απορρόφηση.

Η χρήση του EDTA στην περίπτωση αυτή διαχωρίζει το Cr από τα υπόλοιπα μέταλλα, καθώς σχηματίζει με αυτά σταθερά ανιονικά σύμπλοκα. Η πολυπαραμετρική βελτιστοποίηση που επιχειρήθηκε επιτρέπει τη ρύθμιση των συνθηκών, ώστε η δράση του EDTA να μην επηρεάζει τα είδη του χρωμίου. Έτσι στις βέλτιστες συνθήκες η παρουσία άλλων μετάλλων, ακόμα και σε αναλογία 1000:1 σε σχέση με το χρώμιο, δεν παρεμποδίζει.

Εκτός από την επίδραση των μεταλλικών ιόντων εξετάστηκε η πιθανή παρεμποδιστική δράση ανιονικών ειδών, τα οποία ενδέχεται να συμπλοκοποιούν το χρώμιο σε ιοντικές μορφές αυξάνοντας την διαλυτότητά του και εμποδίζοντας την ποσοτική μεταφορά και ανάκτησή του από τα μικύλλια. Ιόντα όπως τα χλωριούχα, τα φθοριούχα, τα φωσφορικά, τα νιτρικά, τα ανθρακικά, τα θειικά, τα θειούχα, τα κιτρικά τα τρυγικά και το αμμώνιο, τα οποία αφθονούν στα πραγματικά δείγματα και ιδιαίτερα στα φυσικά νερά, μελετήθηκαν και βρέθηκε ότι δεν παρεμποδίζουν τον προσδιορισμό $30 \mu\text{g L}^{-1}$ χρωμίου σε συγκεντρώσεις μέχρι και 3mg L^{-1} . Σχετικά με την παρεμποδιστική δράση που ενδέχεται να έχουν ουσίες, όπως τα χουμικά και φουλβικά οξέα, τα οποία μπορούν να συμπλέκουν το χρώμιο σε συσσωματώματα όμοια με τα μικύλλια, μελετήθηκαν διαλύματα χρωμίου συγκέντρωσης $30 \mu\text{g L}^{-1}$, στα οποία είχε προστεθεί από 0,1 ως 10mg L^{-1} χουμικού οξέος. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι ακόμα και σε τόσο μεγάλες συγκεντρώσεις ο προσδιορισμός του χρωμίου δεν παρεμποδίζεται καθώς οι ανακτήσεις που προέκυψαν ήταν πρακτικά ποσοτικές.

3.4.6 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΑΠΟ ΤΗΝ ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ ΣΤΗΝ ΑΝΑΛΥΣΗ ΠΡΑΓΜΑΤΙΚΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

Η διαπίστευση, η αξιοπιστία και η απόδοση της προτεινόμενης μεθόδου προσδιορίσθηκε με την ανάλυση πιστοποιημένων υλικών αναφοράς (Certified Reference Materials, CRM) και

συγκεκριμένα του υλικού με την κωδική ονομασία BCR 544, το οποίο είναι ένα συνθετικό ύδωρ πιστοποιημένο για την περιεκτικότητά του σε Cr(III) και Cr(VI). Όπως φαίνεται και στον Πίνακα 3.4 η σύγκριση των πιστοποιημένων τιμών με αυτές, που προέκυψαν με την προτεινόμενη μέθοδο δίνει πολύ ικανοποιητικά αποτελέσματα.

Πίνακας 3.4 : Σύγκριση της μεθόδου με αντιπαραβολή αποτελεσμάτων από πιστοποιημένο υλικό αναφοράς.

	Cr(III)	Cr(VI)
Πιστοποιημένη τιμή, $\mu\text{g L}^{-1}$	26,8 \pm 1,0	22,8 \pm 1,0
Ευρεθείσα τιμή, $\mu\text{g L}^{-1}$	25,9 \pm 0,7	23,3 \pm 0,6

Μετά από τη διαπίστευση αυτή η μέθοδος εφαρμόστηκε στην ανάλυση ειδοαυτοποίησης χρωμίου σε πραγματικά δείγματα περιβαλλοντικής και βιολογικής προέλευσης. Όπως αναμενόταν, τα περιβαλλοντικά δείγματα περιέχουν ανιχνεύσιμες ποσότητες και από τις δύο οξειδωτικές καταστάσεις του Χρωμίου. Αντίθετα στο δείγμα των ούρων τα επίπεδα δεν είναι ανιχνεύσιμα, γεγονός που μπορεί να οφείλεται είτε στη χαμηλή περιεκτικότητα ή στην καταβύθιση του χρωμίου κατά την παραμονή του ως πρωτεϊνικό σύμπλοκο. Τέλος έγινε ανάλυση σε προσομοιωμένα δείγματα, στα οποία είχε προστεθεί γνωστή ποσότητα των δύο αναλυτών. Οι ανακτήσεις και των δύο μορφών κρίνονται ως πολύ ικανοποιητικές καθώς κυμαίνονται από 96 ως 107 %.

Πίνακας 3.5 : Ειδοταυτοποίηση του Cr σε πραγματικά δείγματα και υπολογισμός ανακτήσεων σε προσομοιωμένα δείγματα.

Δείγμα	Συγκέντρωση / $\mu\text{g l}^{-1}$		Προσθήκη / $\mu\text{g l}^{-1}$		Ευρεθέν / $\mu\text{g l}^{-1}$		Ανάκτηση (%)	
	Cr(III)	Cr(VI)	Cr(III) and Cr(VI)		Cr(III) and Cr(VI)		Cr(III) and Cr(VI)	
Θαλασσινό νερό	Δ.Α.	3,2±0,1	5,0	5,0	5,0	8,2	100	100
			5,0	10,0	5,1	13,0	102	98
			7,0	12,0	7,2	15,0	103	99
Νερό Ποταμού	5,9±0,2	18,5±0,8	2,5	2,5	8,5	21,0	101	100
			3,0	0	9,0	18,4	101	99
			0	3,0	5,9	21,7	100	101
Νερό Λίμνης	3,2±0,1	Δ.Α.	7,5	0	11,0	0	103	-
			5,0	8,0	8,0	8,1	97	99
			12,0	3,0	15,0	3,0	99	100
Ούρα	Δ.Α.	Δ.Α.	2,5	0	2,5	0	100	-
			0	2,5	0	2,5	-	100
			5,0	5,0	4,9	5,1	98	102

Δ.Α = Κάτω από το όριο ανίχνευσης της μεθόδου.

3.5 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στο κεφάλαιο αυτό παρουσιάστηκε μια βελτιωμένη μέθοδος ειδοταυτοποίησης του χρωμίου βασισμένη στη μικυλλιακή προσυγκέντρωση με τη χρήση ενός μόνο αντιδραστήριου. Παρά το γεγονός ότι η εξακρίβωση των βέλτιστων πειραματικών συνθηκών είναι δύσκολη και χρονοβόρα, η τελική πορεία ανάλυσης και ποσοτικοποίησης είναι απλή, επαναλήψιμη και ιδιαίτερα ευαίσθητη καθώς συνοδεύεται και από τα ευεργετικά χαρακτηριστικά μιας εκχύλισης σημείου νεφέλωσης. Επιπλέον αποτελεί και μια εναλλακτική, βελτιωμένη προσέγγιση της πορείας των δύο αντιδραστηρίων, καθώς ομοιογενοποιεί τη συμπεριφορά των δύο ειδών του Χρωμίου και βελτιώνει τα όρια ανίχνευσης του Cr(III).

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Paleologos, E.K.; Stalikas, C.D.; Tzouwara-Karayanni, S.M.; Pilidis, G.A.; Karayannis, M.I., *J. Anal. At. Spectrom.*, **2000**, 15, 287.
2. Strange, R.S., *J. Chem. Educ.* **1990**, 67, 113.
3. Morgan, E., *Chemometrics: Experimental Design*, Wiley, Chichester, **1991**.
4. Stalikas, C.D.; Pilidis, G.A., *J. Chromatogr. A*, **2000**, 872, 215.
5. Moreno Cordero, B.; Perez Pavon, J.L.; Garcia Pinto, C.; Fernandez Laespada, M.E., *Talanta*, **1993**, 40, 1703.
6. Bryan, H.A.; Dean, J.A., *Anal. Chem.*, **1957**, 29, 1289.
7. Dean, J.A.; Rains, T.C., *Flame Emission and Atomic Absorption Spectrometry*, Marcel Dekker, New York, **1975**, vol. 3.
8. Seitz, W.R.; Suydam, W.W.; Hercules, D.M., *Anal. Chem.*, **1972**, 44, 957.
9. Okada, T., *Anal. Chem.*, **1992**, 62, 2138.
10. Ganong, B.R.; Delmore, J.P., *Anal. Biochem.*, **1991**, 193, 35.
11. Hamm, R.E., *J. Amer. Chem. Soc.*, **1953**, 75, 5670.
12. Otto, M., *Chemometrics: Experimental Design*, Wiley, Weinheim, **1999**.

**ΕΚΛΕΚΤΙΚΗ ΕΙΔΟΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΙΧΝΟΠΟΣΟΤΗΤΩΝ
ΧΡΩΜΙΟΥ ΜΕ ΤΗ ΔΙΑΜΕΣΟΛΑΒΗΣΗ ΜΙΚΥΛΛΙΑΚΗΣ
ΠΡΟΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗΣ ΣΥΝΔΕΛΕΜΕΝΗΣ ΜΕ ΜΙΚΥΛΛΙΑΚΗ
ΑΝΑΛΥΣΗ ΣΥΝΕΧΟΥΣ ΡΟΗΣ ΜΕ ΈΓΧΥΣΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ ΚΑΙ
ΦΘΟΡΙΣΜΟΜΕΤΡΙΚΗ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ.**

4.1 ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην εργασία αυτή εφαρμόστηκε μια πρωτότυπη μέθοδος για τη διαφοροποίηση και τον εκλεκτικό προσδιορισμό των οξειδωτικών καταστάσεων του χρωμίου. Το Cr(III) αντιδρά με την 8-Υδροξυκινολίνη σε ένα διάλυμα, το οποίο περιέχει μια τασενεργό ουσία και σχηματίζει ένα υδρόφοβο μοριακό σύμπλοκο, το οποίο εγκλωβίζεται στα μικύλλια του τασενεργού 'εν τω γεννάσθαι'. Στην περίπτωση του Cr(VI), που δεν αντιδρά με την 8-υδροξυκινολίνη, αξιοποιείται η αναγωγή του σε Cr(III) παρουσία θειωδών ιόντων και στη συνέχεια η συμπλοκοποίησή του από την 8-Υδροξυκινολίνη. Για να επιτευχθεί αυξημένη ταχύτητα ανάλυσης και μεγάλη ευαισθησία η όλη διαδικασία προσαρμόστηκε σε ένα σύστημα ροής με έγχυση δείγματος και φθορισμομετρική ανίχνευση. Το φθορίζον σύστημα επιλέχθηκε κατά τέτοιο τρόπο, ώστε να επιτρέπει αξιόπιστα τον ταυτόχρονο προσδιορισμό Cr(III), Cr(VI) και συνολικού Cr, σε επίπεδα που βρίσκονται κάτω από το όριο του $\mu\text{g L}^{-1}$ και συγκεκριμένα 0,2 $\mu\text{g L}^{-1}$. Η συνολική διαδικασία είναι απλή και επιτρέπει τον προσδιορισμό χωρίς ιδιαίτερη προσπάθεια ή επικινδυνότητα σε φυσικά και φαρμακευτικά δείγματα, ενώ είναι ανεπηρέαστη από την παρεμπόδιση μεγάλου αριθμού ανιόντων και κατιόντων.

4.2 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Στα προηγούμενα κεφάλαια περιγράφεται η χρήση της εκχύλισης σημείου νεφέλωσης με σκοπό την επιλεκτική απομόνωση και τον ποσοτικό προσδιορισμό του Cr(III) και του Cr(VI) σε πραγματικά δείγματα περιβαλλοντικής και βιολογικής προέλευσης. Ταυτόχρονα αναφέρεται και η επίτευξη προσυγκέντρωσης του περιεχόμενου Χρωμίου κατά 75-120 φορές σε σχέση με τη συγκέντρωση του αρχικού δείγματος. Για τη ποσοτική μέτρηση του Χρωμίου χρησιμοποιήθηκε ανιχνευτής Ατομικής Απορρόφησης με λυχνία κοίλης καθόδου και διέγερση από φλόγα αέρα-ακετυλενίου. Η τεχνική αυτή είναι ιδιαίτερα αξιόπιστη και θεωρείται μαζί με το ICP-MS ενδεδειγμένη κατά τεκμήριο για τον ποσοτικό προσδιορισμό του ειδικότερα χρωμίου αλλά και των μετάλλων γενικότερα. Εντούτοις και οι δύο παραπάνω τεχνικές παρουσιάζουν υψηλό κόστος για την αγορά των απαιτούμενων οργάνων και τη λειτουργία και συντήρησή τους, με αποτέλεσμα να μην είναι διαθέσιμες σε κάθε αναλυτικό εργαστήριο ή σε μια μέση βιομηχανική μονάδα.

Αντίθετα οι οπτικές μέθοδοι, όπως οι φασματοφωτομετρία ορατού-υπεριώδους και η φθορισμομετρία, είναι ιδιαίτερα οικονομικές (τουλάχιστον κατά 10 φορές) και προσιτές, ενώ η ευαισθησία ιδιαίτερα των φθορισμομετρικών μεθόδων μοιάζει και πολλές φορές υπερέρχει των τεχνικών ατομικής απορρόφησης. Η πρόσφατη μάλιστα κατασκευή και εμπορική διάθεση φορητών οργάνων οπτικών μετρήσεων δίνει τη δυνατότητα της χρησιμοποίησής τους σε επί τόπου μετρήσεις.

Από τις φωτομετρικές μεθόδους, που έχουν εφαρμοσθεί για την ανίχνευση και των ποσοτικό προσδιορισμό του Χρωμίου, η πιο δημοφιλής ίσως είναι η αντίδραση με το διφαινυλοκαρβαζίδιο(DPCI)¹, με το οποίο το Cr(VI) αντιδρά απευθείας, ενώ το Cr(III) μετά από κατάλληλη οξειδωση. Η αντίδραση αυτή και το έγχρωμο προϊόν που παράγεται έχουν προσαρμοστεί με αρκετή επιτυχία σε διάφορα συστήματα ροής απευθείας ή μετά από κατάλληλη προσυγκέντρωση.

Οι φθορισμομετρικές προσεγγίσεις πλεονεκτούν ως προς τις αντίστοιχες φωτομετρικές ιδιαίτερα σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις, διότι παρουσιάζουν χαμηλότερα όρια ανίχνευσης, ενώ ταυτόχρονα εμφανίζουν μεγαλύτερη εκλεκτικότητα και εξειδίκευση και ευρύτερες δυναμικές περιοχές εφαρμογών, ακόμα και σε έγχρωμα ή θολά δείγματα. Όπως αναφέρεται

και στο πρώτο κεφάλαιο έχουν προταθεί διάφορα αντιδραστήρια (κυρίως οργανικά), τα οποία συνήθως αντιδρούν με το Cr(VI) και λιγότερο με το Cr(III). Το γεγονός αυτό τείνει να περιορίσει τη χρησιμότητά τους σε μελέτες ειδοταυτοποίησης, επειδή εισάγεται ένα επιπλέον στάδιο οξειδωσης, το οποίο δημιουργεί μια σειρά προβλημάτων και παρεμποδίσεων. Τα προβλήματα αυτά είναι δυνατόν να λυθούν, αν το στάδιο αυτό παραλειφτεί και στη θέση του εισαχθεί μια πορεία η οποία θα επιτρέπει την προσυγκέντρωση των δύο οξειδωτικών καταστάσεων αλλά και τη διάκρισή τους.

Βασιζόμενοι στα δύο στάδια επεξεργασία που μας επιτρέπει η τεχνική της μικυλλιακής εκχύλισης, δηλαδή αυτό του διαχωρισμού και αυτό της ανίχνευσης σε συνδυασμό με το πλεονέκτημα του μεγάλου συντελεστή προσυγκέντρωσης που επιτυγχάνεται, προχωρήσαμε στην ειδοταυτοποίηση του χρωμίου²⁻⁴.

Έτσι ακολουθήθηκε η πρακτική της μίας αντίδρασης συμπλοκοποίησης και για τις δύο οξειδωτικές καταστάσεις [Cr(III) και Cr(VI)], οι οποίες προσδιορίστηκαν φθορισμομετρικά με τη βοήθεια της έγχυσης δείγματος σε ροή. Όπως είναι γνωστό, η αναλυτική αυτή μέθοδος προσφέρει επαναληπτικότητα, ευαισθησία και κυρίως οικονομία. Το Cr(III) αντιδρά με την 8-Υδροξυκινολίνη σε ένα μικυλλιακό διάλυμα και σχηματίζει ένα υδρόφοβο προϊόν⁵, το οποίο αμέσως μετά παγιδεύεται από τα μικυλλιακά συσσωματώματα και απομακρύνεται από την υδατική φάση. Το Cr(VI) μετατρέπεται σε Cr(III) από τα θειώδη ιόντα⁶ και στη συνέχεια αντιδρά με την 8-Υδροξυκινολίνη και απομακρύνεται από το σύστημα με τον ίδιο τρόπο. Είναι γνωστό, ότι η 8-Υδροξυκινολίνη και τα παράγωγά της αποτελούν δείκτες φθορισμού, οι οποίοι αντιδρούν με πλήθος μετάλλων και μεταλλικών ειδών δίνοντας σύμπλοκα με φθορισμομετρικά χαρακτηριστικά.^{7,8} Έχει αναφερθεί, ότι το χρώμιο αποτελεί αποσβέστη του φθορισμού των άλλων συμπλόκων. Υπάρχει όμως η δυνατότητα να αντικατασταθεί στη σφαίρα ένταξης της 8-Υδροξυκινολίνης από κάποιο άλλο κατιόν, το οποίο έχει μεγαλύτερη σταθερά σχηματισμού. Ένα τέτοιο μεταλλικό κατιόν είναι το Cd(II), το οποίο μάλιστα δίνει με την 8-Υδροξυκινολίνη σύμφωνα με τον Soroka⁷ et al. το πιο έντονα φθορίζον προϊόν από όλα τα κινολινικά σύμπλοκα.

Πίνακας 4.1 : Σχετικές εντάσεις φθορισμού των συμπλόκων διαφόρων μετάλλων με την Υδροξυκινολίνη

8-

Μέταλλο	Σχετική ένταση φθορισμού
<i>Be(II)</i>	29,2
<i>Mg(II)</i>	66,4
<i>Ca(II)</i>	9,6
<i>Sr(II)</i>	5,4
<i>Ba(II)</i>	2,9
<i>Zn(II)</i>	46,9
<i>Cd(II)</i>	450
<i>Al(III)</i>	21,4
<i>Ga(III)</i>	24,9
<i>In(III)</i>	47,5
<i>Sc(III)</i>	30,7

Μέταλλο	Σχετική ένταση φθορισμού
<i>Y(III)</i>	45,1
<i>La(III)</i>	63,0
<i>Th(IV)</i>	17,3
<i>Sn(IV)</i>	24,3
<i>Pb(II)</i>	4,3
<i>Ti(IV)</i>	18,3
<i>Nb(V)</i>	60,3
<i>Ta(V)</i>	76,6
<i>Ir(IV)</i>	28,5
<i>Pt(II)</i>	5,7
<i>Ce(IV)</i>	6,7

Η απόδοση του προτεινομένου συστήματος ενισχύεται ακόμη περισσότερο από τη χρήση στη διάταξη συνεχούς ροής ενός φορέα, του οποίου η σύσταση είναι μικυλλιακή και υποβοηθείται από ένα οργανικό διαλύτη(μεθανόλη). Με το συνδυασμό αυτής της έμμεσης μεν αλλά πολύ αποτελεσματικής μέτρησης και της προσυγκέντρωσης, καθώς και με την εκλεκτική απομόνωση του χρωμίου επιτυγχάνεται ο προσδιορισμός του Cr(III) και του συνολικού χρωμίου [άρα έμμεσα και του Cr(VI)] σε επίπεδα χαμηλότερα από $1 \mu\text{g L}^{-1}$. Τα αποτελέσματα αυτά συμπίπτουν και βελτιώνουν ελαφρά τα μέχρι τώρα όρια με το συνδυασμό μικυλλιακής προσυγκέντρωσης και ατομικής απορρόφησης^{9,10}, μειώνουν όμως σημαντικά το κόστος ανάλυσης και αυξάνουν την επαναληψιμότητα.

4.3 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

4.3.1 ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Όλα τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν κατά τη διάρκεια των πειραμάτων ήταν αναλυτικού βαθμού καθαρότητας απηλλαγμένα από ίχνη χρωμίου. Τα πυκνά αρχικά διαλύματα του Cr(III) και Cr(VI) παρασκευάστηκαν με τη διάλυση κατάλληλων ποσοτήτων των αντιστοίχων αλάτων, Cr(NO₃)₃ και K₂Cr₂O₇ σε δις-απεσταγμένο ύδωρ. Η 8-Υδροξυκινολίνη διαλύθηκε σε 0,1 M NaOH, επειδή διαλύεται ελάχιστα σε ουδέτερο ή όξινο υδατικό περιβάλλον. Το διάλυμα του θειώδους νατρίου παρασκευάστηκε με διάλυση κατάλληλης ποσότητας άλατος σε δις-ύδωρ, ενώ η τασενεργός ουσία Triton X-114 χρησιμοποιήθηκε χωρίς περαιτέρω καθαρισμό για την παρασκευή υδατικού διαλύματος 10 % w/v (100 g L⁻¹). Τα πρότυπα διαλύματα μετάλλων που χρησιμοποιήθηκαν παρασκευάστηκαν με διαδοχικές αραιώσεις πυκνών προτύπων διαλυμάτων ατομικής απορρόφησης. Τα διαλύματα, που χρησιμοποιήθηκαν για τη μελέτη των παρεμποδίσεων, παρασκευάστηκαν από τα αντίστοιχα άλατα των ουσιών.

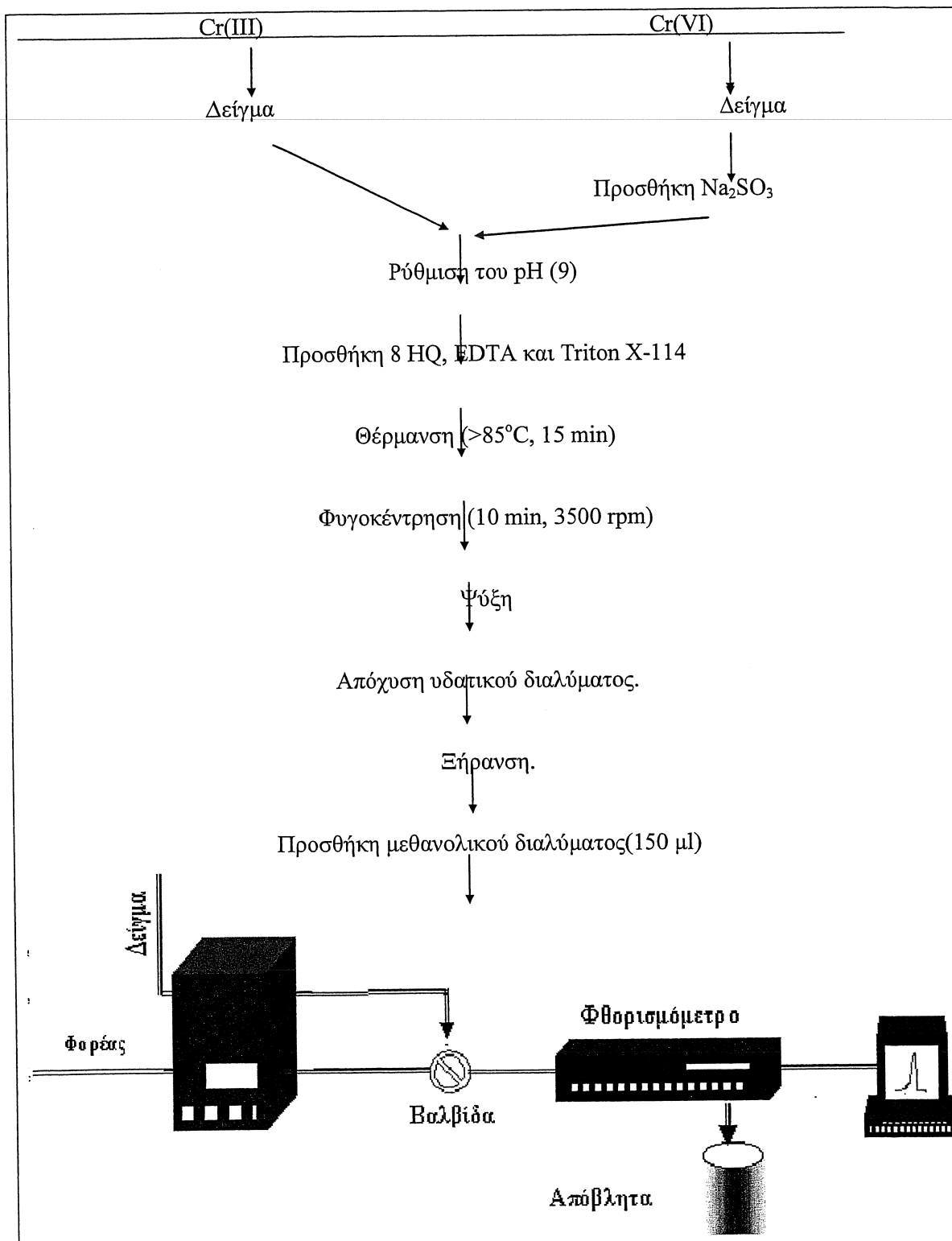
4.3.2 ΌΡΓΑΝΑ ΚΑΙ ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ.

Η διάταξη ανάλυσης με έγχυση δείγματος σε ροή φαίνεται στο Σχήμα. 4.1 Αποτελείται από μια βαλβίδα δύο θέσεων-τεσσάρων διαδρομών και μια περισταλτική αντλία οκτώ καναλιών. Η μετρητική διάταξη είναι ένα φθορισμόμετρο ροής εξοπλισμένο με κυψελίδα όγκου 12 μL. Η συλλογή των δεδομένων γίνεται με τη βοήθεια ενός συμβατού προσωπικού υπολογιστή εφοδιασμένου με κατάλληλο πρόγραμμα, το οποίο είναι γραμμένο σε Microsoft Q-Basic. Μέσω αυτού του προγράμματος είναι δυνατή η αυτόματη περιστροφή της βαλβίδας, η αποθήκευση των ηλεκτρικών σημάτων ως συνάρτηση του χρόνου και η μετατροπή τους σε ψηφιακό σήμα, το οποίο παρουσιάζεται με τη μορφή κορυφής, το ύψος της οποίας είναι ανάλογο της συγκέντρωσης του αναλύτη.

Για τα πειράματα νεφέλωσης και διαχωρισμού των φάσεων χρησιμοποιήθηκαν ένα θερμοστατούμενο υδρόλουτρο ρυθμισμένο στην επιθυμητή θερμοκρασία^{11,12} και μια φυγόκεντρος.

4.3.3 ΠΟΡΕΙΑ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Η πορεία που ακολουθείται για το σχηματισμό των μικυλλίων, το διαχωρισμό των φάσεων και την τελική μέτρηση είναι η εξής: Σε 10 mL διαλύματος το οποίο περιέχει Cr(III) [ή και Cr(VI)] προστίθενται $1,0 \text{ g L}^{-1}$ Triton X-114 και $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ 8-Υδροξυκινολίνης και ρυθμίζεται το pH στην τιμή 9,0 με ένα ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών. Στην περίπτωση προσδιορισμού του Cr(VI) απαιτείται επιπλέον η προσθήκη $10 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ Na_2SO_3 , ώστε να αναχθεί σε Cr(III) και να αντιδράσει με την 8-Υδροξυκινολίνη. Το μίγμα των αντιδρώντων τοποθετείται σε θερμοστατούμενο υδρόλουτρο για 15 λεπτά στους $90 \text{ }^\circ\text{C}$. Μετά τον πλήρη σχηματισμό των μικυλλιακών νεφελωμάτων οι δύο φάσεις διαχωρίζονται με φυγοκέντρηση στις 4000 στροφές το λεπτό επί 5 λεπτά. Στη συνέχεια το σύστημα ψύχεται σε παγόλουτρο, ώστε να αυξηθεί το ιξώδες των μικυλλίων και η υπερκείμενη υδατική φάση αποχύνεται. Η εναπομείνασα μικυλλιακή φάση διαλύεται πλήρως σε 150 μL μεθανόλης και εισάγεται στη μετρητική διάταξη μέσω του βρόχου έγχυσης. Η ένταση του παραγόμενου φθορισμού μετρήθηκε στα 543 nm με το μήκος κύματος διέγερσης ρυθμισμένο στα 381 nm.



Σχήμα 4.1 : Πορεία εργασίας και διάταξη μέτρησης για την ειδοταντοποίηση του χρωμίου με μικροκλιμακή εκχύλιση, έγχυση σε ροή με μικροκλιμακό φορέα και φθορισμομετρική ανίχνευση

4.3.4 ΠΡΑΓΜΑΤΙΚΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ.

Τα δείγματα από το νερό της θάλασσας και των ποταμών διηθούνται αρχικά με διηθητικό ηθμό Whatman No 40, ώστε να απομακρυνθούν τυχόν αιωρούμενα σωματίδια, στερεά ή υπολείμματα φυτών και στη συνέχεια υφίστανται τη διαδικασία μικυλλιακής εκχύλισης και μέτρησης(Σχήμα 4.1).

Για τον προσδιορισμό του χρωμίου σε φαρμακευτικά σκευάσματα χρησιμοποιείται το συμπλήρωμα διατροφής Centrum, του οποίου η συσκευασία για ενήλικους είναι η μοναδική που αναφέρει την ύπαρξη χρωμίου. Τρία δισκία του σκευάσματος κονιορτοποιούνται και ομοιογενοποιούνται σχολαστικά. Από το ομοιογενοποιημένο δείγμα 1 γραμμάριο υποβάλλεται σε κατεργασία με 30 mL θερμού ύδατος, ώστε να απομονωθούν τα υδατοδιαλυτά συστατικά συμπεριλαμβανομένου και του χρωμίου. Το μίγμα διηθείται για να απομακρυνθούν τα αδιάλυτα συστατικά και το διήθημα αραιώνεται σε ογκομετρική φιάλη 100 mL. Σε 10 mL του δείγματος αυτού εφαρμόζεται η πορεία εργασίας του Σχήματος 4.1.

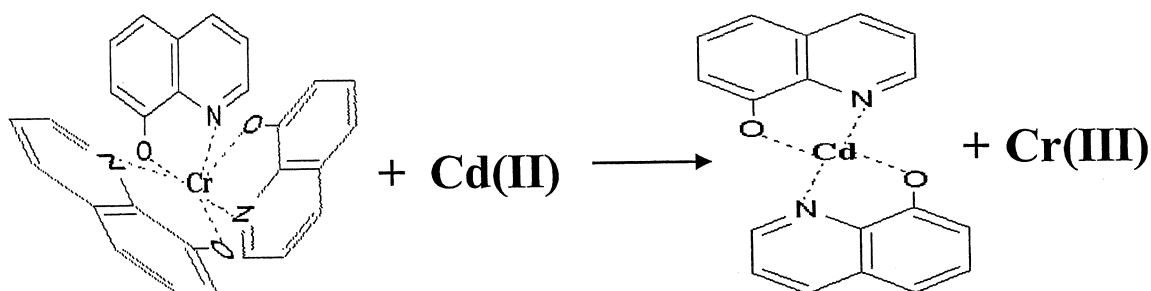
Παράλληλα με τα άγνωστα δείγματα πραγματοποιήθηκαν και πειράματα ανάκτησης σε προσομοιωμένα δείγματα της ίδιας σύστασης με προσθήκη γνωστής ποσότητας προτύπων διαλυμάτων χρωμίου.

4.4 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

4.4.1 Η ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Η αντίδραση που υιοθετήθηκε για την ανάπτυξη της παραπάνω μεθόδου εξελίσσεται ως εξής: Το Cr(III) αντιδρά με την 8-Υδροξυκινολίνη σχηματίζοντας το μοριακό σύμπλοκο τρις κινολινάτο-Cr(III) CrQ₃, ενώ όταν συνυπάρχει και το Cr(VI) αυτό ανάγεται στην οξειδωτική κατάσταση +3¹³. Έτσι προσδιορίζεται το συνολικό χρώμιο και το Cr(VI) υπολογίζεται από τη διαφορά. Κατά ένα ενδιαφέροντα τρόπο το Cr(VI), μετά την αναγωγή του αντιδρά γρηγορότερα με την 8-Υδροξυκινολίνη από ότι το εγγενές Cr(III). Αυτό οφείλεται στο γεγονός, ότι το εγγενές Cr(III) υπάρχει στο διάλυμα με τη μορφή του κινητικά αδρανούς εφυδατωμένου συμπλόκου Cr(H₂O)₆³⁺. Αντίθετα το Cr(III) που προκύπτει από την αναγωγή

του Cr(VI) δεν προλαβαίνει να εφυδατωθεί και αντιδρά *εν τω γεννάσθαι* με την περίσσεια της 8-Υδροξυκινολίνης που βρίσκεται στο διάλυμα. Το σύμπλοκο του Cr(III) με την 8-Υδροξυκινολίνη δε φθορίζει. Αντίθετα αυτό του Cd(II) εκπέμπει το ισχυρότερο σήμα φθορισμού από όλα τα κινολινικά σύμπλοκα. Έτσι ο φορέας στη διάταξη ροής περιέχει Cd(II), το οποίο αντικαθιστά εύκολα το Cr(III) δίνοντας το ιδιαίτερα φθορίζον σύμπλοκο CdQ₂^{7,14}.



Σχήμα 4.2 : Σχηματική αναπαράσταση της αντίδρασης υποκατάστασης του Cr από το Cd.

Για τη μέγιστη δυνατή αξιοποίηση των δυνατοτήτων της μεθόδου μελετήθηκαν όλες οι παράμετροι του σχηματισμού και της απομόνωσης του συμπλόκου, του σχηματισμού και διαχωρισμού των μικυλλίων και του μηχανισμού παραγωγής φθορισμού.

4.4.2 ΜΕΛΕΤΕΣ ΤΩΝ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ ΤΗΣ ΔΙΑΤΑΞΗΣ ΡΟΗΣ ΚΑΙ ΜΕΤΡΗΣΗΣ

Ο κύριος στόχος των πειραμάτων είναι το μέγιστο σήμα κορυφής και οι ομοιόμορφες κορυφές που προσομοιάζουν με κατανομές Gauss. Οι βέλτιστες παράμετροι που εξυπηρετούν αυτό το σκοπό και οι περιοχές τιμών που μελετήθηκαν φαίνονται στον Πίνακα 4.2.

Η διάταξη ροής που χρησιμοποιήθηκε αποτελείται μόνο από ένα δίαυλο, από τον οποίο διέρχεται ο φορέας. Στο ρεύμα αυτό ενσωματώθηκε ένας αντιδραστήρας (single bead string) πληρωμένος με μια σειρά από γυάλινα σφαιρίδια, ώστε να εξασφαλίζεται η καλή ανάμιξη του δείγματος και του φορέα. Η αντίδραση που οδηγεί στο φθορισμό είναι εξαιρετικά γρήγορη και ποσοτική λόγω της μεγάλης χημικής συγγένειας του Cd με την 8-Υδροξυκινολίνη. Έτσι όλη η διαδικασία από τη στιγμή της έγχυσης μέχρι την ολοκλήρωση της μέτρησης και

καταγραφής του σήματος διαρκεί περίπου 40 δευτερόλεπτα. Εκτός από το Cd και άλλα κατιόντα δίνουν φθορίζοντα σύμπλοκα με την 8-Υδροξυκινολίνη¹⁵. Τα κατιόντα αυτά εξετάστηκαν και το Cd έδωσε το μεγαλύτερο αναλυτικό σήμα (Βλέπε Πίνακα 4.1.)

Πίνακας 4.2 : Τιμές επιλογής των παραμέτρων στο σύστημα ροής με έγχυση δείγματος.

Παράμετρος	Μελετούμενη Περιοχή	Τιμή Επιλογής
Χωρητικότητα βρόχου έγχυσης (μL)	20-200	20
Συνολική ροή (mL min ⁻¹)	0,4-3,0	1,2
Συγκέντρωση Αντιδραστηρίων στο Φορέα		
Triton X-114, % w/v	0,5-30,0	10,0
Cd(II), mg l ⁻¹	0,1-1,5	0,6

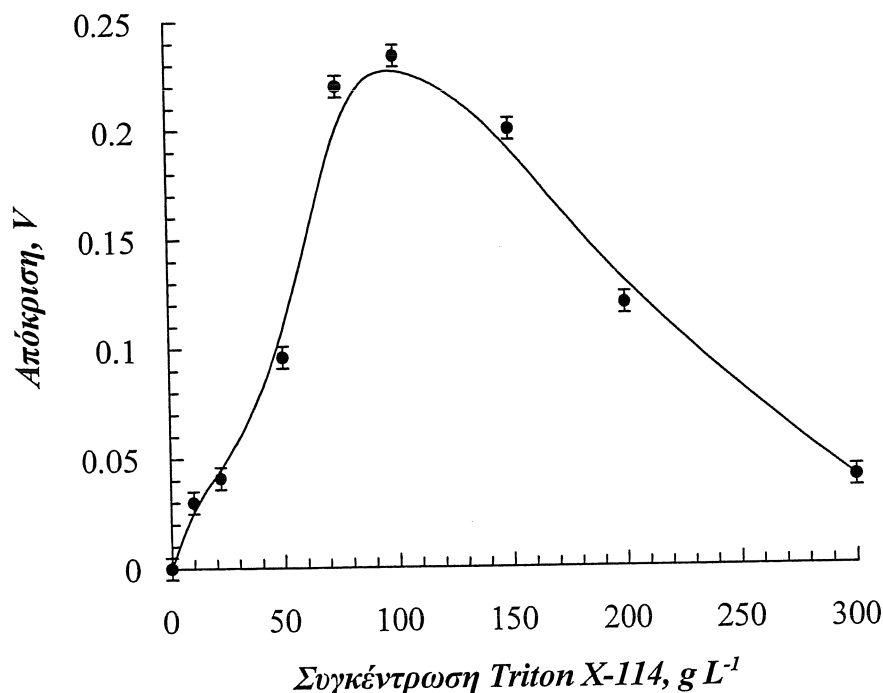
Εκτός από το καθαρά ερευνητικό ενδιαφέρον της μεθόδου, θα πρέπει να ληφθεί υπόψη και το περιβαλλοντικό λόγω της τοξικότητας του Cd. Έτσι σε περιπτώσεις ευρύτερης εφαρμογής και χρήσης συνιστάται η συλλογή των αποβλήτων και η ανάκτηση των αλάτων του καδμίου με εξάτμιση του διαλύτη και ανακρυστάλλωση. Επιπλέον σε μια φιλικότερη προς το περιβάλλον προσέγγιση μπορεί αντί για το Cd να χρησιμοποιηθεί κάποιο λιγότερο τοξικό μέταλλο(όπως το Mg), το οποίο υπάρχει σε αφθονία στο φυσικό περιβάλλον. Συμπληρωματικά πειράματα που έγιναν με τη χρήση μαγνησίου έδωσαν ικανοποιητικά αποτελέσματα, αν και τα αντίστοιχα όρια ανίχνευσης ήταν αυξημένα κατά μία τάξη μεγέθους.

Με την προοπτική της εργαστηριακής εφαρμογής ελάχιστα όρια ανίχνευσης, στη μελέτη αυτή χρησιμοποιήθηκε το Cd. Για τα επίπεδα συγκέντρωσης χρωμίου που μελετήθηκαν(δηλαδή από 0,5 ως 30 μg L⁻¹) βρέθηκε, ότι ένα διάλυμα Cd συγκέντρωσης 0,6

mg L^{-1} είναι κατάλληλο για να εκτοπίσει το Cr από το σύμπλοκό του με την 8-Υδροξυκινολίνη και να δώσει το μέγιστο σήμα φθορισμού με επαναλήψιμο τρόπο. Μεγαλύτερες συγκεντρώσεις δεν επηρεάζουν το αναλυτικό σήμα με κανένα τρόπο.

Η επίδραση διαφόρων διαλυτικών μέσων στο φθορισμό συμπλόκων της 8-Υδροξυκινολίνης έχει μελετηθεί κατά καιρούς από διάφορους ερευνητές σε στατικές συνθήκες. Παρά το γεγονός ότι συνιστώνται μη πολικοί διαλύτες, όπως ο διαιθυλαιθέρας, το διμεθυλοφορμαμίδιο και το χλωροφόρμιο, επειδή ενισχύουν σε μεγάλο βαθμό το σήμα¹⁶, δεν είναι συμβατοί με κάποια από τα τμήματα της διάταξης ροής, όπως π.χ. τους σωλήνες προώθησης και αναρρόφησης. Από τους διαλύτες που δίνουν μικρότερα σήματα φθορισμού, όπως το νερό, η μεθανόλη, η αιθανόλη και η ισοπροπανόλη, η μεθανόλη έδωσε τις υψηλότερες και πιο επαναλήψιμες κορυφές φθορισμού. Γι' αυτό ο φορέας στη διάταξη ροής ήταν διάλυμα καθαρής μεθανόλης, αφού αποδεικνύεται, ότι ελάχιστα ποσοστά υγρασίας(μέχρι 10%) προκαλούν μείωση του σήματος μέχρι και 50%.

Στη συνέχεια μελετήθηκε η απόδοση του συστήματος παρουσία μιας τασενεργού ουσίας, επειδή επιδρά σε μεγάλο βαθμό στην τιμή του σήματος^{17,18}. Για το σκοπό αυτό μελετήθηκε



Σχήμα 4.3 : Επίδραση της συγκέντρωσης του Triton X-114 στο φορέα της διάταξης ροής, στο αναλυτικό σήμα φθορισμού. Συγκέντρωση Cd(II) $0,6 \text{ mg L}^{-1}$ σε καθαρή μεθανόλη

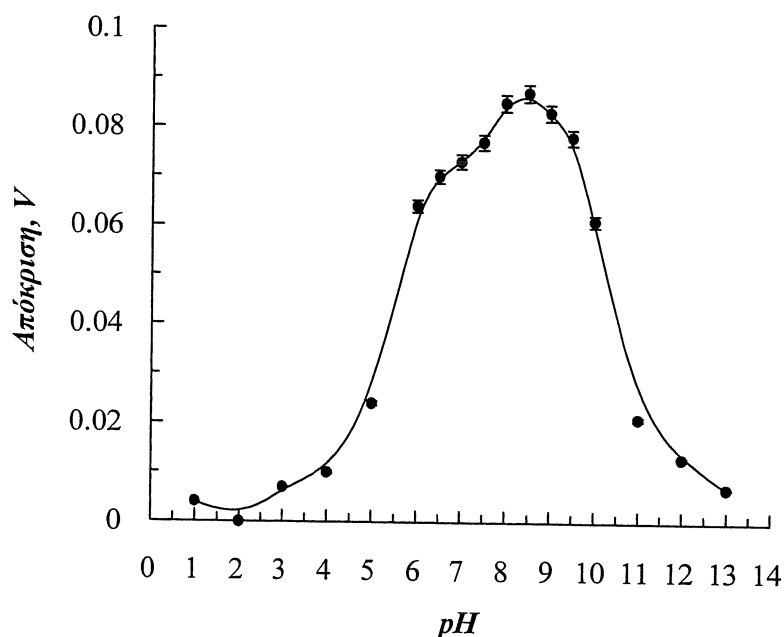
μια σειρά τασενεργών διαφορετικού φορτίου σε διαφορετικές συγκεντρώσεις. Για το Triton X-114, το οποίο χρησιμοποιήθηκε τελικά, βρέθηκε ότι αύξηση της συγκέντρωσής του μέχρι 10% w/v στο διάλυμα του φορέα, οδηγούσε σε αύξηση του φθορισμού κατά 8 φορές. Σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις το σήμα μειώνεται και πάλι πιθανότατα λόγω της αλλαγής της σύστασης και της μείωσης της περιεκτικότητας του διαλύματος σε μεθανόλη.

4.4.3 ΜΕΛΕΤΕΣ ΒΕΛΤΙΣΤΟΠΟΙΗΣΗΣ ΤΗΣ ΕΚΧΥΛΙΣΗΣ ΣΗΜΕΙΟΥ ΝΕΦΕΛΩΣΗΣ.

Πάνω στις βέλτιστες συνθήκες τις διάταξης ροής βελτιστοποιήθηκαν και οι συνθήκες της διαδικασίας νεφέλωσης.

4.4.3.1 Επίδραση του pH

Το pH αποδεικνύεται, ότι αποτελεί έναν από τους πιο καθοριστικούς παράγοντες για την εκχύλιση και προσυγκέντρωση του χρωμίου, ιδιαίτερα για το Cr(III) που είναι αδρανές σε χαμηλά pH, ενώ η δραστηρότητά του αυξάνει σε πιο αλκαλικά διαλύματα. Όπως φαίνεται και στο Σχήμα 4.3, η βέλτιστη περιοχή για το σχηματισμό και την εκχύλιση του συμπλόκου CrQ₃



Σχήμα 4.4 : Επίδραση του pH στο σχηματισμό και στην μικυλλιακή εκχύλιση του συμπλόκου του Χρωμίου με την 8-Υδροξυκινολίνη. Cr(III) 10 $\mu\text{g L}^{-1}$. Θερμοκρασία 90 $^{\circ}\text{C}$. 8-HO 0.1 mmol L^{-1} .

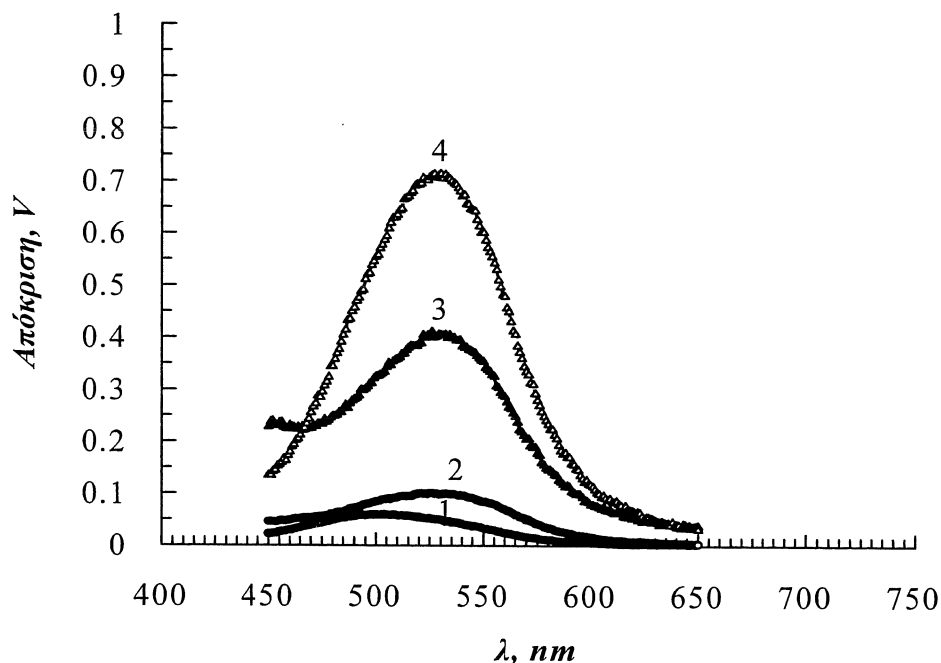
είναι ανάμεσα στο 7,5 και στο 9,5. Οι τιμές αυτές συμφωνούν και με τα αποτελέσματα άλλων μελετητών όπως ο Stary¹³, ο οποίος ανέφερε παρόμοια συμπεριφορά για το χρώμιο. Η έντονη εξάρτηση από το pH αποδίδεται στην παρουσία του κινητικά αδρανούς εφυδατωμένου συμπλόκου του χρωμίου $\text{Cr}(\text{H}_2\text{O})_6^{3+}$, το οποίο σε βασικά διαλύματα μετατρέπεται στα πιο ευκίνητα και δραστικά υδροξύ-παράγωγα $\text{Cr}(\text{H}_2\text{O})_5\text{OH}^{2+}$, $\text{Cr}(\text{H}_2\text{O})(\text{OH})_2^+$, στα οποία τα μόρια νερού αντικαθίστανται στη σφαίρα ένταξης του χρωμίου από τα πιο δραστικά ανιόντα OH^- ¹⁹.

Ένας πρόσθετος παράγων, που διευκολύνει την αντίδραση, είναι η αύξηση της διαλυτότητας της 8-Υδροξυκινολίνης με την αύξηση του pH, καθώς το ουδέτερο μόριο αποπρωτονιώνεται και βρίσκεται με τη μορφή του πιο ευδιάλυτου κινολινικού ιόντος [για την 8-Υδροξυκινολίνη $\text{pK}_{a1} = 4,95$ ($K_{a1} = 1,1 \cdot 10^{-5}$) και $\text{pK}_{a2} = 9,65$ ($K_{a2} = 2,2 \cdot 10^{-10}$)]¹⁴. Για την πραγματοποίηση της μικυλλιακής εκχύλισης χρησιμοποιήθηκε pH 9,0, το οποίο εξασφαλίζει αυξημένη διαλυτότητα της 8-Υδροξυκινολίνης. Με τον τρόπο αυτόν δεν απαιτείται η χρήση μεθανολικού διαλύματος, η παρουσία του οποίου καθυστερεί τη μικυλλιακή συσσωμάτωση και τον ικανοποιητικό σχηματισμό νεφελωμάτων για την εκχύλιση.

4.4.3.2 Επίδραση του είδους της τασενεργού ουσίας και της συγκέντρωσής της στην προσυγκέντρωση και στο φθορισμό.

Τα διαλύματα των τασενεργών έχουν την ιδιότητα να ενισχύουν το φθορισμό, όταν έχουν συγκεντρώσεις αρκετά μεγαλύτερες από την κρίσιμη μικυλλιακή. Τα μικύλλια ενεργούν ως ενισχυτές της διεγείρουσας ακτινοβολίας, εστιάζοντάς την

πάνω στη φθορίζουσα ουσία^{11,12}. Το σήμα παίρνει μια μέγιστη τιμή για ορισμένη συγκέντρωση και στη συνέχεια μειώνεται και πάλι λόγω αύξησης του ιξώδους και φαινομένων αυτο-απόσβεσης. Εξετάστηκαν όλα τα είδη των τασενεργών ουσιών (ανιονικά, κατιονικά και μη ιοντικά) και χρησιμοποιήθηκαν κάποια από τα πιο αντιπροσωπευτικά από



Σχήμα 4.5 : Φάσματα εκπομπής του συμπλόκου του Cd με την 8-Υδροξυκινολίνη παρουσία 4 διαφορετικών τασενεργών, σε διάλυμα μεθανόλης. 1) SDS 4 g L⁻¹, 2) CTAB 1 g L⁻¹, 3) Triton X-100 10 g L⁻¹, 4) Triton X-114 10 g L⁻¹. Συγκέντρωση Cd(II) 0,6 mg L⁻¹

άποψη εφαρμογών και εμπορικής διαθεσιμότητας.

Τα ανιονικά τασενεργά είχαν τη μικρότερη επίδραση στο σήμα προκαλώντας μια ελαφρά υψοχρωμική μετατόπιση των μεγίστων εκπομπής, όπως φαίνεται και στο σχήμα. τα κατιονικά και τα μη ιοντικά τασιενεργά επιφέρουν ενίσχυση του φθορισμού, με πιο έντονη την επίδραση των τελευταίων. Από αυτά τη σημαντικότερη ενίσχυση έδωσε το Triton X-114, πιθανότατα λόγω του μικρού σημείου νεφέλωσης και της ευκολίας με την οποία σχηματίζει μικύλλια.

Αναφορικά με την απόδοση της μικυλλιακής εκχύλισης, πρέπει πάντα να επιδιώκεται η επίτευξη των μεγίστων ανακτήσεων με τον ελάχιστο δυνατό όγκο μικυλλίων, ώστε να αυξάνεται ο συντελεστής προσυγκέντρωσης. Στο Σχήμα 4.5 απεικονίζεται η επίδραση της συγκέντρωσης της τασενεργού ουσίας στο αναλυτικό σήμα του αρχικού δείγματος.

Αποδεικνύεται, ότι το Triton X-114 απομονώνει ικανοποιητικά τα υδρόφοβα παράγωγα του χρωμίου από υγρά και στερεά δείγματα σε συγκεντρώσεις, που προσεγγίζουν την κρίσιμη μικυλλιακή. Αυτό που πρέπει να τονισθεί είναι, ότι οι επιλεγμένες τιμές εργασίας αναφέρονται στα ελάχιστα δυνατά όρια προσδιορισμού των ειδών του χρωμίου. Οι συγκεντρώσεις αυτές μπορούν να αυξηθούν αυξάνοντας έτσι την ικανότητα προσυγκέντρωσης και απομόνωσης μεγαλύτερων ποσοτήτων χρωμίου μειώνοντας όμως έτσι την ευαισθησία της μεθόδου, αφού ο λόγος αρχικού προς τελικό όγκο μειώνεται και μαζί με αυτόν και ο συντελεστής προσυγκέντρωσης. Στις βέλτιστες συνθήκες εργασίας η ανάκτηση του αναλύτη από το αρχικό δείγμα είναι πρακτικά ποσοτική με μια και μόνο μικυλλιακή εκχύλιση. Αυτό επιβεβαιώνεται στη συνέχεια και από την απουσία χρωμίου στην υδατική φάση μετά τον διαχωρισμό της από τη μικυλλιακή φάση.

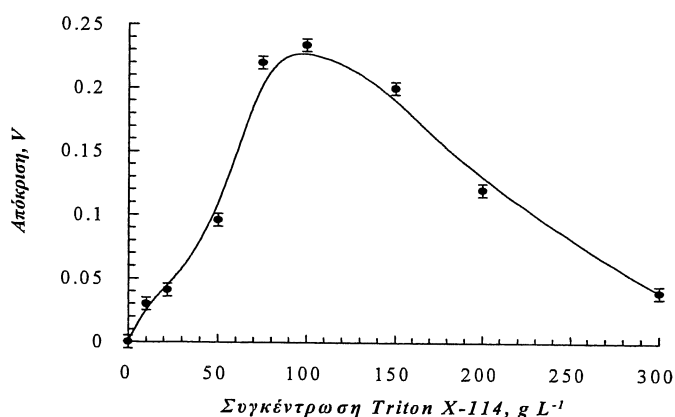
4.4.3.3 Επίδραση της συγκέντρωσης της 8-Υδροξυκινολίνης.

Η επίδραση της ποσότητας του συμπλεκτικού αντιδραστηρίου εξετάστηκε επίσης για σταθερή συγκέντρωση Cr(III) ή Cr(VI) ή $0,192 \mu\text{mol L}^{-1}$ ($10 \mu\text{g L}^{-1}$). Καθώς η συγκέντρωση της 8-Υδροξυκινολίνης πλησιάζει την απαιτούμενη τιμή για πλήρη συμπλοκοποίηση, η απόκριση του όλου συστήματος βελτιώνεται σημαντικά. Υπάρχει όμως ένας σημαντικός περιοριστικός παράγοντας, ο οποίος ρυθμίζει την μέγιστη δυνατή ποσότητα που μπορούμε να χρησιμοποιήσουμε στο πείραμα. Η μέγιστη επιτρεπόμενη συγκέντρωση της 8-Υδροξυκινολίνης είναι $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$. Μέχρι την τιμή αυτή, η 8-Υδροξυκινολίνη βρίσκεται κυρίως με την ιοντική της μορφή και παραμένει στο υδατικό διάλυμα, καθώς ο λόγος της συμπλεγμένης 8-Υδροξυκινολίνης προς την ελεύθερη αναμένεται να είναι περίπου 100, ευνοώντας την εκλεκτική απομόνωση του συμπλόκου²⁰. Όταν όμως η συγκέντρωση της 8-Υδροξυκινολίνης υπερβεί την τιμή αυτή, ένα μέρος της αρχίζει να εγκλωβίζεται επίσης στο μικύλλιο αυξάνοντας το τυφλό σήμα του υποστρώματος. Στην περιοχή pH, που επιλέγεται για το πείραμα και εξασφαλίζει τη μέγιστη παρουσία της 8-Υδροξυκινολίνης στην ιοντική της μορφή, η παραπάνω τιμή συγκέντρωσης δίνει μηδενική ένταση φθορισμού σε πρότυπο διάλυμα 8-Υδροξυκινολίνης απουσία χρωμίου και μετά την πραγματοποίηση της μικυλλιακής εκχύλισης. Τέλος από τη διεξαγωγή πειραμάτων σε διαλύματα χρωμίου με αρχική

συγκέντρωση στην περιοχή των $\mu\text{g L}^{-1}$ αποδεικνύεται, ότι με την συγκέντρωση αυτή δεν επηρεάζεται η αποτελεσματικότητα των ανακτήσεων. Η μόνη αρνητική συνέπεια του παραπάνω περιορισμού είναι η αδυναμία επέκτασης της γραμμικής περιοχής προς μεγαλύτερες συγκεντρώσεις από $15 \mu\text{g L}^{-1}$, χωρίς όμως αυτό να επηρεάζει τα κατώτατα όρια ανίχνευσης.

4.4.3.4 Επίδραση του χρόνου επώασης και της αντίστοιχης θερμοκρασίας.

Η θερμοκρασία διεξαγωγής της νεφελωματικής εκχύλισης και η διάρκεια επώασης μελετήθηκαν σχολαστικά. Είναι πάντα επιθυμητά τα ποσοτικά αποτελέσματα κατά την αντίδραση συμπλοκοποίησης, την απομόνωση του υδρόφοβου συμπλόκου και τον διαχωρισμό των φάσεων, σε μικρό χρόνο και με την χαμηλότερη δυνατή θερμοκρασία και σπατάλη ενέργειας. Βρέθηκε πειραματικά ότι ο σχηματισμός του συμπλόκου CrQ_3 απαιτεί μεγάλες θερμοκρασίες λόγω των εμφανιζόμενων δυσκολιών στις αντιδράσεις του Cr(III) , το οποίο, όταν είναι εφυδατωμένο, είναι κινητικά αδρανές. Πραγματικά, όπως φαίνεται και στο Σχήμα 4.6, η αύξηση της θερμοκρασίας πάνω από τους 70°C συνοδεύεται από μια συνεχή απότομη αύξηση του αναλυτικού σήματος, το οποίο σταθεροποιείται τελικά στην περιοχή των 85°C .

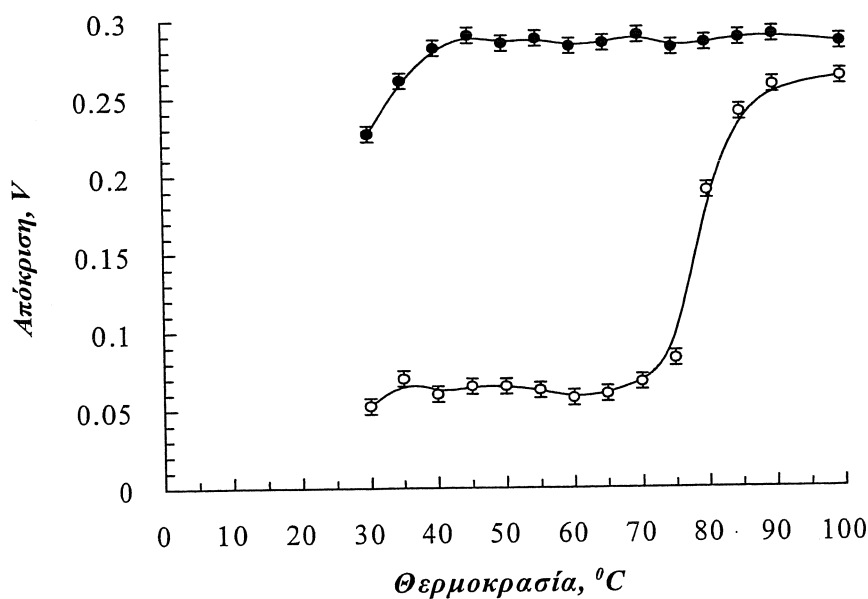


Σχήμα 4.6 : Επίδραση της συγκέντρωσης του Triton X-114 στην εκχύλιση του υδρόφοβου προϊόντος και στο αναλυτικό σήμα Cr(III) [ή Cr(VI)] 10

Το φαινόμενο αυτό αποδίδεται κυρίως στην αύξηση της ταχύτητας και της απόδοσης της αντίδρασης συμπλοκοποίησης, παρά στη συμπεριφορά του μικυλλιακού συστήματος. Αυτό το συμπέρασμα επιβεβαιώνεται και από το γεγονός, ότι το Cr(VI) δεν επηρεάζεται τόσο από

τη θερμοκρασία, αφού αμέσως μετά την αναγωγή του δεσμεύεται από την 8-Υδροξυκινολίνη ως Cr(III), πριν προλάβει να εφυδατωθεί και να μεταπέσει σε αδρανή κατάσταση. Έτσι ακόμα και μια ήπια θέρμανση στους 50 °C είναι ικανοποιητική για τον προσδιορισμό του Cr(VI). Εντούτοις για το σύνολο των πειραμάτων διατηρείται ενιαία θερμοκρασία της τάξεως των 85-90 °C, καθώς είναι αναμενόμενο από προηγούμενα πειράματα, ότι αυξημένη θερμοκρασία οδηγεί σε λιγότερο εφυδατωμένα μικύλλια με μικρότερο όγκο κατά 1,5 ως 3,6 φορές, γεγονός που αυξάνει αντίστοιχα των συντελεστή προσυγκέντρωσης^{21,22}.

Για την προσυγκέντρωση και την ειδοταυτοποίηση και των δύο οξειδωτικών καταστάσεων, υιοθετήθηκε χρόνος επώασης 15 λεπτών, ο οποίος, όπως φαίνεται και από το Σχήμα 4.7, είναι ικανοποιητικός για την ολοκλήρωση όλων των φυσικοχημικών διεργασιών, ακόμα και σε ανταγωνιστικές ή παρεμποδιστικές συνθήκες. Για μικρότερες θερμοκρασίες και χρόνους επώασης η αποτελεσματικότητα της διαδικασίας περιορίζεται, ειδικά όταν οι προσδιοριζόμενες συγκεντρώσεις είναι κοντά στα όρια ανίχνευσης.



Σχήμα 4.7 : Επίδραση της θερμοκρασίας στη μικυλλιακή εκχύλιση του χρωμίου με 8-Υδροξυκινολίνη, μετά από αναγωγή, (ο) Cr(III) αρχικό και, (•) Cr(III) εν τω γεννάσθαι με αναγωγή του Cr(VI).

4.4.3.5 Επίδραση του όγκου του εκλουστικού (μεθανόλη) στη μικυλλιακή φάση.

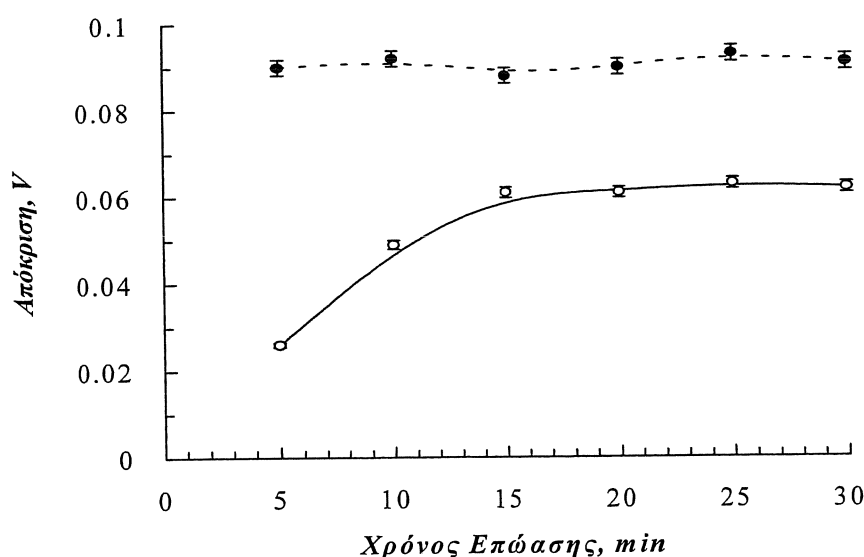
Ο μεθανόλη επιδρά στο αναλυτικό σήμα με δύο αντίθετους τρόπους. Αφενός απαιτείται αρκετή ποσότητα μεθανόλης για να μειωθεί το ιζώδες του μικυλλιακού συσσωματώματος, αφετέρου όμως ο μικρός όγκος συντελεί μικρότερος σε μεγάλο συντελεστή προσυγκέντρωσης. Επίσης απαιτείται η μικυλλιακή φάση να είναι όσο το δυνατόν άνυδρη, ώστε το αποτέλεσμα να είναι επαναλήψιμο και με μέγιστη τιμή προσυγκέντρωσης. Για το σκοπό αυτόν η μικυλλιακή φάση μετά την απόχυση του υπερκείμενου υδατικού διαλύματος ξηραίνεται για 5 λεπτά στους 150 °C μέσα σε πυριατήριο. Έτσι ο τελικός όγκος της μικυλλιακής φάσης μετά την ξήρανση είναι μηδενικός και ο συνολικός όγκος του διαλύματος ισούται πρακτικά με τον όγκο της μεθανόλης που προστέθηκε.

Για να είναι ο μικρός αυτός όγκος αρκετός για πολλαπλές εγχύσεις, ο βρόχος έγχυσης του συστήματος ροής τροποποιήθηκε κατάλληλα, ώστε να ελαχιστοποιηθεί ο νεκρός όγκος και να περιοριστεί στον όγκο της εσωτερικής διαδρομής της βαλβίδας. Έτσι το διάλυμα είναι αρκετό για 5 επαναλαμβανόμενες εγχύσεις με την προϋπόθεση, ότι αυτές γίνονται μετά από πλήρωση του βρόχου έγχυσης με τη βοήθεια σύριγγας και όχι με συνεχή ροή. Έτσι η τελική μικυλλιακή φάση διαλύεται σε 250 μ L μεθανόλης και αναλύεται με δεδομένα και τα πλεονεκτήματα του σύνθετου μεθανολικού διαλύματος της τασενεργού ουσίας.

4.4.3.6 Επίδραση της ιοντικής ισχύος και άλλων παραμέτρων.

Είναι γνωστό, ότι η ιοντική ισχύς των διαλυμάτων που υφίστανται τη διαδικασία εκχύλισης με μικυλλιακή νεφέλωση δεν επηρεάζει τον εγκλωβισμό και την απομόνωση των αναλυτών. Η μοναδική επίδρασή της είναι η μείωση του σημείου νεφέλωσης και η ευκολότερη συσσωμάτωση σε χαμηλότερες θερμοκρασίες λόγω φαινομένων εισαλάτωσης-εξαλάτωσης^{11,23,24}. Η ιδιότητα αυτή επιτρέπει μεν τη χρησιμοποίηση των τασενεργών και σε χαμηλές θερμοκρασίες, αλλά με δεδομένες τις υψηλές θερμοκρασίες που απαιτεί το Cr(III) δεν αξιολογείται στα πειράματα αυτά. Πειράματα που έγιναν σε διαλύματα KCl 0 - 200 mM δεν έδειξαν να επηρεάζουν την απόδοση της μεθόδου ως προς το φαινόμενο της νεφέλωσης και τις πραγματοποιούμενες αντιδράσεις. Το γεγονός αυτό είναι ιδιαίτερα ενθαρρυντικό για αναλύσεις δειγμάτων μεγάλης αλατότητας, όπως το θαλασσινό νερό και τα απόβλητα ύδατα.

Επίσης εξετάστηκε η επίδραση μερικών συμπληρωματικών παραμέτρων στην απόδοση του συστήματος μικυλλιακής εκχύλισης. Παράγοντες όπως ο χρόνος φυγοκέντρωσης και η εφαρμογή υπερήχων δεν μεταβάλλουν σημαντικά τη συμπεριφορά του συστήματος. Η εφαρμογή υπερήχων μελετήθηκε με την προοπτική της επίδρασης στο σχηματισμό του μικυλλίου και την αύξηση του συντελεστή κατανομής. Μια τέτοια συμπεριφορά δεν παρατηρείται, διότι τα σχηματιζόμενα είδη είναι ισχυρά υδρόφοβα ακόμα και σε μικρές συγκεντρώσεις. Στην περίπτωση λιγότερο υδρόφοβων σχηματισμών όμως υπάρχει σημαντική πιθανότητα να επιδρούν θετικά ή αρνητικά. Τέλος χρόνος φυγοκέντρωσης μεγαλύτερος από 5 λεπτά είναι ικανοποιητικός για τον πλήρη διαχωρισμό των φάσεων λόγω και του μεγάλου ιξώδους των μικυλλιακών νεφών.

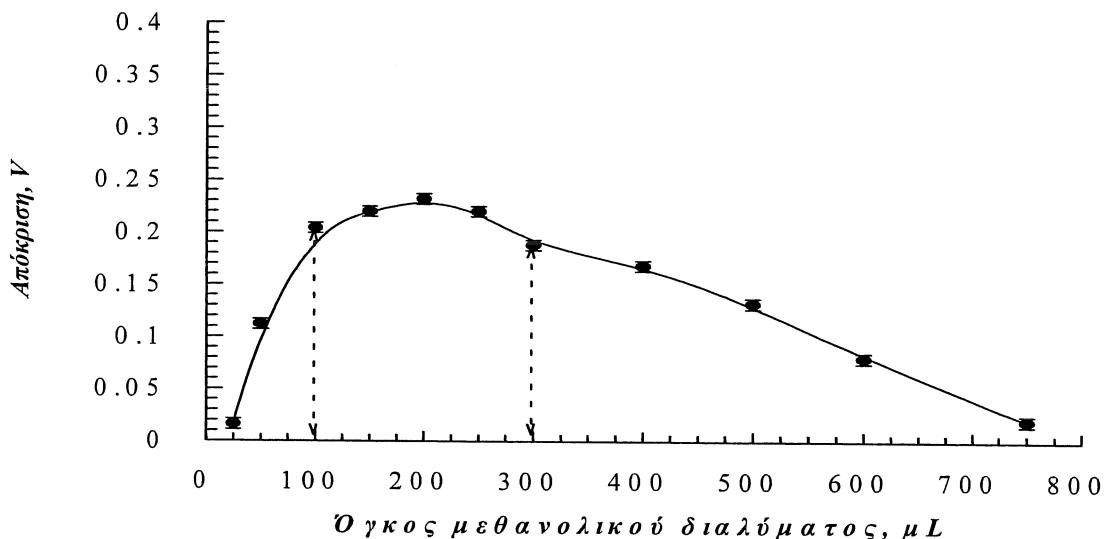


Σχήμα 4.8 : Επίδραση του χρόνου επώασης στην εκχύλιση. (•) Cr(III) εν τω γεννάσθαι με αναγωγή του Cr(VI), (ο) Cr(III).

4.4.3.7 Μελέτη παρεμποδίσεων

Η 8-Υδροξυκυκλολίνη αναφέρεται στη βιβλιογραφία ως ένα κοινό και μη εκλεκτικό αντιδραστήριο, το οποίο αντιδρά με πλήθος μεταλλικών κατιόντων δίνοντας σύμπλοκα, που φθορίζουν γειτονικά μήκη κύματος. Γι' αυτό θα έπρεπε τα σύμπλοκα αυτά να αποκλειστούν

από τα μικύλλια. Το αναλυτικό αυτό πρόβλημα αντιμετωπίστηκε με σχετική ευκολία με την αξιοποίηση της αδράνεια του χρωμίου ως προς το EDTA. Αντίθετα τα υπόλοιπα μέταλλα που ενδέχεται να παρεμποδίζουν αντιδρούν ταχύτατα και καλύπτονται από το EDTA, καθώς σχηματίζουν σταθερά, ευδιάλυτα, ιοντικά σύμπλοκα, που δεν έχουν συγγένεια με το υδρόφοβο εσωτερικό του μικυλλίου. Αποδεικνύεται, ότι προσθήκη EDTA σε συγκέντρωση



Σχήμα 4.9 : Επίδραση της ποσότητας της μεθανόλης στο αναλυτικό σήμα.

10 mg L^{-1} πριν από τη θέρμανση του μίγματος είναι αποτελεσματική για την άρση των παρεμποδίσεων, ενώ ταυτόχρονα αφήνει ανεπηρέαστο το Cr(III). Το Cr(VI) εξ'άλλου δεν αντιδρά με το EDTA σε τόσο χαμηλές συγκεντρώσεις, ενώ μετά την αναγωγή του συμπλέκεται άμεσα («εν τω γεννάσθαι») δίνοντας το υδρόφοβο προϊόν με την 8-Υδροξικινολίνη. Η επίδραση των πιθανών παρεμποδίσεων από άλλα μέταλλα ελέγχθηκε σε αναλογίες συγκεντρώσεων χρωμίου : παρεμποδιστικού από 1:1 ως 1:100 (για συγκέντρωση Cr(III) ή και Cr(VI) $0,192 \mu\text{M}$). Με την επίδραση του EDTA η ανάκτηση του χρωμίου από τα δείγματα αυτά είναι πρακτικά ποσοτική και εκλεκτική, καθώς τα μεταλλικά σύμπλοκα του EDTA αποκλείονται από την παγίδευση στα μικύλλια, λόγω της μεγάλης πολικότητας και της έντονης εφυδάτωσης. Με δεδομένο και τον έντονο υδρόφοβο χαρακτήρα του συμπλόκου του χρωμίου η ίδια η αντίδραση σχηματισμού του μετατοπίζεται διαρκώς προς όφελός του, λόγω της συνεχούς απομάκρυνσης από το σύστημα^{25,26}.

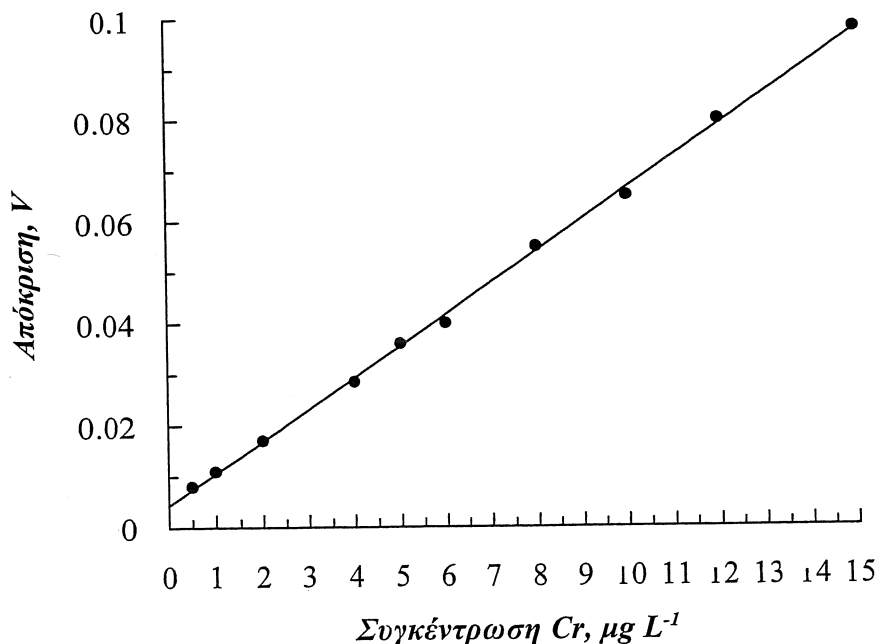
Στην περίπτωση της μικυλλιακής εκχύλισης σημαντικά ενδέχεται να παρεμποδίζουν τα υπάρχοντα ανιόντα, τα οποία μπορούν να δεσμεύουν το χρώμιο σε μακρομοριακά

συμπλέγματα. Ειδικότερα για τα χουμικά και φουλβικά ιόντα έχει αναφερθεί, ότι μειώνουν τη βιοδραστικότητα του χρωμίου εγκλωβίζοντάς το σε ενώσεις προσρόφησης^{27,28}. Η προσθήκη 0,1 - 10 mg L⁻¹ συγκεντρώσεων χουμικών οξέων σε διάλυμα χρωμίου 0,19 μM (10 μg L⁻¹) έδωσε πρακτικά ποσοτικές ανακτήσεις στις συγκεκριμένες συνθήκες οξύτητας και θερμοκρασίας.

Τέλος μελετήθηκαν ορισμένα ανόργανα και οργανικά ανιόντα που συνυπάρχουν με το χρώμιο (όπως φθοριούχα, φωσφορικά, νιτρικά, χλωριούχα, νιτρικά, ανθρακικά, θειικά, κιτρικά, τρυγικά και αμμώνιο) σε συγκεντρώσεις μέχρι 3 mg L⁻¹ χωρίς να επιδείξουν καμία σημαντική παρεμπόδιση.

4.5 ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΣΗ ΚΑΙ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ.

Η μέθοδος βαθμονομήθηκε με την εφαρμογή της διαδικασίας προσυγκέντρωσης και μέτρησης σε πρότυπα διαλύματα των δύο οξειδωτικών καταστάσεων του χρωμίου από αρχικό όγκο 10 mL. Τα αναλυτικά χαρακτηριστικά της μεθόδου παρουσιάζονται στον Πίνακα 4.3. Οι χαρακτηριστικές παράμετροι έχουν ορισθεί προηγουμένως. Η εξίσωση της καμπύλης αναφοράς που προκύπτει από τα ύψη των κορυφών της διάταξης ροής είναι $Y = 0,0062 C +$



Σχήμα 4.10 : Καμπύλη αναφοράς για την φθορισμομετρική ειδοαντοποίηση του χρωμίου μετά από εκχύλιση σημείου νεφέλωσης με 8-Υδροξυκινολίνη. Θερμοκρασία 90 °C. 8-HQ 0,1 mmol L⁻¹. pH=9, Triton X-114 1 g L⁻¹.

0,0043, όπου C είναι η συγκέντρωση του χρωμίου σε $\mu\text{g L}^{-1}$. Η γραμμική περιοχή συγκεντρώσεων και για τα δύο είδη χρωμίου είναι $0,5 - 15 \mu\text{g L}^{-1}$. Όπως αναφέρεται και στη βιβλιογραφία οι συντελεστές κατανομής των υδρόφοβων συμπλόκων στα μικύλλια είναι πολύ μεγάλοι ακόμα και σε σύγκριση με τα υδρόφοβα οργανικά μόρια. Έτσι εξασφαλίζεται η ποσοτική εκχύλιση του χρωμίου από την υδατική φάση στο μικύλλιο.

Πίνακας 4.3 : Παράμετροι αναλυτικού ενδιαφέροντος για την ειδοταυτοποίηση του Χρωμίου με την προτεινόμενη μέθοδο.

Παράμετρος	Αναλυτικά Χαρακτηριστικά
Λόγος Φάσεων	0,010
Συντελεστής Προσυγκέντρωσης	75
Συντελεστής Ανάκτησης	≈ 1
Όριο Ανίχνευσης / $\mu\text{g l}^{-1}$	0,2
Όριο Ποσοτικοποίησης / $\mu\text{g l}^{-1}$	0,5
Τυπική Απόκλιση (%)	1,8
Εξίσωση Συμμεταβολής, $C(\mu\text{g l}^{-1})$	$I (V) = 0,004 + 0,006 C$
Συντελεστής Γραμμικής Συσχέτισης (r)	0,9995
Γραμμική Περιοχή / $\mu\text{g l}^{-1}$	0,5 – 15,0

Η ακρίβεια και η επαναληψιμότητα της μεθόδου εκτιμήθηκε με την ανάλυση πενταπλών δειγμάτων χρωμίου συγκέντρωσης $2,0 \mu\text{g L}^{-1}$. Η σχετική τυπική απόκλιση για τη συγκέντρωση αυτή είναι 1,8 % ανεξάρτητα από το προσδιοριζόμενο είδος χρωμίου. Τέλος τα όρια ανίχνευσης της μεθόδου ($0,2 \mu\text{g L}^{-1}$) είναι αρκετά χαμηλά. Λόγω του πρακτικά

μηδενικού υποστρώματος είναι μικρότερα από αυτά, που επιτυγχάνονται με την εφαρμογή της μικκυλιακής εκχύλισης και μέτρηση με ατομική απορρόφηση ($1,0 \mu\text{g L}^{-1}$).

4.5.1 ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΤΗΣ ΠΡΟΤΕΙΝΟΜΕΝΗΣ ΤΕΧΝΙΚΗΣ ΣΤΗΝ ΠΡΟΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΚΑΙ ΕΙΔΟΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥ ΧΡΩΜΙΟΥ ΣΕ ΠΡΑΓΜΑΤΙΚΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ.

Η κυρίαρχη μορφή του χρωμίου στο θαλασσινό νερό και ειδικά στην ανοικτή θάλασσα είναι το Cr(VI) με τη μορφή του CrO_4^{2-} . Το Cr(III) απαντά σπανιότερα κυρίως ως $\text{Cr}(\text{OH})_3$ και $\text{Cr}(\text{OH})_2^+$.²⁹ Αντίθετα στα στάσιμα νερά των λιμνών με το υψηλό αναγωγικό-οργανικό φορτίο κυριαρχεί το Cr(III). Δείγματα νερού από τη λίμνη των Ιωαννίνων και από ποτάμια και παραλίες της Ηπείρου αναλύθηκαν, ώστε να εκτιμηθεί η ειδοκατανομή του χρωμίου. Τέλος αναλύθηκε δείγμα ενός συμπληρώματος διατροφής, ώστε να υπολογισθεί η περιεκτικότητα σε χρώμιο και να εξεταστεί η πιθανότητα να βρίσκεται εν μέρει στην 6 + οξειδωτική κατάσταση.

Τα αποτελέσματα που φαίνονται στον Πίνακα 4.4 επιβεβαιώνουν την θεωρία για την υπερίσχυση του Cr(VI) στη θάλασσα και του Cr(III) στη λίμνη, ενώ η ύπαρξη και των δύο ειδών στα ποτάμια εξηγείται από την ύπαρξη κοιτασμάτων στην περιοχή και από την συνύπαρξη οξειδωτικών (έντονη οξυγόνωση) και αναγωγικών (οργανική ύλη, υδρόβια φυτά) παραγόντων³⁰. Τα δισκία του συμπληρώματος διατροφής βρέθηκε να περιέχουν μόνο Cr(III), αν και με έντονη οξειδωτική επεξεργασία ένα μέρος του οξειδώνεται. Συμπληρωματικός έλεγχος της αξιοπιστίας των αποτελεσμάτων έγινε με πειράματα ανάκτησης από προσομοιωμένα δείγματα στην περιοχή συγκεντρώσεων $0.5 - 15 \mu\text{g L}^{-1}$. Τα ποσοστά ανάκτησης κυμαίνονται από 96 – 106 %.

4.6 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στο κεφάλαιο αυτό παρουσιάζεται μια εναλλακτική εφαρμογή της εκχύλισης σημείου νεφέλωσης για την ειδοταυτοποίηση του χρωμίου. Τα μικυλιακά εκχυλίσματα αναλύονται με τη βοήθεια ενός συστήματος συνεχούς ροής με έγχυση δείγματος και μέτρηση με ανιχνευτή φθορισμού. Τα πλεονεκτήματα της μεθόδου

Δείγμα	Συγκέντρωση ^a /μg L ⁻¹		Προσθήκη/μg L ⁻¹		Αποτέλεσμα/μg L ⁻¹		Ανάκτηση (%)	
	Cr(III)	Cr(VI)	Cr(III)	Cr(VI)	Cr(III)	Cr(VI) ^b	Cr(III)	Cr(VI)
Νερό Θάλασσας	Δ.Α. ^γ	3,00 ± 0,10	-	5,00	-	8,15	-	104
	Δ.Α.	3,00 ± 0,10	1,00	-	1,05	3,00	105	100
	Δ.Α.	3,00 ± 0,10	2,00	2,00	1,90	5,10	95	102
Νερό Ποταμού	1,00 ± 0,03	1,95 ± 0,05	4,00	2,00	5,20	3,85	104	98
	1,00 ± 0,03	1,95 ± 0,05	1,00	5,00	2,00	7,10	100	102
Νερό Λίμνης	0,85 ± 0,02	Δ.Α.	1,00	1,00	1,81	1,00	98	100
	0,85 ± 0,02	Δ.Α.	0,75	0,75	1,65	0,80	103	94
	0,85 ± 0,02	Δ.Α.	1,50	0,50	2,50	0,50	106	100
Δισκία ^δ	5,10 ± 0,05	Δ.Α.	-	3,00	5,10	3,05	100	102
	5,10 ± 0,05	Δ.Α.	2,00	2,50	7,00	2,50	99	100

^aΜέσος όρος τριών μετρήσεων ± τυπική απόκλιση. ^bΥπολογίστηκε με αφαίρεση του Cr(III) από το ολικό. ^γΔεν Ανιχνεύθηκε. ^δΣε μg g⁻¹ βάρους δισκίου.

Πίνακας 4.4 : Αποτελέσματα ανάλυσης ειδοαυτοποίησης χρωμίου σε δείγματα νερού και συμπληρώματος διατροφής άμεσα και την προσθήκη γνωστής ποσότητας από πρότυπο χρωμίου.

σε σύγκριση με την ανάλυση με φασματοφωτομετρία Ατομικής Απορρόφησης, που αναφέρθηκε στα Κεφάλαια 2 και 3, είναι κυρίως οικονομικά, αφού η αγορά, η λειτουργία και

η συντήρηση του συστήματος στοιχίζει τουλάχιστον 5 φορές λιγότερο από της Ατομικής Απορρόφησης. Επιπλέον προσφέρει τα ίδια, αν όχι καλύτερα, όρια ανίχνευσης με την Ατομική Απορρόφηση παρέχοντας μεγάλη ευκολία στη χρήση και επαναληψιμότητα, που είναι γενικά χαρακτηριστικά μιας διάταξης F.I.A.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. de Andrade, J.C.; Rocha, J.C.; Baccan, N., *Analyst*, **1985**, 110, 197.
2. Moreno Cordero, M.; Perez Pavon, C.; Pinto, G.; Fernandez Laespada, M.E., *Talanta*, **1993**, 40, 1703.
3. Watanabe, H.; Tanaka, H., *Talanta*, **1978**, 25, 585.
4. Quina, F.H.; Hinze, W.L., *Ind. Eng. Chem.*, **1999**, 38, 4150.
5. Dweyr, F.P.; Melor, D.P.,(ed.), *Chelating Agents and Metal Chelates*, Academic Press, New York, **1964**.
6. Gammelgaard, B., Jøns, O., and Nielsen, B., *Analyst*, **1992**, 117, 637.
7. Soroka, K.; Vithanage, R.S.; Phillips, D.A.; Walker, B.; Dasgupta, P.K., *Anal. Chem.*, **1987**, 59, 629.
8. Bratzel, M.P.; Aaron, J.J.; Winefordner, J.D.; Schulman, S.G.; Gershon, H., *Anal. Chem.*, **1972**, 44, 1240.
9. Paleologos, E.K.; Stalikas, C.D.; Tzouwara-Karayanni, S.M.; Pilidis, G.A.; Karayannis, M.I., *J. Anal. Atom. Spectrom.*, **2000**, 15, 287.
10. Paleologos, E.K.; Stalikas, C.D.; Karayannis, M.I., *Analyst*, **2001**, 126, 389.
11. Schick, M.J.(ed.), *Non Ionic Surfactants*, Marcel Dekker, New York, **1987**.
12. Mittal, K.L.(ed.), *Solution Chemistry of Surfactants*, Plenum, New York, **1979**.
13. Stary, J., *Solvent Extraction of Metal Chelates*, Pergammon Press, Oxford, **1964**.
14. Smith, R.M.; Martell, A.E., *Critical Stability Constants*, Plenum, New York, **1975**.
15. Ohnesorge, W.E.; Rogers, L.B., *Spectrochim. Acta*, **1959**, 15, 27.
16. Popovych, O.; Rogers, L.B., *Spectrochim. Acta*, **1960**, 16, 49.
17. Yang, J.; Jon, H.; Jie, N.; Gie, H.; Yang, R., *Fres. J. Anal. Chem.*, **1994**, 348, 377.
18. Gutierrez, N.G.; Rochas, F.S.; Pavon, J.M.C., *Fres. J. Anal. Chem.*, **1996**, 355, 88.
19. Tande, T.; Pattersen, J.E.; Torgrimmsen, T., *Chromatographia*, **1980**, 9, 997.
20. Codony, R.; Pratt, M.D.; Beltran, J.L., *Talanta*, **2000**, 52, 225.
21. Okada, T., *Anal. Chem.*, **1992**, 62, 2138.
22. Ganong, B.R.; Delmore, J.P., *Anal. Biochem.*, **1991**, 193, 35.

23. De Giorgio, V., in *Physics of Amphiphiles: Micelles, Vesicles and Microemulsions*, North Holland, Amsterdam, **1985**.

24. Dean, J.A.; Rains, T.C., *Flame emission and atomic absorption spectrometry*, Marcel Dekker, New York, **1975**.
25. Wang, C.; Martin, D.F.; Martin, B.B., *J. Environ. Sci. Health*, **1999**, 34, 705.
26. Wang, C.; Martin, D.F.; Martin, B.B., *J. Environ. Sci. Health*, **1998**, 33, 1631.
27. Wershaw, R.L., *J. Contam. Hydrol.*, **1986**, 1, 29.
28. Chiou, C.T.; Malcolm, R.L.; Brinton, T.I.; Kile, D.E., *Environ. Sci. Technol.*, **1986**, 20, 502.
29. Cranston, R.E.; Murray, J.W., *Anal. Chim. Acta*, **1978**, 99, 275
30. Kotas, J.; Stasicka, Z., *Environ. Polut.*, **2000**, 107, 263.

**ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΤΗΣ ΕΚΧΥΛΙΣΗΣ ΜΕΣΩ ΣΗΜΕΙΟΥ ΝΕΦΕΛΩΣΗΣ
ΓΙΑ ΤΗΝ ΒΕΛΤΙΩΣΗ ΤΗΣ ΕΙΔΟΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ ΧΡΩΜΙΟΥ ΜΕ
ΤΗ ΧΡΗΣΗ ΑΝΙΧΝΕΥΤΗ ΧΗΜΕΙΟΦΩΤΑΥΓΕΙΑΣ ΚΑΙ ΤΗΝ
ΕΝΙΣΧΥΤΙΚΗ ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΙΟΝΤΩΝ ΑΛΟΓΟΝΩΝ**

5.1 ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στο κεφάλαιο αυτό περιγράφεται μια εξαιρετικά ευαίσθητη και απλή μεθοδολογία για την ανάλυση ειδοταυτοποίησης του χρωμίου στην +3 και την +6 οξειδωτική κατάσταση. Η μέθοδος βασίζεται στον συνδυασμό του προσδιορισμού του χρωμίου με χημειοφωταύγεια και της προσυγκέντρωσης με την τεχνική της εκχύλισης με τη βοήθεια μικυλλιακών νεφελωμάτων. Η διαφοροποίηση των δύο ειδών του χρωμίου επιτυγχάνεται μέσω των διαφορετικών συνθηκών, στις οποίες αυτά αντιδρούν με το πυρρολιδινο-διθειοκαρβαμιδικό αμμώνιο(APDC), ενώ ο διαχωρισμός γίνεται με την εκχύλιση σημείου νεφέλωσης, ταυτόχρονα με μια προσυγκέντρωση της τάξης των 50. Οι συνδυασμένοι παράγοντες που επηρεάζουν την εκχύλιση και την παραγωγή του χημειοφωταυγούς σήματος βελτιστοποιήθηκαν αναφορικά με ένα σύστημα ανάλυσης με έγχυση δείγματος σε ροή (flow injection analysis F.I.A). Επιπλέον το σήμα ενισχύθηκε με τη χρήση ανιόντων αλογόνων και ειδικότερα βρωμιούχων, ενώ η παρεμποδιστική δράση διαφόρων ιόντων αντιμετωπίστηκε με επιτυχία με τη χρήση EDTA. Με σκοπό τη βέλτιστη και πιο αξιόπιστη πορεία ανάλυσης

εξετάστηκαν διάφορες εναλλακτικές πειραματικές ακολουθίες. Τα αποτελέσματα της προσέγγισης αυτής έδωσαν τα εντυπωσιακά χαμηλά όρια ανίχνευσης 3 ng L^{-1} με αντίστοιχο πραγματικό όριο μέτρησης (όριο ποσοτικοποίησης) τα 10 ng L^{-1} που είναι το χαμηλότερο που έχει αναφερθεί στη βιβλιογραφία. Ακόμα και στα χαμηλά αυτά επίπεδα το σφάλμα στην αξιοπιστία των μετρήσεων ήταν της τάξης του 2,2 %. Η ακρίβεια της μεθόδου ελέγχθηκε με την ανάλυση προσομοιωμένων δειγμάτων και εφαρμόστηκε με επιτυχία στον προσδιορισμό του χρωμίου σε νερά ποταμών, θαλασσών και αποβλήτων βιολογικού καθαρισμού.

5.2 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η τεχνική της εκχύλισης σημείου νεφέλωσης αναπτύχθηκε τα τελευταία χρόνια και έχει βρει ευρεία εφαρμογή και αποδοχή στον προσδιορισμό των μεταλλικών ιχνοστοιχείων. Σε γενικές γραμμές η λειτουργία της βασίζεται στο σχηματισμό υδρόφοβων παραγώγων των μετάλλων με κατάλληλη συμπλοκοποίηση και παγίδευση των προϊόντων αυτών στα μικύλλια των τασενεργών ουσιών, τα οποία μορφοποιούνται και συσσωρεύονται πάνω από τη θερμοκρασία νεφέλωσης¹⁻³.

Η τεχνική εκχύλισης σημείου νεφέλωσης χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά πρόσφατα (1999-2000) για την ειδοταυτοποίηση των σταθερών οξειδωτικών καταστάσεων του χρωμίου⁴⁻⁶, των οποίων η σημασία στο περιβάλλον είναι αντιστρόφως ανάλογη των ελαχίστων επιπέδων συγκεντρώσεων που αυτές απαντούν. Στις μέχρι τώρα μεθόδους, οι οποίες περιγράφονται στα πειραματικά κεφάλαια 2, 3 και 4, τα δύο είδη του χρωμίου αντιδρούν το καθένα εκλεκτικά με το APDC ή με την 8-Υδροξυκινολίνη για να σχηματίσουν αδιάστατα μοριακά σύμπλοκα, τα οποία παγιδεύονται στον υδρόφοβο πυρήνα των μικυλλίων. Η μικυλλιακή φάση που προκύπτει, σαν αποτέλεσμα της όλης πειραματική πορείας, προσφέρεται για ανάλυση ειδοταυτοποίησης του χρωμίου με τεχνικές στοιχειακής εξειδίκευσης (όπως η ατομική απορρόφηση) ή με απλούστερα συστήματα ανίχνευσης, όπως η φθορισμομετρία με τη βοήθεια διατάξεων ροής. Σε κάθε περίπτωση τα αποτελέσματα ήταν ικανοποιητικά και τα όρια ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης βρίσκονται σε πολύ χαμηλές τιμές συγκεντρώσεων ($\mu\text{g L}^{-1}$).

Παρά την επιτυχία των παραπάνω προσεγγίσεων, δημιουργήθηκαν κάποια ερωτηματικά κατά την πορεία των πειραμάτων σε μια κατηγορία δειγμάτων. Ειδικά με τη χρήση του APDC παρατηρήθηκε, ότι σε δείγματα με μεγάλη συγκέντρωση μεταλλικών ιόντων, όπως είναι κυρίως τα απόβλητα (βιολογικός καθαρισμός, βυρσοδεψεία, μεταλλουργικές βιομηχανίες κ.τ.λ), σχηματίζονται ιζηματογενή άλατα, που ακόμα και παρουσία EDTA παρεμποδίζουν την ανάλυση της μικυλλιακής φάσης, καθώς καθιζάνουν και αυτά κατά τη φυγοκέντρηση και προσροφούν επάνω τους το μικύλλιο. Επιπλέον δρουν ανταγωνιστικά στη συμπλοκοποίηση του χρωμίου και έτσι απαιτείται η προσθήκη υπερβολικά μεγάλων ποσοτήτων συμπλεκτικού αντιδραστηρίου. Τέλος σημαντικός είναι και ο κίνδυνος της απώλειας μέρους του χρωμίου από συγκαταβύθιση (ειδικά στην περίπτωση δειγμάτων μεταλλουργικών βιομηχανιών που είναι βεβαρημένα με σίδηρο) και της μεταβολής της ειδοκατανομής λόγω οξειδοαναγωγικών αντιδράσεων στη στερεά φάση από την καταλυτική δράση ιόντων, όπως το μαγγάνιο⁷.

Για την επίλυση αυτού του προβλήματος η προφανής λύση ήταν η χρήση μιας τεχνικής εξαιρετικά ευαίσθητης, που να μπορεί να ανιχνεύσει το χρώμιο σε πολύ χαμηλά επίπεδα. Έτσι δίνεται η δυνατότητα στο αρχικό δείγμα να αραιωθεί αρκετά, ώστε η συγκέντρωση των παρεμποδίζοντων ιόντων να μην επιτρέπει το σχηματισμό ορατών ιζημάτων. Ταυτόχρονα όμως η τεχνική αυτή πρέπει να είναι εύχρηστη και οικονομικά προσιτή, ώστε να μπορεί να εφαρμοστεί σε αναλύσεις ρουτίνας.

Η πιο απλή τεχνική που εξασφαλίζει αυτά τα πλεονεκτήματα είναι ο προσδιορισμός με χημειοφωταύγεια, με τη βοήθεια της καταλυτικής δράσης του Cr(III) στην αντίδραση του υπεροξειδίου του υδρογόνου με τη λουμινόλη⁸⁻¹⁰. Η τεχνική αυτή έχει χρησιμοποιηθεί αποτελεσματικά στο παρελθόν για την ειδοαυτοποίηση του χρωμίου μετά από ιοντική χρωματογραφία και κατάλληλη επεξεργασία¹¹⁻¹³. Θεωρείται δε αρκετά αξιόπιστη διεθνώς, καθώς έχει αξιολογηθεί σε διεργαστηριακά πειράματα¹⁴⁻¹⁶. Με την επιπρόσθετη ενίσχυση, που προσφέρει στο παραγόμενο σήμα η παρουσία αλογονούχων και ειδικά βρωμιούχων ιόντων, η ανίχνευση με χημειοφωταύγεια εξελίσσεται σε μια εξαιρετικά σημαντική μέθοδο για την ανάλυση του χρωμίου σε επίπεδα κάτω του νανογραμμαρίου^{8,17}.

Όμως και η προσέγγιση της χημειοφωταύγειας δεν είναι χωρίς προβλήματα. Η ευαισθησία της περιορίζεται μόνο στα ελεύθερα κατιόντα χρωμίου και στα εφυδατωμένα σύμπλοκα, ενώ

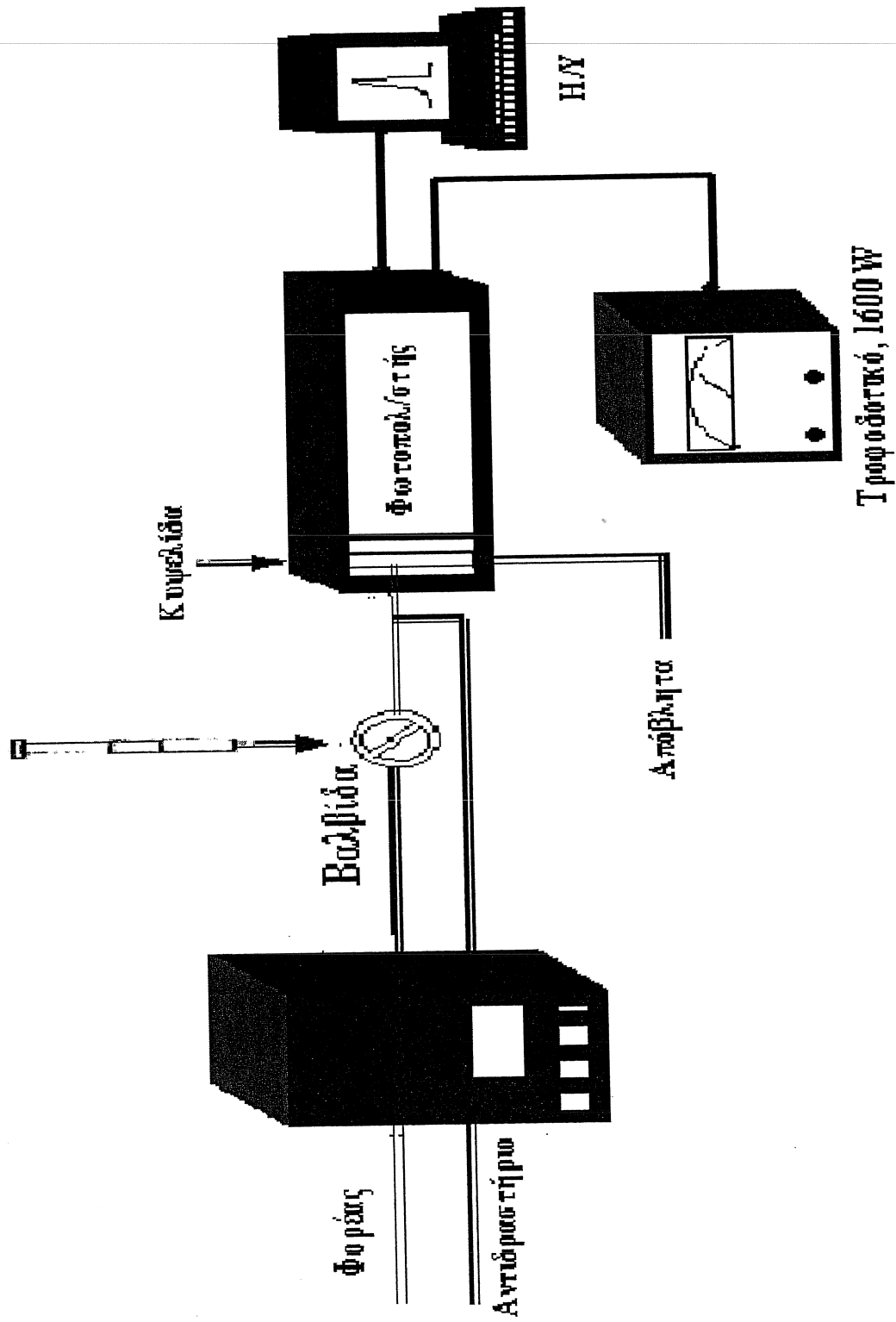
πρακτικά μηδενίζεται στις περιπτώσεις που το χρώμιο είναι συμπλοκοποιημένο ή δεσμευμένο από οργανικά υποστρώματα, πράγμα που συνήθως συμβαίνει σε τρόφιμα ή σε νερά με υψηλό οργανικό φορτίο. Ενέργειες για την αποδέσμευση του χρωμίου μπορεί να οδηγήσουν σε αλλοίωση της ειδοκατανομής και να μειώσουν την εφαρμοσιμότητα της μεθόδου.

Δεδομένου ότι οι δύο τεχνικές, δηλαδή η εκχύλιση σημείου νεφέλωσης και η ανίχνευση χημειοφωταύγειας, παρουσιάζουν μεταξύ τους συμπληρωματικά πλεονεκτήματα, ο συνδυασμός τους με την περαιτέρω ενίσχυση των αλογονούχων ιόντων αποδεικνύεται ότι μπορεί να άρει όλα τα προαναφερθέντα προβλήματα και τις σχετικές παρεμποδίσεις. Προσαρμόζοντας επιπλέον την όλη διαδικασία σε ένα σύστημα ανάλυσης με έγχυση δείγματος σε ροή, δημιουργήσαμε μια αποτελεσματική, οικονομική και ευέλικτη τεχνική για τον ακριβή και επαναληπτικό προσδιορισμό του χρωμίου σε πολλαπλά δείγματα και σε εξαιρετικά χαμηλές συγκεντρώσεις.

5.3 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.

5.3.1 ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ.

Η διάταξη ανάλυσης με έγχυση δείγματος σε ροή φαίνεται στο Σχήμα 5.1. Αποτελείται από μια βαλβίδα δύο θέσεων-τεσσάρων διαδρομών και μια περισταλτική αντλία οκτώ διαύλων. Τα διαλύματα του φορέα και του αντιδραστηρίου ενώνονται λίγο πριν από την είσοδο στη μετρητική διάταξη, που αποτελείται από μια κυψελίδα ροής όγκου 12 μL και έναν φωτοπολλαπλασιαστή, ο οποίος συνδέεται με τροφοδοτικό ισχύος 1600 W για την ενίσχυση του χημειοφωταυγούς σήματος. Η συλλογή των δεδομένων γίνεται με τη βοήθεια ενός συμβατού προσωπικού υπολογιστή εφοδιασμένου με κατάλληλο πρόγραμμα, το οποίο είναι γραμμένο σε Microsoft Q-Basic. Μέσω αυτού του προγράμματος είναι δυνατή η αυτόματη περιστροφή της βαλβίδας, η αποθήκευση των ηλεκτρικών σημάτων ως συνάρτηση του χρόνου και η μετατροπή τους σε ψηφιακό σήμα, το οποίο παρουσιάζεται με τη μορφή κορυφής, το ύψος της οποίας είναι ανάλογο της συγκέντρωσης του αναλύτη.



Εικόνα 5.1 : Διάταξη έγχρωμης σε ροή για τη μέτρηση της κλίσης φωταγωγιμότητας.

Για τα πειράματα νεφέλωσης και διαχωρισμού των φάσεων χρησιμοποιήθηκαν ακόμη ένα θερμοστατούμενο υδρόλουτρο, ρυθμιζόμενο στην επιθυμητή θερμοκρασία και μια φυγόκεντρος.

5.3.2 ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Όλα τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν κατά τη διάρκεια των πειραμάτων ήταν αναλυτικού βαθμού καθαρότητας απαλλαγμένα από ίχνη χρωμίου. Τα πυκνά αρχικά διαλύματα του Cr(III) και Cr(VI) παρασκευάστηκαν με τη διάλυση κατάλληλων ποσοτήτων των αντιστοιχών αλάτων $\text{Cr}(\text{NO}_3)_3$ και $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ σε δις-απεσταγμένο ύδωρ. Το διάλυμα του APDC παρασκευάστηκε σε δις-απεσταγμένο ύδωρ, ενώ η τασενεργός ουσία Triton X-114 χρησιμοποιήθηκε χωρίς περαιτέρω καθαρισμό για την παρασκευή υδατικού διαλύματος 10 % w/v (100 g L^{-1}). Τα πρότυπα διαλύματα μετάλλων, που χρησιμοποιήθηκαν, παρασκευάστηκαν με διαδοχικές αραιώσεις πυκνών προτύπων διαλυμάτων ατομικής απορρόφησης 1000 mg L^{-1} . Τα διαλύματα, που χρησιμοποιήθηκαν για τη μελέτη των παρεμποδίσεων, παρασκευάστηκαν από τα αντίστοιχα άλατα των ουσιών.

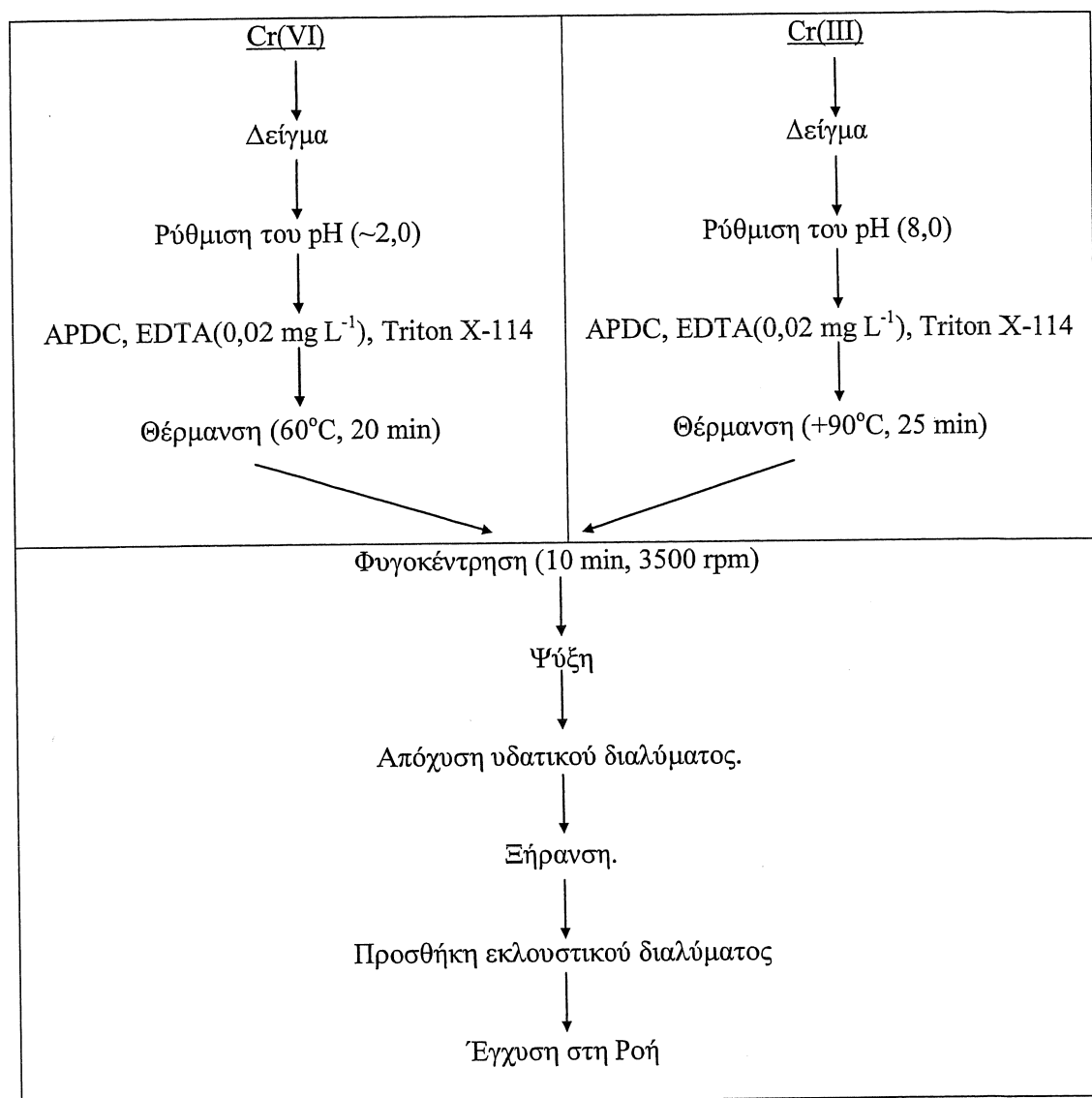
Φορέας: Το διάλυμα του φορέα περιείχε λουμινόλη $0,15 \text{ g L}^{-1}$ και EDTA $0,2 \text{ g L}^{-1}$ διαλυμένα σε ρυθμιστικό διάλυμα $\text{NH}_3/\text{NH}_4\text{Cl}$ συγκεντρώσεως $0,1 \text{ M}$, του οποίου το pH ρυθμίζεται στην τιμή 10,5 με διάλυμα NaOH.

Αντιδραστήριο: Το διάλυμα αυτό περιείχε H_2O_2 $0,6 \text{ g L}^{-1}$ και EDTA $0,2 \text{ g L}^{-1}$ σε pH 10,5, ρυθμισμένο όπως και πριν με ρυθμιστικό διάλυμα $\text{NH}_3/\text{NH}_4\text{Cl}$ και NaOH. Το διάλυμα αυτό παρασκευάζεται λίγο πριν τη χρήση του διότι το H_2O_2 αποσυντίθεται κατά την παραμονή του σε αλκαλικό περιβάλλον.

5.3.3 ΠΟΡΕΙΑ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

10 mL δείγματος (αραιωμένου κατά 50 ως 100 φορές) υφίστανται κατεργασία σύμφωνα με την καθιερωμένη πλέον πορεία της εκχύλισης σημείου νεφέλωσης. Με τη διαδικασία αυτή στη μικυλλιακή φάση έχει απομονωθεί το Cr(VI), ενώ το Cr(III) έχει παραμείνει στο υπερκείμενο διάλυμα

Πίνακας 5.1 : Πορεία μικυλλιακής εκχύλισης για τον προσδιορισμό χρωμίου με χημειοφωταύγεια.



Η μικυλλιακή αυτή φάση επαναδιαλύεται σε μια ποσότητα μεθανολικού διαλύματος, του οποίου το pH έχει ρυθμιστεί επίσης στο 10,5. Το υπερκείμενο διάλυμα δεν απορρίπτεται, αλλά υφίσταται ξανά τη διαδικασία εκχύλισης σημείου νεφέλωσης με τις τιμές των παραμέτρων, που αντιστοιχούν στην απομόνωση του Cr(III) και η μικυλλιακή φάση που προκύπτει υφίσταται κατεργασία, όπως και πριν με το παραπάνω μεθανολικό διάλυμα και στη συνέχεια εγχέεται στη ροή της μετρητικής διάταξης.

Εναλλακτικά με την παραπάνω πορεία εξετάστηκαν και κάποιες άλλες δυνατότητες εργασίας, με σκοπό την επιτάχυνση της όλης διαδικασίας.

Το αρχικό δείγμα χωρίζεται σε δύο μέρη. Το πρώτο αραιώνεται μέχρι 50 φορές ανάλογα με την αναμενόμενη περιεκτικότητα σε χρώμιο, ενώ το άλλο παραμένει αμετάβλητο.

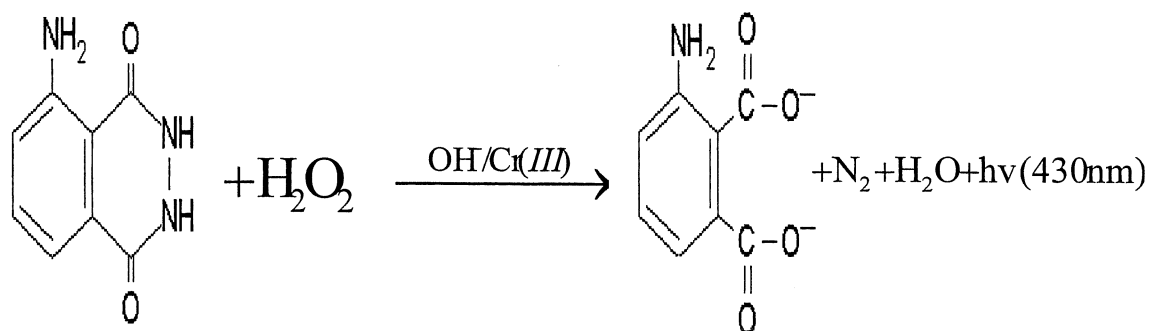
α) Το μη αραιωμένο δείγμα αναλύεται απευθείας και έτσι μετρείται η συγκέντρωση του Cr(III). Το αραιωμένο υπόκειται στην εκχύλιση σημείου νεφέλωσης που έχει σχεδιαστεί για το συνολικό χρώμιο. Έτσι το Cr(VI) υπολογίζεται από τη διαφορά.

β) Το αραιωμένο δείγμα υπόκειται σε εκχύλιση για τον προσδιορισμό μόνο του Cr(VI) ενώ το μη αραιωμένο μετρείται και πάλι κατευθείαν για Cr(III).

5.4 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ.

5.4.1 ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΠΟΡΕΙΑΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ.

Παρακάτω παρουσιάζεται η αντίδραση του H₂O₂ και της λουμινόλης, που οδηγεί στην παραγωγή της χημειοφωταύγειας. Η αντίδραση αυτή καταλύεται μόνο από το Cr(III) και όχι



από το Cr(VI), το οποίο για να καταλύσει την αντίδραση πρέπει πρώτα να αναχθεί. Η αναγωγή αυτή αν και είναι σχετικά δύσκολη σε μικρές συγκεντρώσεις και ιδιαίτερα σε ροή, έχει χρησιμοποιηθεί για την ειδοταυτοποίηση του χρωμίου μετά από χρωματογραφικό διαχωρισμό και αναγωγή μετά τη στήλη. Στο προτεινόμενο σχήμα το Cr(VI) αντιδρά με το APDC και ανάγεται σε Cr(III), το οποίο συμπλέκεται με το APDC, *εν τω γεννάσθαι*, δίνοντας δύο σύμπλοκα {το Bis[-pyrrolidine-1-dithioato-S,S']-pyrrolidine-1-peroxydithioato-O,S]-Cr(III) και το Tris[-pyrrolidine-1-dithioato-S,S']-Cr(III)}. Τα σύμπλοκα αυτά εγκλωβίζονται μέσα στο μικύλλιο και στη συνέχεια με την προσθήκη του μεθανολικού διαλύματος διασπώνται ελευθερώνοντας το Cr(III), ώστε να δράσει καταλυτικά στην αντίδραση. Ανίθετα το Cr(III) του διαλύματος αντιδρά με το APDC και απομονώνεται από τα μικύλλια,

ανεξάρτητα αν στο διάλυμα βρίσκεται ελεύθερο ή συμπλοκοποιημένο, καθώς στις επιλεγμένες συνθήκες τις μικυλλιακής εκχύλισης τα ομοιοπολικά υδρόφοβα σύμπλοκα του APDC απομακρύνονται διαρκώς από τη χημική ισορροπία μετατοπίζοντας την θερμοδυναμικά ευνοούμενη αντίδραση προς όφελός τους.

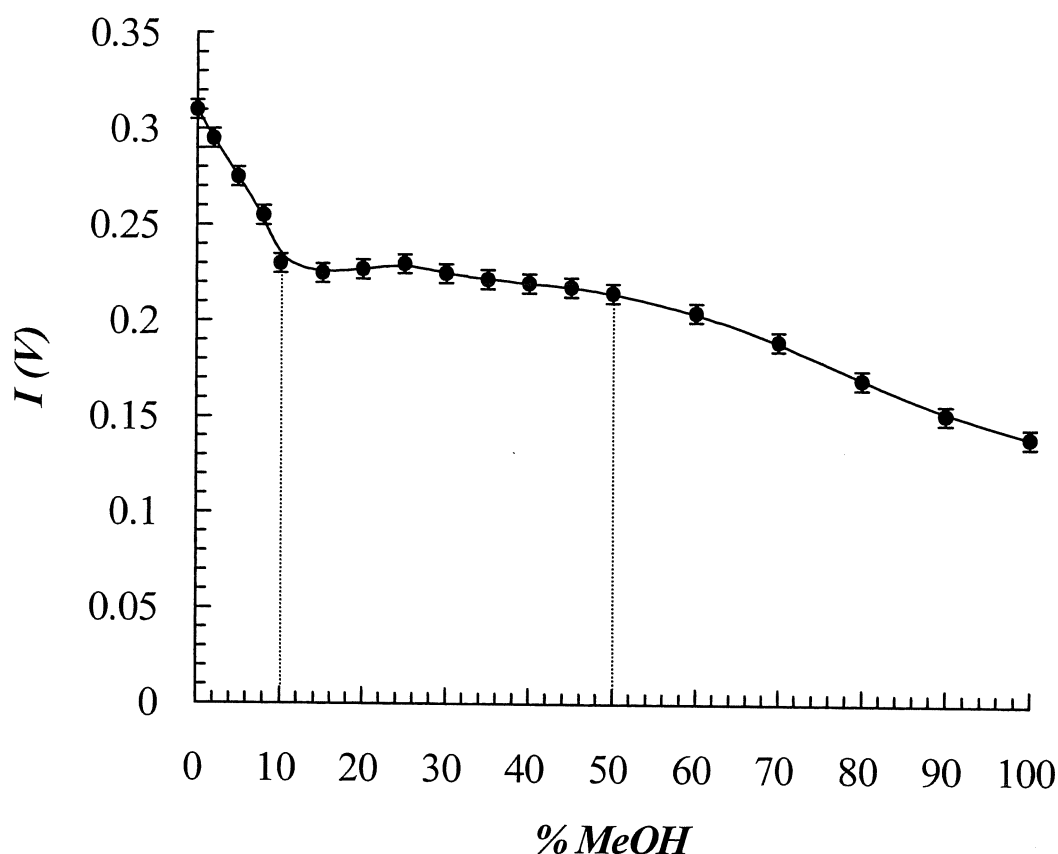
Η σύγκριση των αποτελεσμάτων που προέκυψαν με την προτεινόμενη διαδικασία με τις εναλλακτικές προτάσεις απέδειξε, ότι ακόμα και παρουσία ισχυρών συμπλεκτικών παραγόντων (όπως κιτρικά, τρυγικά και EDTA) το Cr(III) μεταφέρεται ποσοτικά στα μικύλλια, ενώ στην περίπτωση της απευθείας μέτρησης καλύπτεται πλήρως και η καταλυτική του δράση αναστέλλεται.

5.4.2 ΒΕΛΤΙΣΤΟΠΟΙΗΣΗ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ

5.4.2.1 Επίδραση του διαλύτη της μικυλλιακής φάσης.

Για τη διάλυση της μικυλλιακής φάσης χρησιμοποιείται συνήθως κάποιος οργανικός διαλύτης, όπως μεθανόλη ή αιθανόλη. Οι διαλύτες αυτοί, αν και δεν επηρεάζουν τον φθορισμό, προκαλούν μείωση στην ένταση της χημειοφωταύγειας. Αποδεικνύεται, ότι όταν το εγχέομενο δείγμα περιέχει μεθανόλη ή αιθανόλη σε ένα ποσοστό μέχρι 10%, προκαλείται απότομη μείωση της χημειοφωταύγειας, η οποία φτάνει το 25% σε σχέση με αυτήν του υδατικού διαλύματος¹⁸. Για περιεκτικότητα σε μεθανόλη από 10% - 50% η μείωση είναι πρακτικά αμελητέα, ενώ για μεγαλύτερες συγκεντρώσεις μεθανόλης το σήμα μειώνεται και πάλι, αλλά με μικρότερη κλίση. Με

βάση τις παρατηρήσεις αυτές χρησιμοποιήθηκε ένα μεικτό διάλυμα μεθανόλης/ρυθμιστικού διαλύματος σε αναλογία όγκων 2:1 με τιμή pH 10,5. Με δεδομένη και την ανάμιξη με τον υδατικό φορέα η περιεκτικότητα σε μεθανόλη βρίσκεται στα επιθυμητά όρια. Ο όγκος του διαλύματος διάσπασης ελέγχθηκε επίσης, ώστε να βρεθεί η ελάχιστη ποσότητα που απαιτείται, για να διαλυθεί πλήρως το μικύλλιο και να μειωθεί το ιξώδες του διαλύματος που προκύπτει. Βρέθηκε ότι 350 μL επαρκούν. Μεγαλύτεροι όγκοι μειώνουν το συντελεστή



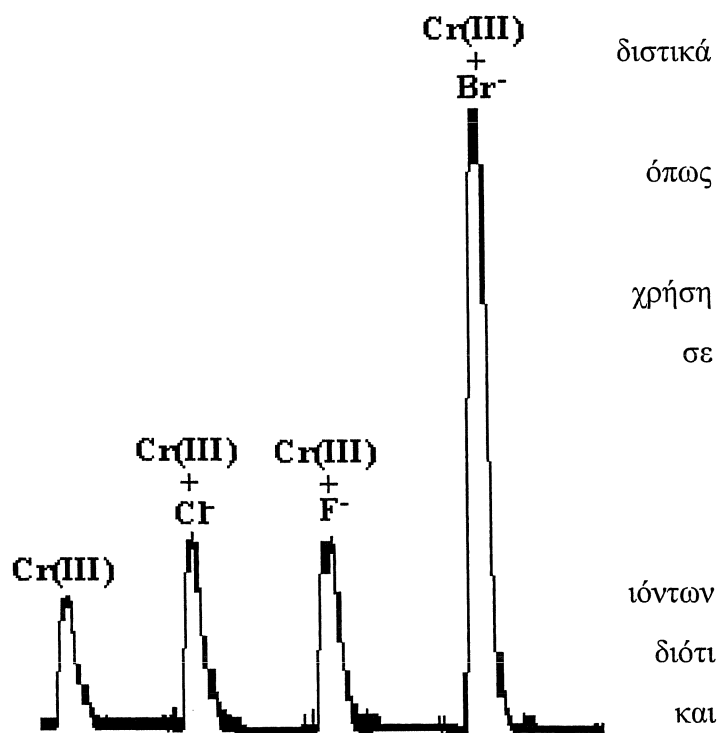
Σχήμα 5.2 : Εξάρτηση της έντασης της χημειοφωταύγειας από την συγκέντρωση του οργανικού διαλύτη.

προσυγκέντρωσης και το παραγόμενο σήμα, ενώ μικρότεροι δίνουν πυκνόρρευστα προϊόντα ακατάλληλα για έγχυση του δείγματος στη ροή.

5.4.2.2 Επίδραση αλογονούχων ιόντων.

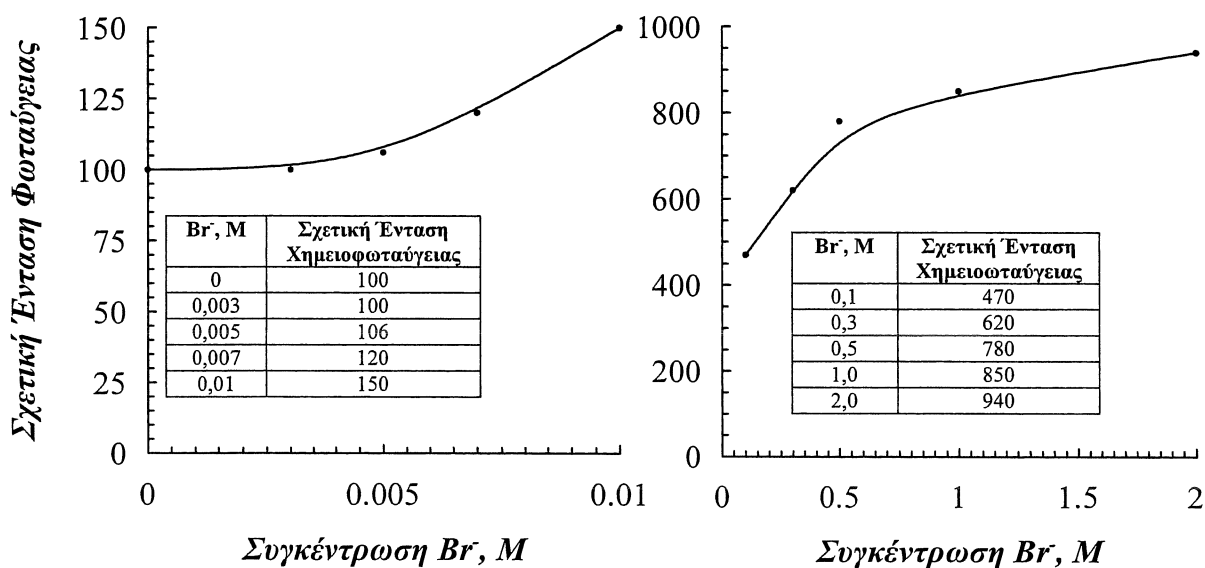
Η επίδραση των αλογονούχων ιόντων στη χημειοφωταύγεια είναι γνωστή από προηγούμενες εργασίες^{8,17}. Η παρουσία πολλών από αυτά ενισχύει το σήμα, που παράγεται από την καταλυτική δράση του χρωμίου και άλλων μετάλλων στο σύστημα λουμινόλης- H_2O_2 , κατά 2

– 10 φορές. Το ενισχυτικό αυτό φαινόμενο λειτουργεί παρεμπο- στην απευθείας μέτρηση χρωμίου σε διαλύματα με μεγάλη αλατότητα, το θαλασσινό νερό και τα νερά ποταμών και λιμνών μετά από τη φυτοφαρμάκων, καθώς επίσης και πόσιμο νερό ή σε απόβλητα. Με τη εφαρμογή της εκχύλισης μέσω μικυλλιακών νεφελωμάτων η συγκέντρωση των αλογονούχων μειώνεται κάτω από το 0,001 M, δεν εγκλωβίζονται από τα μικύλλια έτσι μπορεί να επιτευχθεί ελεγχόμενη και επαναληπτική ενίσχυση του σήματος με τη χρήση



Σχήμα 5.3 : Επίδραση της παρουσίας διαφόρων αλογονούχων ιόντων στο ύψος των κορυφών F.I.A κατά τον προσδιορισμό χρωμίου με χημειοφωταύγεια.

σταθερής περισσειας στο φορέα. Όπως φαίνεται και στο Σχήμα 5.3, από τα αλογονούχα ιόντα που χρησιμοποιήθηκαν, τα βρωμιούχα έδωσαν το μεγαλύτερο σήμα. Από τις συγκεντρώσεις βρωμιούχων που ελέγχθηκαν, χρησιμοποιήθηκε τελικά ένα διάλυμα 0,5 M, διότι, αν και φαινομενικά μεγαλύτερες συγκεντρώσεις αυξάνουν το σήμα, αποδείχθηκε, ότι πάνω από αυτή την τιμή η απόκριση του συστήματος ως προς το χρώμιο δεν είναι γραμμική (Σχήμα 5.4).



Σχήμα 5.4 : Σχετική ενίσχυση του σήματος από την παρουσία ιόντων Br⁻. Στους ένθετους πίνακες φαίνονται οι αριθμητικές τιμές.

5.4.2.3 Επίδραση του pH.

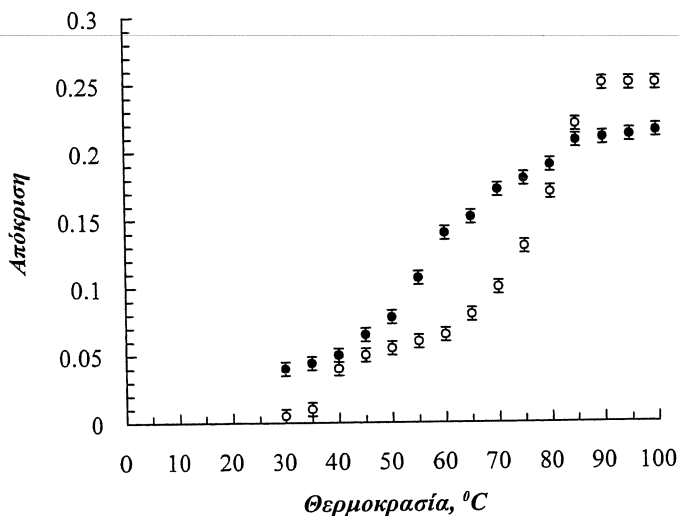
Η επίδραση του pH στη διαδικασία της εκχύλισης μέσω σχηματισμού νεφελωμάτων, για τη διαδοχική εκλεκτική απομόνωση των ειδών του χρωμίου με τη χρήση APDC, έχει περιγραφεί εκτεταμένα στα προηγούμενα κεφάλαια. Έτσι η συμπλοκοποίηση του Cr(VI) γίνεται σε pH 2, ενώ του Cr(III) και του συνολικού σε pH 6,5 - 8,0. Η καταλυτική δράση του Cr(III) πάνω στο χημειοφωταυγές σύστημα ευνοείται γενικότερα σε αλκαλικά διαλύματα, λόγω της αύξησης της κινητικής του δραστηριότητας. Αν και πολλοί ερευνητές έχουν αναφερθεί σε ακριβή ρύθμιση του pH εντούτοις, στο υπό μελέτη σύστημα φαίνεται ότι το σήμα αποκτά ένα μέγιστο σε περιοχές από 9,0 μέχρι και 12,0. Έτσι επιλέχθηκε ένα ρυθμιστικό διάλυμα στην ενδιάμεση τιμή του 10,5 για μέγιστη σταθερότητα του συστήματος.

5.4.2.4 Επίδραση της θερμοκρασίας και του χρόνου επώασης.

Στα συνήθη πειράματα εκχύλισης με σχηματισμό μικυλλιακών νεφελωμάτων ο χρόνος θέρμανσης κυμαίνεται από 10-15 λεπτά και η θερμοκρασία από 40 ως 90 °C. Με σύγκριση των γραφικών παραστάσεων των παραμέτρων αυτών αναφορικά με τη χημειοφωταύγεια

αποδεικνύεται, ότι για το Cr(III) αλλά για το Cr(VI) τα βέλτιστα όρια είναι μετατοπισμένα προς μεγαλύτερες τιμές.

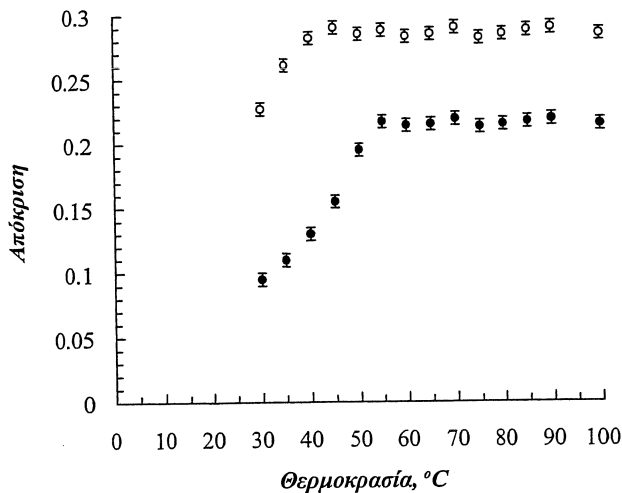
Έτσι για το Cr(VI) απαιτείται θερμοκρασία πάνω από τους 50 °C και χρόνος επώασης περίπου 20 λεπτών, ενώ για το Cr(III) η θερμοκρασία των 90 °C είναι απαραίτητη, αφού μεγαλύτερη δεν επιτυγχάνεται εύκολα. Για να έχουμε μέγιστη απόδοση η θέρμανση αυτή πρέπει να



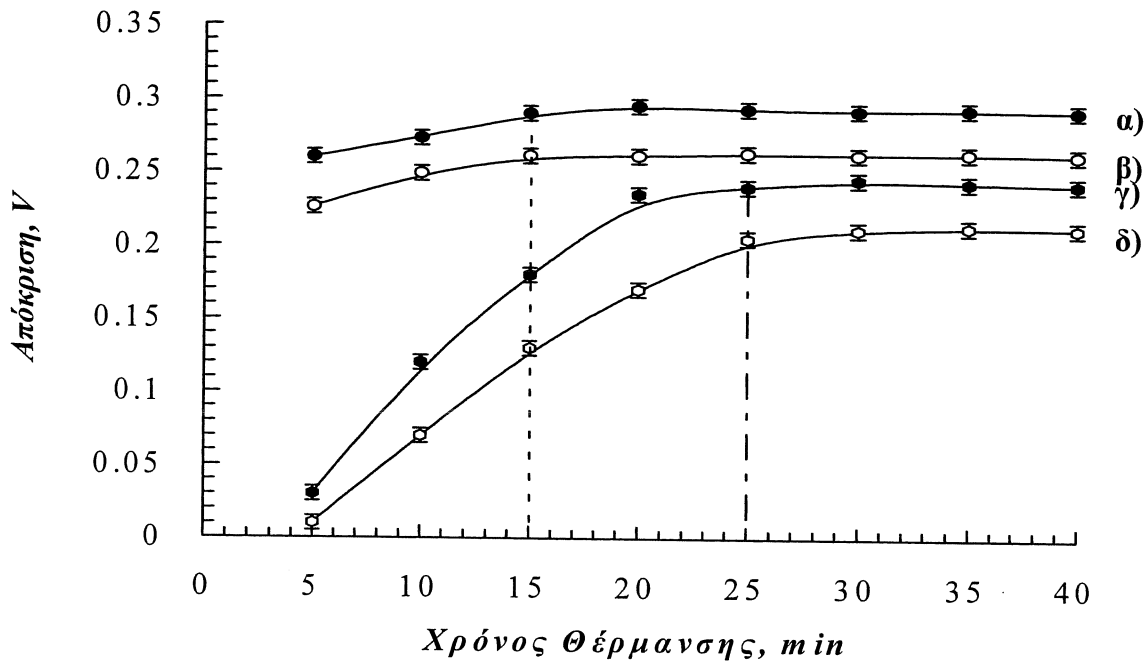
Σχήμα 5.5 : Επίδραση της θερμοκρασίας στο σχηματισμό και την απομόνωση των υδρόφοβων συμπλόκων σε χαμηλές (ο, $ng L^{-1}$) και υψηλές (•, $μg L^{-1}$) συγκεντρώσεις Cr(III)

διατηρηθεί επί 25-30 λεπτά. Οι έντονες αυτές συνθήκες δικαιολογούνται με τις επιδιωκόμενες πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις, που μειώνουν τις ταχύτητες των αντιδράσεων και την

κινητικότητα του δραστικού Cr(VI). Επιπλέον η θέρμανση είναι σημαντική για να ελαχιστοποιηθούν τα μόρια νερού, που εφυδατώνουν τα προκύπτοντα σύμπλοκα και τα μικυλλιακά σωματίδια, εξασφαλίζοντας την ποσοτική τους εκχύλιση.



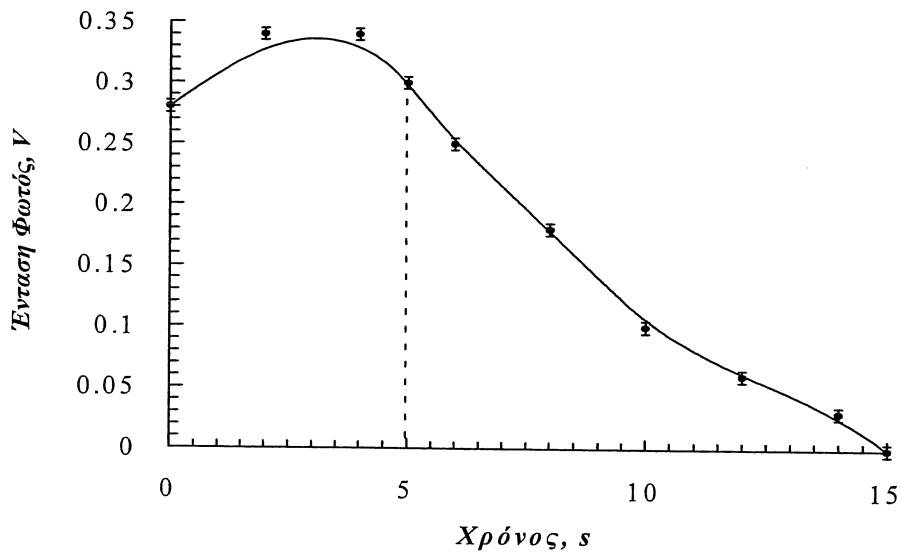
Σχήμα 5.6 : Επίδραση της θερμοκρασίας στο σχηματισμό και την απομόνωση των υδρόφοβων συμπλόκων σε χαμηλές (•, $ng L^{-1}$) και ψηλές (ο, $μg L^{-1}$) συγκεντρώσεις Cr(VI).



Σχήμα 5.7 : Συγκριτική παράσταση της διάρκειας θέρμανσης για την μικροβιακή εκχύλιση Cr(III)(○) και Cr(VI)(●) σε υψηλές ($\mu\text{g L}^{-1}$, καμπύλες α,β) και χαμηλές (ng L^{-1} , καμπύλες γ,δ) συγκεντρώσεις

5.4.2.5 Παράμετροι ροής

Οι παράμετροι ροής είναι πολύ σημαντικοί, καθώς η εκπομπή της χημειοφωταύγειας είναι ένα κινητικά ελεγχόμενο φαινόμενο, το οποίο αποκτά γρήγορα ένα μέγιστο και εξίσου

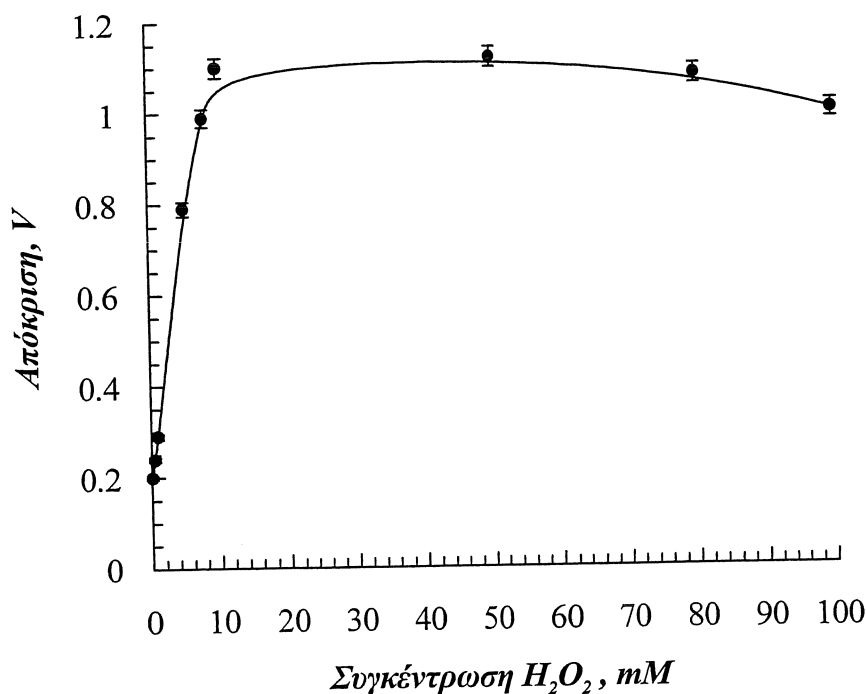


Σχήμα 5.8 : Εξάρτηση της έντασης του σήματος από το διάστημα, που μεσολαβεί από την ανάμιξη μέχρι τη μέτρηση. Λουμινόλη $0,15 \text{ g L}^{-1}$, H_2O , $0,6 \text{ g L}^{-1}$, pH

γρήγορα φθίνει πλησιάζοντας το μηδέν.

Επομένως οι βέλτιστες παράμετροι ροής πρέπει να λάβουν κατάλληλες τιμές, ώστε ο χρόνος που μεσολαβεί από την ανάμιξη του φορέα με το αντιδραστήριο μέχρι τη μέτρηση της φωταύγειας στην κυψελίδα να αντιστοιχεί στο μέγιστο σήμα. Οι παράμετροι που μελετήθηκαν οδήγησαν στο συμπέρασμα, ότι η συνδεσμολογία της συσκευής πρέπει να έχει τέτοιο μήκος σωλήνων, ώστε ο χρόνος που μεσολαβεί να είναι 4-6 δευτερόλεπτα, αφού αργότερα το σήμα μειώνεται και μετά τα 12 δευτερόλεπτα πρακτικά μηδενίζεται. Με την προοπτική οι ροές να μην δημιουργούν οπισθοδρομήσεις και φθορές στα σωληνάκια υιοθετήθηκε μια ικανοποιητική ροή $2,0 \text{ ml min}^{-1}$, ενώ ανάμεσα στο σημείο ανάμιξης των διαλυμάτων και στην κυψελίδα μεσολαβεί μόνο ο αντιδραστήρας ανάμιξης-καθυστέρησης.

5.4.2.6 Συγκέντρωση αντιδραστηρίων.



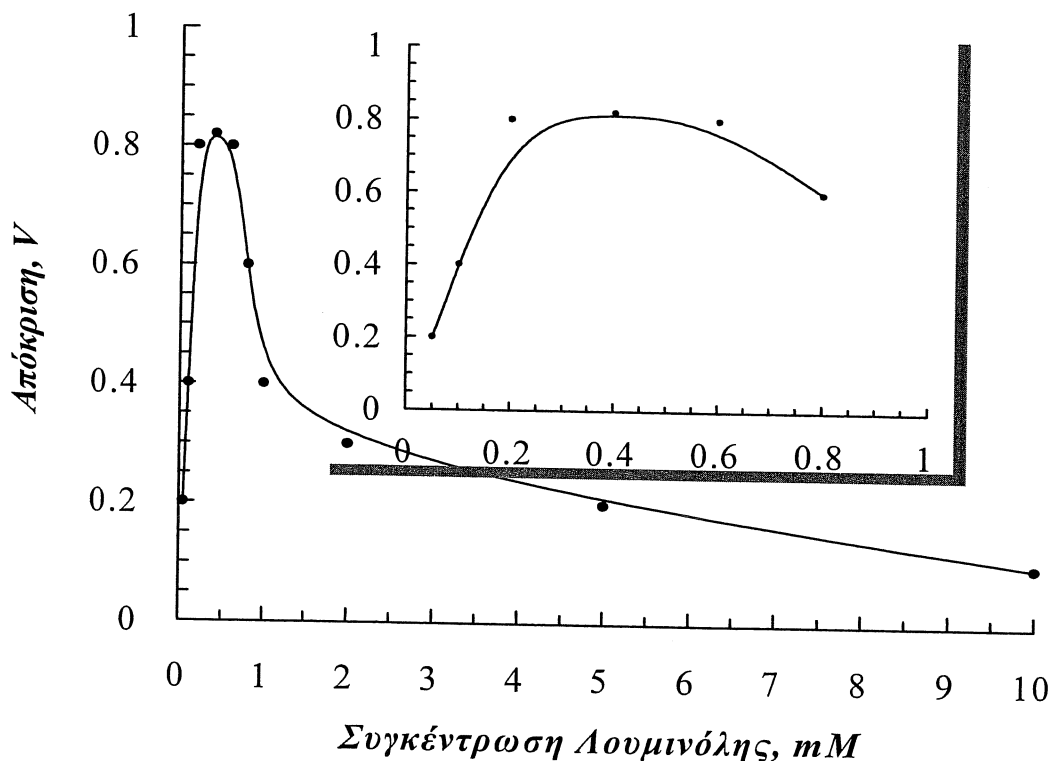
Σχήμα 5.9 : Επίδραση της συγκέντρωσης του H_2O_2 στη χημειοφωταύγεια. Λουμινόλη $0,15 \text{ g L}^{-1}$, pH 10,5.

A) Συγκέντρωση H_2O_2 . Όπως φαίνεται και στο Σχήμα 5.9, η συγκέντρωση του H_2O_2 προκαλεί γραμμική αύξηση του σήματος, καθώς η συγκέντρωσή του αυξάνεται από 0.1 mM σε 10 mM. Άλλωστε στην περιοχή αυτή η αντίδραση με τη λουμινόλη παρουσία μεταλλικού

καταλύτη έχει χρησιμοποιηθεί για τον ποσοτικό προσδιορισμό του H_2O_2 ¹⁹. Για συγκεντρώσεις από 10-100 mM το σήμα παραμένει πρακτικά σταθερό και αρχίζει να μειώνεται και πάλι πάνω από τα 100 mM καθώς αυξάνει η οξειδωτική δράση του H_2O_2 προκαλώντας διάσπαση της λουμινόλης. Συγκέντρωση H_2O_2 ίση με 10 mM επιλέχθηκε για λόγους οικονομίας και λόγω της αυξημένης αστάθειας που παρουσιάζουν μεγαλύτερες συγκεντρώσεις υπεροξειδίου στο αλκαλικό περιβάλλον της αντίδρασης (pH=10,5).

B) Συγκέντρωση της Λουμινόλης

Στο Σχήμα 5.10 φαίνεται η επίδραση της λουμινόλης στην ένταση της χημειοφωταύγειας. Είναι φανερό, ότι το μέγιστο σήμα επιτυγχάνεται σε μια στενή περιοχή συγκεντρώσεων από



Σχήμα 5.10 : Επίδραση της Συγκέντρωσης της Λουμινόλης στην ένταση της χημειοφωταύγειας. Στο ένθετο φαίνεται η βέλτιστη περιοχή. H_2O_2 $0,6 \text{ g L}^{-1}$, pH 10,5.

0,2-0,6 mM. Η παρατήρηση αυτή συμφωνεί και με τα δεδομένα προγενέστερων ερευνών^{8,9}, οι οποίες αναφέρουν την τιμή 0.4 mM ως βέλτιστη. Η συμπεριφορά αυτή αποδίδεται σε δύο επιδράσεις. Σε χαμηλές συγκεντρώσεις η ένταση του σήματος είναι ανάλογη με τη συγκέντρωση της λουμινόλης αποτελώντας το ρυθμιστικό παράγοντα. Καθώς η ποσότητα της

λουμινόλης αυξάνεται, η ένταση του σήματος μειώνεται. Αυτό οφείλεται τόσο σε φαινόμενα αυτοαπόσβεσης, τα οποία είναι συνηθισμένα και αναμενόμενα, αλλά και στο σχηματισμό ενός του Cr(III) με τη λουμινόλη, το οποίο περιορίζει την καταλυτική δράση του πρώτου. Γενικά η συμπλοκοποίηση του χρωμίου είναι ένας από του κύριους περιοριστικούς παράγοντες της καταλυτικής του δράσης και του προσδιορισμού του με τη μέθοδο της λουμινόλης.

5.4.3 ΈΛΕΓΧΟΣ ΚΑΙ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΣΗ ΠΑΡΕΜΠΟΔΙΣΕΩΝ.

Όπως έχει αναφερθεί στα προηγούμενα κεφάλαια, το APDC είναι ένα κοινό συμπλεκτικό αντιδραστήριο, το οποίο σχηματίζει μοριακά σύμπλοκα με ένα μεγάλο αριθμό μετάλλων. Τα σύμπλοκα αυτά εγκλωβίζονται στα μικύλλια προκαλώντας παρεμποδίσεις στη μέτρηση των ειδών του χρωμίου με φασματοσκοπία Ατομικής Απορρόφησης και με ανιχνευτή φθορισμού. Σε όλες τις περιπτώσεις η άρση των παρεμποδίσεων αυτών γίνεται με την προσθήκη EDTA στο αρχικό διάλυμα πριν από τη θέρμανση για το σχηματισμό των μικυλλίων. Με τον τρόπο αυτόν τα περισσότερα μεταλλικά κατιόντα μετατρέπονται σε σταθερά ανιονικά σύμπλοκα του EDTA, τα οποία αποκλείονται από τα μικύλλια. Έτσι η παρεμποδιστική δράση των μεταλλοϊόντων και κατ'επέκταση όλων των ιοντικών σωματιδίων αίρεται στο στάδιο του διαχωρισμού και όχι στο στάδιο της ανίχνευσης.

Εντούτοις η χρήση του EDTA απαιτεί προσεκτική ρύθμιση των συνθηκών όσον αφορά τη συγκέντρωση και τους χρόνους επώασης, ώστε να αποφευχθεί συμπλοκοποίηση και του Cr(III), όπως εξηγήθηκε λεπτομερώς στο τρίτο κεφάλαιο του πειραματικού μέρους. Η εύρεση των βέλτιστων συνθηκών είναι μια αρκετά σύνθετη και χρονοβόρα διαδικασία, η οποία μάλιστα για να αντιμετωπιστεί με επιτυχία χρειάστηκε τη χρήση πολυπαραμετρικής προσέγγισης με στατιστικά προγράμματα (Central Composite Design, Statistica κ.τ.λ.) ενώ τελικά πρέπει να χρησιμοποιηθούν συμβιβαστικές τιμές.

Όπως φαίνεται και στην σχηματική πορεία του Πίνακα 5.1., στην περίπτωση της ειδοταυτοποίησης του χρωμίου με χημειοφωταύγεια, μετά από εκχύλιση σημείου νεφέλωσης, η ποσότητα του EDTA που χρησιμοποιείται κατά την πορεία της εκχύλισης είναι 100 φορές μικρότερη από αυτήν των προηγούμενων πειραμάτων (0,02 έναντι 2 mg l⁻¹). Η ποσότητα

αυτή δεν είναι αρκετή ώστε να συμπλέξει πλήρως τα συνυπάρχοντα μεταλλικά ιόντα. Έτσι είναι πιθανόν, ότι στο μικυλλιακό εκχύλισμα περιέχονται μαζί με τα είδη του χρωμίου και μικρές ποσότητες στοιχείων όπως σίδηρος, ψευδάργυρος, χαλκός κ.τ.λ. τα οποία αφθονούν στα πραγματικά δείγματα και που συμπλέκονται ισχυρά με το APDC. Ο προσδιορισμό του χρωμίου με χημειοφωταύγεια δίνει τη δυνατότητα να χρησιμοποιηθεί για δεύτερη φορά το EDTA ώστε να ολοκληρώσει την απομάκρυνση των παρεμποδίσεων. Η παρουσία του EDTA στο φορέα και στο αντιδραστήριο της διάταξης ροής οδηγεί στην άμεση σύμπλεξη των παρεμποδιστών (που διέφυγαν από την συμπλοκοποίηση με το EDTA στο στάδιο της εκχύλισης) αναστέλλοντας την καταλυτική τους δράση, ενώ αφήνει ανεπηρέαστο το χρώμιο, το οποίο λόγω της κινητικής του αδράνειας δεν συμπλέκεται με το EDTA⁹.

Η διπλή αυτή χρήση του EDTA κατά την μικυλλιακή εκχύλιση και το στάδιο της ανίχνευσης επέτρεψε την πλήρη άρση των παρεμποδίσεων από ένα πλήθος μετάλλων¹⁸, τα οποία προκαλούσαν σημαντικά προβλήματα στην απευθείας μέτρηση του χρωμίου με χημειοφωταύγεια ακόμη και σε χαμηλές συγκεντρώσεις.

Στον Πίνακα φαίνεται η επίδραση των διαφόρων μετάλλων στο σήμα του χρωμίου ($0,05 \mu\text{g L}^{-1}$) με απευθείας μέτρηση και μετά από μικυλλιακή εκχύλιση. Είναι φανερό, ότι η συνδυασμένη χρήση του EDTA, στο στάδιο της προσυγκέντρωσης και της ανίχνευσης καταργούν απόλυτα τις μέχρι τώρα παρεμποδίσεις.

Σημαντική είναι και η συνεισφορά της μικυλλιακής εκχύλισης στην άρση των παρεμποδίσεων, που προέρχονται από ανιονικά συστήματα και ιδιαίτερα από συμπλεκτικά αντιδραστήρια, όπως τα κιτρικά, τα τρυγικά και άλλα συγγενή ιόντα.

Οι οργανικοί αυτοί υποκαταστάτες δεν παρεμποδίζουν τον προσδιορισμό του χρωμίου, όταν προστεθούν στο δείγμα, διότι δεν προλαβαίνουν να συμπλέξουν το χρώμιο λόγω της κινητικής αδράνειας του τελευταίου. Όταν όμως προϋπάρχουν στο

Πίνακας 5.2 : Σύγκριση της παρεμποδιστικής δράσης διαφόρων κατιόντων στο σήμα του χρωμίου πριν και μετά από μικυλλιακή εκχύλιση, παρουσία EDTA. Λουμινόλη 0,15 g L⁻¹, H₂O₂ 0,6 g L⁻¹, pH 10,5.

Μέταλλο	Συγκέντρωση (μg L ⁻¹)	Σχετική Ένταση Χημειοφωταύγειας	
		Χωρίς Εκχύλιση	Με Εκχύλιση
Co(II)	0,1	135	100
Co(II)	0,3	180	101
Co(II)	0,5	230	103
Fe(III)	2	140	100
Fe(III)	4	175	100
Fe(III)	5	200	102
Fe(II)	6	140	100
Fe(II)	12	190	100
Sn(IV)	5	90	100
Sn(IV)	15	70	98
Sn(IV)	20	40	95
Mg(II)	100	100	100
Ca(II)	100	100	100
Zn(II)	100	100	100
Ni(II)	100	100	100
Cu(II)	100	100	100

αρχικό δείγμα (που είναι πολύ συνηθισμένο και αναμενόμενο σε φυσικά νερά και βιολογικά ή φαρμακευτικά δείγματα), τότε σχηματίζουν με το χρώμιο σταθερότατα σύμπλοκα, τα οποία αναστέλλουν πλήρως την καταλυτική του δράση πάνω στο σύστημα της λουμινόλης. Με την εφαρμογή της μικυλλιακής εκχύλισης, ακόμα και μετά το σχηματισμό των συμπλόκων αυτών, είναι δυνατή η διάσπασή τους και η συμπλοκοποίηση του χρωμίου με το APDC.

Για να αποδειχθεί αυτή η υπόθεση έγιναν τα εξής πειράματα: Σε μια σειρά πρότυπων διαλυμάτων Cr(III) συγκέντρωσης 0,05 μg L⁻¹ προστέθηκαν διάφορα αντιδραστήρια, που

σχηματίζουν με το χρώμιο σταθερά σύμπλοκα (όπως γλυκίνη, κιτρικά, τρυγικά, φωσφορικά, φθοριούχα κ.τ.λ.). Τα διαλύματα αυτά παρέμειναν για 3 ημέρες σε θερμοκρασία δωματίου, ώστε να ολοκληρωθεί η συμπλοκοποίηση του χρωμίου, η οποία αν και θερμοδυναμικά ευνοούμενη είναι αργή. Τα διαλύματα αυτά αναλύθηκαν αρχικά απευθείας με μέτρηση της παραγόμενης χημειοφωταύγειας του συστήματος Λουμινόλη- H_2O_2 και στη συνέχεια μετά από εκχύλιση σημείου νεφέλωσης. Τα αποτελέσματα φαίνονται στον Πίνακα 5.3.

Πίνακας 5.3 : Επίδραση συμπλεκτικών αντιδραστηρίων στην καταλυτική δράση του χρωμίου πριν και μετά από εκχύλιση σημείου νεφέλωσης. Λουμινόλη $0,15 \text{ g L}^{-1}$, H_2O_2 $0,6 \text{ g L}^{-1}$, pH 10,5. Triton X-114 $1,0 \text{ g L}^{-1}$, APDC $0,6 \text{ mg L}^{-1}$.

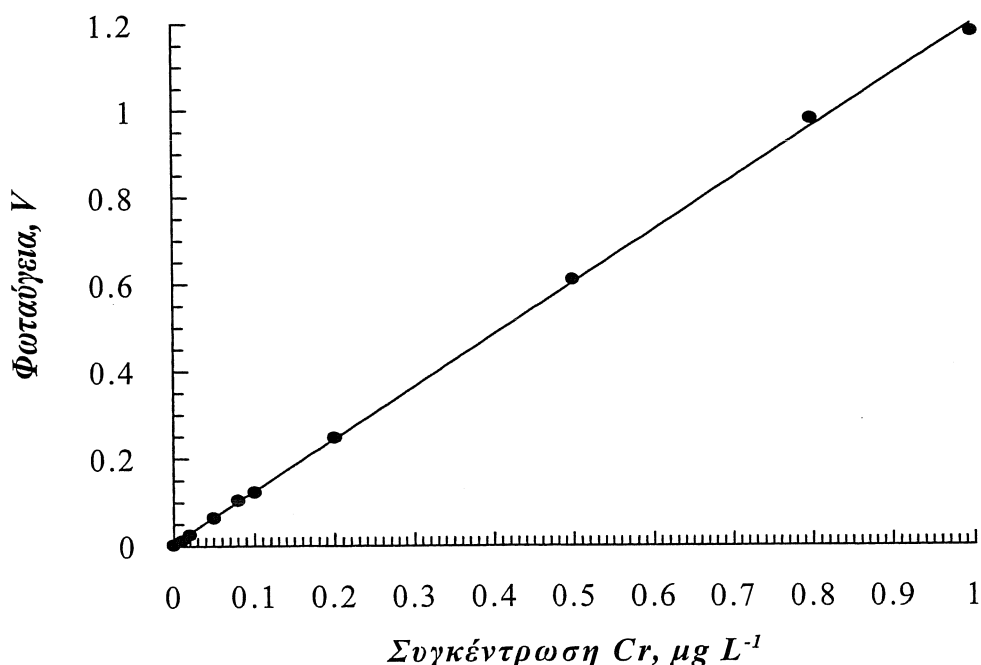
Υποκαταστάτης*	Σχετική Ένταση Χημειοφωταύγειας	
	Χωρίς Εκχύλιση	Με Εκχύλιση
Κανένας	100	100
Γλυκίνη	10	99
Αλανίνη	15	98
Σερίνη	8	95
Τρυγικά	0	95
Κιτρικά	3	96
Φωσφορικά	50	100
Φθοριούχα	70	100
Χουμικά	4	98
Φουλβικά	4	98
*Συγκέντρωση υποκαταστάτη $10 \mu\text{g L}^{-1}$		

Όπως φαίνεται στον Πίνακα 5.3, η εφαρμογή της μικυλλιακής εκχύλισης καταργεί την παρεμπόδιση και επιτρέπει τον προσδιορισμό του συνολικού χρωμίου, δίνοντας έτσι και μια δυνατότητα εκτίμησης της ποσότητας του δεσμευμένου και του ελεύθερου χρωμίου στο αρχικό δείγμα. Ο βασικότερος λόγος που συμβαίνει αυτό είναι, ότι από τις διάφορες ανταγωνιστικές αντιδράσεις συμπλοκοποίησης, αυτή που οδηγεί στο υδρόφοβο σύμπλοκο

ευνοείται, καθώς μετατοπίζεται συνεχώς προς το προϊόν, το οποίο απομακρύνεται από την ισορροπία λόγω του εγκλωβισμού του στα μικύλλια. Στη συνέχεια το σύμπλοκο του χρωμίου με το APDC επαναδιαλύεται στον χρησιμοποιούμενο διαλύτη ο οποίος περιέχει μεθανόλη και ανιόντα OH^- που, λόγω του μικρού μεγέθους και της κινητικότητας που τα διακρίνει, τα συστατικά αυτά εισέρχονται στη σφαίρα ένταξης του Cr(III) αντικαθιστώντας το APDC και κάνοντας το χρώμιο ιδιαίτερα δραστικό, ώστε να καταλύει με επιτυχία την αντίδραση της λουμινόλης με το H_2O_2 .

5.4.4 ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΣΗ ΚΑΙ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ.

Η μέθοδος βαθμονομήθηκε με την εφαρμογή της διαδικασίας προσυγκέντρωσης και μέτρησης σε πρότυπα διαλύματα των δύο οξειδωτικών καταστάσεων του χρωμίου από αρχικό όγκο 10 mL. Τα αναλυτικά χαρακτηριστικά της μεθόδου παρουσιάζονται στον Πίνακα 5.4. Η εξίσωση της καμπύλης αναφοράς που προκύπτει από τα ύψη των κορυφών της διάταξης ροής



Σχήμα 5.11 : Καμπύλη αναφοράς για την ειδοταυτοποίηση του χρωμίου μετά από εκχύλιση σημείου νεφέλωσης και ανίχνευση με χημειοφωταύγεια. . Λουμινόλη $0,15 \text{ g L}^{-1}$, H_2O_2 $0,6 \text{ g L}^{-1}$, pH 10,5, Triton X-114 $1,0 \text{ g L}^{-1}$, APDC $0,6 \text{ mg L}^{-1}$.

είναι $Y = 1.194 C + 0,006$, όπου C είναι η συγκέντρωση του χρωμίου σε $\mu\text{g L}^{-1}$. Η γραμμική περιοχή συγκεντρώσεων και για τα δύο είδη χρωμίου είναι $0,01 - 1 \mu\text{g L}^{-1}$. Σύμφωνα με τη

βιβλιογραφία οι συντελεστές κατανομής των υδρόφοβων συμπλόκων στα μικύλλια είναι πολύ μεγάλοι ακόμα και σε σύγκριση με τα υδρόφοβα οργανικά μόρια. Έτσι εξασφαλίζεται η ποσοτική εκχύλιση του χρωμίου από την υδατική φάση στο μικύλλιο. Η προσυγκέντρωση που επιτυγχάνεται με τη μέθοδο αυτή έχει ένα συντελεστή 50.

Πίνακας 5.4 : Παράμετροι αναλυτικού ενδιαφέροντος για την ειδοταυτοποίηση του Χρωμίου με την προτεινόμενη μέθοδο. Λουμινόλη $0,15 \text{ g L}^{-1}$, H_2O_2 $0,6 \text{ g L}^{-1}$, pH 10,5. Triton X-114 $1,0 \text{ g L}^{-1}$, APDC $0,6 \text{ mg L}^{-1}$.

Παράμετρος	Αναλυτικά Χαρακτηριστικά
Λόγος Φάσεων	0,035
Συντελεστής Προσυγκέντρωσης	50
Συντελεστής Ανάκτησης	≈ 1
Όριο Ανίχνευσης / $\mu\text{g l}^{-1}$	0,003
Όριο Ποσοτικοποίησης / $\mu\text{g l}^{-1}$	0,01
Τυπική Απόκλιση (%)	2,2
Εξίσωση Συμμεταβολής, C($\mu\text{g l}^{-1}$)	$I \text{ (V)} = 0,006 + 1,194 C$
Συντελεστής Γραμμικής Συσχέτισης (r)	0,9997
Γραμμική Περιοχή / $\mu\text{g l}^{-1}$	0,01 – 1,0

Η ακρίβεια και η επαναληπτικότητα της μεθόδου προσδιορίστηκαν με την ανάλυση πενταπλών δειγμάτων χρωμίου συγκέντρωσης $0,05 \mu\text{g L}^{-1}$. Η σχετική τυπική απόκλιση για τη

συγκέντρωση αυτή είναι 2,2 % ανεξάρτητα από το προσδιοριζόμενο είδος χρωμίου. Τα όρια ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης της μεθόδου (0,003 και 0,01 $\mu\text{g L}^{-1}$) είναι τα μικρότερα που έχουν αναφερθεί για την ειδοταυτοποίηση και την επί μέρους μέτρηση των ειδών του χρωμίου, ενώ η απουσία παρεμποδίσεων ενισχύει την εφαρμοσιμότητα της μεθόδου.

5.4.5 ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΤΗΣ ΠΡΟΤΕΙΝΟΜΕΝΗΣ ΤΕΧΝΙΚΗΣ ΣΤΗΝ ΠΡΟΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΚΑΙ ΕΙΔΟΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΧΡΩΜΙΟΥ ΣΕ ΠΡΑΓΜΑΤΙΚΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ.

Ο πρωταρχικός στόχος για την ανάπτυξη αυτής της μεθόδου ήταν η ειδοταυτοποίηση του Χρωμίου σε δείγματα θαλασσινού νερού, νερού ποταμών αλλά και αποβλήτων βιολογικού καθαρισμού μετά από αραίωση, ώστε να αποφευχθούν τα φαινόμενα συγκαταβύθισης. Έτσι σε αρχικά δείγματα της παραπάνω προέλευσης γίνεται αραίωση κατά 10-100 φορές, ώστε οι συγκεντρώσεις του χρωμίου να βρεθούν στην γραμμική περιοχή και η ανάλυση ακολουθεί την πορεία που περιγράφεται στην παράγραφο 5.3.3. Παράλληλα επιχειρείται η ειδοταυτοποίηση του χρωμίου με τις εναλλακτικές πορείες, που προτείνονται στην ίδια παράγραφο.

Αποδεικνύεται, ότι και οι τρεις πορείες είναι εξίσου αποτελεσματικές για το Cr(VI) καθώς και για τα εννυόμενα δείγματα. Στην περίπτωση όμως της ανάλυσης του Cr(III) σε πραγματικά δείγματα η μοναδική πορεία που δίνει σωστά αποτελέσματα είναι η προτεινόμενη, αφού μέρος του χρωμίου είναι συμπλεγμένο. Στον Πίνακα 5.5 φαίνονται τα αποτελέσματα από την ανάλυση πραγματικών και προσομοιωμένων δειγμάτων με την προτεινόμενη μέθοδο.

5.6 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.

Στο τελευταίο αυτό κεφάλαιο η τεχνική της εκχύλισης σημείου νεφέλωσης συνδυάζεται με τη χημειοφωταύγεια για να δώσει λύση στα προβλήματα, που έχουν παρουσιαστεί κατά καιρούς στη βιβλιογραφία για την ειδοταυτοποίηση του χρωμίου και με τις δύο τεχνικές. Από τα αποτελέσματα αποδεικνύεται, ότι πράγματι ο συνδυασμός αυτός αποτελεί μια σημαντική βελτίωση των μέχρι τώρα

Πίνακας 5.5 : Αποτελέσματα ανάλυσης ειδοκατανοποίησης χρωμίου σε δείγματα νερού άμεσα και μετά από προσθήκη γνωστής ποσότητας. Λουμινόλη $0,15 \text{ g L}^{-1}$, H_2O_2 $0,6 \text{ g L}^{-1}$, pH 10,5. Triton X-114 $1,0 \text{ g L}^{-1}$, APDC $0,6 \text{ mg L}^{-1}$.

Δείγμα	Συγκέντρωση ^a /μg L ⁻¹		Προσθήκη/μg L ⁻¹		Αποτέλεσμα/μg L ⁻¹		Ανάκτηση (%)	
	Cr(III)	Cr(VI)	Cr(III)	Cr(VI)	Cr(III)	Cr(VI)	Cr(III)	Cr(VI)
Νερό Θάλασσας	0,52	3,67	-	5,0	0,52	8,78	100	101
	0,52	3,67	5,0	-	5,45	3,70	99	101
	0,52	3,67	10,0	10,0	10,6	13,5	101	99
Νερό Ποταμού	1,85	2,38	8,0	10,0	10,0	12,5	102	101
	1,85	2,38	20,0	20,0	21,8	22,4	100	100
Απόβλητα Βιολογικού Καθαρισμού	4,4	18,8	5,0	5,0	9,5	23,5	101	99

^aΜέσος όρος τριών μετρήσεων. Τα αποτελέσματα αναφέρονται στο αρχικό δείγμα, πριν την αραιώση.

χρησιμοποιούμενων μεθόδων. Έτσι αίρονται οι μέχρι τώρα παρεμποδιστικοί παράγοντες, ενώ ταυτόχρονα τα όρια ανίχνευσης που επιτυγχάνονται, είναι τα χαμηλότερα, που έχουν αναφερθεί στη σύγχρονη βιβλιογραφία. Τέλος δίνεται η δυνατότητα να προσδιοριστεί μέσω μιας καταλυτικής πορείας το οργανικά δεσμευμένο χρώμιο, χωρίς τον κίνδυνο αλλοίωσης της ειδοκατανομής.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Quina, F.H.; Hinze, W.L., *Ind. Eng. Chem.*, **1999**, 38, 4150-4168.
2. Moreno Cordero, B.; Perez Pavon, J.L.; Garcia Pinto, C.; Fernandez Laespada, E., *Talanta*, **1993**, 40, 1703-1710.
3. Tani, H.; Kamidate, T.; Watanabe, H., *J. Chromatogr. A*, **1997**, 780, 229-241.
4. Paleologos, E.K.; Stalikas, C.D.; Tzouwara-Karayanni, S.M.; Pilidis, G.A.; Karayannis, M.I., *J. Anal. Atom. Spectrom.*, **2000**, 15, 287.
5. Paleologos, E.K.; Stalikas, C.D.; Karayannis, M.I., *Analyst*, **2001**, 126, 389.
6. Paleologos, E.K.; Stalikas, C.D.; Tzouwara-Karayanni, S.M.; Karayannis, M.I., *Anal. Chim. Acta*, **2001**, 436, 49.
7. Fendorf, S.E., *Geoderma*, **1995**, 67, 55.
8. Chang, C.A.; Patterson, H.H.; Mayer, L.M.; Bause, D.E., *Anal. Chem.*, **1980**, 52, 1264.
9. Seitz, W.R.; Suydam, W.W.; Hercules, D.M., *Anal. Chem.*, **1972**, 44, 957.
10. Zhang, Z.; Qin, W.; Liu, S., *Anal. Chim. Acta*, **1995**, 318, 71.
11. Williams, T.; Jones, P.; Ebdon, L., *J. Chromatogr.*, **1989**, 482, 361.
12. Gammelgaard, B., Jøns, O., and Nielsen, B., *Analyst*, **1992**, 117, 637.
13. Gammelgaard, B., Liao, Y-p., and Jøns, O., *Anal. Chim. Acta*, **1997**, 354, 107.
14. Camara, C.; Cornelis, R.; Quevauviller, P., *Trends Anal. Chem.*, **2000**, 19, 189.
15. Vercoutere, K.; Cornelis, R.; Mees, L.; Quevauviller, P., *Analyst*, **1998**, 123, 965.
16. Camara, C.; Quevauviller, P.; Palacios, M.A.; Cobo, M.G.; Munoz, R., *Analyst*, **1998**, 123, 947.
17. Patterson, H.H.; Bause, D.E., *Anal. Chem.*, **1979**, 51, 2289.
18. Delumyea, R.; Hartkopf, A.V., *Anal. Chem.*, **1976**, 48, 1402.
19. Babko, A.K.; Lukovskaya, N.M., *Zh. Anal. Chim.*, **1962**, 17, 50.

Summary

Chapter 1: A relatively simple, sensitive, selective, automatic fluorimetric method for the simultaneous determination of chromium(III) and chromium(VI) by flow injection analysis has been developed. The method is based on the selective oxidation of the non-fluorescing reagent 2-(α -pyridyl)thioquinaldinamide (PTQA) which with Cr(VI) yields an intensely fluorescent product ($\lambda_{\text{ex}}=360\text{nm}$; $\lambda_{\text{em}}=500\text{nm}$). Cr(III) is oxidized, on line, to Cr(VI) with sodium-meta-periodate and subsequently treated with PTQA. Fluorescence due to the sum of Cr(III)-Cr(VI) is measured and therefore Cr(III) is determined from the difference in fluorescence values. The various analytical parameters, such as effect of acidity, flow rate, sample volume, temperature, reagent concentration and interfering species were studied. Kinetic studies using both the Stopped Flow Technique and the FIA procedure were utilised in order to study and optimise the oxidation conditions for Cr(III) on the basis of its oxidation efficiency. The calibration graphs were rectilinear in the ranges of 0.1 to 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$ for Cr(VI) and 0.1 to 1.0 $\mu\text{g mL}^{-1}$ for Cr(III), respectively. The method was successfully verified by performing recovery experiments of Cr in several Standard Reference Materials(peach leaves, sediments and tea), and applied for speciation analysis of Cr(III)-Cr(VI) to some environmental waters(mineral, tap and distilled water), food sample (tomato juice) and in synthetic mixtures. Up to 30 samples per hour can be analyzed with a relative precision of ca. 0.1 - 2%.

Chapter 2: Aqueous solutions of most non-ionic surfactant micelles when heated above a temperature known as cloud point, become turbid. Above this temperature the solution separates into two distinct phases with the very small one composed almost totally of the surfactant

including a small volume of water. This approach is applied herein to perform metal speciation, after the studied metallic forms react with suitable ligands for the formation of hydrophobic complexes which subsequently entrapped in the surfactant micelles. As an analytical demonstration, trace concentrations of Cr(III) and Cr(VI) were conveniently detected in samples with complex matrix, such as sea water without any laborious and expensive treatment using flame atomic absorption spectrometry. The speciation of Cr is performed using as surfactant Triton X-114 and as chelating agents, ammonium pyrrolidinedithiocarbamate for Cr(VI) and 8-Hydroxyquinoline for Cr(III). Analytical curves were rectilinear up to concentrations of $130 \mu\text{g l}^{-1}$ for Cr(III) and $85 \mu\text{g l}^{-1}$ for Cr(IV) with detection limits of $1.4 \mu\text{g l}^{-1}$ and $0.65 \mu\text{g l}^{-1}$, respectively. The method affords recoveries in the range 96-104 % and relative standard deviation lower than 2.2 %. It is proved that the method can be successfully employed as an alternative to the commonly used preconcentration and speciation analytical techniques. By selecting the appropriate complexing agent(s) other metal speciations are feasible provided that some detailed study should precede the application.

Chapter 3: This article outlines an analytical method towards the analysis of the species of Cr employing suitable chelating agent and the cloud point phenomenon for Cr(VI) and total Cr analysis. The method encompasses preconcentration of metal chelates followed by flame atomic absorption spectrometry analysis. The chelating agent chosen for this task is the ammonium-pyrrolidine-dithiocarbamate which reacts with either Cr(VI) or total Cr under specific experimental conditions. The condensed surfactant phase with the metal chelate(s) is introduced into a flame atomic absorption spectrometer, whereby discrimination of Cr species is feasible by calculating Cr(III) concentration from the difference between total Cr and that of Cr(VI). A multivariate design was employed to study the variables affecting the overall analytical performance for total Cr assay. Analytical curves are rectilinear up to $0-100 \mu\text{g l}^{-1}$ for both oxidation states of the metal. The limits of detection are $0.6 \mu\text{g l}^{-1}$ and the relative standard deviation at concentrations of $30 \mu\text{g l}^{-1}$ for both species lies around 2.0 %. Ultimately, the method was validated by testing a pertinent reference material certified for both Cr species.

Appreciably high recoveries were attained, in the range of 96-107 %, for the environmental and biological samples tested.

Chapter 4: A new method based on the cloud point extraction(CPE) technique was applied for the differentiation and the selective determination of Cr species. Cr(III) reacts with 8-Hydroxyquinoline(8-HQ) in a surfactant solution yielding a hydrophobic complex, which is entrapped 'in situ' in the surfactant micelles. The Cr(VI) assay is based on its reduction to Cr(III) by sulfite which subsequently reacts with 8-HQ in a similar manner. In order to increase the sample throughput a flow injection analysis (FIA) system allied to fluorometric detection was employed. Using a simple FIA configuration the greatest sensitivity was obtained, which under the optimum working conditions, allows the reliable determination of Cr(III) and/or Cr(VI) at levels as low as $0.2 \mu\text{g l}^{-1}$, in various samples even in those with complex matrix (sea water pharmaceuticals). The whole procedure is straightforward, without any laborious, expensive and hazardous treatment and was proved to tolerate interferences among the cations and anions tested. Moreover, the analytical approach offers distinct advantages over the commonly used analytical methods especially for large number of samples with complex matrixes, which would unavoidably require arduous and delicate pre-treatment.

Chapter 5: A sensitive and cost-effective method for the speciation analysis of chromium(III) and chromium(VI) was developed combining the cloud point extraction-preconcentration procedure with chemiluminescence detection in a flow injection assembly. Differentiation of the two species was achieved through their different reaction conditions with ammonium pyroldine-dithiocarbamate(APDC) while separation, along with a 50-fold preconcentration, was performed with the CPE. The parameters of the CPE and the luminescence reaction were optimized and adjusted to a FIA manifold. Furthermore enhancement of the signal was achieved in the presence of bromide ions while interference by several ions was easily alleviated by the use of EDTA. Several analysis patterns were investigated and they are presented shortly as alternatives to the overall scheme. The detection limit was 3 ng l^{-1} with a respective quantitation limit of 10 ng l^{-1} . Precision of determination even at the low ng l^{-1} level was around 2.2%. The method was applied for the speciation of chromium in river, sea, and wastewater with good results.

Περίληψη

1^ο Κεφάλαιο: Στην εργασία αυτή περιγράφεται η ανάπτυξη μιας πρωτότυπης, σχετικά απλής, ευαίσθητης και εκλεκτικής μεθόδου, η οποία βρίσκει εφαρμογή στο σύγχρονο προσδιορισμό των ιόντων Cr(III) και Cr(VI)- υπό τη μορφή $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ με χρήση της τεχνικής της ανάλυσης με έγχυση δείγματος σε συνεχή ροή(F.I.A). Η προτεινόμενη μέθοδος βασίζεται στη χρησιμοποίηση της ιδιότητας του οργανικού αντιδραστηρίου, (2-α-πυριδυλ)θειοκινναλδιναμιδίου(P.T.Q.A) να οξειδώνεται εκλεκτικά από το Cr(VI) σε ισχυρά όξινο περιβάλλον προς ένα εντόνως φθορίζον προϊόν, με χαρακτηριστικά μήκη κύματος διεγέρσεως ($\lambda_{\text{ex}}=360 \text{ nm}$) και εκπομπής ($\lambda_{\text{em}}=500 \text{ nm}$), ενώ η ανηγμένη του μορφή δε φθορίζει.

Το Cr(III) δε δίνει την αντίδραση παρά μόνο αφού οξειδωθεί σε Cr(VI). Η οξείδωση αυτή επιτυγχάνεται εν ροή στο σύστημα της F.I.A, με την επίδραση αλκαλικού διαλύματος μετα-πυρωδικού νατρίου. Το προϊόν της οξείδωσης Cr(VI), αντιδρά με το P.T.Q.A εκπέμποντας ακτινοβολία φθορισμού με τα ίδια χαρακτηριστικά όπως προηγουμένως. Κατά συνέπεια το μετρούμενο σήμα οφείλεται, την πρώτη φορά στη δράση αποκλειστικά του Cr(VI), ενώ τη δεύτερη στη δράση του συνολικού χρωμίου μετά την οξείδωση του Cr(III) σε Cr(VI). Έτσι το Cr(III) μπορεί να προσδιοριστεί έμμεσα από τη διαφορά των δύο σημάτων.

Για την εύρεση των βέλτιστων πειραματικών συνθηκών, μελετήθηκαν διάφορες αναλυτικές παράμετροι, οι οποίες επηρεάζουν τόσο το υπό μελέτη σύστημα όσο και τη διάταξη της F.I.A. Έτσι μελετήθηκε η επίδραση της οξύτητας, οι ταχύτητες ροής των διαφόρων διαλυμάτων, ο όγκος του εγχόμενου δείγματος, η θερμοκρασία, οι συγκεντρώσεις των αντιδραστηρίων και η παρεμποδιστική δράση διαφόρων ουσιών.

Ως συνέπεια της μελέτης αυτής κατασκευάστηκαν καμπύλες αναφοράς στην περιοχή συγκεντρώσεων 0,1 – 10 $\mu\text{g/ml}$ για το Cr(VI) και 0.1 – 1,0 $\mu\text{g/ml}$ για το Cr(III). Η προτεινόμενη μέθοδος ελέγχθηκε για την αξιοπιστία της, με την εκτέλεση πειραμάτων ανάκτησης του Cr από διάφορα πιστοποιημένα υλικά αναφοράς (φύλλα ροδάκινου, ιζήματα, τέια). Εφαρμόσθηκε επίσης στον ταυτόχρονο προσδιορισμό Cr(III) - Cr(VI), σε διάφορα περιβαλλοντικά ύδατα (μεταλλικό νερό, νερό βρύσης και απεσταγμένο), σε δείγματα τροφίμων (τοματοχυμός) καθώς και σε συνθετικά μίγματα.

Με τη μέθοδο αυτή δίνεται η δυνατότητα ανάλυσης περίπου 30 δειγμάτων την ώρα, με μια σχετική ακρίβεια 0,1 – 2%.

2^ο Κεφάλαιο: Στο κεφάλαιο αυτό περιγράφεται η ανάπτυξη της τεχνικής του σημείου νεφέλωσης (Cloud Point) και η προσαρμογή της στην ειδοταυτοποίηση μεταλλικών στοιχείων. Τα προς ανάλυση είδη αντιδρούν με κατάλληλους, οργανικούς συνήθως υποκασταστάτες σχηματίζοντας ομοιοπολικά μοριακά σύμπλοκα, τα οποία λόγω του υδρόφοβου χαρακτήρα τους εγκλωβίζονται μέσα στα μικύλλια της επιφανειοδραστικής ουσίας. Ειδικότερα γίνεται ειδοταυτοποίηση ιχνοποσοτήτων Cr(III) και Cr(VI) σε δείγματα, με σκοπό την ανάλυση δειγμάτων με σύνθετα υποστρώματα, όπως το θαλασσινό νερό. Η ειδοταυτοποίηση του Χρωμίου πραγματοποιείται με συμπλοκοποίηση του Cr(VI) και του Cr(III) με τα κοινά συμπλεκτικά αντιδραστήρια πυρρολιδίνο-διθειοκαρβαμιδικό αμμώνιο (APDC) και 8-Υδροξυκινολίνη (8-HQ) και εγκλωβισμό των υδρόφοβων συμπλόκων στα μικύλλια του μη ιονικού τασενεργού Triton X-114, που σχηματίζονται με τη μέθοδο του σημείου νεφέλωσης. Για τον ποσοτικό προσδιορισμό χρησιμοποιείται φλογοφωτομετρία ατομικής απορρόφησης. Μελετήθηκαν σχολαστικά διάφορες παράμετροι, που επηρεάζουν τόσο το σχηματισμό των συμπλόκων και των μικυλλίων όσο και την απόδοση της εκχύλισης και του διαχωρισμού των ειδών του χρωμίου. Με πρότυπα διαλύματα Cr(III) και Cr(VI) έγιναν καμπύλες αναφοράς, ενώ ταυτόχρονα προσδιορίστηκαν και οι συντελεστές προσυγκέντρωσης. Οι περιοχές γραμμικότητας που προέκυψαν είναι 5-130 $\mu\text{g L}^{-1}$ για το Cr(III) και 2-85 $\mu\text{g L}^{-1}$ για το Cr(VI). Τα αντίστοιχα όρια ανίχνευσης των δύο ειδών είναι 1,4 και 0,65 $\mu\text{g L}^{-1}$. Η παρεμποδιστική δράση διαφόρων μεταλλικών ιόντων αλλά και άλλων αντιδραστηρίων, που απαντούν σε πραγματικά δείγματα χρωμίου μελετήθηκε με τη μέθοδο των

Περίληψη

μικτών διαλυμάτων. Οι συντελεστές ανάκτησης της μεθόδου κυμαίνονται από 96-104%, ενώ η τυπική της απόκλιση είναι 2,2% [$n=5$ για $10 \mu\text{g L}^{-1}$ Cr(III) ή Cr(VI)]. Η εφαρμογή της μεθόδου σε πραγματικά δείγματα έδωσε πολύ καλά αποτελέσματα επιτρέποντας τον προσδιορισμό σε επίπεδα κοντά στο $1 \mu\text{g L}^{-1}$ με φλογοφωτομετρία ατομικής απορρόφησης, στην οποία το όριο ανίχνευσης για τον προσδιορισμό του χρωμίου χωρίς προσυγκέντρωση είναι περίπου $100 \mu\text{g L}^{-1}$. Είναι έτσι φανερό, ότι αξιοποιείται η δυνατότητα προσυγκέντρωσης του Cr(VI) κατά 120 και του Cr(III) κατά 75 φορές σε σχέση με τη συγκέντρωσή τους στα αρχικά δείγματα.

3^ο Κεφάλαιο: Όπως έχει ήδη αναφερθεί, η τοξικότητα του χρωμίου εξαρτάται από τη μορφή, στην οποία βρίσκεται και ειδικότερα από την οξειδωτική του κατάσταση. Στο κεφάλαιο αυτό προτείνεται μια μέθοδος για την ανάλυση ειδοταυτοποίησης των σταθερών οξειδωτικών καταστάσεων του χρωμίου με χρήση ενός μόνο αντιδραστηρίου μετά από εκχύλιση και προσυγκέντρωση μέσω νεφελωμάτων. Η διαφοροποίηση των δύο οξειδωτικών καταστάσεων γίνεται με απλή μεταβολή του pH και προσθήκη αιθυλενοδιαμινοτετραοξικού οξέος (EDTA). Το αντιδραστήριο που χρησιμοποιήθηκε είναι το πυρρολιδινοδιθειοκαρβαμιδικό αμμώνιο (ammonium pyrrolidinedithiocarbamate, APDC), το οποίο με κατάλληλη ρύθμιση των πειραματικών συνθηκών αντιδρά μόνο με το Cr(VI) ή και με τις δύο μορφές σχηματίζοντας υδρόφοβα σύμπλοκα. Τα σύμπλοκα αυτά εγκλωβίζονται, απομονώνονται και προσυγκεντρώνονται στα μικύλλια μιας τασηνεργού ουσίας (Triton X-114). Η μικυλλιακή φάση, μετά την απομόνωση και διαλυτοποίησή της σε μεθανόλη, εισάγεται στη φλόγα ενός καυστήρα ατομικής απορρόφησης και ανάλογα με την πορεία απομόνωσης που έχει ακολουθηθεί, μετρείται το Cr(VI) ή το συνολικό Cr. Το Cr(III) υπολογίζεται από τη διαφορά του Cr(VI) από το συνολικό χρώμιο. Λόγω της αλληλεπίδρασης των διαφόρων παραμέτρων, οι οποίες επηρεάζουν τη διάκριση των δύο μορφών του χρωμίου και τη βέλτιστη απόδοση της προτεινόμενης μεθόδου, παράλληλα με την συνήθη μονοπαραμετρική προσέγγιση έγινε σχεδιασμός μιας πολυπαραμετρικής μελέτης ώστε να εκτιμηθούν οι παραπάνω αλληλεπιδράσεις. Στις βέλτιστες συνθήκες που δημιουργήθηκαν, έγιναν καμπύλες αναφοράς κοινές πλέον και για τα δύο είδη χρωμίου. Σε αυτές τις καμπύλες αναφοράς η περιοχή γραμμικότητας ήταν $2-100 \mu\text{g L}^{-1}$ και τα όρια ανίχνευσης $0,6 \mu\text{g L}^{-1}$. Πιστοποίηση της αξιοπιστίας της προτεινόμενης τεχνικής έγινε με

πειράματα ανάκτησης σε περιβαλλοντικά και βιολογικά δείγματα, τα οποία έδωσαν πολύ καλές αποδόσεις (96-107%) και με ανάλυση πιστοποιημένων υλικών αναφοράς.

4^ο Κεφάλαιο: Στην εργασία αυτή εφαρμόστηκε μια πρωτότυπη μέθοδος για τη διαφοροποίηση και τον εκλεκτικό προσδιορισμό των οξειδωτικών καταστάσεων του χρωμίου. Το Cr(III) αντιδρά με την 8-Υδροξυκινολίνη σε ένα διάλυμα, το οποίο περιέχει μια τασενεργό ουσία και σχηματίζει ένα υδρόφοβο μοριακό σύμπλοκο, το οποίο εγκλωβίζεται στα μικύλλια του τασενεργού *‘εν τω γεννάσθαι’*. Στην περίπτωση του Cr(VI), που δεν αντιδρά με την 8-υδροξυκινολίνη, αξιοποιείται η αναγωγή του σε Cr(III) παρουσία θειωδών ιόντων και στη συνέχεια η συμπλοκοποίησή του από την 8-Υδροξυκινολίνη. Για να επιτευχθεί αυξημένη ταχύτητα ανάλυσης και μεγάλη ευαισθησία η όλη διαδικασία προσαρμόστηκε σε ένα σύστημα ροής με έγχυση δείγματος και φθορισμομετρική ανίχνευση. Το φθορίζον σύστημα επιλέχθηκε κατά τέτοιο τρόπο, ώστε να επιτρέπει αξιόπιστα τον ταυτόχρονο προσδιορισμό Cr(III), Cr(VI) και συνολικού Cr, σε επίπεδα που βρίσκονται κάτω από το όριο του $\mu\text{g L}^{-1}$ και συγκεκριμένα $0,2 \mu\text{g L}^{-1}$. Η συνολική διαδικασία είναι απλή και επιτρέπει τον προσδιορισμό χωρίς ιδιαίτερη προσπάθεια ή επικινδυνότητα σε φυσικά και φαρμακευτικά δείγματα, ενώ είναι ανεπηρέαστη από την παρεμπόδιση μεγάλου αριθμού ανιόντων και κατιόντων.

5^ο Κεφάλαιο: Στο κεφάλαιο αυτό περιγράφεται μια εξαιρετικά ευαίσθητη και απλή μεθοδολογία για την ανάλυση ειδοταυτοποίησης του χρωμίου στην +3 και την +6 οξειδωτική κατάσταση. Η μέθοδος βασίζεται στον συνδυασμό του προσδιορισμού του χρωμίου με χημειοφωταύγεια και της προσυγκέντρωσης με την τεχνική της εκχύλισης με τη βοήθεια μικυλλιακών νεφελωμάτων. Η διαφοροποίηση των δύο ειδών του χρωμίου επιτυγχάνεται μέσω των διαφορετικών συνθηκών, στις οποίες αυτά αντιδρούν με το πυρρολιδινο-διθειοκαρβαμιδικό αμμώνιο(APDC), ενώ ο διαχωρισμός γίνεται με την εκχύλιση σημείου νεφέλωσης, ταυτόχρονα με μια προσυγκέντρωση της τάξης των 50. Οι συνδυασμένοι παράγοντες που επηρεάζουν την εκχύλιση και την παραγωγή του χημειοφωταυγούς σήματος βελτιστοποιήθηκαν αναφορικά με ένα σύστημα ανάλυσης με έγχυση δείγματος σε ροή (flow injection analysis F.I.A). Επιπλέον το σήμα ενισχύθηκε με τη χρήση ανιόντων αλογόνων και ειδικότερα βρωμιούχων, ενώ η παρεμποδιστική δράση διαφόρων ιόντων αντιμετωπίστηκε με επιτυχία με τη χρήση EDTA. Με

σκοπό τη βέλτιστη και πιο αξιόπιστη πορεία ανάλυσης εξετάστηκαν διάφορες εναλλακτικές πειραματικές ακολουθίες. Τα αποτελέσματα της προσέγγισης αυτής έδωσαν τα εντυπωσιακά χαμηλά όρια ανίχνευσης 3 ng L^{-1} με αντίστοιχο πραγματικό όριο μέτρησης (όριο ποσοτικοποίησης) τα 10 ng L^{-1} που είναι το χαμηλότερο που έχει αναφερθεί στη βιβλιογραφία. Ακόμα και στα χαμηλά αυτά επίπεδα το σφάλμα στην αξιοπιστία των μετρήσεων ήταν της τάξης του 2,2 %. Η ακρίβεια της μεθόδου ελέγχθηκε με την ανάλυση προσομοιωμένων δειγμάτων και εφαρμόστηκε με επιτυχία στον προσδιορισμό του χρωμίου σε νερά ποταμών, θαλασσών και αποβλήτων βιολογικού καθαρισμού.

Δημοσιεύσεις

Από το περιεχόμενο της διατριβής αυτής προέκυψαν οι παρακάτω δημοσιεύσεις:

1. “ *Speciation Analysis of Cr(III)-Cr(VI) using Flow Injection Analysis with Fluorimetric Detection*”. Paleologos, E.K.; Lafis, S.I.; Tzouwara-Karayanni, S.M.; Karayannis, M.I. *Analyst*, **1998**, 123, 1005-1009.
2. “ *Micelle-mediated methodology for speciation of chromium by flame atomic absorption spectrometry*”. Paleologos, E.K.; Stalikas, C.D.; Tzouwara-Karayanni, S.M.; Pilidis, G.A.; Karayannis, M.I., *J. Anal. At. Spectrom.*, **2000**, 15, 287-291.
3. “ *An optimised single reagent method for the speciation of chromium by flame atomic absorption spectrometry based on surfactant micelle-mediated methodology*”. Paleologos, E.K.; Stalikas, C.D.; Karayannis, M.I., *Analyst*, **2001**, 126, 389-393.
4. “ *Selective speciation of trace chromium through micelle-mediated preconcentration, coupled with micellar flow injection analysis-spectrofluorimetry*”. Paleologos, E.K.; Stalikas, C.D.; Tzouwara-Karayanni, S.M.; Karayannis, M.I., *Anal. Chim. Acta*, **2001**, 436, 49-57.

Από εφαρμογές που στηρίχτηκαν στη διατριβή αυτή προέκυψαν οι ακόλουθες δημοσιεύσεις:

1. “ *Single-sample cloud point determination of iron, cobalt and nickel by flow injection analysis flame atomic absorption spectrometry-application to real samples and certified reference materials*”. Giokas, D.L.; Paleologos, E. K.; Tzouwara-Karayanni, S. M.; Karayannis, M. I., *J. Anal. At. Spectrom.*, 2001, **16**, 521-526.
2. “ *Nonaqueous Catalytic Fluorometric Trace Determination of Vanadium Based on the Pyronine B-Hydrogen Peroxide Reaction and Flow Injection after Cloud Point Extraction*”. Paleologos, E. K.; Koupparis, M. A.; Karayannis, M. I.; Veltsistas, P.G., *Analytical Chemistry*; 2001; **73**(18); 4428-4433.
3. “ *Micelle mediated extraction of magnesium from water samples with trizma chloranilate and determination by flame atomic absorption spectrometry*”. Giokas, D.L.; Paleologos, E. K.; Veltsistas, P.G.; Karayannis, M. I., *Talanta*, *in press*.
4. “ *Micelle mediated methodology for the speciation of free and bound iron in wines by flame atomic absorption spectrometry*”. Paleologos, E. K.; Giokas, D.L.; Tzouwara-Karayanni, S. M.; Karayannis, M. I., *Anal. Chim. Acta*, *in press*.
5. “ *Spectrofluorometric Determination of Vanadium Based on the Formation of a Ternary Complex between Vanadium, Peroxides and 2-a-pyridylthioquinaldinamide. Application to the Determination of Hydrogen Peroxide and Peroxy-acids*”. Paleologos, E. K.; Giokas, D.L.; Tzouwara-Karayanni, S. M.; Karayannis, *Analytical Chemistry in press*.