



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ
ΤΟΜΕΑΣ ΑΝΟΡΓΑΝΗΣ ΚΑΙ ΑΝΑΛΥΤΙΚΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΑΝΑΛΥΤΙΚΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ

**ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΘΕΙΟΥΧΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ ΣΕ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΑ,
ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΑ ΚΑΙ ΒΙΟΛΟΓΙΚΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΜΕΣΩ ΧΡΟΝΙΚΑ
ΕΛΕΓΧΟΜΕΝΗΣ ΦΩΤΟΑΝΑΓΩΓΗΣ ΙΟΝΤΩΝ ΧΡΥΣΟΥ ΣΕ
ΝΑΝΟΣΩΜΑΤΙΔΙΑ**

ΑΝΑΣΤΑΣΙΑ ΚΩΣΤΑΡΑ
ΧΗΜΙΚΟΣ

Μεταπτυχιακή Διατριβή

Ιωάννινα
Ιούλιος, 2018

© 2018 Αναστασία Κωσταρά

Η έγκριση της διπλωματικής εργασίας από το Τμήμα Χημείας της Σχολής Θετικών Επιστημών του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων δεν υποδηλώνει αποδοχή των απόψεων του συγγραφέα (Ν. 5343/32 αρ. 202 παρ. 2).

Ημερομηνία αίτησης της κ. Αναστασίας Κωσταράς: **06-07-2018**

Επιβλέπων μέλος ΔΕΠ: Επίκουρος Καθηγητής, Δημοσθένης Λ. Γκιώκας

Θέμα: «ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΘΕΙΟΥΧΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ ΣΕ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΑ, ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΑ ΚΑΙ ΒΙΟΛΟΓΙΚΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΜΕΣΩ ΧΡΟΝΙΚΑ ΕΛΕΓΧΟΜΕΝΗΣ ΦΩΤΟΑΝΑΓΩΓΗΣ ΙΟΝΤΩΝ ΧΡΥΣΟΥ ΣΕ ΝΑΝΟΣΩΜΑΤΙΔΙΑ»

ΟΡΙΣΜΟΣ ΤΡΙΜΕΛΟΥΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ από τη Γ.Σ.Ε.Σ.:

979/06-07-2018

1. Επίκουρος Καθηγητής, Δημοσθένης Λ. Γκιώκας
2. Καθηγητής, Αθανάσιος Γ. Βλεσσίδης
3. Αναπληρώτης Καθηγητής, Γεράσιμος Μαλανδρίνος

Έγκριση Μεταπτυχιακής Διατριβής στις

Η Πρόεδρος του Τμήματος Χημείας

Καθηγήτρια, Μαρία-Ελένη Λέκκα

Η Γραμματέας του Τμήματος

Ξανθή Τουτουνζόγλου

Αφιερώνεται
στους γονείς μου

ΠΡΟΛΟΓΟΣ – ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα εργασία για την απόκτηση του Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης (Μ.Δ.Ε.) στην εξειδίκευση: «ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗ ΣΤΙΣ ΧΗΜΙΚΕΣ ΚΑΙ ΒΙΟΧΗΜΙΚΕΣ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΕΣ ΣΤΗΝ ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗ ΑΝΑΛΥΤΙΚΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΧΗΜΕΙΑΣ ΚΑΙ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ» εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Αναλυτικής Χημείας στα πλαίσια του αναμορφωμένου Π.Μ.Σ. του Τμήματος Χημείας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.

Σκοπός της εργασίας ήταν η ανάπτυξη μιας απλοποιημένης, φτηνής και γρήγορης μεθόδου, για τον προσδιορισμό θειούχων ενώσεων. Η μέθοδος βασίζεται στην ικανότητά των θειούχων ενώσεων να επιβραδύνουν τη κινητική της φωτοαναγωγής των ιόντων χρυσού σε νανοσωματίδια χρυσού και περιλαμβάνει την παρακολούθηση του χρόνου που απαιτείται για να εμφανιστεί κόκκινος χρωματισμός στο δείγμα, ο οποίος είναι ενδεικτικός του σχηματισμού των νανοσωματιδίων χρυσού. Η εφαρμογή της μεθόδου αξιολογήθηκε στην ανάλυση περιβαλλοντικών, φαρμακευτικών και συνθετικών βιολογικών δειγμάτων.

Στην εκπόνηση της εργασίας αυτής συνέβαλαν σε μεγάλο βαθμό τα μέλη της Τριμελούς Εξεταστικής Επιτροπής, τους οποίους θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά. Ιδιαίτερα, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα μου, Επίκουρο Καθηγητή Δρ. Δημοσθένη Γκιώκα, για την ανάθεση του θέματος, την επίβλεψη και την καθοδήγηση του σε θεωρητικό και πειραματικό επίπεδο κατά τη διάρκεια εκπόνησης της μεταπτυχιακής μου διατριβής καθώς επίσης και για την πολύτιμη βοήθεια και τις συμβουλές του στην επίλυση διάφορων προβλημάτων κατά την πειραματική διαδικασία.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερα τον Καθηγητή κ. Αθανάσιο Βλεσσίδα καθώς και τον Αναπληρωτή Καθηγητή κ. Γεράσιμο Μαλανδρίνο για την πολύτιμη βοήθεια και τις συμβουλές τους, καθώς και για τις εύστοχες παρατηρήσεις τους στο κείμενο της παρούσας μεταπτυχιακής εργασίας.

Θερμές ευχαριστίες οφείλω στον Δρ. Γεώργιο Τσόγκα, στους διδακτορικούς φοιτητές Χολέβα Τατιάνα, Κάπη Φωτεινή και στους μεταπτυχιακούς φοιτητές Γιαννούλα Γεώργιο, Βοτάνη Αλεξία και Τζόκα Στεφανία για την αμέριστη βοήθεια και συμπαράσταση καθώς και την άριστη συνεργασία που μου πρόσφεραν.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω τους γονείς μου Βασίλειο και Αγαθή, που με υπομονή και κουράγιο πρόσφεραν την απαραίτητη ηθική συμπαράσταση για την ολοκλήρωση της μεταπτυχιακής μου εργασίας και στο φίλο μου Σωτήρη και την αδερφή μου Μαρία οποίοι στάθηκαν σημαντικοί αρωγοί στην προσπάθειά μου και με υποστήριξαν σε κάθε φάση της πορείας μου.

Αναστασία Κωσταρά

Ιωάννινα, 2018

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΠΡΩΤΟ. ΝΑΝΟΣΩΜΑΤΙΔΙΑ ΧΡΥΣΟΥ

1.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	2
1.2 ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΣΤΗ ΝΑΝΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ-ΝΑΝΟΧΗΜΕΙΑ	2
1.3 ΝΑΝΟΣΩΜΑΤΙΔΙΑ: ΔΟΜΙΚΕΣ ΜΟΝΑΔΕΣ ΝΑΝΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ	3
1.4 ΝΑΝΟΣΩΜΑΤΙΔΙΑ ΧΡΥΣΟΥ	5
1.5 ΣΥΝΘΕΤΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ ΝΑΝΟΣΩΜΑΤΙΔΙΩΝ ΧΡΥΣΟΥ	6
1.5.1 Φυσικές μέθοδοι	6
1.5.2 Χημικές μέθοδοι.....	7
1.5.3 Φωτοχημική σύνθεση	10
1.6 ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΝΑΝΟΣΩΜΑΤΙΔΙΩΝ ΧΡΥΣΟΥ ΣΤΗΝ ΑΝΑΛΥΤΙΚΗ ΧΗΜΕΙΑ	12
1.6.1 Εφαρμογές που βασίζονται στην συσσωμάτωση των νανοσωματιδίων χρυσού.....	13
1.6.2 Εφαρμογές που βασίζονται στην αποσυσσωμάτωση νανοσωματιδίων χρυσού	14
1.7 ΑΝΑΛΥΤΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ ΠΟΥ ΒΑΣΙΖΟΝΤΑΙ ΣΕ ΝΑΝΟΣΩΜΑΤΙΔΙΑ ΧΡΥΣΟΥ	15

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΔΕΥΤΕΡΟ. ΕΝΩΣΕΙΣ ΘΕΙΟΥ (S)

2.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	19
2.2 ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΕΝΩΣΕΩΝ ΘΕΙΟΥ (S)	19
2.2.1 Υδροθείο (H_2S)	19
2.2.2 Σουλφόνες	20
2.2.3 Θειόλες.....	20
2.2.4 Φωσφοροθειϊκές ενώσεις	22
2.2.5 Διθειοκαρβαμικικές ενώσεις.....	23
2.3 ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΑ ΔΡΑΣΤΙΚΕΣ ΟΥΣΙΕΣ ΠΟΥ ΠΕΡΙΕΧΟΥΝ ΘΕΙΟ.....	26
2.4 ΜΕΘΟΔΟΙ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ ΘΕΙΟΥΧΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ	29
2.5 ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΒΙΟΘΕΙΟΛΩΝ ΜΕ ΝΑΝΟΣΩΜΑΤΙΔΙΑ ΧΡΥΣΟΥ	34
2.5.1 Χρωματομετρική ανίχνευση με βάση AuNPs για αμινοθειόλες	34
2.5.2 Ανίχνευση βιοθειολών μέσω φθορισμού συντονισμού-μεταφοράς ενέργειας (FRET) με νανοσωματίδια χρυσού	37
2.5.3 Ανίχνευση με χημειοφωταύγεια.....	39
2.6 ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΦΥΤΟΦΑΡΜΑΚΩΝ ΜΕ ΝΑΝΟΣΩΜΑΤΙΔΙΑ ΧΡΥΣΟΥ	40
2.6.1 Ανίχνευση οργανοφωσφορικών με νανοσωματίδια χρυσού	40

2.6.2 Ανίχνευση διθειοκαρβαμιδικών με νανοχρωματίδια χρυσού	41
---	----

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΡΙΤΟ. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

3.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	44
3.2 ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ	47
3.3 ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ	47
3.4 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΠΟΡΕΙΑ.....	48
3.4.1 Δείγματα	49

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΕΤΑΡΤΟ. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

4.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	53
4.2 ΒΕΛΤΙΣΤΟΠΟΙΗΣΗ ΤΗΣ ΦΩΤΟΑΝΑΓΩΓΗΣ ΤΟΥ ΧΡΥΣΟΥ	55
4.3 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΕΝΤΑΣΗΣ ΤΗΣ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑΣ	59
4.4 ΧΡΟΝΟΜΕΤΡΗΣΗ ΚΑΙ ΛΗΨΗ ΣΗΜΑΤΟΣ	60
4.5 ΑΠΟΚΡΙΣΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ ΣΕ ΘΕΙΟΥΧΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ	62
4.6 ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ ΚΑΙ ΕΠΙΚΥΡΩΣΗ	68
4.6.1 Προσδιορισμός φαρμάκων που περιέχουν θειούχες ενώσεις	68
4.6.2 Προσδιορισμός βιοθειολών στα βιολογικά υγρά	69
4.6.3 Προσδιορισμός θειούχων φυτοφαρμάκων (παρασιτοκτόνων και μυκητοκτόνων)	71
4.6.4 Προσδιορισμός θειούχων	73
4.7 ΑΝΑΛΥΣΗ ΕΜΒΟΛΙΑΣΜΕΝΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ	74
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	76
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	77
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	88
SUMMARY	89

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΠΡΩΤΟ

ΝΑΝΟΣΩΜΑΤΙΔΙΑ ΧΡΥΣΟΥ



1.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

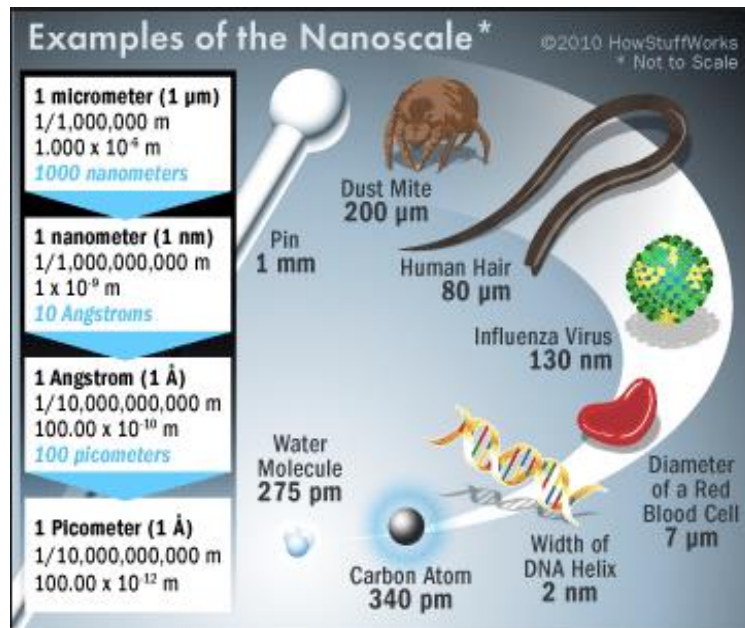
1.2 ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΣΤΗ ΝΑΝΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ-ΝΑΝΟΧΗΜΕΙΑ

Κατά τη διάρκεια της τελευταίας δεκαετίας του 20^{ου} αιώνα, τα νανοϋλικά αποτέλεσαν το επίκεντρο της έρευνας στον τομέα της επιστήμης των υλικών, η οποία στηρίζει την πρόοδό της κατά κύριο λόγο στην εφαρμογή των νανοϋλικών ως τη νέα γενιά λειτουργικών υλικών. Μέσα σε ένα σύντομο χρονικό διάστημα, έχουν συσσωρευτεί πολλές γνώσεις σχετικά με τη σύνθεση και τις ιδιότητες των διάφορων νανοϋλικών, με αποτέλεσμα να αναπτύσσονται καθημερινά νέες τεχνολογίες και εφαρμογές. (εικόνα 1.1)



Εικόνα 1.1: Δομή νανοσωματιδίου (Deepika M., 2015).

Με τον όρο νανοεπιστήμη εννοούμε την επιστήμη που ασχολείται με την δημιουργία, την παραγωγή, τον χειρισμό και την απεικόνιση υλικών που έχουν τουλάχιστον μία χωρική διάσταση στην κλίμακα μεγέθους 1-100 nm. Η νανοτεχνολογία αποτελεί μία συσκευή ή μηχανήμα, προϊόν ή διαδικασία, που βασίζεται σε ατομικά ή πολλαπλά ολοκληρωμένα συστατικά νανοκλίμακας. (εικόνα 1.2)



Εικόνα 1.2. Παραδείγματα μεγεθών στη νανοκλίμακα.

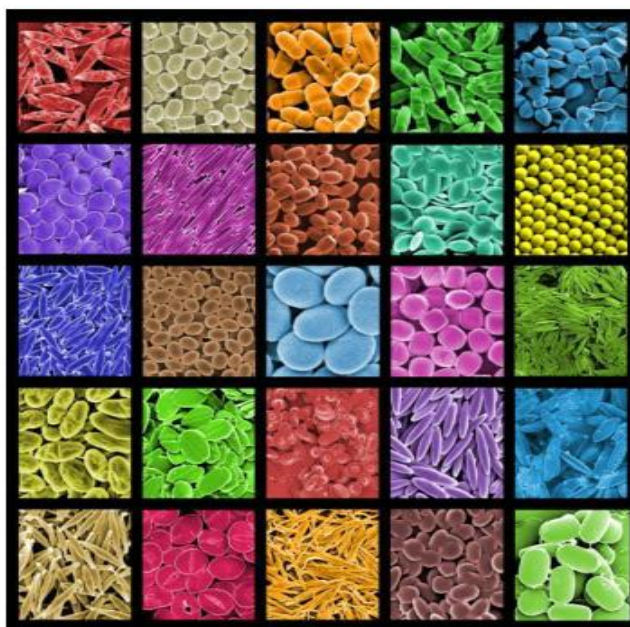
Όσον αναφορά την νανοχημεία, το κυρίαρχο συστατικό της είναι η αξιοποίηση της συνθετικής χημείας για να δημιουργήσει δομικές μονάδες νανοκλίμακας διαφορετικού μεγέθους και σχήματος, δομής επιφάνειας, φορτίου και λειτουργικότητας. Αυτές οι δομικές μονάδες μπορούν να είναι χρήσιμες από μόνες τους ή μπορούν να σχηματίζουν δομές που παρουσιάζουν μια «έξυπνη» λειτουργία και προορίζονται για συγκεκριμένη χρήση (Ozin A.G., et al., 2009).

1.3 ΝΑΝΟΣΩΜΑΤΙΔΙΑ: ΔΟΜΙΚΕΣ ΜΟΝΑΔΕΣ ΝΑΝΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ

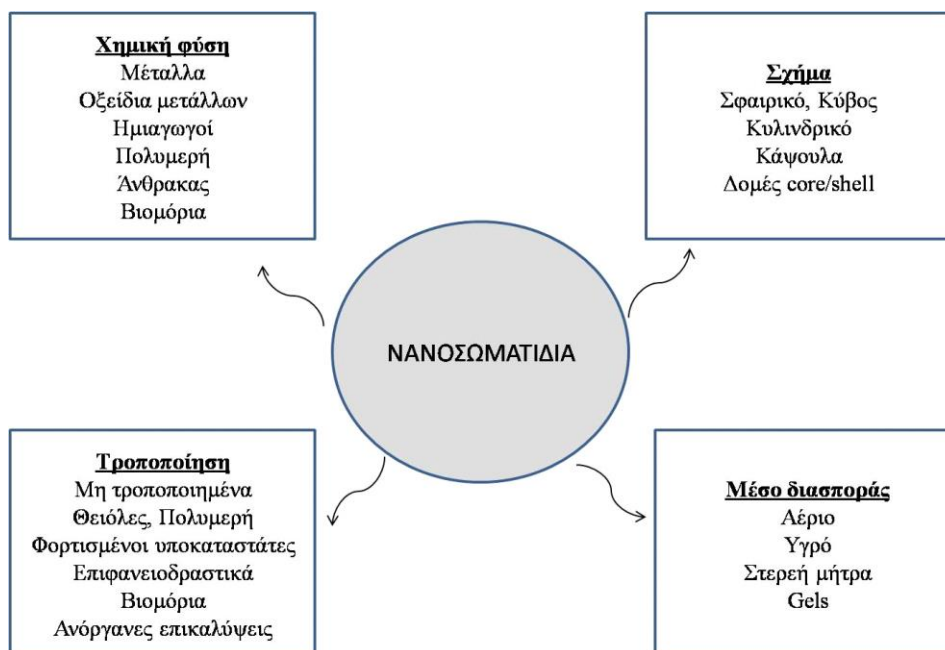
Ως νανοςωματίδια ορίζονται τα σωματίδια με μέγεθος από 1 έως 100 nm, τουλάχιστον σε μια από τις τρεις διαστάσεις (πλάτος, μήκος ή πάχος). Σε αυτό το εύρος μεγέθους, οι φυσικές, χημικές και βιολογικές ιδιότητές τους αλλάζουν με θεμελιώδεις τρόπους από τις ιδιότητες των μεμονωμένων ατόμων και μορίων. Για μεγαλύτερα υλικά, το ποσοστό των ατόμων στην επιφάνεια είναι ασήμαντο σε σχέση με τον αριθμό των ατόμων στον κύριο όγκο του υλικού. Αντίθετα, στα νανοϋλικά ο αριθμός των ατόμων στην επιφάνεια τους είναι σημαντικός σε σχέση με τον συνολικό αριθμό των ατόμων που αποτελούν το υλικό. Ως εκ τούτου, οι ενδιαφέρουσες ιδιότητες των νανοςωματιδίων οφείλονται στη μεγάλη επιφάνεια του υλικού, η οποία υπερτερεί σε μεγάλο βαθμό σε σύγκριση με τον μικρό του όγκο. Μια ιδιαίτερα σημαντική ιδιότητα των νανοςωματιδίων που πηγάζει από το μικρό τους μέγεθος

είναι ότι τα υλικά αυτά, συμπεριφέρονται σαν μόρια από την άποψη της διαλυτότητας τους και την δυνατότητα της κρυστάλλωσης σε υπερδομές.

Τα νανοσωματίδια μπορούν να παρασκευαστούν από διάφορες χημικές ενώσεις όπως μέταλλα, οξείδια μετάλλων, πυριτικά άλατα, πολυμερή, οργανικά μόρια, άνθρακα και βιομόρια. Εμφανίζονται με μορφή διάφορων γεωμετρικών σχημάτων (Nagarajan R., et al., 2008). Κάποιες από αυτές τις γεωμετρικές μορφολογίες είναι οι μονοδιάστατοι ράβδοι, νανοσωλήνες, τα δύο διαστάσεων νανοφύλλα και οι τρισδιάστατες νανοκυψέλες (εικόνα 1.3). Η χημική φύση, η μορφολογία, το μέσο διασποράς, η κατάσταση διασποράς και η επιφανειακή τροποποίηση (εικόνα 1.4) είναι παράγοντες που οδηγούν στο σχηματισμό μεγάλης ποικιλίας νανοσωματιδίων (Tan Y., et al., 2004, Nagarajan R., et al., 2008).



Εικόνα 1.3. Νανοσωματίδια διαφόρων σχημάτων και μεγεθών.



Εικόνα 1.4. Διάφορα χαρακτηριστικά που συμβάλλουν στην ποικιλομορφία των σχηματιζόμενων νανοςωματιδίων. Η ίδια χημική ουσία μπορεί να δημιουργήσει μια ευρεία ποικιλία νανοςωματιδίων.

1.4 NANOSΩΜΑΤΙΔΙΑ ΧΡΥΣΟΥ

Όπως προαναφέρθηκε τα νανοςωματίδια μπορούν να παρασκευαστούν τόσο από οργανικά όσο και από ανόργανα μητρικά υλικά. Τα νανοςωματίδια μετάλλων (NPs) όμως έχουν προσελκύσει το μεγαλύτερο ενδιαφέρον εξαιτίας των αξιοσημείωτων ηλεκτρονικών, χημικών και οπτικών τους ιδιοτήτων. Μεταξύ των διαφόρων ειδών μεταλλικών νανοςωματιδίων, εκείνα από χρυσό (AuNPs) έχουν βρει πολλές εφαρμογές χάρη στις εξαιρετικές ιδιότητες συντονισμού των εντοπισμένων επιφανειακών τους πλάσμονιών. Παρουσιάζουν επίσης έντονα χρώματα και εύκολη οπτικοποίηση των χρωματικών μεταπτώσεων μεταξύ των διεσπαρμένων και συσσωματωμένων φάσεων τους η οποία εξαρτάται από την απόσταση μεταξύ των σωματιδίων τους. Όταν η απόσταση μεταξύ των AuNPs γίνεται μικρότερη από τη μέση διάμετρο κάθε σωματιδίου, συμβαίνει συσσωμάτωση των διασκορπισμένων νανοςωματιδίων (και αντίστροφα). Το γεγονός ότι το χρώμα του διαλύματος των νανοςωματιδίων αλλάζει κατά τη συσσωμάτωση ή αποσυσσωμάτωση των AuNPs, αποτέλεσε την βάση για την ανάπτυξη ευαίσθητων χρωματομετρικών αισθητήρων.

Τα AuNPs είναι σταθερά και παρασκευάζονται εύκολα μέσω καλά καθορισμένων και επαναλήψιμων συνθετικών μεθόδων (Ghosh S.K., et al., 2007, Valdés M.G., et al., 2009). Τα AuNPs μπορούν να χρησιμοποιηθούν μη τροποποιημένα ή μετά από χημική τροποποίηση της επιφάνειάς τους, ανάλογα με την επιθυμητή εφαρμογή. Συνήθως, τα AuNPs που δεν φέρουν επιφανειακή κάλυψη από κατάλληλο υποκαταστάτη (μη τροποποιημένα νανοσωματίδια) είναι απλά στην παρασκευή τους, αλλά είναι επιρρεπή σε διάφορες αλληλεπιδράσεις με άλλες συνυπάρχουσες ενώσεις και συστατικά της μήτρας του διαλύματος (Ghosh S.K., et al., 2007, Lee J.S., et al., 2007). Αντίθετα, η χημική τροποποίηση προσδίδει στα νανοσωματίδια βελτιωμένη σταθερότητα και εκλεκτικότητα αλλά η προετοιμασία τους γίνεται περίπλοκη και μερικές φορές δαπανηρή. Επιπλέον, οι οπτικές τους ιδιότητες είναι μερικές φορές κατώτερες από εκείνες των μη τροποποιημένων νανοσωματιδίων (Koutsoulis N.P., et al., 2010).

1.5 ΣΥΝΘΕΤΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ ΝΑΝΟΣΩΜΑΤΙΔΙΩΝ ΧΡΥΣΟΥ

1.5.1 Φυσικές μέθοδοι

Οι μέθοδοι σύνθεσης των νανοσωματιδίων διαχωρίζονται σε δύο κατηγορίες : τις φυσικές και τις χημικές μεθόδους. Όταν οι μέθοδοι σύνθεσης ξεκινούν από την κύρια πρώτη ύλη καλούνται top-down μέθοδοι και κάποιες από αυτές είναι : η μηχανική άλεση, η εξάτμιση μετάλλων, η πυρόλυση με λέιζερ, η εκτομή με λέιζερ (Sreeprasad S.T., et al., 2013). Στις top-down μεθόδους, μία εξωτερική δύναμη εφαρμόζεται σε ένα στερεό που οδηγεί στη διάσπασή του σε μικρότερα σωματίδια (Horikoshi S., et al., 2013). Ελέγχοντας το περιβάλλον στο οποίο θα γίνει η διάσπαση, μπορούμε να ελέγξουμε τις διαστάσεις του προκύπτοντος υλικού. Αυτές οι μέθοδοι μπορούν να παρασκευάσουν αποτελεσματικά μεγάλες ποσότητες υλικών. Τα μεταλλικά νανοσωματίδια που παράγονται με αυτό τον τρόπο είναι συνήθως μεγάλα στο μέγεθος και έχουν ευρεία κατανομή μεγέθους.

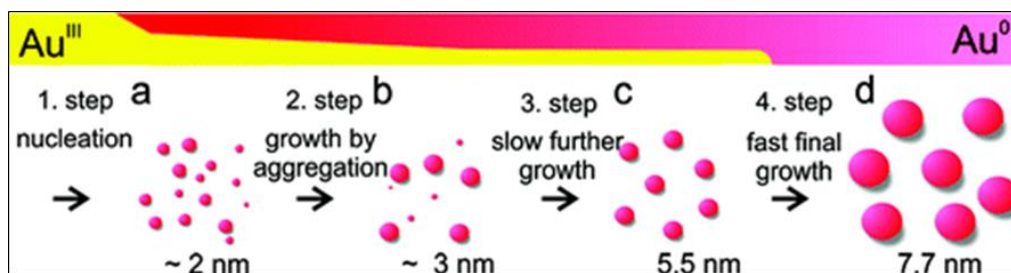
1.5.2 Χημικές μέθοδοι

Οι χημικές μέθοδοι βασίζονται στην αναγωγή των μεταλλικών ιόντων ή στην διάσπαση των πρόδρομων ενώσεων προς σχηματισμό ατόμων που ακολουθείται από συσσωμάτωση των ατόμων. Τα νανοσωματίδια που παρασκευάζονται με χημικές μεθόδους έχουν συνήθως μικρή κατανομή μεγέθους.

Η χημική αναγωγή ενός άλατος μετάλλου σε ένα οργανικό ή υδατικό μέσο είναι πιο δημοφιλής και οικονομική μέθοδος και γι αυτό τον λόγο έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως. Μέθοδοι χημικής αναγωγής που έχουν χρησιμοποιηθεί για την παρασκευή μεταλλικών νανοσωματιδίων χρησιμοποιούν αναγωγικά μέσα όπως H_2 (Ahmadi T. S., et al., 1996, Yu W., et al., 1998, Henglein A., 2000), $NaBH_4$, N_2H_4 , NH_2OH , $(CH_3)_2NH \cdot BH_3$, Cu ή Ag , αιθανόλη, αιθυλενογλυκόλη, κιτρικό οξύ και κιτρικά, φορμαμίδιο, φορμαλδεΰδη, ασκορβικό οξύ, πολυανιλίνη, ο-ανισιδίνη, και όξινο τρυγικό κάλιο. Σε αυτές τις συνθετικές μεθόδους, ο σχηματισμός μεταλλικών νανοσωματιδίων, διέπεται από την ισοστάθμιση του ρυθμού πυρήνωσης και την ανάπτυξη των σωματιδίων. Ο έλεγχος του μεγέθους των νανοσωματιδίων μπορεί να ελεγχθεί με απλή αλλαγή στην αναλογία του ρυθμού πυρήνωσης. Αν ο ρυθμός ανάπτυξης των σωματιδίων είναι πολύ μικρότερος από εκείνον της πυρήνωσης, αυτό θα έχει σαν αποτέλεσμα την παραγωγή ενός μεγάλου αριθμού μικρών "εμβρύων" ή "σπόρων" (seeds), και στη συνέχεια αυτά τα "έμβρυα" αναπτύσσονται περαιτέρω προς σχηματισμό νανοσωματιδίων.

Στην περίπτωση που η σύνθεση πραγματοποιείται εν ψυχρό, χρησιμοποιούνται ως αναγωγικά τα βοροϋδρίδια ($NaBH_4$ ή KBH_4) όπου είναι πολύ ισχυρά αναγωγικά μέσα και μπορούν να ανάγουν τα περισσότερα άλατα μετάλλων μετάπτωσης σε στοιχειακά μέταλλα. Με τη μέθοδο αναγωγής με βοροϋδρίδια, έχουν παρασκευαστεί νανοσωματίδια Cu , Pt , Au , Ag , κ.α

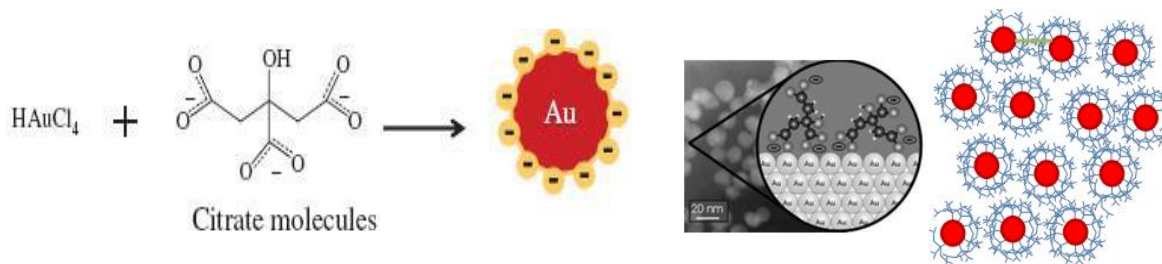
Τα AuNPs παράγονται κατά κύριο λόγο με αναγωγή του χλωροχρυσικού οξέος $HAuCl_4$, οπότε τα ιόντα Au^{3+} ανάγονται σε ουδέτερα άτομα χρυσού. Καθώς όλο και περισσότερα άτομα χρυσού σχηματίζονται, το διάλυμα γίνεται υπέρκορο και ο χρυσός βαθμιαία αρχίζει να σχηματίζει σωματίδια σε μέγεθος νανομέτρων (εικόνα 1.5).



Εικόνα 1.5. Σχηματισμός νανοσωματιδίων χρυσού με αναγωγή.

Για να ελεγχθεί το μέγεθος των νανοσωματιδίων και να αποτραπεί η καταβύθιση τους, χρησιμοποιούνται διάφοροι σταθεροποιητές που προσκολλούνται στην επιφάνεια των νανοσωματιδίων και εμποδίζουν τόσο την περαιτέρω αύξηση του μεγέθους τους όσο και την καταβύθιση τους. Τέτοια μόρια είναι συνήθως διάφοροι οργανικοί υποκαταστάτες οι οποίοι επιτυγχάνουν την σταθεροποίηση των νανοσωματιδίων ηλεκτροστατικά, στερεοχημικά ή με συνδυασμό και των δυο (ηλεκτροστερικά).

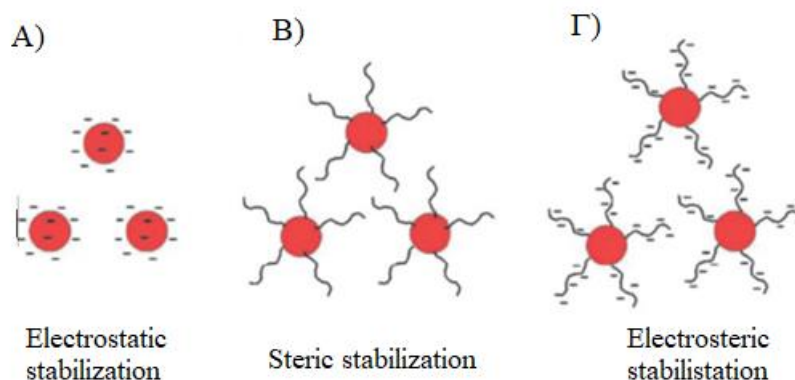
Κατά την ηλεκτροστατική σταθεροποίηση (εικόνα 1.7), τα αντισταθμιστικά ιόντα του υποκαταστάτη σχηματίζουν ένα ηλεκτρικό στρώμα που σταθεροποιεί τα κολλοειδή σωματίδια έναντι των ελκτικών δυνάμεων van der Waals. Πιο συγκεκριμένα, κατά την ηλεκτροστατική σταθεροποίηση (εικόνα 1.7 A), οι χρησιμοποιούμενοι υποκαταστάτες προσροφούνται στα AuNPs δημιουργώντας μια αρνητικά ή θετικά φορτισμένη επικάλυψη η οποία εμποδίζει τα νανοσωματίδια να συσσωματωθούν μέσω ηλεκτροστατικών απωστικών δυνάμεων. Ο πιο απλός και συνήθης σταθεροποιητικός υποκαταστάτης είναι τα κιτρικά ανιόντα (εικόνα 1.6). Η ικανότητα ηλεκτροστατικής σταθεροποίησης όμως επηρεάζεται σημαντικά σε συνθήκες υψηλής ιοντικής ισχύος καθώς αντισταθμίζονται τα ηλεκτρικά φορτία με αποτέλεσμα την συσσωμάτωση των νανοσωματιδίων (Hunter R. J., 2004, Evans D. F., Wennerström H., 1999). Αυτό εξηγεί γιατί τα AuNPs με επικάλυψη κιτρικών ιόντων σε υδατικό διάλυμα, υφίστανται συσσωμάτωση σε υψηλές συγκεντρώσεις άλατος (π.χ. > 50 mM NaCl) (Zhao W., et al., 2007).



Εικόνα 1.6. Σχηματική απεικόνιση των κιτρικών ανιόντων που λειτουργούν ως υποκαταστάτες.

Στην στερεοχημική σταθεροποίηση (εικόνα 1.7 B), οι σταθεροποιητικοί υποκαταστάτες δημιουργούν ένα φράγμα που αποτρέπει τα κολλοειδή σωματίδια να έρθουν πολύ κοντά, και συνεπώς τις δυνάμεις van der Waals να υπερισχύουν. Η στερεοχημική σταθεροποίηση έχει πολύ μικρότερη ευαισθησία έναντι της ιοντικής ισχύος συγκριτικά με την ηλεκτροστατική σταθεροποίηση. Το μοριακό βάρος του μορίου, καθώς και η πυκνότητα του υποκαταστάτη στην επιφάνεια του νανοσωματιδίου είναι οι σημαντικότεροι παράγοντες που καθορίζουν την σταθερότητα των νανοσωματιδίων. Γενικά, όσο παχύτερα είναι τα στρώματα και όσο υψηλότερη είναι η πυκνότητα του υποκαταστάτη τόσο μεγαλύτερη και η αποτελεσματικότητα της στερεοχημικής σταθεροποίησης (Napper D. H., 1983, Glomm W. R. J., 2005, Walker H. W., Grant S. B., 1996).

Η ηλεκτροστερεοχημική σταθεροποίηση πηγάζει από συνδυασμό των ανώτερων μεθόδων (εικόνα 1.7 C). Το DNA αντιπροσωπεύει ένα εξαιρετικό παράδειγμα αυτής της διαδικασίας. Τα AuNPs τροποποιημένα με υψηλή πυκνότητα DNA σταθεροποιούνται ακόμη και σε πολύ υψηλές συγκεντρώσεις άλατος (π.χ., > 300 mM MgCl_2).



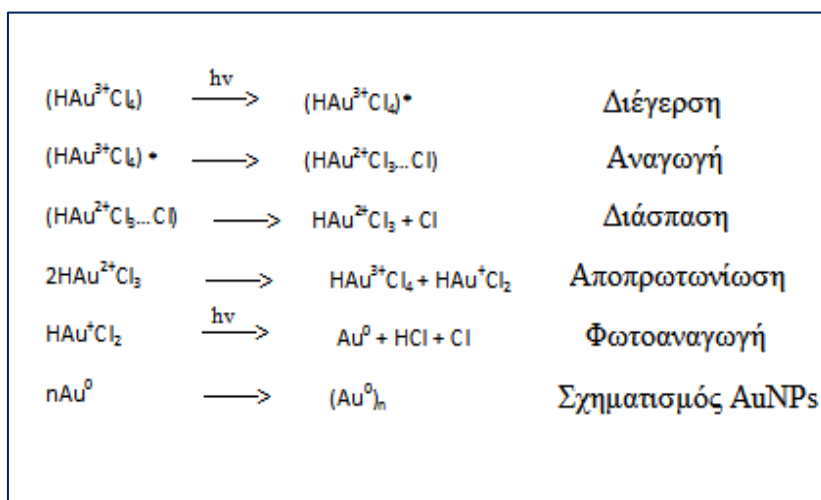
Εικόνα 1.7. Σχηματική αναπαράσταση της κολλοειδούς σταθεροποίησης μέσω του Α) μόρια μικρού φορτίου στην επιφάνεια AuNPs (ηλεκτροστατική σταθεροποίηση), Β) επιφανειακά εμβολιασμένα πολυμερή (στερεοχημική σταθεροποίηση), Γ) επικαλυμμένα επιφανειακά πολυμερή (ηλεκτροστεροχημική σταθεροποίηση).

1.5.3 Φωτοχημική σύνθεση

Η σύνθεση AuNPs μέσω φωτοχημικής αναγωγής έχει επίσης προσελκύσει το ενδιαφέρον των ερευνητών, λόγω των εξής πλεονεκτημάτων α) επιτρέπει την ελεγχόμενη αναγωγή των μεταλλικών ιόντων χωρίς ισχυρά αναγωγικά μέσα και χωρίς την χρήση απαιτητικών διαδικασιών (π.χ. βρασμούς των διαλυμάτων) και β) η ακτινοβολία απορροφάται ομοιόμορφα σε όλο το διάλυμα ανεξάρτητα της παρουσίας διαλυτών. Τέλος, από άποψη πρακτικών εφαρμογών, η μέθοδος υπεριώδους φωτός είναι πιο οικονομική και εύκολη τεχνική (Dong S. A., Zhou S. P., 2007).

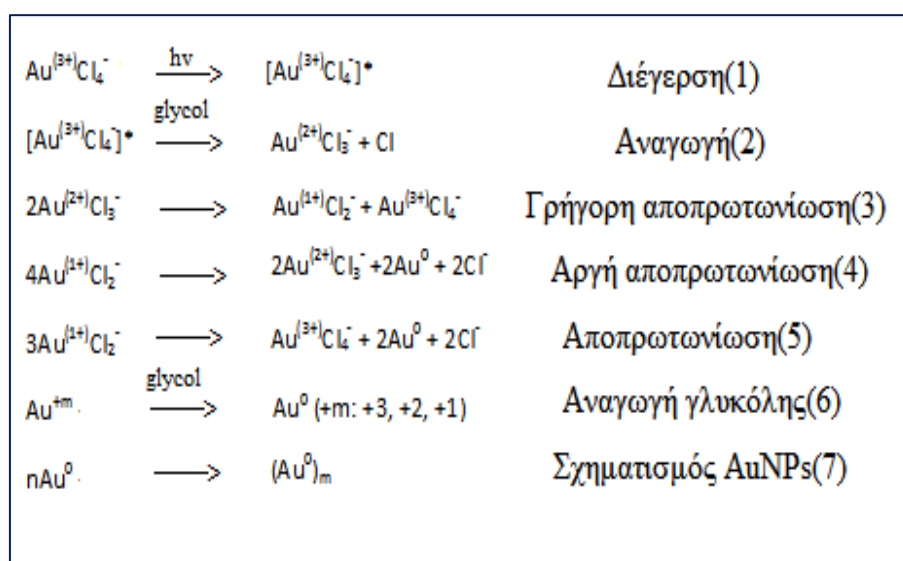
Για τη σύνθεση των AuNPs, έχουν εφαρμοστεί διάφορες πηγές ακτινοβολίας όπως, η υπεριώδης ακτινοβολία, το ηλιακό φως, ο παλμός λέιζερ, οι ακτινοβολίες γ, κ.α. . Σε αυτές τις μεθόδους, ο διαλύτης, η τιμή του pH, ο φωτοευαισθητοποιητής, η συγκέντρωση των αντιδραστηρίων, ο σταθεροποιητής, η ένταση της ακτινοβολίας, το μήκος κύματος και ο χρόνος ακτινοβολήσης είναι σημαντικοί παράγοντες που πρέπει να ληφθούν υπόψη κατά την σύνθεση ώστε τα νανοσωματίδια να έχουν το επιθυμητό σχήμα και μέγεθος (Yang S., et al., 2007). Όπως και στις υδροχημικές μεθόδους σύνθεσης έτσι και στις φωτοχημικές, για να αποφευχθεί η συσσωμάτωση των νανοσωματιδίων, είναι απαραίτητο να γίνει προσθήκη προστατευτικών παραγόντων, όπως διαλυτά πολυμερή, επιφανειοδραστικά και δένδριμερή.

Ένας χαρακτηριστικός μηχανισμός φωτοχημικής αναγωγής του χρυσού (Au^{3+}) για το σχηματισμό AuNPs φαίνεται στην παρακάτω εικόνα (εικόνα 1.8), σύμφωνα με τον οποίο τα ιόντα του Au^{3+} αρχικά ανάγονται στα πιο ασταθή ιόντα Au^{2+} . Στη συνέχεια τα ιόντα Au^{2+} μετατρέπονται σε Au^+ και Au^{3+} σε διαφορετικές αναλογίες. Το ιόν Au^+ στη συνέχεια φωτοανάγεται με την απορρόφηση ενός επιπλέον φωτονίου. Με τον τρόπο αυτό τα άτομα μπορούν να σχηματίσουν πυρήνες και AuNPs. (Kurihara K., et al., 1983)



Εικόνα 1.8. Μηχανισμός φωτοχημικής αναγωγής του χρυσού.

Ένας περισσότερο ολοκληρωμένος μηχανισμός έχει προταθεί από τον Eustis και τους συνεργάτες του (εικόνα 1.9) (Eustis S., et al., 2005) με την χρήση γλυκόλης ως ευαισθητοποιητή, ο οποίος περιγράφεται από τις ακόλουθες αντιδράσεις.

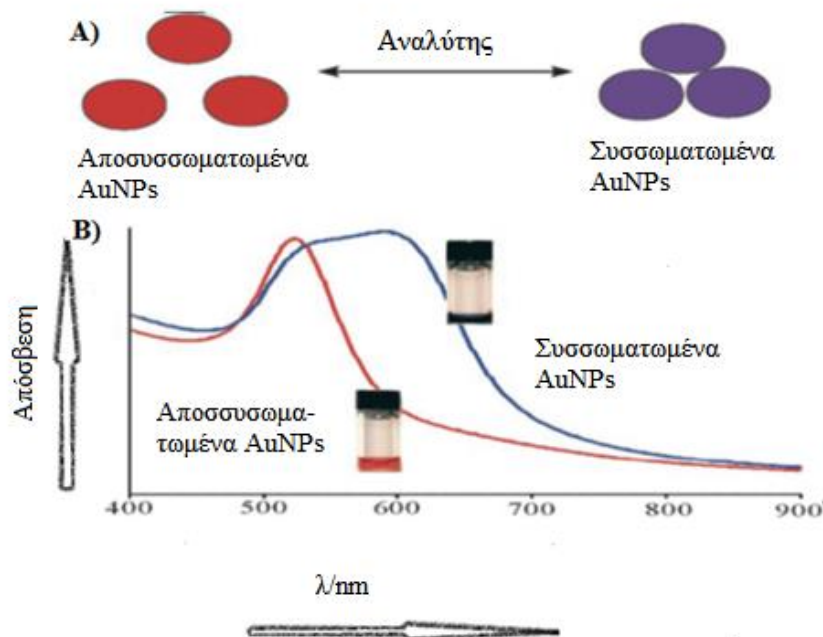


Εικόνα 1.9. Ολοκληρωμένος μηχανισμός φωτοχημικής αναγωγής του χρυσού.

1.6 ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΝΑΝΟΣΩΜΑΤΙΔΙΩΝ ΧΡΥΣΟΥ ΣΤΗΝ ΑΝΑΛΥΤΙΚΗ ΧΗΜΕΙΑ

Οι αναλυτικές μέθοδοι που βασίζονται στη χρήση των AuNPs στηρίζονται κυρίως στην ανίχνευση και ποσοτικοποίηση των χρωματομετρικών μεταβολών που παρατηρούνται σε διαλύματα AuNPs παρουσία του αναλύτη. Η μεταβολή του χρώματος των διαλυμάτων οφείλεται στη συσσωμάτωση ή αποσυσσωμάτωση των AuNPs. (εικόνα 1.10 Α)

Η μεταβολή του χρώματος οφείλεται στην ταλάντωση των επιφανειακών ηλεκτρονίων των AuNPs (επιφανειακό πλασμόνιο) που προκαλείται από ηλεκτρομαγνητικό πεδίο (Ghosh S. K., Pal T., 2007, Daniel M. C., Astruc D., 2004). Η υψηλή συχνότητα ταλάντωσης των ηλεκτρονίων προκαλεί απορρόφηση της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας μικρότερου μήκους κύματος και αντίστροφα. Έτσι, μικρόμετρα νανοςωματίδια χρυσού απορροφούν ακτινοβολία σε χαμηλότερα μήκη κύματος. Για παράδειγμα AuNPs μέσης διαμέτρου 5 nm απορροφούν το πράσινο χρώμα του φωτός, που προέρχεται από μια πηγή φωτός, όπως το φως του ήλιου, εκπέμποντας στο κόκκινο, το οποίο έχει σαν αποτέλεσμα τα υδατικά τους διαλύματα να εμφανίζουν μωβ-κόκκινα χρώματα. Η συχνότητα ταλάντωσης των ηλεκτρονίων παρατηρείται στην περιοχή του ορατού και είναι γνωστή ως συντονισμός επιφανειακού πλασμονίου (Surface Plasmon Resonance-SPR). (εικόνα 1.10 Β, κόκκινη γραμμή).



Εικόνα 1.10. A) Σχηματική αναπαράσταση χρωματομετρίας με βάση την απορρόφηση AuNPs σε βιοαισθητήρα, χρησιμοποιώντας συσσωμάτωση και αποσυσσωμάτωση AuNPs. B) Τυπικές ζώνες απορρόφησης επιφανειακών πλασμονίων για 13 nm AuNPs στην ορατή περιοχή. Οι κόκκινες και μπλε καμπύλες αντιστοιχούν σε διεσπαρμένα και συσσωματωμένα AuNPs, αντίστοιχα.

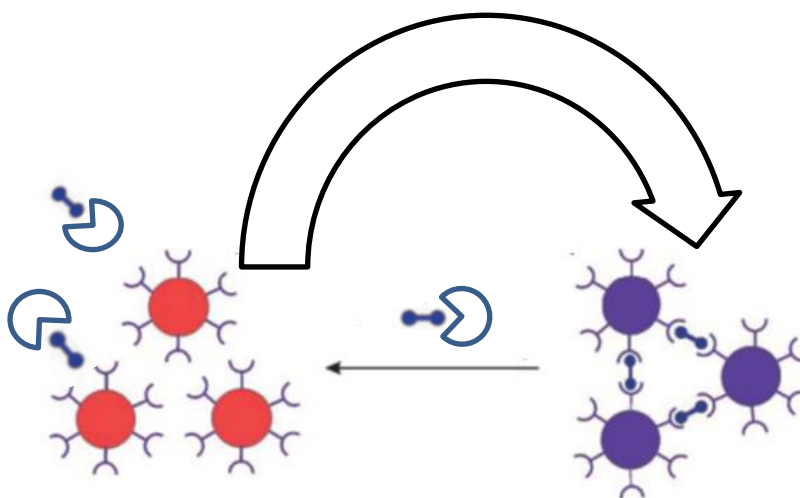
1.6.1 Εφαρμογές που βασίζονται στην συσσωμάτωση των νανοσωματιδίων χρυσού

Όταν τα AuNPs συσσωματώνονται συμπεριφέρονται σαν ένα νανοσωματίδιο μεγαλύτερου μεγέθους. Και αυτό διότι το διερχόμενο φως δεν μπορεί να προκαλέσει μεγαλύτερες ταλαντώσεις των επιφανειακών ηλεκτρονίων των νανοσωματιδίων ομοιογενώς και με υψηλότερο βαθμό ενέργειας. Αντί αυτού, τα επιφανειακά τους πλασμόνια συνδυάζονται (διασωματιδιακή ζεύξη πλασμονίου), οπότε το συσσωμάτωμα παρουσιάζει τις ίδιες οπτικές ιδιότητες με ένα ενιαίο νανοσωματίδιο μεγαλύτερου μεγέθους. Αυτό προκαλεί την μετατόπιση σε μεγαλύτερα μήκη κύματος, δηλαδή από κόκκινο σε μπλε και τη διεύρυνση της ζώνης επιφανειακών πλασμονίων (Ghosh S. K., Pal T., 2007). Επίσης εξηγεί τις αλλαγές του χρώματος (κόκκινο-μπλε) που παρατηρούνται κατά τη διάρκεια της συσσωμάτωσης AuNPs μικρού μεγέθους (εικόνα 1.10 B, μπλε γραμμή).

Η διασωματιδιακή σύζευξη πλασμονίου που προκαλείται κατά την συσσωμάτωση των νανοσωματιδίων προκαλεί μεγάλη μετατόπιση της ζώνης απορρόφησης (έως και ~ 300 nm) δημιουργώντας έντονες αλλαγές χρωμάτων που μπορούν να παρατηρηθούν ακόμα και δια γυμνού οφθαλμού. Ως αποτέλεσμα, οι χρωματομετρικές αναλύσεις (Ghosh S. K., Pal T., 2007) με βάση τα AuNPs έχουν πολύ μεγάλη ευαισθησία, ειδικά στην περιοχή του ορατού φωτός (Ghosh S. K., Pal T., 2007, Daniel M. C., Astruc D., 2004). Πολλές φορές χρησιμοποιείται ως μέτρο ποσοτικοποίησης και η αναλογία των απορροφήσεων στα 520 nm, η οποία αντιστοιχεί σε διασπαρμένα νανοσωματίδια και της απορρόφησης σε ένα μεγαλύτερο μήκος κύματος, το οποίο αντιστοιχεί σε συσσωματωμένα νανοσωματίδια (Levy R., et al., 2004). Για τους λόγους αυτούς, η χρήση των νανοσωματιδίων εξελίχθηκε ταχύτατα σε μια σημαντική εναλλακτική λύση για τη αναλυτική χημεία δίνοντας δυνατότητες για νέες, ταχύτερες, απλούστερες και πιο ευαίσθητες αναλύσεις δειγμάτων κλινικού, βιολογικού, περιβαλλοντικού και διατροφικού ενδιαφέροντος.

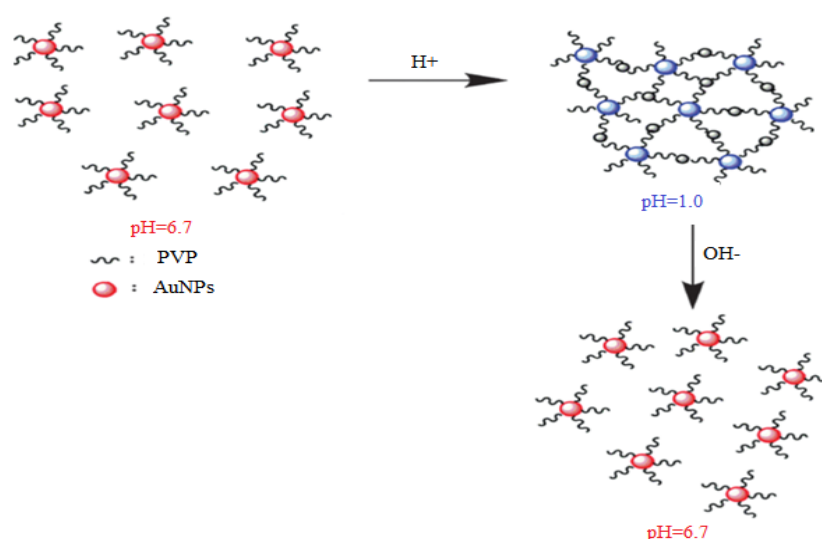
1.6.2 Εφαρμογές που βασίζονται στην αποσυσσωμάτωση νανοσωματιδίων χρυσού

Είναι μια διαδικασία κατά την οποία ένα μόριο αρχικά συνδέει τα νανοσωματίδια μεταξύ τους, δημιουργώντας ένα συσσωμάτωμα. Με τη παρουσία του αναλυτή οι δεσμοί του συσσωματώματος (μεταξύ του μορίου διασύνδεσης και των νανοσωματιδίων) διαταράσσεται με αποτέλεσμα τα νανοσωματίδια να επανέρχονται στην αρχική τους διασπαρμένη κατάσταση. (εικόνα 1.11)



Εικόνα 1.11. Σχηματική αναπαράσταση αποσυσσωμάτωσης των AuNPs.

Ένα πολύ απλό παράδειγμα τη ανάπτυξης χημικών αισθητήρων αποσυσσωμάτωσης είναι και οι pH-μετρικοί αισθητήρες με AuNPs, τα οποία έχουν επικάλυψη πολυβινυλοπυρρολιδόνη (PVP). Το pH του αιωρήματος των AuNPs με επικάλυψη PVP (PVP@AuNPs) είναι 6.7. Όταν το pH του διαλύματος μειώθηκε στην τιμή 1.0 το χρώμα του διαλύματος άλλαξε από κόκκινο σε μπλε λόγω του σχηματισμού συσσωματωμένων νανοσωματιδίων. Το χρώμα του διαλύματος επέστρεψε στο αρχικό κόκκινο χρώμα όταν το pH του διαλύματος επανήλθε στο 6.7, δηλαδή προκλήθηκε αποσυσσωμάτωση, όπως φαίνεται και στην εικόνα 1.12 (Dhumale et al., 2012).



Εικόνα 1.12. Ο μηχανισμός της συσσωμάτωσης / αποσυσσωμάτωσης των επικαλυμμένων με PVP νανοσωματιδίων χρυσού και η μεταβολή στο pH από 6,7 έως 1,0 και πάλι έως 6,7.

1.7 ΑΝΑΛΥΤΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ ΠΟΥ ΒΑΣΙΖΟΝΤΑΙ ΣΕ ΝΑΝΟΣΩΜΑΤΙΔΙΑ ΧΡΥΣΟΥ

Οι μοναδικές φυσικές και χημικές ιδιότητες των AuNPs τα καθιστούν κατάλληλα για τον σχεδιασμό νέων και βελτιωμένων ηλεκτροχημικών αισθητήρων και βιοαισθητήρων. Τα σημαντικότερα πλεονεκτήματα που παρέχουν τα νανοσωματίδια είναι η ακινητοποίηση βιομορίων, η κατάλυση ηλεκτροχημικών αντιδράσεων και η διευκόλυνση της μεταφοράς ηλεκτρονίων μεταξύ της επιφάνειας του ηλεκτρολύτη και των αναλυτών (Luo X., et al., 2006). Στον πίνακα 1.1

παρουσιάζονται οι εφαρμογές των AuNPs στην ανάπτυξη των ηλεκτροχημικών αισθητήρων και βιοαισθητήρων (Trojanowicz M., 2016).

Πίνακας 1.1. Εφαρμογή μεταλλικών νανοσωματιδίων χρυσου σε βολταμμετρικούς /αμπερομετρικούς αισθητήρες μεταξοτυπίας (SPE) και εφαρμογές τους στην - περιβαλλοντική ανάλυση (Env), στην ανάλυση τροφίμων (food), ιατρική διάγνωση (Med) και στην Φαρμακευτική ανάλυση (Trojanowicz M., 2016).

Αναλύτες	Ηλεκτρόδια	Τεχνική ανίχνευσης	Απόκριση	Εφαρμογές
Allergen Ara h 1	CSPE, AuNP, antibody	ASV	12.6–2000 µg/L (3.8 µg/L)	Τρόφιμα
As(III)	CSPE, ibuprofen modified AuNP	CV	0.1–1800 µg/L (0.018 µg/L)	Περιβάλλον
Chloramphenicol	CSPE, Au nanotubes, aptamer	SWV	0.03–6 µM (4 nM)	Ιατρική
Cholesterol	Rhodium-graphite SPE, AuNPs, cytochrome P450sc	Αμπερομετρία	10–70 µM	–
Cr(VI)	CSPE, AuNP	ASV	0.7–35 µg/L (1.6 ng/L)	Περιβάλλον
Dengue virus NS1 protein	CSPE, thiophene, AuNP, protein A, antibody	CV	0.04–0.6 mg/L (0.015 mg/L)	Ιατρική
Dopamine	CSPE, AuNP	SWV	0.2–100 µM both (8 nM DA, 22 nM HIAA)	Φάρμακα
Διαλυμένο οξυγόνο	CSPE, antrquinone-cysteamine modified AuNP	CV	0.2–6.1 mg/L (0.131 mg/L)	Περιβάλλον
Disulfiram (D)	CSPE, AuNP	Αμπερομετρία (χρωματογραφία υψηλής πίεσης)	0.5–15 mg/L D (0.165 mg/L)	Τρόφιμα
Thiram (T)			0.067–15 mg/L T (22 µg/L)	
Gluconic acid	CSPE, tetrathiafulvalene	Αμπερομετρία	0.79–6.9 µM GA (0.87 µM)	Τρόφιμα
Malic acid	enzymes specific for each analyte		1.89–13.6 µM MA (1.84 µM)	
Homocysteine	CSPE, AuNP with immobilized cytochrome c	Αμπερομετρία	0.4–700 µM (0.3 µM)	Ιατρική

cfu - μονάδα σχηματισμού συσσωματωμάτων, CSPE- ηλεκτρόδιο πάστας άνθρακα τροποποιημένο με SBA-15 (μεσοπορώδης άλας πυριτίου), CNT –ηλεκτρόδια νανοσωλήνα άνθρακα.

Παρακάτω στον πίνακα 1.2 αναφέρονται επιλεγμένες εφαρμογές των AuNPs για την ανάπτυξη χρωματομετρικών αισθητήρων και βιοαισθητήρων.

Πίνακας 1.2. Εφαρμογές νανοσωματιδίων χρυσού (Barna P., Alka T., 2015).

Ανάλυτης	Ανίχνευση	Ευαισθησία	Αναφορές
Κατιόντα βαρέων μετάλλων			
Pb ²⁺	Χρωματομετρικά	3 nM	Liu and Lu 2004
Hg ²⁺	Ειδικός λειτουργικός αισθητήρας κατιόντων	0.2 ppb	Lee et al. 2007
Δισθενής ιόντα βαρέων μετάλλων	Αισθητήρας ηλεκτροστατικής συσσωμάτωσης	nm	Kim et al. 2001
Αρωματικές ενώσεις			
2,4,6-τρινιτροτολουόλιο(TNT)	Αισθητήρας χωρίς ετικέτες τροποποιημένος με κυστεΐνη	1 pm	Dasary et al.2009
Ανόργανοι ρύποι			
Νιτρώδη ιόντα	Διασταυρούμενος χρωματομετρικός αισθητήρας	Sub- ppm	Daniel et al.2009
Νιτρώδη ιόντα	Χρωματομετρικός αισθητήρας χωρίς σταυροειδείς δεσμούς	1 ppm	Xiao and Yu 2010
Οργανοφωσφορικά			
Οργανοφωσφορικά και φωσφονικά (OPP)	Οπτικός αισθητήρας	0.5 μm	Newman et al.2007
Τοξίνες			
Ρικίνη	AuNPs σε συνδυασμό με δοκιμασία πλευρικής ροής	10 pg/ml	Uzawa et al. 2008
Ωχρατοξίνη A (OTA)	Ανοσοχρωματογραφική ταινία ανάλυσης	0.32ng/ml	Bo et al.2007, Liu et al. 2008,
Ζεαραλενόνη (ZEA), Αφλατοξίνη B1		2.5ng/ml	Shim et al. 2009

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΔΕΥΤΕΡΟ

ΕΝΩΣΕΙΣ ΘΕΙΟΥ (S)



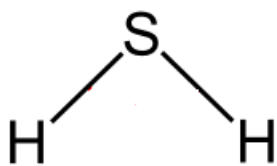
2.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

2.2 ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΕΝΩΣΕΩΝ ΘΕΙΟΥ (S)

Το θείο αποτελεί ένα από τα απαραίτητα χημικά στοιχεία για όλες τις μορφές ζωής και χρησιμοποιείται ευρύτατα σε βιοχημικές διεργασίες. Σε μεταβολικές αντιδράσεις οι θειούχες ενώσεις εξυπηρετούν τόσο ως καύσιμα (δότες ηλεκτρονίων) όσο και ως οξειδωτικά μέσα (δέκτες ηλεκτρονίων). Το θείο σε οργανική μορφή βρίσκεται στις βιταμίνες βιοτίνη και θειαμίνη. Το θείο είναι σημαντικό μέρος πολλών ενζύμων και αντιοξειδωτικών μορίων, όπως η γλουταθειόνη και η θειορεξοδίνη. Όταν το θείο είναι οργανικά συνδεδεμένο αποτελεί το συνθετικό όλων των πρωτεϊνών, αφού περιέχεται στα αμινοξέα κυστεΐνη και μεθειονίνη.

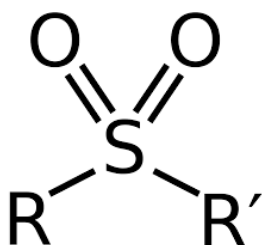
2.2.1 Υδρόθειο (H_2S)

Το υδρόθειο είναι ίσως η πιο απλή ένωση του θείου. Πρόκειται για μια ανόργανη δυαδική χημική ένωση, που περιέχει υδρογόνο και θείο, με μοριακό τύπο H_2S . Το χημικά καθαρό υδρόθειο, στις κανονικές συνθήκες περιβάλλοντος, δηλαδή σε θερμοκρασία $25^{\circ}C$ και υπό πίεση 1 atm, είναι άχρωμο αέριο, με τη χαρακτηριστική οσμή των κλούβιων αυγών. Είναι βαρύτερο από τον αέρα, πολύ δηλητηριώδες, διαβρωτικό, εύφλεκτο και εκρηκτικό. Είναι συχνά το αποτέλεσμα της αναερόβιας βακτηριδιακής αποικοδόμησης (διαφόρων) θειούχων οργανικών ουσιών, σε έλη και αποχετεύσεις. Μικρές ποσότητες υδρόθειου βρίσκονται στο αργό πετρέλαιο και στο φυσικό αέριο. Ιδιαίτερα το τελευταίο μπορεί να περιέχει υδρόθειο σε περιεκτικότητα ως και 90%. Το υδρόθειο μπορεί να βρίσκεται στο πηγαδίσιο νερό, συχνά ως αποτέλεσμα δράσης βακτηρίων που ανάγουν θειικά ιόντα. Σε τέτοιες περιπτώσεις, συχνά χρησιμοποιείται όζον (O_3) για την απομάκρυνσή του. Μια εναλλακτική μέθοδος είναι η χρήση φίλτρου με διοξείδιο του μαγγανίου (MnO_2). Και οι δυο μέθοδοι οξειδώνουν το υδρόθειο σε λιγότερο τοξικά θειικά παράγωγα. Παράγεται από το ανθρώπινο σώμα σε μικρές δόσεις, μέσω εντερικής βακτηριακής αποσύνθεσης θειούχων πρωτεϊνών, αλλά επίσης παράγεται στο στόμα και είναι η αιτία για το πρόβλημα της δυσοσμίας του στόματος.



2.2.2 Σουλφόνες

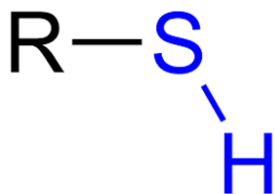
Οι σουλφόνες είναι χημικές ενώσεις που περιέχουν μια λειτουργική ομάδα σουλφονυλίου συνδεδεμένη με δύο άτομα άνθρακα. Το κεντρικό εξασθενές άτομο θείου συνδέεται διπλά σε κάθε ένα από τα δύο άτομα οξυγόνου και έχει έναν απλό δεσμό σε κάθε ένα από τα δύο άτομα άνθρακα, συνήθως σε δύο ξεχωριστούς υποκαταστάτες υδρογονάνθρακα. Παράδειγμα σουλφονών στη φαρμακολογία περιλαμβάνουν τη δαψόνη, ένα φάρμακο που χρησιμοποιήθηκε ως αντιβιοτικό για την θεραπεία της λέπτρας, της ερπητοειδούς δερματίτιδας, της φυματίωσης και της πνευμονιοκυστικής πνευμονίας. Αρκετά από τα παράγωγά του, όπως το promin, έχουν μελετηθεί ή εφαρμοστεί στην ιατρική, αλλά γενικά οι σουλφόνες έχουν πολύ μικρότερη σημασία στη φαρμακολογία από ότι για παράδειγμα τα σουλφοναμίδια.



2.2.3 Θειόλες

Ως θειόλες αναφέρονται οι οργανικές ενώσεις που περιέχουν μια (τουλάχιστον) υδροθειομάδα (-SH), συνδεδεμένη με ένα άτομο άνθρακα και εφόσον η υδροθειομάδα είναι η κύρια χαρακτηριστική ομάδα της ένωσης. οι θειόλες αναφέρονται συχνά και με την ονομασία μερκαπτάνες. Η λέξη προέρχεται από τη λατινική έκφραση «mercurium captans», που σημαίνει «συλλαμβάνοντας υδράργυρο», γιατί οι θειόλες έχουν την τάση να παράγουν παράγωγα με ενώσεις του υδραργύρου. Οι θειόλες είναι ανιχνεύσιμες από τους ανθρώπους σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις. Για παράδειγμα, ο ανθρώπινος ιδρώτας περιέχει 3-μεθυλο-3-υδροθειο-1-εξανόλη ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}(\text{SH})\text{CH}_2\text{OH}$), που είναι ανιχνεύσιμη από τα

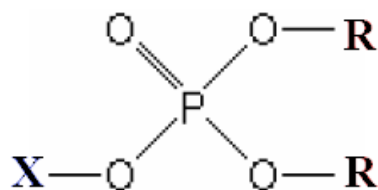
2 ppb και έχει μια οσμή που μοιάζει μ' αυτήν του κρεμμυδιού. Οι θειόλες είναι επίσης υπεύθυνες για την οσμή μιας κατηγορίας ελαττωματικών κρασιών και που προέρχονται από την ανεπιθύμητη αντίδραση μεταξύ θειούχων συστατικών των κρασιών αυτών και της μαγιάς. Ομοίως, θειόλες είναι πίσω από την δυσάρεστη οσμή της μπύρας όταν έχει εκτεθεί σε υπεριώδες φως. Ωστόσο δεν έχουν όλες οι θειόλες δυσάρεστες οσμές. Π.χ. η 2-φουρανυλομεθνοθειόλη συνεισφέρει στο άρωμα του καβουρδισμένου καφέ, ενώ μια άλλη θειόλη, είναι υπεύθυνη για το χαρακτηριστικό άρωμα του κίτρου.



Η πιο χαρακτηριστική κατηγορία θειολών είναι οι βιολογικές αμινοθειόλες, όπως η κυστεΐνη (Cys), η ομοκυστεΐνη (Hcy), και η γλουταθειόνη (GSH). Αποτελούν συστατικά πολλών πρωτεϊνών και μοριών και έχουν σημαντικό ρόλο σε πολλές βιολογικές διεργασίες. Η κυστεΐνη είναι απαραίτητη για την ανάπτυξη των κυττάρων και αποτελεί συστατικό πολλών πρωτεϊνών. Η έλλειψη της κυστεΐνης μπορεί να παρουσιάσει επιβράδυνση στην ανάπτυξη των παιδιών, τον αποχρωματισμό των μαλλιών, την απώλεια μυών και λίπους, αλλοιώσεις στο δέρμα και αδυναμία. Η ομοκυστεΐνη είναι ένα μεταβολικό ενδιάμεσο στον μεταβολισμό της μεθειονίνης. Αυξημένα επίπεδα της ομοκυστεΐνης στο πλάσμα αποτελούν κίνδυνο για εμφάνιση της νόσου Alzheimer, την καρδιαγγειακή νόσο και τη εμφάνιση της οστεοπόρωσης. Η γλουταθειόνη είναι μια ενδοκυτταρική μη πρωτεϊνική θειόλη και συμμετέχει σε πολλές κυτταρικές αντιοξειδωτικές και αμυντικές λειτουργίες. Η ανεπάρκεια της γλουταθειόνης σχετίζεται την εμφάνιση καρκίνου, νευροεκφυλιστικές διαταραχές, κυστική ίνωση και τον ιό της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας (HIV). Ο ακριβής προσδιορισμός των αμινοθειολών σε φυσιολογικά υγρά είναι μεγάλης βιολογικής, κλινική και φαρμακολογική σημασίας, οπότε πρέπει ο προσδιορισμός των αμινοθειολών να γίνεται με εξαιρετικά ευαίσθητες και εκλεκτικές μεθόδους (Xiao Q., et al., 2012).

2.2.4 Φωσφοροθειϊκές ενώσεις

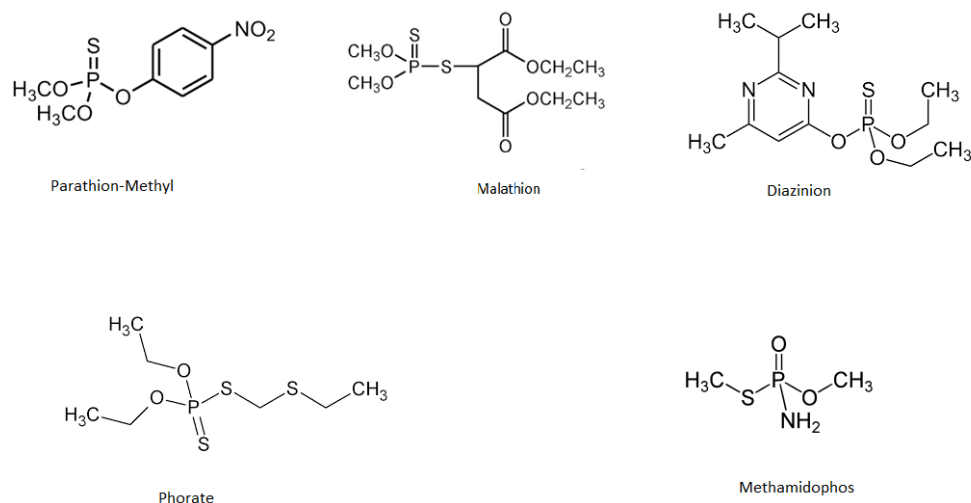
Ο πιο χαρακτηριστικός αντιπρόσωπος της κατηγορίας των φωσφοροθειϊκών ενώσεων είναι τα οργανοφωσφορικά φυτοφάρμακα. Πρόκειται για μια από τις πρώτες κατηγορίες οργανικών φυτοφαρμάκων που παρασκευάστηκαν και εξακολουθούν να χρησιμοποιούνται μέχρι και σήμερα. Η γενική δομή παρουσιάζεται στην εικόνα 2.1.



Εικόνα 2.1. Γενική δομή φωσφοροθειϊκών ενώσεων. X= αλκύλιο, ομοκυκλικός ή ετεροκυκλικός δακτύλιος. R= μέθυλο ή αιθύλο ομάδες ίδιες για κάθε άτομο.

Είναι ενώσεις μεγάλης τοξικότητας, σχετικά ασταθείς σε αλκαλικό περιβάλλον και έχουν μικρό βαθμό βιοσυσσωρεύσης (Walker, 2001). Χρησιμοποιούνται κυρίως ως εντομοκτόνα και σε μικρότερη έκταση ως ζιζανιοκτόνα. Τα περισσότερα από τα οργανοφωσφορικά φυτοφάρμακα είναι παράγωγα του φωσφορικού και του θειοφωσφορικού οξέος. Τα φυτοφάρμακα της κατηγορίας των οργανοφωσφορικών απορροφούνται αμέσως από το δέρμα, τους πνεύμονες και το γαστρεντερικό σωλήνα και μεταφέρονται στο αίμα και στους ιστούς του ανθρώπινου σώματος. Ορισμένες ενώσεις των οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων, όπως για παράδειγμα τα azinphos-ethyl, dimefos, ethyl-parathion, methyl-parathion, fonofos, methamidophos και monocrotophos είναι ενώσεις πολύ τοξικές και κατατάσσονται στην κατηγορία τοξικότητας I (LD₅₀ σε αρουραίους μικρότερο από 50 mg/kg σωματικού βάρους). Για τα υπόλοιπα οργανοφωσφορικά φυτοφάρμακα, το LD₅₀ κυμαίνεται από 50 έως 500 mg/kg σωματικού βάρους, οπότε κατατάσσονται στην κατηγορία τοξικότητας II (NPIC, 2007). Τα φυτοφάρμακα επιδρούν στο νευρικό σύστημα των ζωντανών οργανισμών δεσμεύοντας το ένζυμο ακετυλο-χολινεστεράση. Η ακετυλο-χολινεστεράση συμμετέχει στην υδρόλυση του νευροδιαβιβαστή ακετυλο-χολίνη στις νευρικές συνάψεις των κυττάρων και με αυτό τον τρόπο τερματίζεται η μεταφορά του νευρικού παλμού. Στην περίπτωση που η ακετυλο-χολινεστεράση δεσμεύεται, η υδρόλυση της ακετυλοχολίνης περιορίζεται και έτσι συσσωρεύεται στο νευρικό σύστημα με αποτέλεσμα τη συνεχή αποστολή νευρικών παλμών προς τα όργανα του οργανισμού. Συνέπεια αυτού είναι η

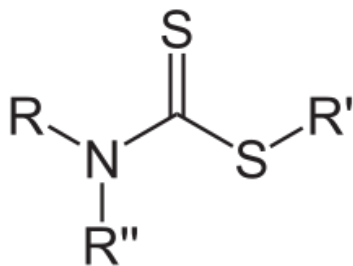
εμφάνιση σπασμών μέχρι και θάνατος (WHO, 1986, Kamanyire R., Karailiedde L., 2004). Ορισμένα από τα οργανοφωσφορικά παρασιτοκτόνα παρουσιάζονται παρακάτω (εικόνα 2.2).



Εικόνα 2.2. Απεικόνιση οργανοφωσφορικών παρασιτοκτόνων.

2.2.5 Διθειοκαρβαμιδικές ενώσεις

Οι διθειοκαρβαμιδικές ενώσεις αποτελούνται από καρβαμιδικά άλατα, στα οποία και τα δύο άτομα οξυγόνου έχουν αντικατασταθεί από άτομα θείου (όταν αντικαθίσταται μόνο 1 οξυγόνο τότε δημιουργούνται θειοκαρβαμιδικές ενώσεις). Η γενική δομή τους παρουσιάζεται στην εικόνα 2.3.



Εικόνα 2.3. Γενική δομή διθειοκαρβαμιδικών ενώσεων.

Από τις πιο σημαντικές χρήσεις των διθειοκαρβαμιδικών ενώσεων είναι και η αξιοποίηση τους ως φυτοφάρμακα. Τα διθειοκαρβαμιδικά φυτοφάρμακα χρησιμοποιούνται στη γεωργία κυρίως ως μυκητοκτόνα και σε μικρότερη έκταση ως εντομοκτόνα και ζιζανιοκτόνα. Στη βιομηχανία ζάχαρης και χαρτιού χρησιμοποιούνται για την καταπολέμηση των μικροοργανισμών που αναπτύσσονται στα συστήματα ψύξης, ενώ στη βιομηχανία

ελαστικού ως αντιοξειδωτικά και ως επιταχυντές του βουλκανισμού (Kumar M. A., Faubel W., 1999). Ακόμα λόγω των συμπλεκτικών-χηλικών ιδιοτήτων τους χρησιμοποιούνται στην κατεργασία των υδατικών αποβλήτων για την απομάκρυνση των βαρέων μετάλλων (WHO, 1988). Το disulfiram, το οποίο ανήκει στη συγκεκριμένη κατηγορία, χρησιμοποιείται για τη θεραπεία του χρόνιου αλκοολισμού (Johnson et al., 1998). Τα διθειοκαρβαμιδικά φυτοφάρμακα είναι διθειούχα ανάλογα των καρβαμιδικών εστέρων. Ανάλογα με τον τύπο των αμινών, τα διθειοκαρβαμιδικά φυτοφάρμακα χωρίζονται στις παρακάτω κατηγορίες (Van Lishaut H., Schwack W., 2000):

i. *N*-μεθυλοδιθειοκαρβαμιδικά φυτοφάρμακα (N-methyldithiocarbamate, MDTC), τα οποία περιέχουν πρωτοταγή αμίνη. Μοναδικός εκπρόσωπος αυτής της κατηγορίας είναι το metham-sodium.

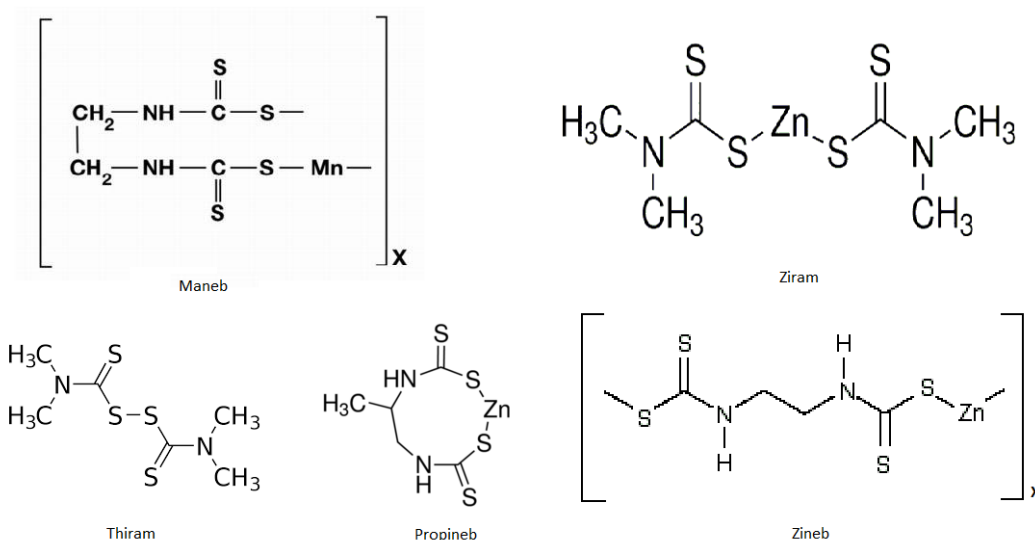
ii. *N,N*-διμεθυλοδιθειοκαρβαμιδικά φυτοφάρμακα (N,N-dimethyl-dithiocarbamate, DMDTC), τα οποία περιέχουν δευτεροταγείς αμίνες. Κύριοι εκπρόσωποι αυτής της κατηγορίας είναι το ziram και το ferbam.

iii. Αιθυλενο-δισ-διθειοκαρβαμιδικά φυτοφάρμακα (ethylenebis-dithiocarbamate, EBDTC), τα οποία περιέχουν αιθυλενοδιαμίνη. Εκπρόσωποι αυτής της κατηγορίας είναι τα nabam, maneb, zineb, mancozeb και metiram.

iv. Προπυλενο-δισ-διθειοκαρβαμιδικά φυτοφάρμακα (propylenebis-dithiocarbamate, PBDTC), τα οποία περιέχουν 1-μεθυλοαιθυλενοδιαμίνη και ο μοναδικός εκπρόσωπος αυτής της κατηγορίας είναι το propineb.

v. Τετρα-αλκυλοθειουραμοδισουλφίδια (tetra-alkylthiouramdisulfides, TATD), τα οποία έχουν στο μόριό τους ένα δεσμό μεταξύ δύο ατόμων θείου. Μοναδικός εκπρόσωπος είναι το thiram.

Ορισμένα κοινά διθειοκαρβαμιδικά παρασιτοκτόνα παρουσιάζονται παρακάτω (Εικόνα 2.4).



Εικόνα 2.4. Απεικόνιση διθειοκαρβαμιδικών παρασιτοκτόνων.

Τα διθειοκαρβαμιδικά φυτοφάρμακα είναι ουσίες, με χαμηλή τοξικότητα. Τα υπολείμματα των διθειοκαρβαμιδικών φυτοφαρμάκων είναι μικρά, διότι είναι ασταθείς ενώσεις παρουσία υγρασίας, φωτός και υψηλής θερμοκρασίας. Οι μεταβολίτες που παράγονται από τη διάσπασή τους, όπως ο διθειάνθρακας, η αιθυλενοθειουρία, η προπυλενοθειουρία και τα βαρέα μέταλλα (Mn, Zn) εμφανίζουν μεγαλύτερη τοξικότητα από τις αρχικές μητρικές ενώσεις. Συγκεκριμένα, ο διθειάνθρακας, ο οποίος είναι κοινός μεταβολίτης για όλα τα διθειοκαρβαμιδικά φυτοφάρμακα, όταν εισέρχεται στους ζωντανούς οργανισμούς, δημιουργεί διασταυρούμενες συνδέσεις με τις χαμηλού μοριακού βάρους πρωτεΐνες, που περιέχονται στα κύτταρα του νευρικού συστήματος, με αποτέλεσμα την εμφάνιση νευροτοξικότητας (Valentine W., et al., 1995). Οι μεταβολίτες αιθυλενοθειουρία και προπυλενοθειουρία συσσωρεύονται στον θυρεοειδή αδένα με αποτέλεσμα την εμφάνιση καρκίνου του θυρεοειδούς (Graham S., et al., 1973, JMPR-731, 1985). Πολλές μελέτες σε πειραματόζωα αποδεικνύουν ότι τα διθειοκαρβαμιδικά φυτοφάρμακα έχουν τερατογόνες, καρκινογόνες και μεταλλαξογόνες ιδιότητες (World Health organization, WHO, 1988).

2.3 ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΑ ΔΡΑΣΤΙΚΕΣ ΟΥΣΙΕΣ ΠΟΥ ΠΕΡΙΕΧΟΥΝ ΘΕΙΟ

Ως φάρμακο χαρακτηρίζεται κάθε ουσία ή μίγμα ουσιών, που παράγεται, προσφέρεται προς πώληση, ή παρουσιάζεται για χρήση στη διάγνωση, στη θεραπεία, στον μετριάσμό ή στην πρόληψη νόσου, μη φυσιολογικής φυσικής κατάστασης, ή των συμπτωμάτων τους στον άνθρωπο ή στα ζώα καθώς και για χρήση στην αποκατάσταση, την διόρθωση, ή την μεταβολή οργανικών λειτουργιών στους οργανισμούς.

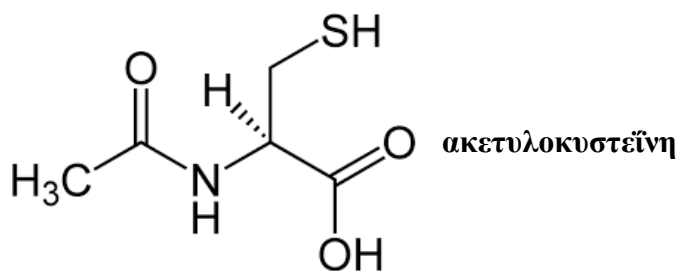
Η ταξινόμηση γενικά των διαφόρων φαρμακευτικών προϊόντων ακολουθεί τέσσερις κύριες μεθόδους,

- Χημική: δηλαδή από την χημική ομάδα στην οποία μπορεί αυτά να ανήκουν, π.χ. αλκαλοειδή,
- Φαρμακολογική: εκ της φαρμακολογικής τους δράσης, π.χ. αναλγητικά, σπασμολυτικά, αντιμικροβιακά, αναισθητικά, κ.λπ.
- Θεραπευτική: εκ της θεραπευτικής τους δράσης, π.χ. αντικαταθλιπτικά, ανθελονοσιακά, αγχολυτικά κ.λπ.
- Σύνθετη: εκ της παθήσεως του λειτουργικού συστήματος ή οργάνου για το οποίο χορηγούνται και του επιδιωκόμενου σκοπού π.χ. αντισηπτικά, αντιχολινεργικά, καθαρτικά, αποχρεμπτικά, βλεννολυτικά κ.λπ.

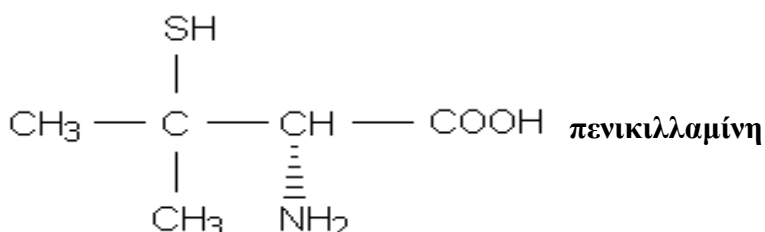
Η φαρμακολογική ταξινόμηση και η θεραπευτική ταξινόμηση των φαρμάκων διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους, με δεδομένο ότι κάποια φάρμακα με διαφορετικό μηχανισμό δράσης μπορεί να παρουσιάσουν το ίδιο θεραπευτικό αποτέλεσμα. Ορισμένα από τα φάρμακα που περιέχουν θείο καθώς και η δράση τους αναφέρονται παρακάτω:

Η **ακετυλοκυστεΐνη (acetylcysteine)** είναι το Ν-ακετυλο-παράγωγο της κυστεΐνης. Χρησιμοποιείται ως βλεννολυτικός παράγοντας για τη μείωση του ιξώδους των βλεννωδών εκκρίσεων. Η NAC μπορεί να είναι αποτελεσματική στην πρόληψη ή και τη θεραπεία του καρκίνου, τη δηλητηρίαση από βαρέα μέταλλα, τον βήχα των καπνιστών, την βρογχίτιδα, τις καρδιοπάθειες, την κυστική ίνωση, την δηλητηρίαση από ακεταμινοφαίνη (παρακεταμόλη), και το σηπτικό σοκ. Μελέτες έχουν δείξει ότι η ακετυλοκυστεΐνη μπορεί να βοηθήσει στην προστασία των πνευμόνων από τις καρκινογόνες ουσίες που βρίσκονται στον καπνό του τσιγάρου, να προστατεύσει το συκώτι από τις τοξικές επιδράσεις του αλκοόλ και να μειώσει τις τοξικές παρενέργειες ορισμένων φαρμάκων που χρησιμοποιούνται για τη θεραπεία του

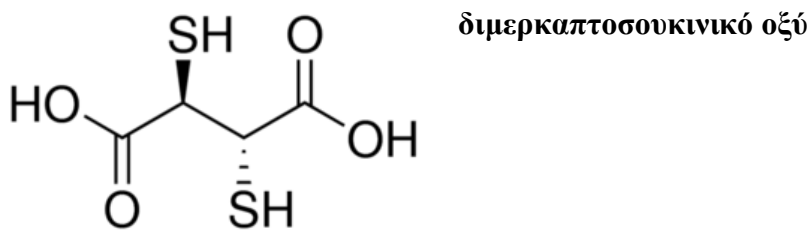
καρκίνου. Η NAC έχει επίσης χρησιμοποιηθεί, επιτυχώς, για τη θεραπεία δηλητηρίασης από αρσενικό και υδράργυρο.



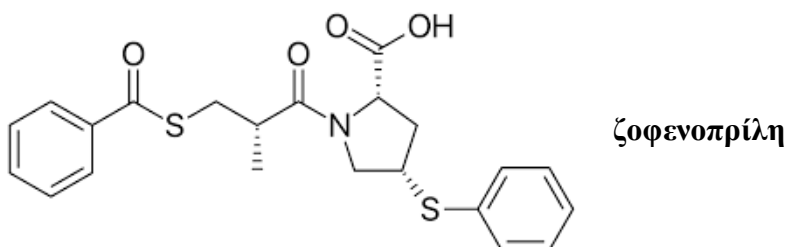
Η **πενικιλλαμίνη (penicillamine)** είναι ένας χηλικός παράγοντας που συνιστάται για την απομάκρυνση της περίσσειας του χαλκού σε ασθενείς με νόσο του Wilson. Από μελέτες *in vitro* φαίνεται ότι ένα άτομο χαλκού συνδέεται με δύο μόρια πενικιλλαμίνης. Η πενικιλλαμίνη μειώνει επίσης την υπερβολική έκκριση κυστίνης σε κυστινουρία. Αυτό επιτυγχάνεται, τουλάχιστον εν μέρει, με ανταλλαγή του δισουλφιδίου μεταξύ πενικιλλαμίνης και κυστίνης, με αποτέλεσμα το σχηματισμό δισουλφιδίου πενικιλλαμίνης-κυστεΐνης, μια ουσία που είναι πολύ πιο διαλυτό από την κυστίνη και απεκκρίνεται εύκολα. Επίσης η πενικιλλαμίνη παρεμβαίνει στον σχηματισμό διασταυρούμενων δεσμών μεταξύ των μορίων τροποκολλαγόνου και τους διασπά μόλις πρωτοσχηματίσσουν. Ο μηχανισμός δράσης της πενικιλλαμίνης στη ρευματοειδή αρθρίτιδα είναι άγνωστος, αν και φαίνεται ότι καταστέλλει την δραστηριότητα της νόσου.



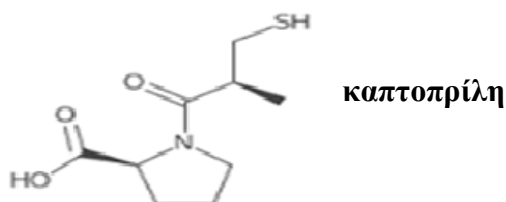
Το **διμερκαπτοσουλκινικό οξύ (Dimercaptosuccinic)**, η αλλιώς **succimer**, είναι ένας χηλικός παράγοντας βαρέων μετάλλων που χορηγείται από το στόμα και χρησιμοποιείται για τη θεραπεία δηλητηριάσεων από μόλυβδο στα παιδιά. Το Succimer είναι μια οργανο-θειική ένωση με δύο ομάδες σουλφυδρυλίου που δεσμεύουν δισθενή ιόντα βαρέων μετάλλων- όπως ο το κάδμιο, ο υδράργυρος το αρσενικό και κυρίως τον μόλυβδο ενώ δεν συμπλοκοποιεί σημαντικά τα βασικά ιχνοστοιχεία όπως ο ψευδάργυρος, ο χαλκός ή ο σίδηρος. Το Succimer έχει αποδειχθεί ότι μειώνει τα επίπεδα μολύβδου στο αίμα σχηματίζοντας ένα υδατοδιαλυτό σύμπλεγμα, το οποίο στη συνέχεια αποβάλλεται από τα νεφρά με αποτέλεσμα να βελτιώνει σημαντικά τα συμπτώματα χρόνιας δηλητηρίασης από μόλυβδο.



Η **ζοφenoπρίλη (zofenopril)** είναι ένα φάρμακο που προστατεύει την καρδιά καθώς συμβάλλει στην μείωση της υψηλής αρτηριακής πίεσης. Ανήκει στους αναστολείς του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτασίνης (αγγειοτενσίνης) I και αναστέλλει το ένζυμο που μετατρέπει την αγγιοτασίνη I στον ισχυρό αγγειοσυσταλτικό παράγοντα αγγειοτασίνη II ενώ επίσης ελαττώνει το ρυθμό αδρανοποίησης βραδυκινίνης. Έτσι η ζοφenoπρίλη προκαλεί αγγειοδιαστολή, που είναι το συνδυασμένο αποτέλεσμα της μικρότερης αγγειοσύσπασης (λόγω των ελαττωμένων επιπέδων αγγειοτασίνης II) και της ισχυρής αγγειοδιασταλτικής δράσης της βραδυκινίνης (λόγω της επιβραδυνόμενης αδρανοποίησής της βραδυκινίνης). Τέλος, η ζοφenoπρίλη με την μείωση των επιπέδων της αγγειοτασίνης II, μειώνει την έκκριση αλδοστερόνης και έτσι προκαλείται μειωμένη κατακράτηση νατρίου και ύδατος.



Η **καπτοπρίλη (captopril)** είναι ένας ιδιαίτερα εκλεκτικός, ανταγωνιστικός αναστολέας του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτασίνης I (αναστολείς MEA). Σε ασθενείς με υπέρταση, η καπτοπρίλη προκαλεί μείωση της αρτηριακής πίεσης σε ύπτια και όρθια θέση, χωρίς να προκαλεί οποιαδήποτε αντίρροπη αύξησης επί της καρδιακής συχνότητας, ούτε κατακράτηση ύδατος ή νατρίου. Η χημική της δομή (D-3-mercapto-2-methylpropionylproline) είναι μοναδική μεταξύ των αναστολέων του μετατρεπτικού ενζύμου διότι περιέχει σουλφυδρυλική (-SH) ομάδα. Η καπτοπρίλη απορροφάται ταχέως μετά τη χορήγηση από το στόμα.

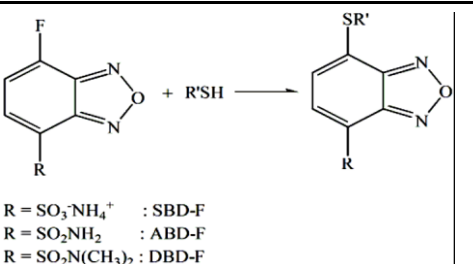
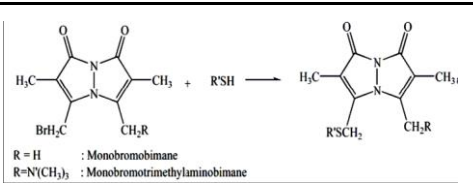
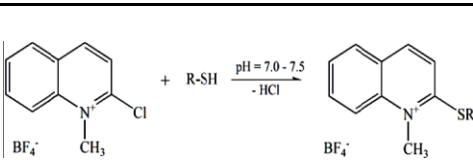
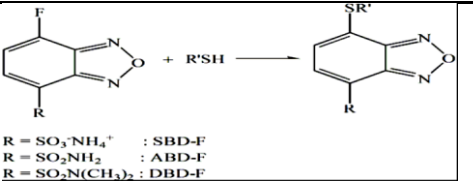


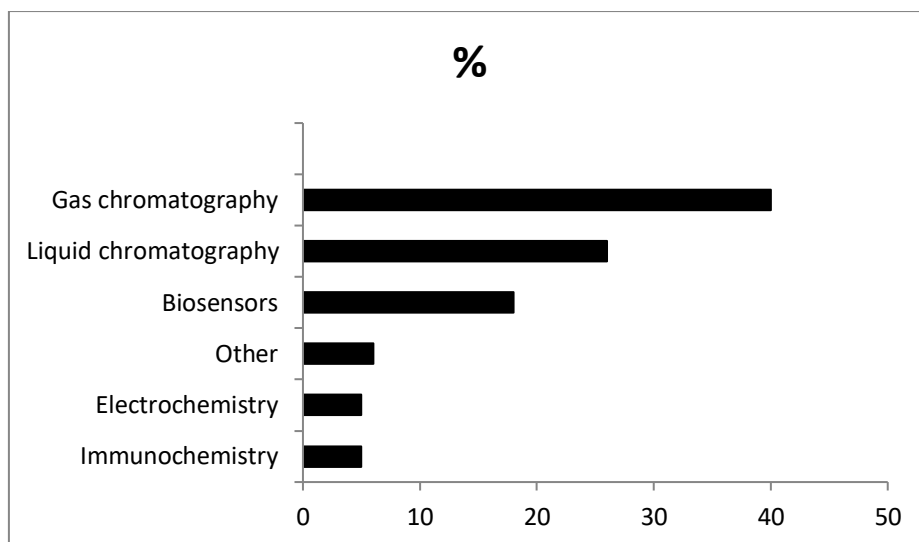
2.4 ΜΕΘΟΔΟΙ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ ΘΕΙΟΥΧΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ

Η ανίχνευση και ο ποσοτικός προσδιορισμός θειούχων ενώσεων εξαρτάται από την δραστικότητα και τους χημικούς δεσμούς του θείου στο μόριο. Τα ανόργανα θειώδη και οι θειόλες είναι οι πιο δραστικές ομάδες ενώ αντίθετα οι φωσφοροθειϊκές και οι διθειοκαρβαμιδικές ομάδες παρουσιάζουν την μικρότερη δραστικότητα. Για τον λόγο αυτό ο προσδιορισμός των θειοδών και των θειολών γίνεται συνήθως μέσω άμεσης αλληλεπίδρασης με κατάλληλα αντιδραστήρια παραγωγοποίησης, τα οποία φέρουν κατάλληλες χρωμοφόρες ή φθοροφόρες ομάδες (πίνακας 2.1). Αντίθετα, η ανίχνευση των φωσφοροθειικών και των διθειοκαρβαμιδικών ενώσεων με τεχνικές μοριακής φασματοσκοπίας απορρόφησης ή εκπομπής απαιτεί την οξείδωση ή την υδρόλυση τους και στην συνέχεια την αντίδραση των δεσμών θείου με κατάλληλα αντιδραστήρια παραγωγοποίησης. Λόγω της πολυπλοκότητας και της εξειδίκευσης των μεθόδων αυτών, ο προσδιορισμός των διθειοκαρβαμιδικών και των οργανοφωσφορικών ενώσεων γίνεται κατά κύριο λόγο με τεχνικές υγρής και αέριας χρωματογραφίας ή ακόμα και με ηλεκτροχημικές ή ανοσοχημικές μεθόδους (εικόνα 2.5). Η χρήση χρωμοφόρων αντιδραστηρίων ([Corbett J. R., et al., 1984](#), [Eto M., 1974](#), [Gupta R. C., 2006](#), [Hassall K. A., 1982](#), [Quin L. D., 2000](#)) έχει παρόλα αυτά διερευνηθεί επαρκώς για την ανάλυση διθειοκαρβαμιδικών φυτοφαρμάκων (πίνακας 2.2).

Πίνακας 2.1. Χρωμοφόρα αντιδραστήρια για την ανάλυση θειούχων ενώσεων.

Αντιδραστήριο	Μηχανισμός ανίχνευσης	Ανίχνευση	Πλεονεκτήματα Μειονεκτήματα	/ Αντίδραση
5,5'-διθειοδισ-(2-νιτροβενζοϊκό) οξύ (DTNB) ή Ellman	Υψηλή οξειδωτική δράση δισουλφονδικού δεσμού. Προϊόν της αντίδρασης είναι το 5-θειο-2-νιτροβενζοϊκό οξύ (TNB) με συντελεστή απόσβεσης $14.100 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ σε pH =7,3.	Φασματο)φωτομετρία, $\lambda_{\text{max}} = 412 \text{ nm}$	Πλεονεκτήματα: Ταχύτητα αντίδρασης, ευκολία Μειονεκτήματα: Αντιδρά με τα αναγωγικά αντιδραστήρια που χρησιμοποιούνται για την αναγωγή των δισουλφιδίων και προκαλεί λαθασμένα θετικά αποτελέσματα	
4,4'-διθειοπυριδίνη(4-DPS)	Σχηματίζει την 4-θειοπυριδίνη, με συντελεστή απόσβεσης $21.000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ σε pH=3-7.	Φασματο)φωτομετρία, $\lambda_{\text{max}} = 412 \text{ nm}$	Μειονεκτήματα: Η συμμετοχή τους σε παράπλευρες αντιδράσεις και ο σχηματισμός παραπροϊόντων, εμποδίζουν στον τελικό προσδιορισμό	
Ο-οφθαλδεΰδη (OPA)	Σχηματίζει ισοϊνδόλες σε αλκαλικές συνθήκες pH > 9.	Φθορισμομετρία, $\lambda_{\text{max}} = 405 \text{ nm}$	Μειονεκτήματα: τα προκύπτοντα ισοϊδολικά παράγωγα είναι ασταθή	

Αλογονωμένα σουλφοβενζοφουράνια	Ισχυρές αλκαλικές συνθήκες $\text{pH} > 10$ και θέρμανση $T > 60^\circ\text{C}$	Φθορισμομετρία	Μειονεκτήματα: Αργή αντίδραση, απαιτεί θέρμανση	 $\text{R} = \text{SO}_3\text{-NH}_4^+ : \text{SBD-F}$ $\text{R} = \text{SO}_2\text{NH}_2 : \text{ABD-F}$ $\text{R} = \text{SO}_2\text{N(CH}_3)_2 : \text{DBD-F}$
Μπιμάνια	Σχηματίζουν φθορίζοντες θειοαιθέρες, σε $\text{pH} = 8$	Φθορισμομετρία $\lambda_{\text{min}} = 380\text{nm}$ και $\lambda_{\text{max}} = 450\text{nm}$	Μειονεκτήματα: Ισχυρή και παρατεταμένη θέρμανση, δεν μπορούν να υποθετηθούν σε συστήματα συνεχούς ροής	 $\text{R} = \text{H} : \text{Monobromobimane}$ $\text{R} = \text{N(CH}_3)_3 : \text{Monobromotrimethylaminobimane}$
Τετραφθοροβορικό άλας της 2-χλώρο-1-μέθυλο κινολίνης	Γίνεται υποκατάσταση του χλωρίου από την θειολική ομάδα	(Φασματο)φωτομετρία $\lambda = 355\text{nm}$	Πλεονεκτήματα: Γρήγορη αντίδραση, ήπιες συνθήκες Μειονεκτήματα: δεν είναι εμπορικά διαθέσιμο και η εργαστηριακή του παρασκευή είναι χρονοβόρα και επίμονη διαδικασία	
Εστέρες του προπιλικού οξέως		(Φασματο)φωτομετρία , συνθήκες συνεχούς ροής	Πλεονεκτήματα: απλή, γρήγορη εκλεκτική αντίδραση. Τα αντιδραστήρια είναι εμπορικά διαθέσιμα και χαμηλού κόστους	 $\text{R} = \text{SO}_3\text{-NH}_4^+ : \text{SBD-F}$ $\text{R} = \text{SO}_2\text{NH}_2 : \text{ABD-F}$ $\text{R} = \text{SO}_2\text{N(CH}_3)_2 : \text{DBD-F}$



Εικόνα 2.5. Αναλυτικές τεχνικές που εφαρμόζονται σε οργανοφωσφορικά παρασιτοκτόνα.

Πίνακας 2.2. Φασματοφωτομετρικές μέθοδοι για τον προσδιορισμό διθειοκαρβαμιδικών φυτοφαρμάκων.

Αντιδραστήρια	Διθειοκαρβαμιδικά φυτοφάρμακα	$\lambda_{\max}$	Γραμμομοριακή απορροφητικότητα 1×10^4	Γραμμικό εύρος $\mu\text{g/ml}$
Curpous chloride	Thiram	420	NR	4-200
	Ferbam	385	NR	1-100
	ziram	385	NR	1-100
Οξικός χαλκός	Zineb	370	NR	5-100
Μολυβδαίνιο	Thiram	420	0.15	5-110
	Fernam	420	0.63	10-200
	Ziram	420	0.15	27-750
	Nabam	670	0.13	25-700
	Zineb	670	0.62	2-40
	Maneb	670	0.69	2-40
Χρόμιο	Thiram	420	1.32	5-110
	Ferbam	420	2.10	10-20
	Ziram	420	1.28	2.7-75
	NaDDC	420	0.55	1.2-16.5
	Dibam	420	0.15	0.6-19.8
Σελήνιο	Thiram	430	1.06	0.52-16
	Ferbam	430	1.46	1-28
	Ziram	430	1.59	0.8-12
	NaDDC	430	1.57	1.2-16.5
	Dibam	430	0.60	1-20
Χαλκός(II)(απορρόφηση σε ναφθαλίνη)	Ziram	430	1.923	0.65-19.5
	thiram	430	1.723	0.7-20
Παλάδιο (απορρόφηση σε ναφθαλίνη)	Ziram	395	1.298	0.7-10
	Thiram	395	1.28	0.9-12.7
Διφαινυλοκαρβαζόνη + πυριδίνη	Ziram/zineb	520	8.36	0.1-1.7/0.12-1.9
	Ferbam	520	5.3	0.35-4.8
	Maneb	520	6.5	0.03-2.7
1-(2-pyriylazo)-2- naphtol (Pan)	Ziram	550	5.06	0.2-2.2
	Zineb	550	5.06	0.5-2.4

	maneb	550	4.10	0.37-0.75
4-(2-pyridylazo)resorcinol (PAR+TX-100)	Ferbam	530	3.00	0.5-10.2
Χαλκός (II) + ασκορβικό οξύ	Thiram	-	-	0.05-0.160
Leuco crystal violet	Thiram	595	96	0.002-0.20
	Ziram	595	11	0.002-0.24
	zineb	595	68	0.04-0.32
1,10-φαινανθρολίνη	Ferbam	490	1.71	0.80-20
1,10-φαινανθρολίνη (απορρόφηση σε ναφθαλίνιο παρουσία βρωμιούχου τετραφαινυλίου)	Ferbam	515	1.2	2.24-37.29
Χαλκός (II) +CTAB	Thiram	430	1.63	0.44-13.25

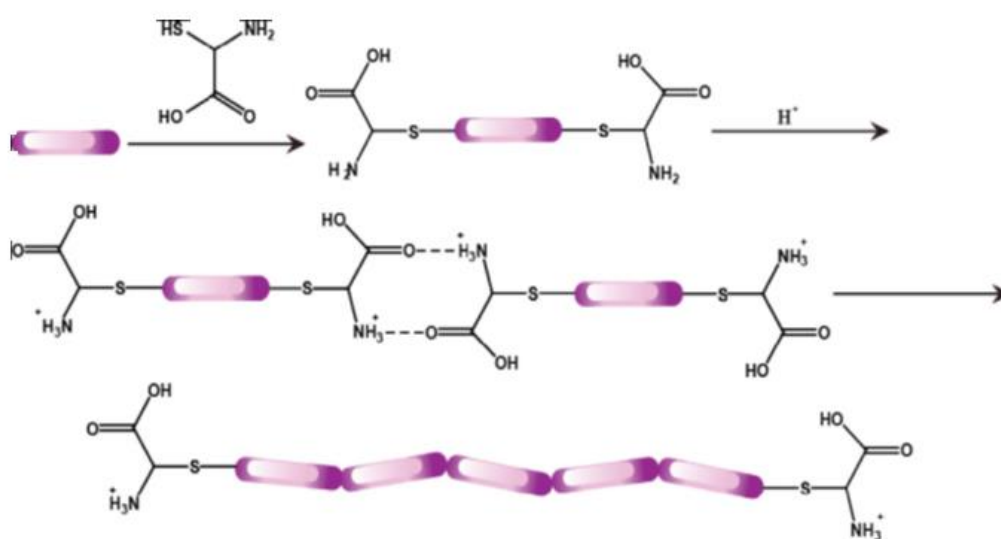
2.5 ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΒΙΟΘΕΙΟΛΩΝ ΜΕ ΝΑΝΟΣΩΜΑΤΙΔΙΑ ΧΡΥΣΟΥ

Οι περισσότερες μέθοδοι για τον προσδιορισμό θειούχων ενώσεων με χρήση νανοσωματιδίων χρυσού αφορούν τον προσδιορισμό βιοθειολών και θειούχων φυτοφαρμάκων. Παρακάτω παρουσιάζονται επιλεγμένες μέθοδοι που περιγράφουν τις γενικές αρχές προσδιορισμού θειούχων οργανικών ενώσεων σε διαφορετικά δείγματα.

2.5.1 Χρωματομετρική ανίχνευση με βάση AuNPs για αμινοθειόλες

Μη τροποποιημένα νανοσωματίδια χρυσού

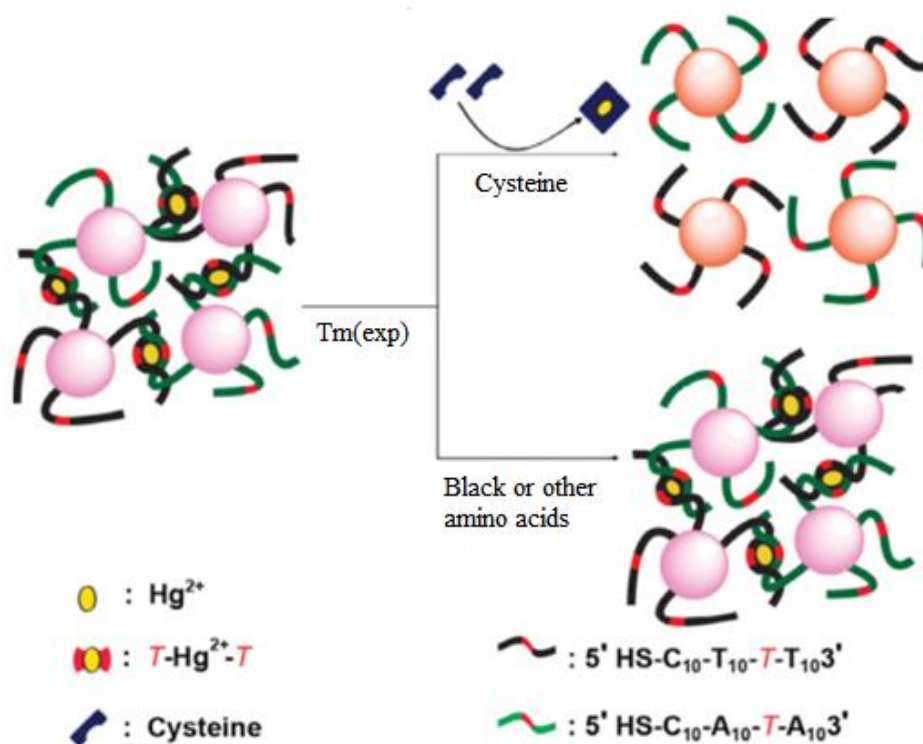
Η ανίχνευση βιοθειολών μπορεί θεωρητικά να γίνει με απευθείας αλληλεπίδραση των βιοθειολών με νανοσωματίδια χρυσού μέσω συσσωμάτωσης των AuNPs υπό όξινες συνθήκες ώστε να ευνοούνται οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των φορτισμένων ομάδων δυο βιοθειολών οι οποίες έχουν προσδεθεί στην επιφάνεια των AuNPs μέσω δεσμών Au – S (εικόνα 2.6). Ωστόσο, η όλη διαδικασία και η αναπαραγωγιμότητα των μετρήσεων εξαρτώνται έντονα από το επιφανειακό φορτίο το οποίο με τη σειρά του καθορίζεται από την ιοντική ισχύς του διαλύματος, την περιεκτικότητα σε άλατα, κ.α. Ως εκ τούτου ο προσδιορισμός βιοθειολών με μη τροποποιημένα νανοσωματίδια επηρεάζεται σημαντικά από την μήτρα του υποστρώματος του δείγματος. (Huang H.W., et al., 2010)



Εικόνα 2.6. Χρωματομετρική ανίχνευση της κυστεΐνης χρησιμοποιώντας συσσωμάτωση νανοσωματιδίων χρυσού σε όξινο περιβάλλον.

Νανοσωματίδια χρυσού τροποποιημένα με βιομόρια

Με βάση τη συναρμογή θυμιδίνης- Hg^{2+} -θυμιδίνης, ο Mirkin και οι συνεργάτες του ανέπτυξαν μια ευαίσθητη μέθοδο για την ανίχνευση της κυστεΐνης χρησιμοποιώντας AuNPs τροποποιημένα με ολιγονουκλεοτίδια. Η μέθοδος βασίζεται στις οπτικές ιδιότητες των AuNPs, στην απότομη μετάπτωση του σημείου τήξης των συσσωματωμένων νανοσωματιδίων που είναι συνδεδεμένα με το ολιγονουκλεοτίδιο και στον συντονισμό της Hg^{2+} με την κυστεΐνη. Μια αναντιστοιχία θυμιδίνης-θυμιδίνης (T-T) είναι επιλεκτική στην σύνδεση Hg^{2+} . Όταν η Hg^{2+} δεσμευτεί στο DNA μπορεί να αυξήσει την θερμοκρασία τήξης κατά 10 °C. Λειτουργικά AuNPs συνδέονται με το δίκλωνο DNA σε αντιστοιχία με την T-T και δεσμεύουν επιλεκτικά την Hg^{2+} (DNA-AuNPs/ Hg^{2+} συσσωμάτωμα, εικόνα 2.7). Η κυστεΐνη μπορεί να δεσμεύσει τα ιόντα υδραργύρου και να τα απομακρύνει από την δομή, έτσι μειώνεται η θερμοκρασία στην οποία διαχωρίζεται το δίκλωνο DNA, που είναι ένδειξη της αλλαγής του χρώματος από κόκκινο σε μωβ (Lee J. S., et al., 2008). Η μέθοδος αυτή όμως είχε υψηλό κόστος. Αργότερα ο Chen και οι συνεργάτες του (Chen Z., et al., 2009) ανέφεραν ότι η κυστεΐνη συμπλοκοποιούνται με τα AuNPs απομακρύνοντας από την επιφάνεια τους ssDNA το οποίο είχε προσδεθεί ως σταθεροποιητικό μόριο. Με την πρόσδεση της κυστεΐνης και την απομάκρυνση του ssDNA τα AuNPs γίνονταν εύαλωτα στην μεταβολή της ιοντικής ισχύος του διαλύματος με αποτέλεσμα η εισαγωγή NaCl να προκαλεί τη συσσωμάτωσή τους (σε αντίθεση με τυφλά διαλύματα που δεν περιείχαν κυστεΐνη). Η αλλαγή του χρώματος των AuNPs, από κόκκινο σε μπλε με την προσθήκη του άλατος (NaCl) οδήγησε στην χρησιμοποιήθηκε ως μια απλή, γρήγορη και ευαίσθητη χρωματομετρική μέθοδο για την ανίχνευση της κυστεΐνης.

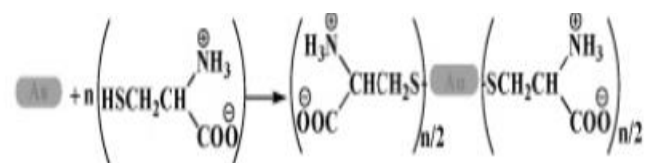


Εικόνα 2.7. Χρωματομετρική ανίχνευση της κυστεΐνης με DNA- AuNPs.

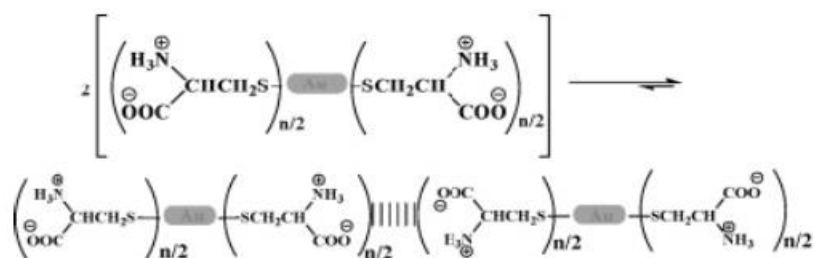
Νανοσωματίδια χρυσού τροποποιημένα με επιφανειοδραστικά

Η χρωματομετρική ανίχνευση αμινοθειολών επιτυγχάνεται και με AuNPs με επικάλυψη βρωμιούχου κετυλοτριμεθυλαμμώνιου (CTAB). Ο Sudeep και οι συνεργάτες του παρατήρησαν ότι η κυστεΐνη και η γλουταθειόνη θα μπορούσαν να εκτοπίσουν τα προστατευτικά επιφανειοδραστικά μόρια και να προκαλέσουν την συσσωμάτωση των AuNPs μέσω ηλεκτροστατικής αλληλεπίδρασης μεταξύ των βιοθειολών τα οποία έχουν προσδεθεί με δεσμούς S – Au στην επιφάνεια των AuNPs. Ως αποτέλεσμα, αναπτύχθηκε μια χρωματομετρική μέθοδος ανίχνευσης μικρο-γραμμομοριακών συγκεντρώσεων κυστεΐνης και γλουταθειόνης. Τα στάδια της μεθόδου παρουσιάζονται στην παρακάτω εικόνα 2.8. (Sudeep P. K., et al., 2005)

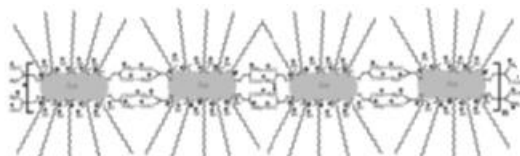
1^ο στάδιο: Η ομάδα της κυστεΐνης ή γλουταθειόνης ενεργοποιούν τις άκρες των AuNPs



2^ο στάδιο: Οι αμφιτεριονικές ομάδες στα άκρα των AuNPs βοηθούν στη σύζευξη μέσω ηλεκτροστατικών αλληλεπιδράσεων



3^ο στάδιο: Συσσωμάτωση των AuNPs

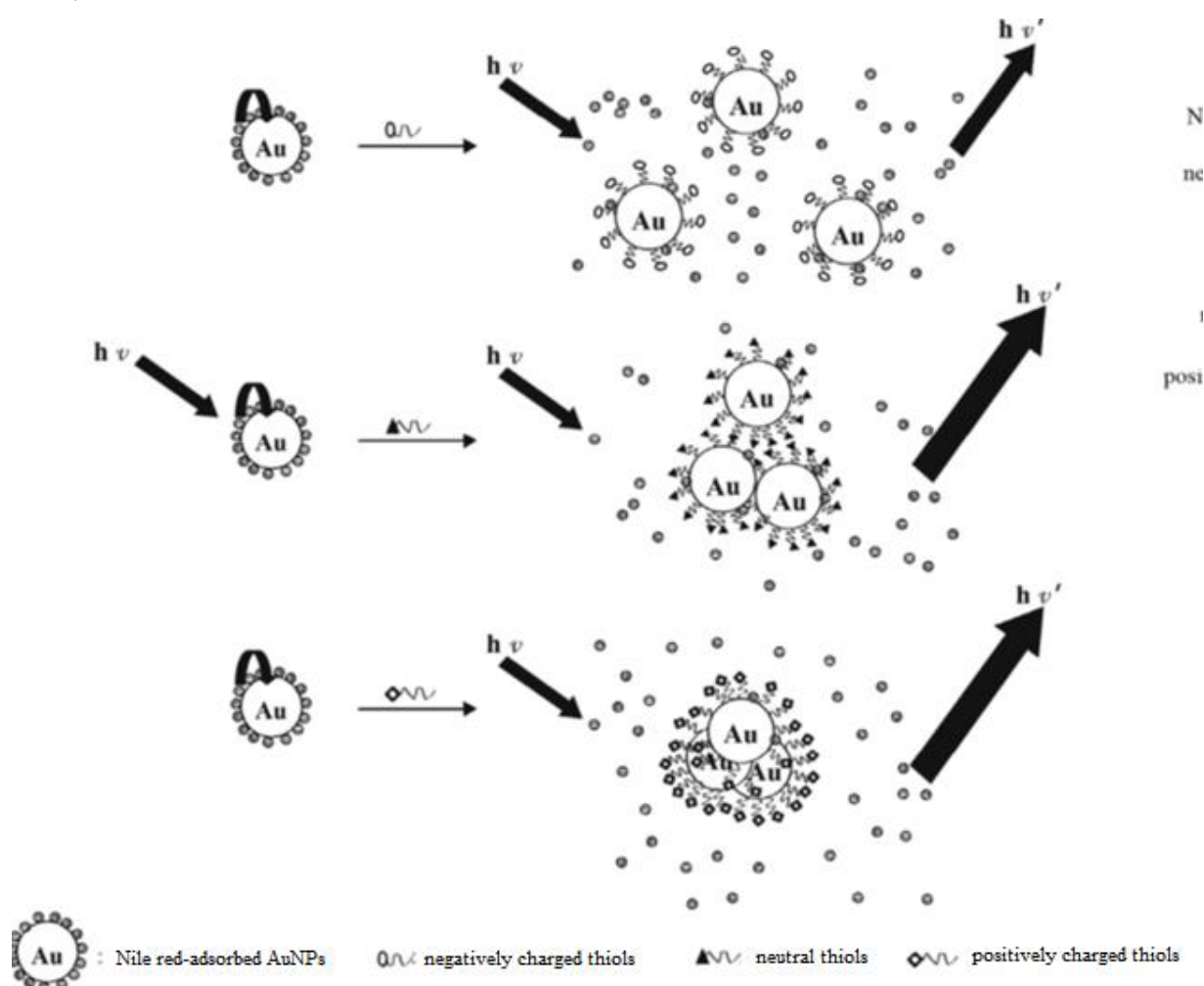


Εικόνα 2.8. Η χρωματομετρική ανίχνευση αμινοθειολών με AuNPs με επικάλυψη βρωμιούχου κετυλοτριμεθυλαμμώνιου (CTAB).

2.5.2 Ανίχνευση βιοθειολών μέσω φθορισμού συντονισμού-μεταφοράς ενέργειας (FRET) με νανοσωματίδια χρυσού

Η μεταφορά ενέργειας συντονισμού φθορισμού (FRET), είναι ένας μηχανισμός που περιγράφει τη μεταφορά ενέργειας μεταξύ δυο φωτοευαίσθητων μορίων. Ένα φθορίζον μόριο που λειτουργεί ως δότης, στην ηλεκτρονική διεγερμένη κατάσταση εκπέμπει ενέργεια που απορροφάται από ένα χρωμοφόρο δέκτη. Η αποτελεσματικότητα αυτής της μεταφοράς ενέργειας είναι αντιστρόφως ανάλογη με την έκτη δύναμη της απόστασης μεταξύ δότη και δέκτη, καθιστώντας το FRET εξαιρετικά ευαίσθητο στις μικρές αλλαγές στην απόσταση. Τα AuNPs μπορούν να λειτουργήσουν ως δέκτες για τα περισσότερα φθοροφόρα ή κβαντικά συστήματα, λόγω των υψηλών συντελεστών απόσβεσης τους καθώς και του ευρύ φάσματος απορρόφησης εντός του εύρους του ορατού. Με βάση την αρχή αυτή, Ο Chang και οι συνεργάτες του αναφέρουν ότι, η εκπομπή φθορισμού του κόκκινου του Νείλου (Nile Red)

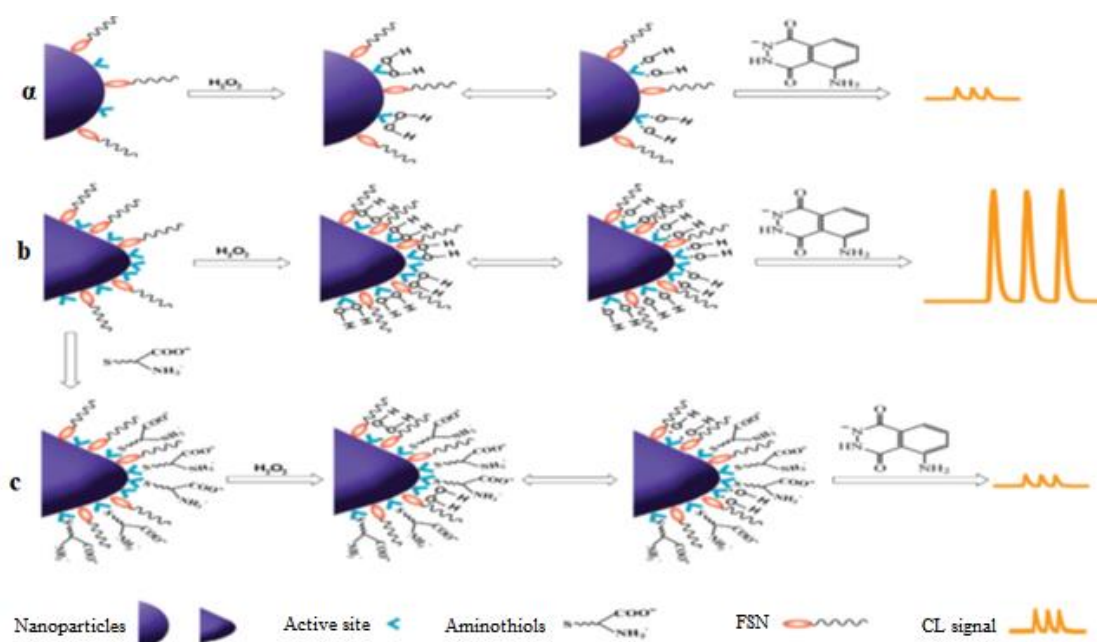
που απορροφήθηκε από τα AuNPs αποσβέστηκε ως αποτέλεσμα του FRET μεταξύ του κόκκινου του Νείλου και των AuNPs. Με την προσθήκη βιοθειολών η ένταση φθορισμού αυξήθηκε λόγω της αλληλεπίδρασης των βιοθειολών με τα AuNPs κάτι που είχε σαν αποτέλεσμα την συσσωμάτωσή τους με αποτέλεσμα να απορροφούν επιπλέον ακτινοβολία σε διαφορετικό μήκος κύματος από το μήκος κύματος εκπομπής του κόκκινου του Νείλου. Αυτό το σύστημα επέτρεψε τον προσδιορισμό των βιοθειολών (π.χ., κυστεαμίνη και ομοκυστεΐνη σε πραγματικά δείγματα (βιολογικά), (εικόνα 2.9). (Chen S. J., Chang H. T., 2004)



Εικόνα 2.9. Μηχανισμοί φθορισμού συντονισμού-μεταφοράς ενέργειας (FRET) για τις θειόλες με δέκτες νανοσωματίδια χρυσού και δότη το κόκκινο του Νείλου.

2.5.3 Ανίχνευση με χημειοφωταύγεια

Το 2005, ο Cui και οι συνεργάτες του (Cui H., et al., 2005) ανέφεραν ότι τα AuNPs θα μπορούσαν να καταλύσουν την χημειοφωταυγή αντίδραση της λουμινόλης με το H_2O_2 . Το σύστημα λουμινόλη- H_2O_2 μπορεί να ανιχνεύσει τις βιοθειόλες με υψηλή ευαισθησία, με βάση την απόσβεση της έντασης του εκπεμπόμενου φωτός. Πιο πρόσφατα, ο Lu και οι συνεργάτες τους (Lu C., et al., 2011) συνέθεσαν τριγωνικά AuNPs με αναγωγή του κιτρικού τρινατρίου του $HAuCl_4$ παρουσία επιφανειαδραστικού ως σταθεροποιητικό μόριο (fluorosurfactant-FSN), (εικόνα 2.10). Αυτά τα τριγωνικά AuNPs έδειξαν μεγαλύτερη καταλυτική δραστηριότητα έναντι της λουμινόλης- H_2O_2 από τα σφαιρικά AuNPs. Παρατηρήθηκε ότι οι βιοθειόλες θα μπορούσαν να διακόψουν το σχηματισμό ριζών οξυγόνου λόγω σχηματισμού ομοιοπολικού δεσμού Au-S στην επιφάνεια των τριγωνικών AuNPs, με αποτέλεσμα την μεγάλη μείωση της έντασης του φωτός. Επιπλέον, αυτά τα τριγωνικά AuNPs χρησιμοποιήθηκαν ως νέα αντιδραστήρια για να διερευνηθεί μια απλή μέθοδος HPLC-CL για την ταυτόχρονη μέτρηση της κυστεΐνης, της ομοκυστεΐνης, της γλουταθειόνης, της κυστεΐνυλγλυκίνης και της γλουταμυλκυστεΐνης σε δείγματα ανθρώπινων ούρων και πλάσματος.

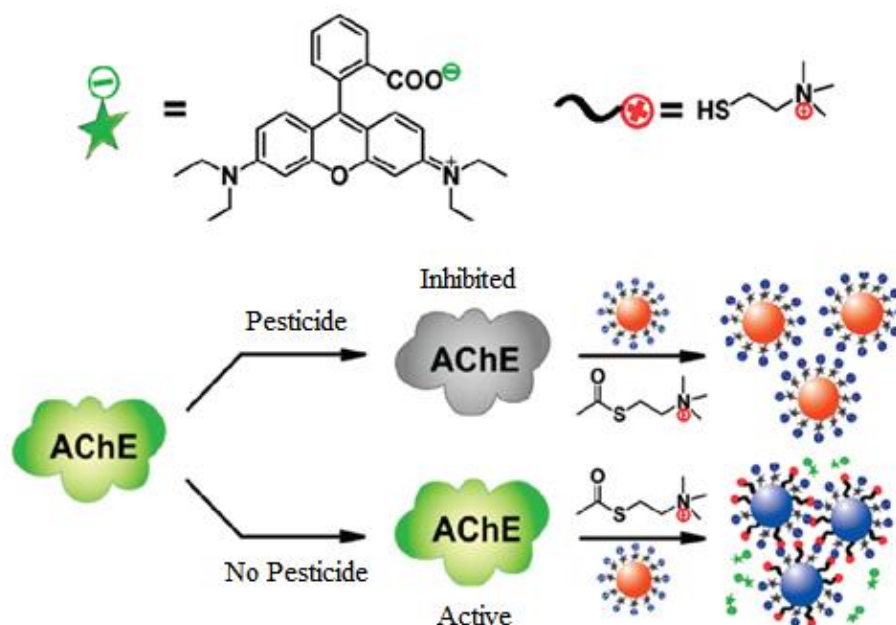


Εικόνα 2.10. Εικονική αναπαράσταση α) καταλυτική δραστηριότητα των σφαιρικών AuNPs επί της λουμινόλης, β) καταλυτική δραστηριότητα των τριγωνικών AuNPs στη λουμινόλη και γ) η αναστολή των αμινοθειολών στο σύστημα λουμινόλη- H_2O_2 -AuNPs με χημειοφωταύγεια.

2.6 ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΦΥΤΟΦΑΡΜΑΚΩΝ ΜΕ ΝΑΝΟΣΩΜΑΤΙΔΙΑ ΧΡΥΣΟΥ

2.6.1 Ανίχνευση οργανοφωσφορικών με νανοσωματίδια χρυσού

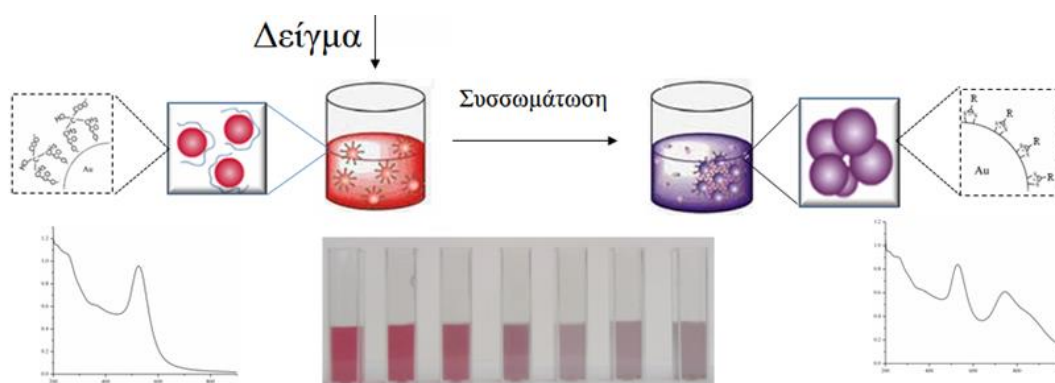
Η ροδαμίνη Β είναι μια χρωστική ένωση, διαλυτή στο νερό, με μεγάλη φωτοσταθερότητα και ισχυρό φθορισμό η οποία έχει χρησιμοποιήσει ως επικάλυψη AuNPs (RB-AuNPs), για την χρωματομετρική και φθορισμομετρική ανίχνευση οργανοφωσφορικών και καρβαμιδικών παρασιτοκτόνων,. Ο μηχανισμός ανίχνευσης βασίζεται στο γεγονός ότι η ακετυλοχολινεστεράση (AChE) μπορεί να υδρολύσει την ακετυλοθειοχολίνη (ATC), και να παράγει θειοχολίνη, η οποία δεσμεύεται στις επιφάνειες των AuNPs, εκτοπίζοντας την ροδαμίνη. Η ελεύθερη πλέον ροδαμίνη φθορίζει έντονα ενώ ταυτόχρονα η δέσμευση της θειοχολίνης προκαλείται συσσωμάτωση των AuNPs, προκαλώντας την χαρακτηριστική αλλαγή του χρώματος του διαλύματος από κόκκινο σε μπλε. Αντίθετα, παρουσία παρασιτοκτόνων δεν παράγεται θειοχολίνη οπότε δεν παρατηρείται συσσωμάτωση των νανοσωματιδίων (και συνεπώς χρωματικές μεταβολές από κόκκινο σε μπλε) ενώ δεν απελευθερώνεται ροδαμίνη με αποτέλεσμα να μην παρατηρείται και φθορισμός της ελεύθερης ροδαμίνης. Η μέθοδος αυτή αναπαρίστανται γραφικά στην εικόνα 2.11 (Liu D., et al., 2012).



Εικόνα 2.11. Σχηματική απεικόνιση της μεθόδου παρουσία και απουσία παρασιτοκτόνων.

2.6.2 Ανίχνευση διθειοκαρβαμιδικών με νανοχωματίδια χρυσού

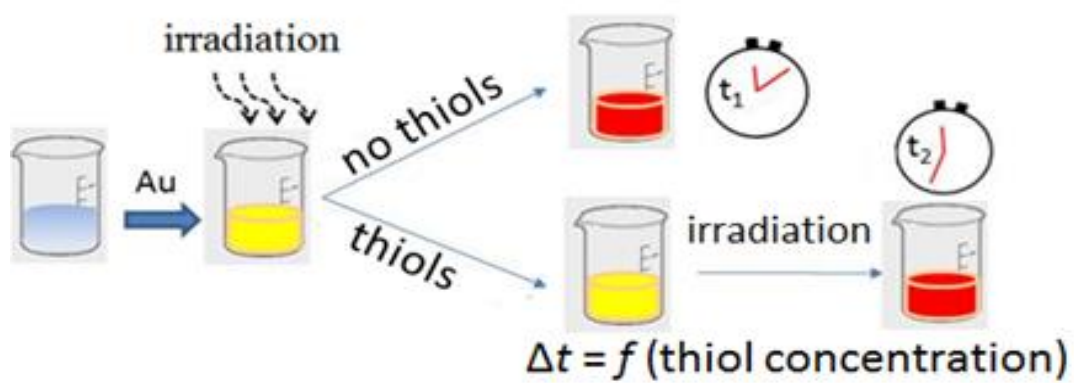
Τα AuNPs που καλύπτονται με κιτρικό άλας (AuNPs) συσσωματώνονται μετά από αλληλεπίδραση με διθειοκαρβαμιδικά φυτοφάρμακα λόγω πρόσδεσης των διθειοκαρβαμιδικών στην επιφάνεια των AuNPs μέσω δεσμών Au-S. Αυτή η συσσωμάτωση αποδεικνύεται από τις μεταβολές στις φασματικές ιδιότητες του διαλύματος που συνεπάγονται τη μείωση της αρχικής απορρόφησης των νανοσωματιδίων Au στα 522 nm και εμφάνιση νέας ζώνης απορρόφησης άνω των 720 nm. Η χρωματική αλλαγή του διαλύματος από κόκκινο σε μωβ-μπλε παρατηρείται οπτικά, (εικόνα 2.12) ακόμα και σε συγκεντρώσεις τόσο χαμηλές όσο 50 Mg/l ([Giannoulis et al. 2014](#)). Παρατηρήθηκε επίσης ότι η ένταση του σήματος επηρεάζεται σε μεγάλο βαθμό από τη δομή των διθειοκαρβαμιδικών. Συγκεκριμένα, το σήμα απορρόφησης μειώνεται σύμφωνα με τη σειρά: διμεθυλοδιθειοκαρβαμιδικά> αιθυλενο δις-(διθειοκαρβαμικά)> προπυλενο δις-(διθειοκαρβαμικά)



Σχήμα 2.9. Σχηματική απεικόνιση της μεθόδου για τη ανίχνευση διθειοκαρβαμιδικών παρασιτοκτόνων και χρωματικές μεταβολές των AuNPs σε αυξανόμενες συγκεντρώσεις Thiram. Από τα αριστερά προς τα δεξιά 25 Mg/l , 50 Mg/l, 75 Mg/l, 100 Mg/l, 125 Mg/l, 175 Mg/l και 250 Mg/l.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΡΙΤΟ

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ



3.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ένα από τα σημαντικότερα χαρακτηριστικά των νανοσωματιδίων των ευγενών μετάλλων (NPs) είναι η ιδιότητα τους να εμφανίζουν έντονες χρωματικές αλλαγές στα διαλύματα τους μετά από αλληλεπίδραση με κάποιο οργανικό ή ανόργανο μόριο. Οι χρωματικές αυτές αλλαγές οφείλονται σε μεταβολές στον συντονισμό των επιφανειακών πλάσμονίων των νανοσωματιδίων που προκαλούνται από αλλαγές τόσο στο μέγεθος όσο και στο σχήμα των νανοσωματιδίων (Rycenga M., et al., 2011). Αυτή η ιδιότητα έχει οδηγήσει στην ανάπτυξη ενός ευρέως φάσματος οπτικών ιχνηθετών και αισθητήρων (Saha K., et al., 2012, Doria G., et al., 2012) με υψηλή ευαισθησία, μεγάλη εκλεκτικότητα και, κυρίως, την δυνατότητα πολυπαραγοντικών αναλύσεων (δηλαδή ανίχνευση περισσότερων του ενός αναλυτών στο ίδιο δείγμα), παρέχοντας σημαντικά πλεονεκτήματα, σε σύγκριση με τους συμβατικούς μοριακούς αισθητήρες (Tansil N. C., Gao Z., 2006).

Το κλειδί για την ανάπτυξη μεθόδων οπτικής ανίχνευσης με βάση τα νανοσωματίδια είναι η αποσυσσωμάτωση ή η συσσωμάτωση των NPs λόγω της αλληλεπίδρασης τους με τους αναλύτες, διαδικασία που επηρεάζει τις ελκυστικές ή απωστικές δυνάμεις μεταξύ των NPs (Ghosh S. K., Pal T., 2007). Αυτό επιτυγχάνεται συνήθως με χημική τροποποίηση των επιφανειών των νανοσωματιδίων με κατάλληλα μόρια που δρουν ως υποδοχείς (δέκτες) του αναλύτη, , με την απομάκρυνση των σταθεροποιητών μορίων από την επιφάνεια των NPs ή μέσω παρεμβολής του αναλύτη στους διασωματιδιακούς δεσμούς μεταξύ των νανοσωματιδίων (Zhao W., et al., 2008).

Μια διαφορετική προσέγγιση για την ανάπτυξη μεθόδων οπτικής ανίχνευσης με βάση τα νανοσωματίδια βασίζεται στην ικανότητα ενός αναλύτη ή ενός υποπροϊόντος, που παράγεται από μία ενζυματική αντίδραση της αναλυόμενης ουσίας και ενός κατάλληλου μορίου, να προκαλεί μορφολογικές αλλαγές στα νανοσωματίδια κατά τη διάρκεια του σχηματισμού τους και, συνεπώς, να προκαλέσει φασματικές και χρωματικές μεταβολές. Η προσέγγιση αυτή διαφέρει ουσιαστικά από τις προηγούμενες στο ότι η επίδραση του αναλύτη δεν ασκείται σε προ-σχηματισμένα νανοσωματίδια αλλά κατά την διάρκεια του σχηματισμού τους. Τέτοια παραδείγματα είναι ο σχηματισμός και η ανάπτυξη νανοσωματιδίων ευγενών μετάλλων ως συνάρτηση της αναγωγικής δράσης φαινολικών οξέων (Scampicchio M., et al., 2006), αντιοξειδωτικών ουσιών (Choleva T. G., et al., 2015) και β-αγωνιστών (He P., et al., 2011), η ανασταλτική επίδραση των βάσεων του DNA στο σχηματισμό των AuNPs λόγω της ισχυρής τους αλληλεπίδρασης με τα ιόντα Au (Pan H., et al., 2011) και η ανίχνευση του Hg²⁺ με βάση το σχηματισμό ενός αμαλγάματος μεταξύ του Hg και του Au (Rex M., et al., 2006).

Στις ενζυματικές αντιδράσεις, ο σχηματισμός των νανοσωματιδίων ρυθμίζεται από το προϊόν της ενζυματικής αντίδρασης του αναλύτη επιτρέποντας την ανίχνευση «αδρανών» αναλυτών, δηλαδή αναλυτών που δεν εμφανίζουν χημική συνάφεια με τα μεταλλικά νανοσωματίδια ή με τα μεταλλικά ιόντα από τα οποία δημιουργούνται (Willner I., et al., 2006). Για παράδειγμα, η αφυδρογονάση της αλκοόλης έχει χρησιμοποιηθεί για τη παραγωγή φωσφορικού δινουκλεοτιδίου αδενίνης Νικοτιναμιδίου, που δρα ως αναγωγικός παράγοντας, επηρεάζοντας το σχήμα και το μέγεθος των AuNPs (Xiao Y., et al., 2004).

Με το ίδιο σκεπτικό, χρησιμοποιήθηκαν βιομόρια με βάση την οξειδάση για την κατάλυση του σχηματισμού νανοσωματιδίων χρυσού μέσω αναγωγής του AuCl_4 με ένζυμα παραγόμενα από το υπεροξείδιο του υδρογόνου (Zayats M., et al., 2005). Μια άλλη δημοφιλής εφαρμογή είναι η υδρόλυση της ακετυλοθειοχολίνης από εστεράση ακετυλοχολίνης (AChE) για να παραχθεί θειοχολίνη, η οποία ενεργεί τόσο ως αναγωγικό για τα ιόντα AuCl_4 όσο και ως καλυπτικό αντιδραστήριο για τα παραγόμενα AuNPs. Συνεπώς, ουσίες που αναστέλλουν την δράση της AChE (όπως τα οργανοφωσφορικά νευροπαραλητικά αέρια ή τα οργανοφωσφορικά εντομοκτόνα) μπορούν να προσδιοριστούν έμμεσα με τη μέτρηση της αναστολής της υδρόλυσης ακετυλοθειοχολίνης προς θειοχολίνη (Willner I., et al., 2006, Virel A., et al., 2009, Coronado-Puchau M., et al., 2013, Lu L., Xia Y., 2015). Σε όλες αυτές τις προσεγγίσεις πάντως, είναι απαραίτητη η παρουσία ενός αναγωγικού μέσου που είτε παράγεται επί τόπου στο διάλυμα από την ενζυματική αντίδραση της αναλυόμενης ουσίας είτε προστίθεται χωριστά στο διάλυμα, για να διασφαλιστούν ισχυρά αναγωγικές συνθήκες που είναι απαραίτητες για την αναγωγή των ιόντων του ευγενούς μετάλλου στα αντίστοιχα νανοσωματίδια τους.

Εκτός από τα αναγωγικά μέσα (αντιδραστήρια), αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι το υπεριώδες και το ορατό φως μπορούν επίσης να χρησιμοποιηθούν για τη δημιουργία μεταλλικών νανοσωματιδίων παρουσία κατάλληλων μορίων που λειτουργούν ως φωτοευαισθητοποιητές που ενισχύουν ή πυροδοτούν τον σχηματισμό νανοσωματιδίων (Jana J., et al., 2018, Eustis S., et al., 2005, Dong S. A., Zhou S. P., 2007, Wang L., et al., 2008, Yang S., et al., 2007). Ωστόσο, ένας περιορισμένος αριθμός μελετών έχει χρησιμοποιήσει την επίδραση του αναλύτη στον φωτοχημικό σχηματισμό των NPs για την ανάπτυξη νέων μεθόδων ανίχνευσης. Οι περισσότερες από αυτές τις μελέτες επικεντρώνονται σε ιόντα αργύρου λόγω της εύκολης φωτοαναγωγής τους υπό το υπεριώδες ή το ορατό φως. Για παράδειγμα, ο Jung και οι συνεργάτες του χρησιμοποίησαν την φωτοδιεγερμένη αναγωγή του ιόντος αργύρου (Ag^+), δεσμευμένο σε βάσεις DNA, για την ανίχνευση βακτηριακού γονιδιωματικού DNA (Jung Y. L., et al., 2013). Η ομάδα, μας ανέπτυξε μια μέθοδο για τον

προσδιορισμό της διαλυμένης οργανικής ύλης σε φυσικά ύδατα που βασίζεται στον σχηματισμό νανοσωματιδίων αργύρου εκμεταλλευόμενη την διέγερση που ασκούν τα χουμικά και φουλβικά οξέα στην φωτοαναγωγή των ιόντων αργύρου υπό την επίδραση υπεριώδους ακτινοβολίας (Gatselou V. A., et al., 2014, Kappi F. A., et al., 2017). Στην συνέχεια, η ερευνητική μας ομάδα εκμεταλλευόμενη την επίδραση των θειολών στη φωτοχημική αναγωγή των νανοκρυστάλλων του αλογονιδίου του αργύρου για την ανίχνευση βιοθειολών (κυστεΐνη, γλουταθειόνη και ομοκυστεΐνη) σε βιολογικά υγρά (Kappi F. A., et al., 2017) χρησιμοποιώντας έναν επίπεδο σαρωτή ως ανιχνευτή. Ο Pu και οι συνεργάτες του, περιέγραψαν την φωτοχημική σύνθεση νανοσωματιδίων αργύρου παρουσία βιομορίων με βάση την οποία ανέπτυξαν μια μέθοδο για την διάκριση πρωτεϊνών με χρήση στατιστικών μεθόδων (Pu F., et al., 2017). Όσον αφορά τα ιόντα χρυσού, μόνο μία μελέτη έχει αναφερθεί, στην επίδραση του αναλύτη στη φωτοχημική αναγωγή των ιόντων Au. Συγκεκριμένα, οι βιοθειόλες βρέθηκαν να αναστέλλουν το σχηματισμό των AuNPs που παράγονται με φωτοαναγωγή των ιόντων χρυσού παρουσία όμως τρυπτοφάνης που χρησιμοποιείται ως αναγωγικό μέσο. Η αναστολή του σχηματισμού των νανοσωματιδίων χρησιμοποιήθηκε για τον φασματοφωτομετρικό προσδιορισμό των βιολογικών θειολών σε ανθρώπινο πλάσμα (Jung Y. L., et al., 2016).

Σε αυτή την μεταπτυχιακή εργασία, περιγράφουμε μια νέα μέθοδο ανίχνευσης που εκμεταλλεύεται, για πρώτη φορά, την κινητική της φωτοχημικής αναγωγής των ιόντων χρυσού σε νανοσωματίδια χρυσού. Η μέθοδος βασίζεται στην καταγραφή της χρονικής καθυστέρησης που παρατηρείται κατά την φωτοαναγωγή των ιόντων χρυσού σε νανοσωματίδια παρουσία θειούχων ενώσεων με τη βοήθεια ενός απλού χρονομέτρου. Ένα ευρύ φάσμα οργανικών και ανόργανων ενώσεων με διαφορετικές ομάδες θείου όπως θειόλες, θειοεστέρες, δισουλφίδια, θειοφωσφορικούς δεσμούς, δεσμούς μετάλλου-θείου και ανόργανο θείο βρέθηκαν να επιβραδύνουν την κινητική φωτοαναγωγής των ιόντων χρυσού τόσο υπό υπεριώδες όσο και σε ορατό φως. Βάσει αυτής της αρχής, αναπτύξαμε μια γενική, αναλυτική μέθοδο για θειούχες ενώσεις και εξετάσαμε την πρακτική χρησιμότητά της για την ανάλυση θειούχων ενώσεων, χωρίς την χρήση ενόργανων τεχνικών ανάλυσης και εργαστηριακού εξοπλισμού.

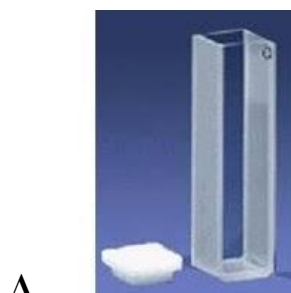
3.2 ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Όλα τα αντιδραστήρια ήταν αναλυτικής καθαρότητας (εκτός αν αναφέρεται διαφορετικά). Το τριένυδρο τετραχλωροχρυσικό οξύ (ελάχιστο 99,9%), η ζοφενοπρίλη (ως σύμπλοκο του ασβεστίου), τα αναλυτικά πρότυπα PESTANAL® των διθειοκαρβαμικών μυκητοκτόνων (Thiram και Propineb) και των οργανοφωσφορικών παρασιτοκτόνων (Phorate και Methamidophos), η αργινίνη, η ασπαραγίνη, το ασπαρτικό οξύ, η L-κυστεΐνη, η κυστίνη, η DL-ομοκυστεΐνη, η γλουταμίνη, το γλουταμικό οξύ, το χλωριούχο αμμώνιο, το γαλακτικό οξύ, το θειικό μαγνήσιο, το εξαένυδρο χλωριούχο μαγνήσιο, το θειούχο νάτριο, το χλωριούχο νάτριο, το θειικό νάτριο, το όξινο ανθρακικό νάτριο, το όξινο φωσφορικό δικάλιο, το δισόξινο φωσφορικό κάλιο, το κιτρικό οξύ, το κιτρικό τρι-νάτριο, το χλωριούχο κάλιο, το διένυδρο χλωριούχο ασβέστιο, το ουρικό οξύ, η D(+)-γλυκόζη και η κρεατινίνη αποκτήθηκαν από την Sigma-Aldrich (Steinheim, Germany). Η L-γλουταθειόνη (αναγώμενη), το μεσο-2,3-διμερκαπτοσουξινικό οξύ, η D(-)-πενικιλλαμίνη, η N-ακετυλο-L-κυστεΐνη και η καπτοπρίλη αγοράστηκαν από την Alfa Aesar (Karlsruhe, Germany). Η γλυκίνη, η ιστιδίνη, η λυσίνη και η βαλίνη προήλθε από την Serva Electrophoresis GmbH (Heidelberg, Γερμανία). Τέλος, η ουρία (> 99,5%) αγοράστηκε από την Pharmacia Biotech AB (Uppsala, Σουηδία) και οι διαλύτες για HPLC από την Fischer Scientific (Loughborough, UK).

3.3 ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ

Χρησιμοποιήσαμε ένα θάλαμο φωτισμού UV (Vilber Lourmat Bio-Link® BLX Crosslinker) (4 W cm^{-2}) για φωτισμό των διαλυμάτων με υπεριώδες φως (254, 312 και 365 nm) και τεχνητό φως (λυχνίες Cool White 4000K). Ο θάλαμος εξασφαλίζει σταθερή και ελεγχόμενη έκθεση στην ακτινοβολία (υπεριώδη και ορατή) καθ' όλη τη διάρκεια των πειραμάτων. Για την βιντεοσκόπηση των πειραμάτων χρησιμοποιήσαμε μια φωτογραφική μηχανή κινητού τηλεφώνου SAMSUNG S6 Edge (16.0 Mpixel). Καρέ από το βίντεο απομονώθηκαν ανά χρονικά διαστήματα 1.0 λεπτού και αποθηκεύτηκαν σε μορφή JPEG (300 dpi). Η μέση ένταση του χρώματος σε αποχρώσεις του γκρι μετρήθηκαν χρησιμοποιώντας το λογισμικό Image J (US National Institute of Health). Μετρήσαμε την ένταση του σήματος σε αποχρώσεις του γκρι επειδή ήταν η απλούστερη προσέγγιση για την απόκτηση του αναλυτικού σήματος και την αποφυγή επεξεργασίας των εικόνων. Για τη λήψη μετρήσεων

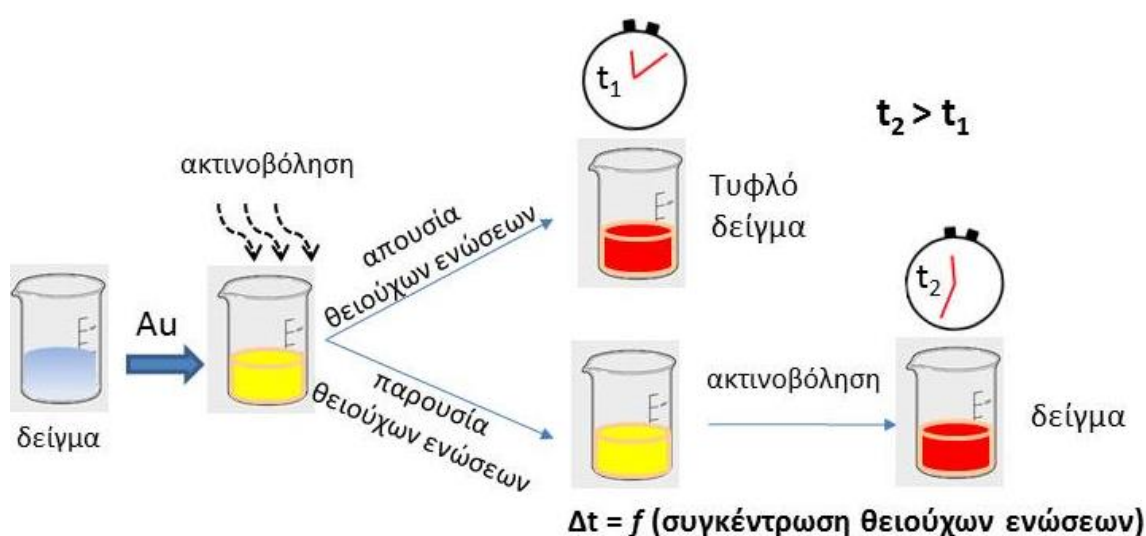
απορρόφησης χρησιμοποιήσαμε κυψελίδες χαλαζία μήκους οπτικής διαδρομής 1 cm σε φασματοφωτόμετρο Jenway (Essex, UK) 6405 UV / Vis.



3.4 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΠΟΡΕΙΑ

Η γενική πειραματική πορεία για όλες τις θειούχες ενώσεις περιλαμβάνει τη διαδοχική προσθήκη 5,0 mM ρυθμιστικού διαλύματος κιτρικού οξέος-κιτρικού νατρίου pH 3,5 και 1,0 mM διαλύματος AuCl_4^- στο δείγμα για να παρασκευαστεί ένα διάλυμα με τελικό όγκο 2 mL. Παράλληλα παρασκευάζεται τυφλό δείγμα που περιέχει απεσταγμένο νερό, αντί του δείγματος. Τόσο το τυφλό όσο και το δείγμα ακτινοβολούνται ταυτόχρονα υπό υπεριώδες ή ορατό φως σε λευκό φόντο για να διευκολυνθεί η παρατήρηση της ανάπτυξης του χρώματος. Όλες οι αντιδράσεις λαμβάνουν χώρα σε θερμοκρασία δωματίου χωρίς να ανιχνεύεται θερμότητα δια της αφής όταν τα διαλύματα αφαιρούνται από την πηγή ακτινοβολίας. Ο σχηματισμός των AuNPs παρατηρείται οπτικά ή με μια κάμερα σε λειτουργία βίντεο. Η

χρονική καθυστέρηση που παρατηρείται κατά τον σχηματισμό ενός κόκκινου-πορφυρού χρώματος μεταξύ του τυφλού και των διαλυμάτων του δείγματος, και το οποίο είναι το ενδεικτικό του σχηματισμού των AuNPs, χρησιμοποιείται ως αναλυτικό σήμα που συσχετίζεται με τη συγκέντρωση των θειούχων ενώσεων στο δείγμα. Η γενική πειραματική πορεία παρουσιάζεται στο σχήμα 3.1. Θα πρέπει να τονιστεί ότι ανάλογα με την ουσία και τη σύνθεση της μήτρας του υποστρώματος του δείγματος, απαιτούνται ορισμένες τροποποιήσεις στην πειραματική πορεία οι οποίες και περιγράφονται παρακάτω αναλυτικά.



Σχήμα 3.1. Γενική πειραματική πορεία ανάλυσης θειούχων ενώσεων που βασίζεται στην κινητική της φωτοαναγωγής των ιόντων χρυσού σε νανοσωματίδια.

3.4.1 Δείγματα

Εμπορικά φάρμακα σε διάφορες μορφές (ταμπλέτες, σκόνη ή κάψουλες) προμηθεύτηκαν από τα τοπικά φαρμακεία και διαλύθηκαν στο κατάλληλο διαλύτη (η ακετυλοκυστεΐνη, η D-πενικιλλαμίνη και η DL-καπτοπρίλη σε απεσταγμένο νερό, η ζοφenoπρίλη σε DMSO και το μεσο-2,3-διμερκαπτοηλεκτρικό οξύ σε αιθανόλη) υπό ανάδευση και ακτινοβολία υπεριώδους. Τα διαλύματα στη συνέχεια διηθήθηκαν από φίλτρο με μέγεθος πόρων 0,45 μm ώστε να απομακρυνθούν τα μη-διαλυμένα έκδοχα και τα διαλύματα αραιώθηκαν κατάλληλα με απεσταγμένο νερό. Επεξεργασμένα αστικά λύματα ελήφθησαν από την τοπική μονάδα επεξεργασίας λυμάτων και διηθήθηκαν μέσω φίλτρου 0,45 μm για να απομακρυνθούν τα αιωρούμενα στερεά. Τα εμφιαλωμένα νερά προμηθεύτηκαν από την εγχώρια αγορά και χρησιμοποιήθηκαν ως έχουν. Τεχνητό διάλυμα

ούρων (artificial urine sample - AUS) παρασκευάστηκε με ανάμιξη 1,1 mM γαλακτικού οξέος, 170,0 mM ουρίας, 25,0 mM διττανθρακικού νατρίου, 2,0 mM κιτρικού οξέος, 2,5 mM χλωριούχου ασβεστίου, 90,0 mM χλωριούχου νατρίου, 25,0 mM χλωριούχου αμμωνίου, 10,0 mM θεικού νατρίου, 2,0 mM θεικό μαγνήσιο, 7,0 mM όξινο φωσφορικό κάλιο και 7,0 mM δισόξινο φωσφορικό κάλιο σε αποσταγμένο νερό και ρυθμίζοντας το pH στην τιμή 6,0 (Brooks T., Keevil C. W., 1997). Στο διάλυμα αυτό προστέθηκε πρότυπο διάλυμα κυστεΐνης τελικής συγκέντρωσης 200 μ M και αναμίχθηκε υπό ανάδευση για 5 λεπτά.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΕΤΑΡΤΟ

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

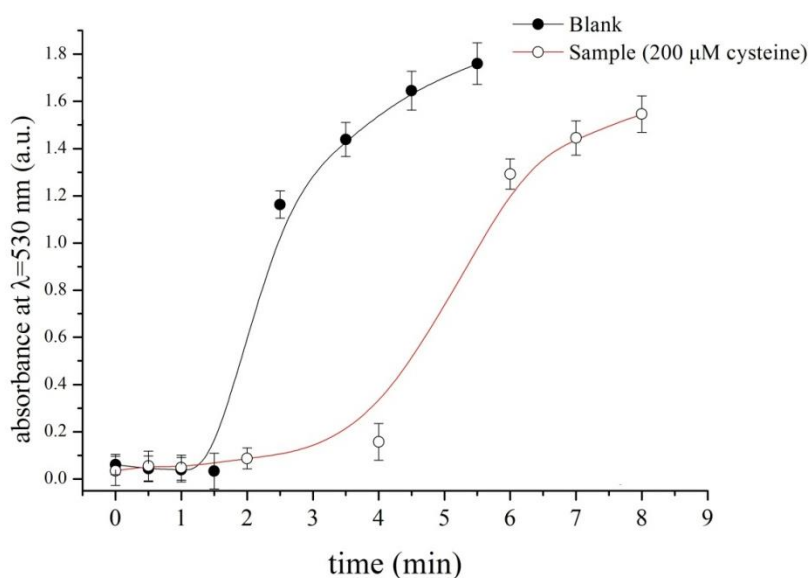
4.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

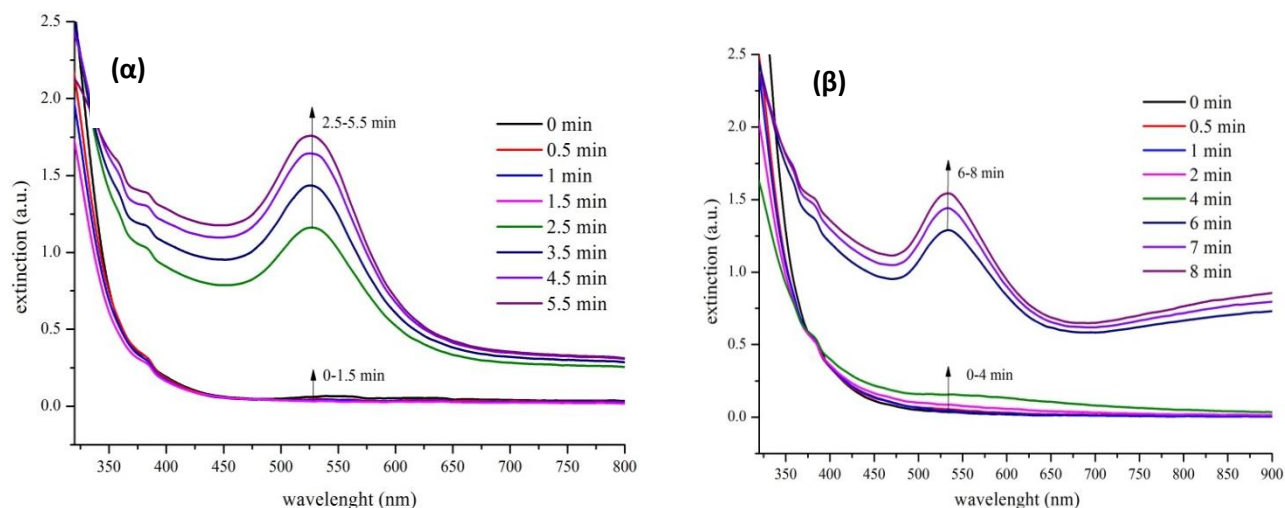
Ο σχηματισμός και η ελεγχόμενη σύνθεση των νανοσωματιδίων χρυσού από υδατικά διαλύματα χρυσού υπό την επίδραση του φωτός έχει προκαλέσει μεγάλο ενδιαφέρον επειδή προσφέρει διάφορα πλεονεκτήματα έναντι των μεθόδων χημικής αναγωγής. Πιο συγκεκριμένα, η φωτοαναγωγή των ιόντων χρυσού πραγματοποιείται χωρίς τη χρήση ισχυρών αναγωγικών μέσων (π.χ. βοροϋδριδίου) και την χρήση απαιτητικών διεργασιών (π.χ. βράσιμο των διαλυμάτων σε κλειστές φιάλες) ενώ η διάχυση της ακτινοβολίας σε ολόκληρο τον όγκο του διαλύματος, επιτρέπει την ομοιόμορφη αναγωγή σε όλη την πορεία της αντίδρασης (Dong S., et al., 2004). Αν και έχουν δοκιμαστεί διάφορες πηγές φωτός (UV, ηλιακό φως, λέιζερ, γ-ακτινοβολία), η ακτινοβολία UV χρησιμοποιείται συχνότερα επειδή αντιστοιχεί στη ζώνη απορρόφησης του Au^{3+} (περίπου 323 nm) (Yang S., et al., 2007, Eustis S., et al., 2005).

Προηγούμενες μελέτες έχουν δείξει ότι όταν τα σύμπλοκα του AuCl_4^- ακτινοβολούνται με υπεριώδες φως, τα ιόντα του Au^{3+} αρχικά διεγείρονται από την εισερχόμενη ακτινοβολία και ανάγονται σε ιόντα Au^{2+} , τα οποία είναι ασταθή και σχηματίζουν γρήγορα ιόντα Au^+ αλλά και Au^{3+} . Στη συνέχεια, το Au^+ είτε απορροφά ένα άλλο φωτόνιο και φωτοανάγεται σε Au^0 , είτε οξειδώνεται αργά σε Au^{2+} . Τα σχηματιζόμενα άτομα χρυσού Au^0 μπορούν στη συνέχεια να συγκεντρωθούν για να σχηματίσουν πυρήνες που μπορούν να καταλύουν τις αντιδράσεις σχηματισμού νανοσωματιδίων (αποπρωτονίωσης των ιόντων χρυσού) (Yang S., et al., 2007, Eustis S., et al., 2005). Αυτές οι αντιδράσεις λαμβάνουν χώρα παρουσία προσθέτων που επιταχύνουν ή ενεργοποιούν τον σχηματισμό των AuNPs διαμέσου διαφορετικών χημικών μηχανισμών (Yang S., et al., 2007, Eustis S., et al., 2005, Virel A., et al., 2009, Coronado-Puchau M., et al., 2013, Dong S., et al., 2004). Επιφανειοδραστικά, πολυμερή, αιθυλενογλυκόλη και κιτρικά άλατα, μεταξύ άλλων, έχουν χρησιμοποιηθεί ως ευαισθητοποιητές στη φωτοχημική αναγωγή των ιόντων χρυσού προς σχηματισμό των AuNPs.

Σε αυτή την μελέτη, παρατηρήσαμε ότι οι ενώσεις που περιέχουν θείο μπορούν επίσης να επηρεάσουν το σχηματισμό και την ανάπτυξη των AuNPs αλλά, σε αντίθεση με άλλες ενώσεις, επιβραδύνουν την κινητική της φωτοαναγωγής του σχηματισμού των AuNPs. Το σχήμα 4.1 και τα αντίστοιχα φάσματα απορρόφησης UV-Vis δείχνουν την κινητική του φωτοχημικού σχηματισμού των AuNPs υπό ακτινοβολία με υπεριώδη ακτινοβολία απουσία και παρουσία κυστεΐνης ως πρότυπη ένωση που περιέχει θείο. Όλα τα πειράματα

διεξήχθησαν παρουσία κιτρικών ιόντων τα οποία ήταν απαραίτητα για την ευαισθητοποίηση και την επιτάχυνση της φωτοαναγωγής του Au^{3+} προς AuNPs. Σύμφωνα με προηγούμενες μελέτες, τα κιτρικά ιόντα μπορούν να ευαισθητοποιήσουν τον φωτοχημικό σχηματισμό των AuNPs είτε λόγω της φωτοαναγωγής του κιτρικού προς 1,3-δικαρβοξυλική ακετόνη και ελεύθερων ηλεκτρονίων, τα οποία στη συνέχεια ανάγουν τα ιόντα Au^{3+} ($m = 1,2,3$) σε Au^0 (Yang S., et al., 2007) λόγω της άμεσης διέγερσης του συμπλόκου κιτρικού- Au^{3+} που μπορεί να ανάγει το Au^{3+} μέσω μεταφοράς ηλεκτρονίων με ιοντικούς μηχανισμούς (Yang S., et al., 2007). Αντίθετα, δεν παρατηρήσαμε τη φωτοχημική αναγωγή των ιόντων Au^{3+} απουσία κιτρικού άλατος, ακόμη και σε μεγαλύτερους χρόνους ακτινοβολήσης, δηλαδή 30 λεπτά κάτω από 40W ακτινοβολίας στα 254 nm.





Σχήμα 4.1. Κινητική του φωτοχημικού σχηματισμού των AuNPs απουσία (μάρκος κύκλος) και παρουσία (λευκός κύκλος) 200 μM κυστεΐνης. Φάσματα UV-Vis (α) της κινητικής σχηματισμού AuNPs στο τυφλό δείγμα και (β) σε υδατικό διάλυμα κυστεΐνης. Πειραματικές συνθήκες $\text{pH} = 4$ (ρυθμιστικό διάλυμα κιτρικού οξέος-κιτρικού νατρίου 0,8 mM), $\lambda = 254\text{nm}$, 40W.

Με βάση αυτές τις παρατηρήσεις αναπτύξαμε μια νέα αναλυτική μέθοδο για τον προσδιορισμό θειούχων ενώσεων που βασίζεται στην ικανότητά τους να επιβραδύνουν την κινητική της φωτοαναγωγής των ιόντων χρυσού σε νανοσωματίδια χρυσού. Η χρονική καθυστέρηση ελέγχεται οπτικά παρακολουθώντας τον χρόνο που απαιτείται για την εμφάνιση ενός κόκκινου χρωματισμού στο υπό εξέταση διάλυμα (που είναι ενδεικτικός του σχηματισμού των νανοσωματιδίων χρυσού) με τη χρήση ενός χρονομέτρου ή κάμερας για την καταγραφή της συνολικής διαδικασίας σε βίντεο.

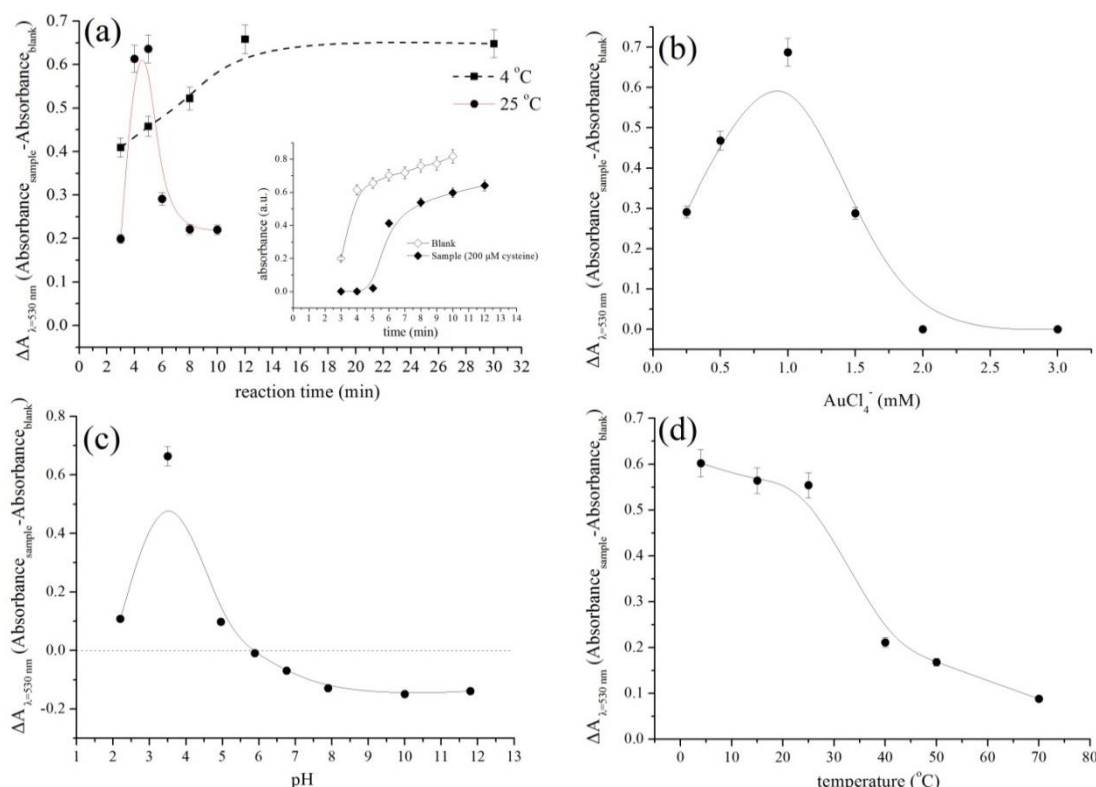
4.2 ΒΕΛΤΙΣΤΟΠΟΙΗΣΗ ΤΗΣ ΦΩΤΟΑΝΑΓΩΓΗΣ ΤΟΥ ΧΡΥΣΟΥ

Ο φωτοχημικός σχηματισμός των AuNPs από τα διαλύματα Au^{3+} είναι ένα κινητικό φαινόμενο που συνεχίζεται ακόμη και μετά την έκθεση των διαλυμάτων στην ακτινοβολία. Ανάλογα με τις πειραματικές συνθήκες (ένταση της ακτινοβολίας, συγκέντρωση των ιόντων χρυσού, παρουσία προσθέτων κ.λπ.), ο σχηματισμός των AuNPs μπορεί να συνεχιστεί για αρκετές ώρες (ακόμη και ημέρες) μετά τη διακοπή της ακτινοβολίας, μέχρις ότου επιτευχθεί ισορροπία (Eustis S., et al., 2005). Το φαινόμενο αυτό δεν αποτελεί περιορισμό στην δική μας μέθοδο, διότι το αναλυτικό σήμα είναι ο χρόνος που απαιτείται για την αλλαγή του χρώματος του διαλύματος (από ελαφρώς κίτρινο σε ελαφρώς κόκκινο). Μόλις το χρώμα γίνει εμφανές δια γυμνού οφθαλμού, ο σχηματισμός του AuNPs πλέον δεν καταγράφεται καθώς η μέτρηση του αναλυτικού σήματος (χρόνου) σταματά με την εμφάνιση

του κόκκινου χρωματισμού. Για να βελτιστοποιηθούν όμως οι πειραματικές συνθήκες της ανάλυσης, χρησιμοποιήσαμε την απορρόφηση των διαλυμάτων προκειμένου να ληφθούν μετρήσεις (απορρόφησης) σε καθορισμένο χρόνο για όλα τα πειράματα βελτιστοποίησης. Συνεπώς η πρώτη παράμετρος που μελετήθηκε ήταν η επίδραση του χρόνου επώασης, μετά από ακτινοβολία με υπεριώδη ακτινοβολία, . Μετρήσαμε την απορρόφηση των τυφλών διαλυμάτων και των δειγμάτων (πρότυπα διαλύματα κυστεΐνης) στα 525 nm μετά από ακτινοβολία για 1,5 λεπτό σε υπεριώδες φως (254nm, 40W) και έπειτα επώαστηκαν στο σκοτάδι για διάφορα χρονικά διαστήματα. Ακτινοβολήσαμε τα δείγματα για 1,5 λεπτά επειδή σύμφωνα με τις καμπύλες κινητικής του σχήματος 4.1, τόσο το δείγμα όσο και το τυφλό διάλυμα δεν παρουσιάζουν σημαντική αύξηση στις τιμές απορρόφησης, ενώ σε μεγαλύτερους χρόνους η απορρόφηση του τυφλού αυξάνεται απότομα. Για να εξασφαλιστεί η αναπαραγωγιμότητα της συνολικής διαδικασίας, τα δείγματα διατηρήθηκαν στο σκοτάδι για να αποφευχθεί η έκθεση στο φως του περιβάλλοντος, το οποίο μπορεί να ενισχύσει τη φωτοαναγωγή του AuCl_4^- (Dong S. A., et al., 2007).

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα του σχήματος 4.2 , το καθαρό αναλυτικό σήμα αυξάνεται ταχέως μετά από 5 λεπτά επώασης αλλά μειώνεται σημαντικά σε μεγαλύτερους χρόνους. Αυτό το φαινόμενο παρατηρείται λόγω του ταχύτερου σχηματισμού των AuNPs στο τυφλό διάλυμα κατά τα πρώτα 4-5 λεπτά επώασης, ενώ παρουσία κυστεΐνης ο σχηματισμός των AuNPs επιβραδύνεται και καθίσταται εμφανής μόνο μετά από τα 6 λεπτά επώασης (σχήμα 4.2 α). Ως εκ τούτου, η διαφορά στην τιμή της απορρόφησης φτάνει τη μέγιστη τιμή της μετά από 5 λεπτά επώασης και στη συνέχεια μειώνεται. Όταν τα ίδια πειράματα εκτελέστηκαν σε ψυχρές συνθήκες επώασης (δηλαδή στους 4°C), το σήμα αυξάνονταν συνεχώς για 30 λεπτά. Αυτά τα δεδομένα υποδηλώνουν ότι η θερμοκρασία επηρεάζει την κινητική της φωτοαναγωγής του χρυσού. Συνεπώς, οι μετρήσεις της έντασης της απορρόφησης πραγματοποιήθηκαν μετά από 1,5 λεπτό έκθεσης σε υπεριώδες φως (40W, 254 nm) και 5 λεπτά επώασης σε θερμοκρασία δωματίου προστατευμένο από την έκθεση στο φως του περιβάλλοντος.

Μετά τη βελτιστοποίηση της κινητικής της αντίδρασης, μελετήσαμε την επίδραση της συγκέντρωσης του AuCl_4^- και της συγκέντρωσης των κινιτικών, τη θερμοκρασία, του pH και το μήκος κύματος της ακτινοβολίας στον φωτοχημικό σχηματισμό των AuNPs, χρησιμοποιώντας ένα υδατικό διάλυμα κυστεΐνης συγκέντρωσης 50 μM .



Σχήμα 4.2. Επίδραση του (α) χρόνου επώασης μετά την έκθεση σε υπεριώδεις ακτινοβολίας, (β) της συγκέντρωσης του AuCl_4^- , (γ) του pH και (δ) της θερμοκρασίας, στη φωτοχημική αναγωγή των ιόντων χρυσού σε AuNPs. Πειραματικές συνθήκες: 1,5 λεπτά ακτινοβολίας στα 40 W, 254 nm, 50 μM κυστεΐνης.

Τα αποτελέσματα του σχήματος 4.2 (β) δείχνουν ότι η απορρόφηση αυξάνεται σημαντικά σε συγκεντρώσεις AuCl_4^- έως 1 mM λόγω της σημαντικής αύξησης της απορρόφησης του τυφλού διαλύματος. Σε υψηλότερες συγκεντρώσεις χρυσού η απορρόφηση μειώνεται σημαντικά τόσο για το δείγμα όσο και για το τυφλό διάλυμα, πιθανώς επειδή απαιτείται μεγαλύτερη ποσότητα ενέργειας για την φωτοαναγωγή της (μεγαλύτερης) συγκέντρωσης των ιόντων Au. Ως εκ τούτου, χρησιμοποιήθηκε 1 mM AuCl_4^- σε όλα τα πειράματα.

Η συγκέντρωση των κυτρίκων ιόντων, που είναι αναγκαία για την ευαισθητοποίηση της φωτοχημικής αναγωγής των ιόντων χρυσού, βρέθηκε ότι αυξάνεται όσο μειώνεται η ένταση της ακτινοβολίας (δηλαδή όσο αυξάνεται το μήκος κύματος ακτινοβολίας). Σε 40 W έντασης ακτινοβολίας στα 254 nm παρουσία 50 μM κυστεΐνης, οι βέλτιστες συγκεντρώσεις κυτρίκων ιόντων ήταν 5 mM ενώ στις υψηλότερες συγκεντρώσεις κυτρίκων τα σήματα απορρόφησης μειώθηκαν, πιθανώς επειδή τα κυτρίκα ιόντα επιταχύνουν τη φωτοαναγωγή των διαλυμάτων των ιόντων χρυσού.

Όσον αφορά το pH, διαπιστώθηκε ότι τα καλύτερα αποτελέσματα επιτυγχάνονται σε όξινες συνθήκες ($\text{pH} = 3,5$). Καθώς το pH αυξάνεται πάνω από το βέλτιστο ($\text{pH} > 3,5$), το σήμα παρουσιάζει συμπεριφορά που φαίνεται να σχετίζεται με την σταθερά διάστασης (pK_a) της κυστεΐνης. Συγκεκριμένα, το σήμα (διαφορά απορρόφησης τυφλού και δείγματος) μειώνεται στο μηδέν σε $\text{pH} = 5$, το οποίο συμπίπτει με το ισοηλεκτρικό σημείο της κυστεΐνης (δηλ. 5.14) αλλά και την pK_a του κιτρικού οξέος (δηλ. 4.74). Στη συνέχεια, το σήμα αντιστρέφεται (δηλαδή η ένταση της απορρόφησης του δείγματος είναι υψηλότερη από την ένταση της απορρόφησης του τυφλού) και σταδιακά μειώνεται μέχρι την τιμή του $\text{pH} = 8$, που συμπίπτει με τη σταθερά διαστάσεως της σουλφυδρυλομάδας της κυστεΐνης ($\text{pK}_{a2} = 8,18$). Σε $\text{pH} > 8$, και καθώς το pH προσεγγίζει την pK_{a3} της αμινοομάδας της κυστεΐνης ($\text{pK}_{a3} = 10,3$), το σήμα παραμένει σχετικά σταθερό. Το γεγονός ότι το σήμα του δείγματος είναι υψηλότερο από αυτό του τυφλού στο $\text{pH} > 5$ μπορεί να υποδηλώνει ότι η φωτοαναγωγή αυξάνεται παρουσία φορτισμένων μορίων κυστεΐνης και κιτρικών, πιθανώς λόγω αντιδράσεων μεταφοράς φορτίου από τον υποκατάστατη στο μέταλλο (ligand to metal charge transfer – LMCT) ως συνάρτηση και των μορφών του Au σε αυτές τις τιμές pH του διαλύματος (κυρίως $[\text{AuClOH}]_3$ και $\text{Au} [\text{OH}]$).

Η θερμοκρασία παίζει επίσης σημαντικό ρόλο στην φωτοαναγωγή του Au τόσο παρουσία όσο και απουσία της κυστεΐνης. Σε θερμοκρασίες υψηλότερες από τη θερμοκρασία δωματίου, το καθαρό αναλυτικό σήμα (η ένταση απορρόφησης του τυφλού χωρίς την ένταση απορρόφησης του δείγματος στα 530 nm) μειώνεται, υποδηλώνοντας ότι η θερμοκρασία επιταχύνει την αναγωγή των ιόντων AuCl_4 . Οι παρατηρήσεις αυτές αποδόθηκαν στην παρουσία κιτρικών που είναι από τα πιο διαδεδομένα αναγωγικά μέσα των ιόντων Au^{3+} σε υψηλές θερμοκρασίες (η μέθοδος σχηματισμού νανοσωματιδίων χρυσού παρουσία κιτρικών ως αναγωγικό μέσο σε υψηλές θερμοκρασίες είναι γνωστή και ως μέθοδος Turkevich). Συνεπώς, όλα τα πειράματα εκτελέστηκαν σε θερμοκρασία δωματίου.

Το βέλτιστο μήκος κύματος ακτινοβολίας διερευνήθηκε σε μήκη κύματος στην περιοχή του υπεριώδους (254, 312 και 365 nm) σε συνθήκες τεχνητού φωτισμού αλλά και σε συνθήκες φυσικού φωτισμού. Παρατηρήσαμε ότι η φωτοαναγωγή ήταν εφικτή σε όλα τα μήκη κύματος, συμπεριλαμβανομένου και του φυσικού φωτός, αλλά όσο αυξάνονταν το μήκος κύματος της ακτινοβολίας απαιτούνταν μεγαλύτεροι χρόνοι ακτινοβολήσης. Για παράδειγμα, ο σχηματισμός των AuNPs παρουσία 200 μM κυστεΐνης σε θερμοκρασία δωματίου και με ακτινοβολία με υπεριώδη ακτινοβολία στα 254 nm ήταν εμφανής μετά από 6 λεπτά (βλέπε σχήμα 4.1) ενώ όταν το ίδιο πείραμα διεξήχθη κάτω από φυσικό φως (φως δωματίου) χρειάστηκε περισσότερο από 1 ώρα για να ληφθεί μετρήσιμο σήμα.

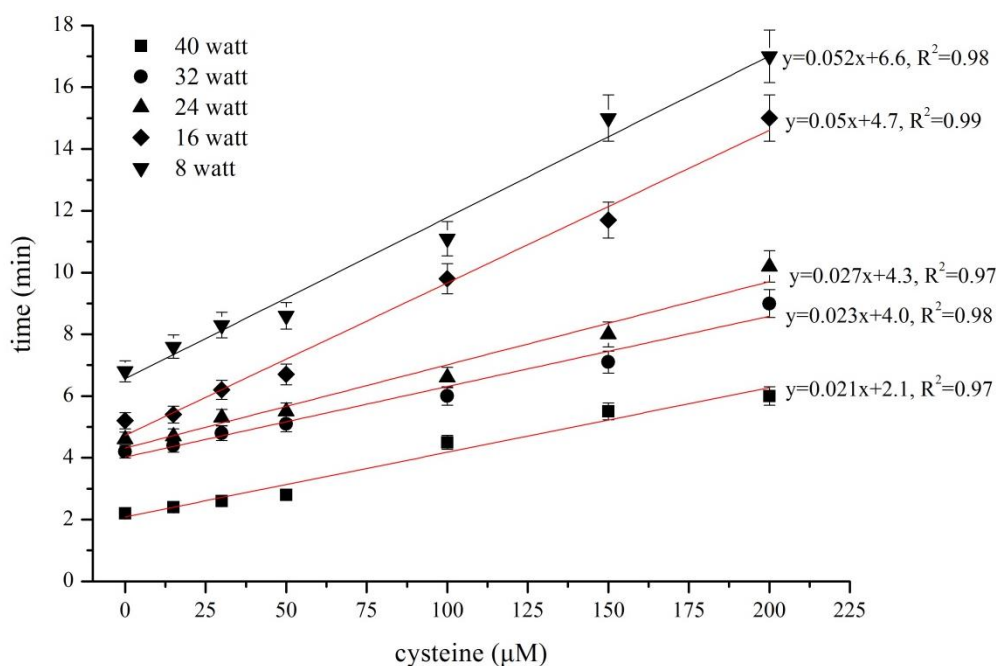
Τα αποτελέσματα της βελτιστοποίησης και οι επιλεγμένες (βέλτιστες) τιμές συνοψίζονται στον Πίνακα 4.1.

Παράμετροι	Περιοχή μελέτης	Βέλτιστες τιμές
AuCl_4^- (mM)	0,25-3	1,0
pH	2-12	3,5
Ευαισθητοποιητής (κιτρικό οξύ-κιτρικό νάτριο, mM)	1-40	5,0
Θερμοκρασία (°C)	4 – 70	≤ θερμοκρασία δωματίου
Μήκος κύματος ακτινοβολίας (nm)	254, 312, 362, Φως περιβάλλοντος, φωτισμός δωματίου	Οποιοδήποτε μήκος κύματος με αντίστροφη αναλογική σχέση με το χρόνο ακτινοβολίας σύμφωνα με τη σειρά: $t_{254\text{nm}} < t_{312\text{nm}} < t_{365\text{nm}} < \text{φως δωματίου}$

4.3 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΕΝΤΑΣΗΣ ΤΗΣ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑΣ

Η επίδραση της έντασης της ακτινοβολίας (από 8-40W στα 254 nm) διερευνήθηκε υπό τις βέλτιστες πειραματικές συνθήκες ως συνάρτηση της συγκέντρωσης της κυστεΐνης χρησιμοποιώντας ως μονάδα μέτρησης το χρόνο, αντί για την απορρόφηση. Παρακολουθήσαμε τον σχηματισμό των AuNPs (έναντι λευκού φόντου για την διευκόλυνση της παρατήρηση των χρωματικών αλλαγών των διαλυμάτων) οπτικά και καταγράψαμε τον χρόνο που απαιτείται για να εμφανιστεί ένας έγχρωμος χρωματισμός στα διαλύματα (τυφλού και δείγματος). Η χρονομέτρηση ξεκίνησε με την έκθεση των δειγμάτων στην ακτινοβολία και σταμάτησε κατά την εμφάνιση ενός ελαφρά κόκκινου-πορφυρού χρώματος, που είναι ενδεικτικό του σχηματισμού των AuNPs. Ο χρόνος που απαιτείται για να την εμφάνιση του χρωματισμού ως συνάρτηση της συγκέντρωσης της κυστεΐνης και για διαφορετικές εντάσεις ακτινοβολίας UV παρουσιάζεται στο σχήμα 4.3. Τα αποτελέσματα αυτά δείχνουν ότι ο χρόνος της ακτινοβολίας, που είναι αναγκαίος για το σχηματισμό των AuNPs, μειώνεται με την αύξηση της έντασης της ακτινοβολίας UV ενώ η ο χρόνος σχηματισμού των AuNPs αυξάνεται γραμμικά με την αύξηση της συγκέντρωσης της κυστεΐνης. Παρατηρούμε επίσης ότι η ευαισθησία της μεθόδου αλλάζει με την ένταση της ακτινοβολίας. Σε χαμηλότερη ένταση φωτός (8 και 16W), η μέθοδος παρουσιάζει υψηλότερη ευαισθησία, ενώ σε

μεγαλύτερη ένταση φωτός (24, 32 και 40W) μειώνεται η ευαισθησία της. Ως εκ τούτου, καταλήξαμε στο συμπέρασμα ότι για τις μετρήσεις μπορεί να χρησιμοποιηθεί οποιαδήποτε ένταση ακτινοβολίας, αλλά αραιά δείγματα (που περιέχουν χαμηλές συγκεντρώσεις θειούχων ενώσεων) είναι προτιμότερο να αναλύονται χρησιμοποιώντας χαμηλότερες εντάσεις UV, ώστε να καταστεί ευκολότερη η διάκριση και η μέτρηση του χρόνου. Από την άλλη πλευρά, τα πυκνά δείγματα (που περιέχουν υψηλή συγκέντρωση ενώσεων του θείου) μπορούν να αναλυθούν και σε μεγαλύτερες εντάσεις ακτινοβολίας UV ώστε να επιταχυνθεί η κινητική της φωτοαναγωγής και να μειωθεί ο χρόνος ανάλυσης.

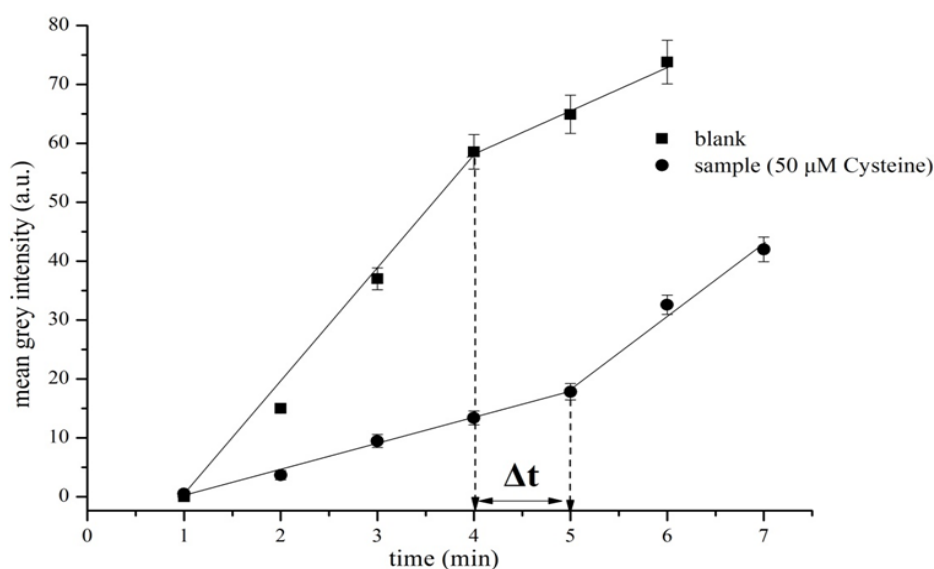


Σχήμα 4.3. Διάγραμμα συσχέτισης της κυστεΐνης σε συνάρτηση με το χρόνο, σε διαφορετικές εντάσεις ακτινοβολίας UV.

4.4 ΧΡΟΝΟΜΕΤΡΗΣΗ ΚΑΙ ΛΗΨΗ ΣΗΜΑΤΟΣ

Παρόλο που οι οπτικές παρατηρήσεις δια γυμνού οφθαλμού είναι απλές και δεν απαιτούν κάποια εξειδίκευση, δεν είναι πρακτικές επειδή ο χρήστης πρέπει να επικεντρωθεί στην ανάλυση, συνεπώς δεν είναι εύκολη η εκτέλεση πολλαπλών εργασιών π.χ. ανάλυση πολλαπλών δειγμάτων ή η πραγματοποίηση άλλων πειραματικών δοκιμών παράλληλα. Η μέτρηση του χρόνου με χρήση ψηφιακών μέσων (κάμερα) μπορεί να άρει αυτό τον περιορισμό, ενώ παράλληλα μπορεί να πραγματοποιηθεί ακριβέστερη χρονομέτρηση των χρωματομετρικών μεταβολών. Για να συγκρίνουμε την ακρίβεια των μετρήσεων του χρόνου

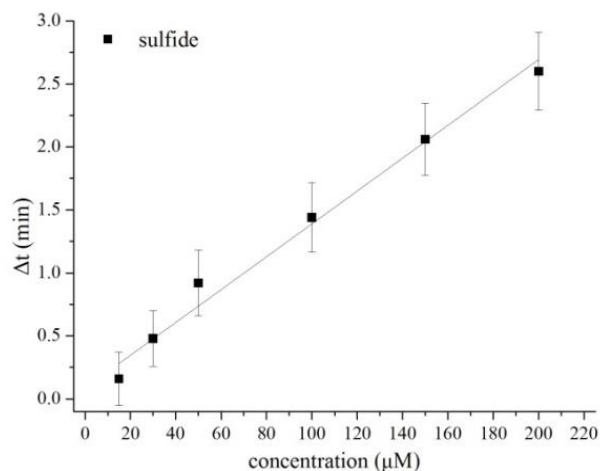
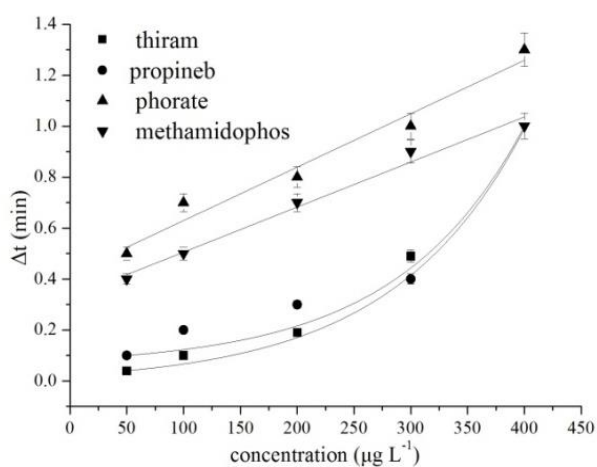
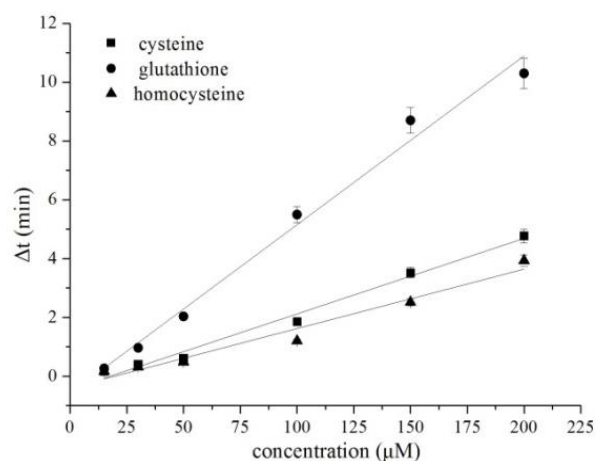
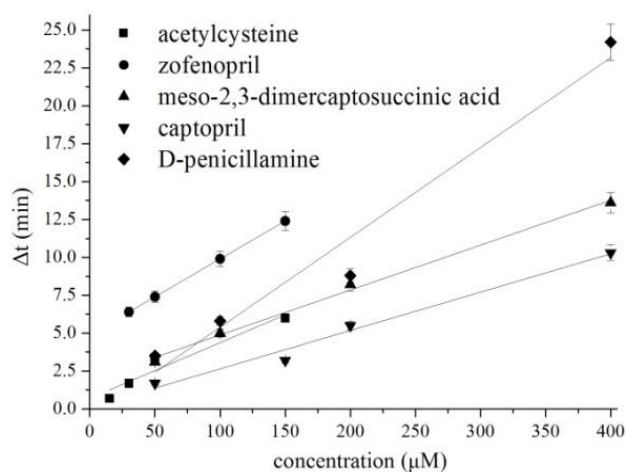
που πραγματοποιούνται με την χρήση χρονομέτρου και βίντεο, καταγράψαμε τους χρόνους απόκρισης της μεθόδου και με τις δυο μεθόδους για περιοχή συγκεντρώσεων κυστεΐνης από 0 έως 200 μM . Η χρήση βίντεο επέτρεψε την μέτρηση του χρόνου πιο εύκολα, αλλά το αναλυτικό σήμα (ως διαφορά του χρόνου αναγωγής των ιόντων Au^{3+} σε AuNPs μεταξύ τυφλού διαλύματος και των διαλυμάτων της κυστεΐνης) ήταν παρόμοιο με αυτό που καταγράφηκε μέσω με χρήση χρονομέτρου, καθώς και στις δύο μεθόδους η αλλαγή του χρώματος του διαλύματος παρατηρήθηκε οπτικά δια γυμνού οφθαλμού. Μια πιο ακριβής προσέγγιση που δεν απαιτεί την παρέμβαση του χρήστη και για την μέτρηση του χρόνου, είναι η μέτρηση της έντασης του χρώματος (ως τιμές RGB) της εικόνας χρησιμοποιώντας την ψηφιακή χρωματομετρία. Το σχήμα 4.4 δείχνει τη ένταση του χρώματος ως αποχρώσεις του γκρι που λαμβάνεται από την ψηφιακή χρωματομετρία (χρησιμοποιώντας το λογισμικό Image J) ως συνάρτηση του χρόνου για ένα τυφλό διάλυμα και ένα διάλυμα που περιέχει 50 μM κυστεΐνης. Η μεταβολή στην κλίση της καμπύλης έναντι του χρόνου, σηματοδοτεί το χρονικό σημείο σχηματισμού των AuNPs ενώ η απόσταση στον άξονα x το αναλυτικό σήμα (δηλ. την χρονική υστέρηση στον σχηματισμό των AuNPs μεταξύ τυφλού διαλύματος και δείγματος). Όπως μπορούμε να παρατηρήσουμε, η χρονική υστέρηση για το σχηματισμό των AuNPs υπολογίστηκε σε 1 λεπτό, η οποία είναι μεγαλύτερη από εκείνη που παρατηρείται οπτικά (δηλ. 0,6 λεπτά). Επομένως, αυτή η προσέγγιση θα μπορούσε να βελτιώσει την ακρίβεια της χρονομέτρησης και να προσφέρει βελτίωση τόσο στην ευαισθησία όσο και στην αναπαραγωγιμότητα της μεθόδου.



Σχήμα 4.4. Ένταση σήματος στην χρωματική κλίμακα του γκρι σε συνάρτηση με το χρόνο.

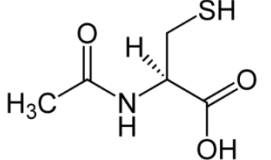
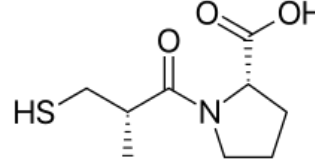
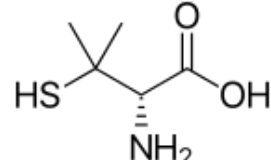
4.5 ΑΠΟΚΡΙΣΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ ΣΕ ΘΕΙΟΥΧΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ

Η κινητική της φωτοχημικής αναγωγής των ιόντων Au, παρουσία διαφόρων θειούχων ενώσεων διερευνήθηκε με ακτινοβολήση υδατικών διαλυμάτων AuCl_4^- που περιείχαν 5,0 mM κιτρικού ως φωτοευαισθητοποιητή παρουσία διαφόρων θειούχων ενώσεων. Οι καμπύλες βαθμονόμησης (χρόνος έναντι συγκέντρωσης) που προέκυψαν για διάφορες ενώσεις παρουσιάζονται στο σχήμα 4.5 για ενώσεις όπως τα φυτοφάρμακα (διθειοκαρβαμικά και οργανοφωσφορικά), βιολοθειόλες (κυστεΐνη, γλουταθειόνη και ομοκυστεΐνη), φάρμακα που περιέχουν θείο (αναστολείς μετάλλων-λακταμάσες) και ιόντα σουλφιδίου. Όλες αυτές οι ενώσεις περιέχουν διάφορες θειούχες ομάδες (πίνακας 4.2) που μπορούν να προσδεθούν σε νανοσωματίδια χρυσού ή στα ιόντα χρυσού ([Andrews D. L., Gaburro Z., 2007](#)), όπως θειόλες (S-H), θειοεστέρες (P-S) δισουλφίδια (S-S), δεσμούς μεταλλου θείου (Me-S), θειούχα (S^{2-}) και θειοφωσφορικών δεσμών (P=S), (οι τελευταίοι δεσμοί είναι ικανοί να αλληλεπιδρούν ασθενώς με μεταλλικά ιόντα μέσω αλληλεπιδράσεων συντονισμού) ([Yang L., et al., 2017](#)). Τα αναλυτικά χαρακτηριστικά της μεθόδου για κάθε ένωση (όρια ανίχνευσης, επαναληψιμότητα και εύρος συγκεντρώσεων βαθμονόμησης) παρουσιάζονται στον πίνακα 4.2. Με εξαίρεση τα φυτοφάρμακα, που συνήθως υπάρχουν σε χαμηλότερα επίπεδα συγκεντρώσεων σε περιβαλλοντικά δείγματα, η μέθοδος προσφέρει επαρκή ευαισθησία για τον προσδιορισμό θειούχων ενώσεων σε μια ποικιλία δειγμάτων χωρίς την ανάγκη ξεχωριστών σταδίων εκχύλισης ή προ-συγκέντρωσης.



Σχήμα 4.5. Καμπύλες βαθμονόμησης θειούχων ενώσεων. Όλες οι καμπύλες καταγράφηκαν σε ένταση ακτινοβολίας 40 W σε $\lambda = 254$ nm εκτός από την καμπύλη του Thiram που λήφθηκε στα 8W ($\lambda = 254$ nm) και την καμπύλη των θειούχων που λήφθηκε υπό τεχνητό φως σε συνδυαστικό δείγμα που παρασκευάστηκε αναμιγνύοντας ίσους όγκους 4 εμφιαλωμένων νερών.

Πίνακας 4.2. Αναλυτικά χαρακτηριστικά της μεθόδου για κάθε ένωση.

Αναλύτης	Εύρος συγκεντρώσεων βαθμονόμησης (μM)	Εξίσωση βαθμονόμησης	R ²	Όριο ανιχνευσιμότητας* (μM)	Δομή ένωσης
Αναστολείς του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτασίνης I					
Ακετυλοκυστεΐνη	15-150	$y=0.037x-0.7$	0.96	15	
DL-καπτοπρίλη	50-400	$y=0.024x-0.63$	0.99	10	
D-πενικιλλαμίνη	50-400	$y=0.06x-0.55$	0.97	10	

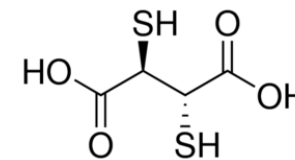
**Μεσο-2,3-
διμερκαπτοηλεκτρικό οξύ**

50-400

$$y=0.03x+1.9$$

0.99

10



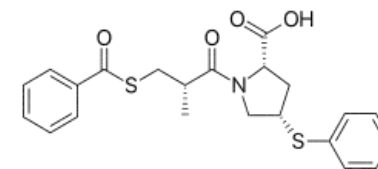
Ζοφenoπρίλη

30-150

$$y=0.05x+4.9$$

0.99

5



Βιοθειόλες

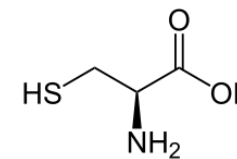
Κυστεΐνη

15-200

$$y=0.026x-0.45$$

0.99

15



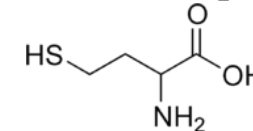
Ομοκυστεΐνη

15-200

$$y=0.02x-0.4$$

0.97

15



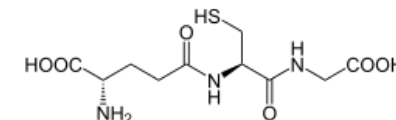
Γλουταθειόνη

15-200

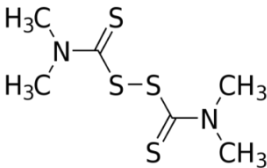
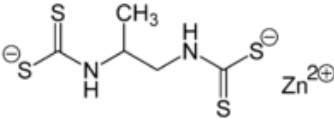
$$y=0.057x-0.58$$

0.99

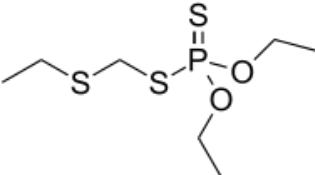
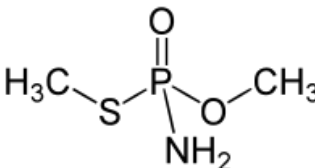
15



Διθειοκαρβαμινικά φυτοφάρμακα

Thiram	50-400	$y=3.8 \times 10^{-3}$ $\log(x)-1.5$	0.98	50	
Propineb	50-300	$y=1.2 \times 10^{-3}$ $\log(x)+0.06$	0.98	50	

Οργανοφωσφορικά φυτοφάρμακα

Phorate	50-400	$y=2.1 \times 10^{-3}$ $3x+0.42$	0.97	15	
Methamidophos	50-400	$y=1.8 \times 10^{-3}$ $3x+0.34$	0.98	12	

Θειούχα					
Θειούχα	15-200	$y=0.013x+0.12$	0.99	15	S ²⁻

* Όριο ανίχνευσης της μεθόδου που ορίζεται ως το ελάχιστο επίπεδο στο οποίο μπορεί να ποσοτικοποιηθεί ο αναλύτης με οπτική αξιολόγηση και για τη μέθοδο αυτή μέθοδο είναι ισοδύναμο με το όριο ποσοτικοποίησης.

4.6 ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ ΚΑΙ ΕΠΙΚΥΡΩΣΗ

Η χρησιμότητα της μεθόδου στην ανάλυση πραγματικών δειγμάτων εξετάστηκε μέσω της πραγματοποίησης αναλύσεων για α) τον προσδιορισμό θειούχων ενώσεων σε φάρμακα β) τον προσδιορισμό ολικών βιοθειολών σε συνθετικά βιολογικά υγρά και γ) τον προσδιορισμό παρασιτοκτόνων σε υδατικά (περιβαλλοντικά) δείγματα. Διερευνήσαμε επίσης τη χρησιμότητα της μεθόδου για τον προσδιορισμό των θειούχων σε δείγματα επεξεργασμένων λυμάτων. Λόγω της διαφορετικής μήτρας του υποστρώματος του κάθε δείγματος η πειραματική πορεία μελετήθηκε και βελτιστοποιήθηκε ξεχωριστά για κάθε αναλυτή και δείγμα.

4.6.1 Προσδιορισμός φαρμάκων που περιέχουν θειούχες ενώσεις

Ο προσδιορισμός των θειούχων ενώσεων σε φαρμακευτικά σκευάσματα πραγματοποιήθηκε σε μια σειρά εκλεκτικών, ανταγωνιστικών αναστολέων του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτασίνης I καθώς και σε χηλικούς υποκαταστάτες που χρησιμοποιούνται για την δέσμευση μεταλλοϊόντων στο αίμα (ως αντίδοτα μετά από δηλητηριάσεις ή ως ρυθμιστές τις περίσσειας ιχνοστοιχείων). Παρατηρήσαμε ότι τα έκδοχα που υπάρχουν στα εμπορικά φαρμακευτικά σκευάσματα (συνήθως σε συγκεντρώσεις υψηλότερες από το φαρμακευτικά δραστικό συστατικό) επηρεάζουν τη φωτοαναγωγή των ιόντων Au, αλλάζοντας την κινητική των αντιδράσεων με διαφορετικό τρόπο σε σύγκριση με εκείνες που παρατηρούνται σε πρότυπα υδατικά διαλύματα των ενώσεων. Ως εκ τούτου, εφαρμόσαμε τις μεθόδους σταθερής προσθήκης και εξωτερικής βαθμονόμησης με προσομοίωση της μήτρας του υποστρώματος του δείγματος (matrix-matched calibration). Η μέθοδος της σταθερής προσθήκης πραγματοποιήθηκε με εμβολιασμό του άγνωστου δείγματος με πρότυπα διαλύματα της αναλυόμενης ουσίας σε συγκεντρώσεις 5 και 10 φορές υψηλότερες από την συγκέντρωση της αναλυόμενης ουσίας. Για τη μέθοδο εξωτερικής βαθμονόμησης με προσομοίωση της μήτρας του υποστρώματος του δείγματος, ένα γνήσιο φάρμακο με γνωστή συγκέντρωση του δραστικού συστατικού αραιώθηκε διαδοχικά για να παρασκευαστεί μια σειρά διαλυμάτων με αυξανόμενες συγκεντρώσεις της δραστικής ουσίας. Και οι δύο μέθοδοι παρουσίασαν ισοδύναμα αποτελέσματα, επομένως, οποιαδήποτε από αυτές τις δύο μεθόδους μπορεί να εφαρμοστεί ανάλογα με τις ανάγκες της ανάλυσης.

Η βέλτιστη πειραματική διαδικασία για τον προσδιορισμό φαρμακευτικά δραστικών θειούχων ενώσεων είναι η εξής: Ένα ομοιογενές αραιωμένο δείγμα 1,7 mL μεταφέρθηκε σε

ένα ποτήρι ζέσεως των 10 mL. Ακολούθως προστέθηκαν 0,1 mL ρυθμιστικό διάλυμα κιτρικού οξέος-κιτρικού νατρίου pH 3,5 (0,1 M) και 0,2 mL διαλύματος AuCl_4 (10 mM) και αναμίχθηκαν. Η φωτοαναγωγή διεξήχθη υπό υπεριώδη ακτινοβολία στα 254 nm (40W) και ο σχηματισμός των AuNPs παρατηρήθηκε οπτικά. Η χρονική καθυστέρηση μεταξύ του σχηματισμού του κόκκινου-πορφυρού χρώματος, στο τυφλό δείγμα και στα διαλύματα που περιείχαν το δείγμα, χρησιμοποιήθηκε ως αναλυτικό σήμα. Για τη μέθοδο σταθερής προσθήκης χρησιμοποιήθηκε η χρονική καθυστέρηση μεταξύ του σχηματισμού του κόκκινου-πορφυρού χρώματος μεταξύ του μη εμβολιασμένου δείγματος και των εμβολιασμένων διαλυμάτων για την κατασκευή μίας τυπικής καμπύλης βαθμονόμησης σταθερής προσθήκης.

4.6.2 Προσδιορισμός βιοθειολών στα βιολογικά υγρά

Η εφαρμογή της μεθόδου για τον προσδιορισμό βιοθειολών αξιολογήθηκε σε τεχνητά ούρα που περιείχαν 200 μM κυστεΐνης. Κατά τη διάρκεια αυτής της μελέτης παρατηρήσαμε ότι η κινητική της φωτοαναγωγής των ιόντων χρυσού σε AuNPs, είναι πιο γρήγορη σε τεχνητά ούρα σε σύγκριση με το απεσταγμένο νερό. Ως αποτέλεσμα, το δείγμα άλλαξε χρώμα γρηγορότερα από το τυφλό. Επιπλέον, οι χρωματομετρικές αλλαγές έγιναν σχεδόν ταυτόχρονα ($\Delta t < 0,1$ λεπτά) καθιστώντας δύσκολη τη διάκριση της παρουσίας της κυστεΐνης ακόμη και σε συγκεντρώσεις τόσο υψηλές όσο 50 μM κυστεΐνης.

Για να αντιμετωπισθεί αυτό το πρόβλημα βελτιστοποιήσαμε εκ νέου τις πειραματικές συνθήκες χρησιμοποιώντας τεχνητά ούρα ως δείγμα (αντί απεσταγμένο νερό) για την προσομοίωση της μήτρας του υποστρώματος των βιολογικών υγρών. Καταλήξαμε στο συμπέρασμα ότι οι βέλτιστες συνθήκες για την ανάλυση των βιοθειολών σε βιολογικά υγρά είναι: α) 40 W έντασης της ακτινοβολίας κάτω από τεχνητό (ορατό) φως β) 1 mM AuCl_4^- και γ) η συγκέντρωση του κιτρικού 28 mM. Υπό αυτές τις συνθήκες (δηλ. χαμηλότερη ένταση φωτός και υψηλότερη η συγκέντρωση του φωτοευαισθητοποιητή), η κινητική της φωτοαναγωγής απουσία και παρουσία κυστεΐνης επιβραδύνεται επιτρέποντας την σαφή διάκριση μεταξύ τυφλού διαλύματος και δείγματος ($\Delta t > 0.2$ min). Θα πρέπει να σημειωθεί, ωστόσο, ότι το χρώμα του δείγματος συνέχιζε να αλλάζει ταχύτερα από το τυφλό παρά τις εκ του αντιθέτου παρατηρήσεις μας σε απεσταγμένο νερό. Παρατηρήσαμε επίσης ότι η ευαισθησία της μεθόδου βελτιώθηκε σημαντικά. Συγκεκριμένα, η καμπύλη βαθμονόμησης (χρόνος έναντι συγκέντρωσης) σε τεχνητά ούρα ήταν γραμμική στην περιοχή από 1-20 μM

(με όριο ανίχνευσης 1 μM σε $\Delta t = 0,2$ λεπτά) σε σύγκριση με την καμπύλη βαθμονόμησης που ελήφθησε σε απεσταγμένο νερό υπό υπεριώδη ακτινοβολία, όπως αναφέρθηκε προηγουμένως (γραμμικό εύρος 15- 200 μM με όριο ανίχνευσης 15 μM σε $\Delta t = 0,2$ λεπτά).

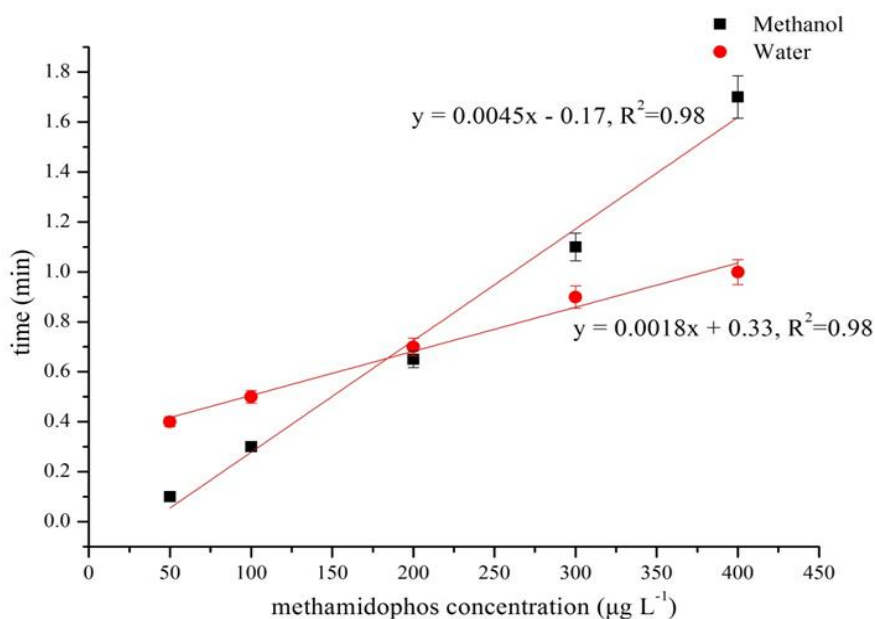
Παρατηρήσαμε επίσης ότι τα σύνθετες βιομόρια όπως τα αμινοξέα (π.χ. γλουταμίνη, γλουταμικό οξύ, ασπαράγίνη, ασπαρτικό οξύ, γλυκίνη, βαλίνη, αλανίνη), η γλυκόζη, το ασκορβικό οξύ, το ουρικό οξύ, η ουρία και η κρεατινίνη σε φυσιολογικές συγκεντρώσεις δεν παρεμποδίζουν την ανίχνευση των βιοθειολών. Είναι σημαντικό να αναφέρουμε ότι τα οξειδωμένα είδη θειολών όπως η κυστίνη βρέθηκαν να επηρεάζουν την κινητική της φωτοαναγωγής των ιόντων χρυσού με τρόπο ανάλογο με της κυστεΐνης, πιθανώς λόγω της φωτοχημικής διάσπασης του δεσμού του δισουλφιδίου των οξειδωμένων βιοθειολών, παρουσία κιτρικού ως δότη ηλεκτρονίων (Photoinduced Disulfide bond cleavage with an electron donor). Ως εκ τούτου, η μέθοδος μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον προσδιορισμό της συνολικής συγκέντρωσης των βιοθειολών (τόσο ανηγμένων όσο και οξειδωμένων) σε αντίθεση με άλλες μεθόδους οι οποίες απαιτούν αναγωγή των δισουλφιδικών δεσμών πριν από την ανάλυση. Αντίθετα όμως με αυτά τα ευρήματα, τα αμινοξέα με βασική ανθρακική αλυσίδα (δηλαδή η λυσίνη, η ιστιδίνη και η αργινίνη) αναστέλλουν την κινητική της φωτοδιεγέρσεως ακόμη και σε χαμηλές συγκεντρώσεις (δηλ. 25 μM). Αυτό θα μπορούσε ενδεχομένως να αποδοθεί στις ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ του θετικού φορτίου της αλυσίδας των αμινοξέων και των αρνητικά φορτισμένων σωματιδίων AuCl_4^- . Δεδομένου ότι η ολική συγκέντρωση της λυσίνης, της ιστιδίνης και της αργινίνης στα σωματικά υγρά είναι σχεδόν ίση με αυτή των βιοθειολών, η μέθοδος αυτή θα οδηγούσε σε ψευδώς θετικά αποτελέσματα. Επομένως, για την εφαρμογή της μεθόδου είναι αναγκαία η απομάκρυνση των αμινοξέων με βασική ανθρακική αλυσίδα. Αυτό μπορεί να γίνει χρησιμοποιώντας εκλεκτικά προσροφητικά υλικά όπως ισχυρές κατιονανταλλακτικές ρητίνες (για παράδειγμα Amberlite IR 100, Wolfatit C, Zeo-Karb 215 κ.τ.λ.) ή μοριακά εντυπωμένα πολυμερή.

Με βάση τις παραπάνω μελέτες η πειραματική πορεία που αναπτύχθηκε για τον προσδιορισμό των βιοθειολών στα βιολογικά υγρά είναι η εξής: Μια ποσότητα του δείγματος απαλλαγμένο από πρωτεΐνες και αμινοξέα με βασική ανθρακική αλυσίδα, αραιώθηκε με απεσταγμένο νερό. Ένα κλάσμα του αραιωμένου δείγματος όγκου 1,25 mL τοποθετήθηκε σε ένα ποτήρι ζέσεως και προστέθηκαν διαδοχικά 0,55 mL ρυθμιστικού διαλύματος 0,1 M κιτρικού οξέος-κιτρικού νατρίου pH 3,5 και 0,2 mL διαλύματος 10 mM AuCl_4 . Παράλληλα, με την ίδια πειραματική πορεία, παρασκευάστηκε τυφλό διάλυμα που περιείχε 120 mM NaCl. Μετά την ανάμιξη, τα δοχεία ακτινοβολήθηκαν ταυτόχρονα υπό τεχνητό ορατό φως έντασης

40 W και ο σχηματισμός των AuNPs παρατηρήθηκε οπτικά. Η χρονική καθυστέρηση στον σχηματισμού του κόκκινου-πορφυρού χρώματος μεταξύ του τυφλού διαλύματος και των διαλυμάτων του δείγματος χρησιμοποιήθηκε ως αναλυτικό σήμα (Υπενθυμίζετε ότι στην μέθοδο αυτή ο σχηματισμός των AuNPs λάμβανε χώρα γρηγορότερα στο δείγμα από ότι στο τυφλό).

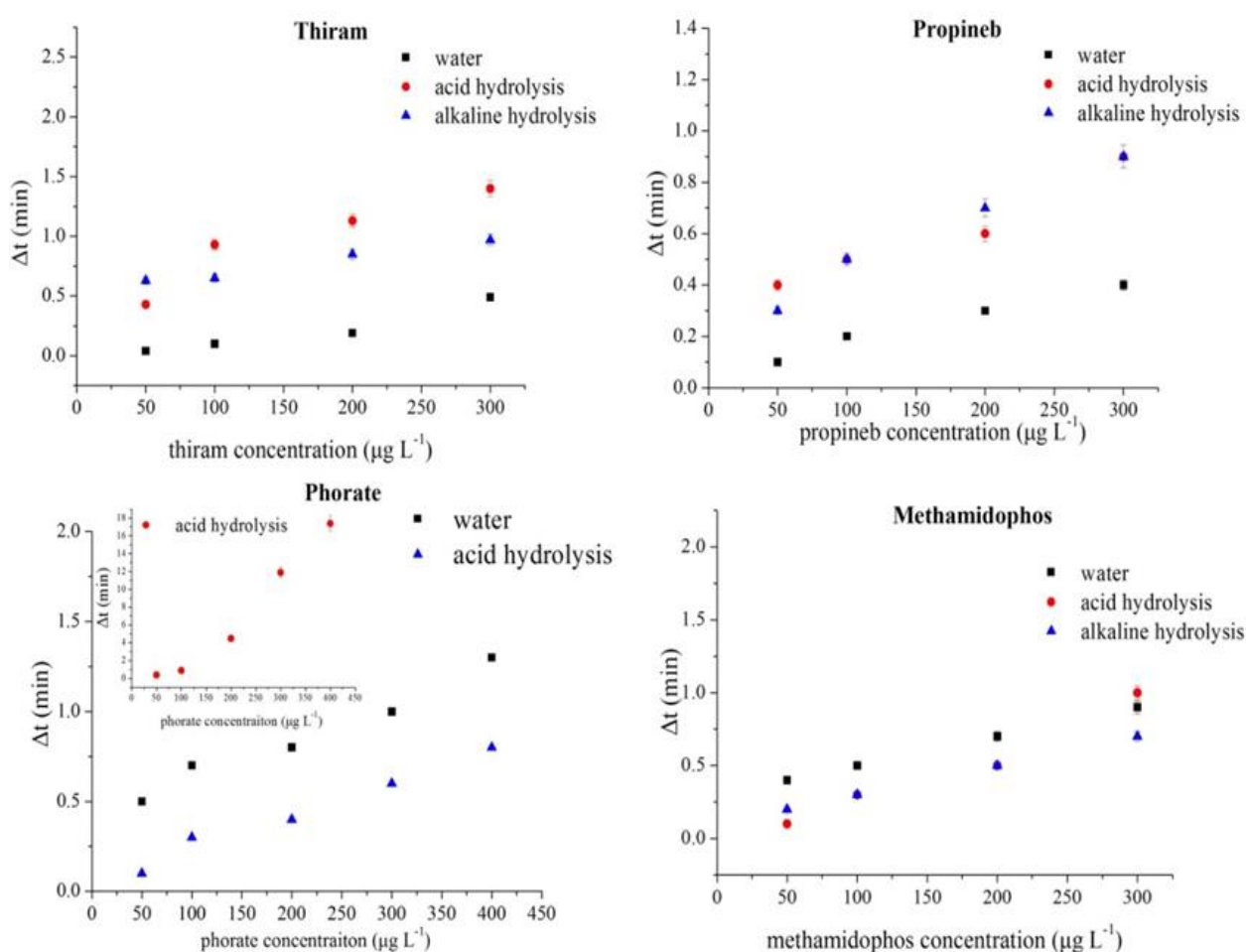
4.6.3 Προσδιορισμός θειούχων φυτοφαρμάκων (παρασιτοκτόνων και μυκητοκτόνων)

Για τον προσδιορισμό φυτοφαρμάκων εξετάσαμε την επίδραση πολικών οργανικών διαλυτών, λαμβάνοντας υπόψη ότι πριν από την ανάλυση φυτοφαρμάκων απαιτείται προ-επεξεργασίας των δειγμάτων (όπως η εκχύλιση στερεάς φάσης) προκειμένου να εκχυλιστούν από τα υδατικά δείγματα και να προ-συγκεντρωθούν. Ως εκ τούτου, μελετήθηκε η επίδραση διαφορετικών όγκων οργανικού διαλύτη στην κινητική της φωτοαναγωγής των ιόντων χρυσού. Η καμπύλη βαθμονόμησης του methamidophos (ως πρότυπο παρασιτοκτόνο) παρουσία 20% (v/v) μεθανόλης (σχήμα 4.6) δείχνει ότι η γραμμικότητα δεν επηρεάζεται, αλλά η κλίση της καμπύλης, και κατά συνέπεια η ευαισθησία της μεθόδου αυξάνεται, κάτι που αποτελεί πλεονέκτημα για την ανάλυση φυτοφαρμάκων σε ιχνοποσότητες. Η παρατήρηση αυτή μπορεί να αποδοθεί στο ότι οι πολικοί οργανικοί διαλύτες (όπως η ακετόνη) επιταχύνουν την κινητική της φωτοαναγωγής των ιόντων χρυσού ειδικά στα αρχικά στάδια της αντίδρασης. (Dong S., et al.,2004)



Σχήμα 4.6. Διάγραμμα βαθμονόμησης του methamidophos σε μεθανόλη και νερό.

Αξιολογήσαμε επίσης την απόκριση της μεθόδου μετά από όξινη και αλκαλική υδρόλυση των εξεταζόμενων φυτοφαρμάκων, διότι τα παραπροϊόντα της υδρόλυσης είναι οι σημαντικότεροι μεταβολίτες των περισσότερων φυτοφαρμάκων σε πραγματικά δείγματα. Τα αποτελέσματα του σχήματος 4.7 δείχνουν ότι η κινητική της φωτοαναγωγής των όξινων και αλκαλικών υδρολυμάτων είναι διαφορετική σε σύγκριση με εκείνη που λαμβάνεται σε απεσταγμένο νερό, αλλά σε όλες τις ενώσεις ο χρόνος ακτινοβολίας αυξάνεται με την αύξηση της συγκέντρωσης των φυτοφαρμάκων. Αυτό δείχνει ότι η μέθοδος ανταποκρίνεται τόσο στις αρχικές ενώσεις όσο και στα παραπροϊόντα της υδρόλυσης τους. Ως εκ τούτου, μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την εκτίμηση της συνολικής συγκέντρωσης των φυτοφαρμάκων που περιέχουν θείο σε πραγματικά δείγματα.



Σχήμα 4.7. Καμπύλες βαθμονόμησης που λαμβάνονται από τη φωτοαναγωγή των παραπροϊόντων υδρόλυσης (όξινης και αλκαλικής) των διθειοκαρβαμικών μυκητοκτόνων (Thiram και Propineb) και των οργανοφωσφορικών παρασιτοκτόνων (Phorate και methamidophos).

Με βάση αυτές τις παρατηρήσεις, ο προσδιορισμός των φυτοφαρμάκων που περιέχουν ενώσεις θείου πραγματοποιήθηκε ως ακολούθως: Μια ποσότητα διαλύματος 0,8 mL ενός μεθανολικού εκχυλίσματος, το οποίο περιείχε τα φυτοφάρμακα-στόχους ή τυφλό διάλυμα (μεθανόλη) τοποθετήθηκε σε ποτήρι ζέσεως των 10 mL και αραιώθηκε με 0,9 mL απεσταγμένου νερού. Ακολούθως προστέθηκαν 0,1 mL ρυθμιστικού διαλύματος κιτρικού οξέος- κιτρικού νατρίου pH 3,5 (0.1 M) και 0,2 mL διαλύματος AuCl_4 (10 mM) και αναμίχθηκαν. Η φωτοαναγωγή διεξήχθη υπό ακτινοβολία σε υπεριώδη ακτινοβολία στα 254 nm (40W) και ο σχηματισμός των AuNPs παρατηρήθηκε οπτικά. Η χρονική καθυστέρηση μεταξύ του σχηματισμού του κόκκινου-πορφυρού χρώματος, στο τυφλό διάλυμα και του διαλύματος που περιείχε το δείγμα χρησιμοποιήθηκε ως αναλυτικό σήμα.

4.6.4 Προσδιορισμός θειούχων

Η επίδραση των ανόργανων θειούχων ενώσεων στην κινητική της φωτοαναγωγής των ιόντων χρυσού σε AuNPs εξετάστηκε χρησιμοποιώντας πρότυπα διαλύματα Na_2S . Υπό τις συνθήκες εργασίας (pH = 3,5), τα θειούχα υπάρχουν ως υδρόθειο (H_2S). Απροσδόκητα, διαπιστώσαμε ότι τα θειούχα επιταχύνουν την κινητική της φωτοαναγωγής σε απεσταγμένο νερό, αλλά επιβραδύνουν την φωτοαναγωγή σε πραγματικά δείγματα ύδατος. Για να ερευνήσουμε αυτό το φαινόμενο, χρησιμοποιήσαμε μια σειρά από δείγματα εμφιαλωμένου νερού τα οποία επιφορτίστηκαν με θειούχα και μελετήσαμε την επίδραση της σύνθεσης του νερού στην κινητική της φωτοαναγωγής. Τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής, ωστόσο, δεν μας επέτρεψαν να βγάλουμε συγκεκριμένα συμπεράσματα για την επίδραση της μήτρας του δείγματος. Έτσι αποφασίσαμε να χρησιμοποιήσουμε τη μέθοδο της σταθερής προσθήκης ως στρατηγική για τον προσδιορισμό των θειούχων σε πραγματικά δείγματα. Με βάση τα προηγούμενα αποτελέσματά μας σε βιολογικά υγρά, χρησιμοποιήσαμε ακτινοβολία με τεχνητό (ορατό) φως, αντί για υπεριώδη ακτινοβολία με, προκειμένου να μειώσουμε την κινητική της φωτοαναγωγής και να διακρίνουμε με ευκολία την ανάπτυξη του χρώματος μεταξύ των τυφλών διαλυμάτων και των δειγμάτων. Πράγματι, υπό τεχνητό ορατό φως, η διαφορά χρόνου ήταν σαφώς διακριτή, προσφέροντας βελτίωση τόσο στην επαναληψιμότητα όσο και στην ακρίβεια της μεθόδου. Συγκεκριμένα, η χαμηλότερη ανιχνεύσιμη συγκέντρωση μειώθηκε από 75 μM σε απεσταγμένο νερό (254 nm, 40 W, RSD = 11,2%, n = 5) σε 15 μM σε πραγματικά δείγματα (κάτω από 40 W ακτινοβολίας τεχνητού ορατού φωτός, RSD = 7% , n = 5). Αυτή η συγκέντρωση (15 μM) ισούται με τη μέγιστη επιτρεπόμενη συγκέντρωση των

θειούχων στο πόσιμο νερό σύμφωνα με τις συστάσεις του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας ([World Health organization, WHO](#)) και είναι πολύ χαμηλότερη από τη χαμηλότερη συγκέντρωση ενόχλησης που προκαλούν τα θειούχα στα λύματα (δηλαδή 88 μM).

Συνοπτικά, η πειραματική διαδικασία για τον προσδιορισμό των θειούχων ήταν η ακόλουθη: 1,7 mL δείγματος νερού τοποθετήθηκαν σε ποτήρια των 10 mL και στη συνέχεια προστέθηκαν με 0,1 mL ρυθμιστικού διαλύματος κιτρικού οξέος-κιτρικού νατρίου pH 3,5 (0,1 M) και 0,2 mL διαλύματος AuCl_4 (10 mM). Η φωτοαναγωγή διεξήχθη υπό ακτινοβολία σε τεχνητό ορατό φως (40W) και ο σχηματισμός των AuNPs παρατηρήθηκε οπτικά. Η χρονική καθυστέρηση μεταξύ του σχηματισμού του κόκκινου-πορφυρού χρώματος, μεταξύ των διαλυμάτων των δειγμάτων, χρησιμοποιήθηκε ως αναλυτικό σήμα για να παρασκευαστεί μια πρότυπη καμπύλη βαθμονόμησης σταθερής προσθήκης.

4.7 ΑΝΑΛΥΣΗ ΕΜΒΟΛΙΑΣΜΕΝΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

Τα αποτελέσματα από την ανάλυση των διαφόρων δειγμάτων για διάφορες οργανικές και ανόργανες θειούχες ενώσεις, σύμφωνα με τις παραπάνω πειραματικές πορείες, παρουσιάζονται στον πίνακα 4.3. Οι ανακτήσεις κυμαίνονταν μεταξύ 93 και 109%, με ικανοποιητική αναπαραγωγικότητα, ανάλογα με τους αναλύτες και το δείγμα. Αυτά τα δεδομένα υποδεικνύουν ότι η αναπτυχθείσα μέθοδος μπορεί να χρησιμοποιηθεί με αξιοπιστία για τον προσδιορισμό θειούχων ενώσεων σε ποικίλα δείγματα, με ένα απλό χρονόμετρο και την παρατήρηση δια γυμνού οφθαλμού χωρίς τη χρήση ενόργανων τεχνικών ανάλυσης.

Πίνακας 4.3. Εφαρμογή της μεθόδου για τον προσδιορισμό θειούχων ενώσεων σε διαφορετικά δείγματα και αποτελέσματα από πειράματα ανακτήσεων.

Χημική ένωση	Πραγματική τιμή	Μέτρηθηκε	Ανάκτηση (%)	RSD (% , n=5)
Φάρμακα που περιέχουν θείο (μM)^a				
Ακετυλοκυστεΐνη	30	28.7	95.6	4.8
	100	97.2	97.2	5.6
Καπτοπρίλη	75	81.7	108.9	6.4
	150	157.6	105.1	6.9
Φυτοφάρμακα (μg /L) b				
Thiram	50	51.0	102.0	7.7
	100	98.5	98.5	7.6
Methamidophos	50	46.5	93.0	6.8
	100	94.7	94.7	6.5
Βιοθειόλες (μM)^c				
Κυστεΐνη	30	28.7	95.6	6.6
	75	73.0	97.3	5.7
Ανόργανο θείο (μM)^d				
Θειούχα	15	15.6	104.0	8.9
	50	51.9	103.6	9.8

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Σε αυτή την μεταπτυχιακή εργασία περιγράψαμε την ανάπτυξη μιας νέας μεθόδου που χρησιμοποιεί, για πρώτη φορά, την ανασταλτική επίδραση των θειούχων ενώσεων στην κινητική του φωτοχημικού σχηματισμού των AuNPs. Η μέθοδος περιλαμβάνει την παρακολούθηση της χρονικής καθυστέρησης που απαιτείται για να σχηματιστούν τα AuNPs στο εξεταζόμενο δείγμα συγκριτικά με εκείνη σε ένα τυφλό διάλυμα. Με βάση αυτή την αρχή δημιουργήθηκε μια αναλυτική μέθοδος (και τροποποιήθηκε κατάλληλα για κάθε μήτρα δείγματος και αναλύτη), προκειμένου να καταστεί δυνατός ο προσδιορισμός μιας ευρείας γκάμας θειούχων ενώσεων περιβαλλοντικού, φαρμακευτικού και βιολογικού ενδιαφέροντος. Όλες οι πειραματικές πορείες που περιγράφονται στην εργασία αυτή είναι απλές στην εκτέλεση και δεν απαιτούν ενόργανους ανιχνευτές, δεδομένου ότι μπορούν να λειτουργήσουν με οπτική παρατήρηση δια γυμνού οφθαλμού, χρησιμοποιώντας ένα απλό χρονόμετρο. Η μόνη απαίτηση είναι η ικανότητα του χρήστη να διακρίνει τις χρωματικές αλλαγές και η ικανότητα να μετρήσει (χρόνο) ώστε να μπορέσει να υπολογίσει την συγκέντρωση του αναλύτη. Η μέθοδος (και οι παραλλαγές της) μπορούν επίσης να χρησιμοποιηθούν στο πεδίο, δεδομένου ότι δεν απαιτούν απαραίτητα μια εξωτερική πηγή φωτός, καθώς το φως του περιβάλλοντος είναι επαρκές για την ενεργοποίηση του φωτοχημικού σχηματισμού των AuNPs. Η χρήση κάμερας μπορεί να βελτιώσει περαιτέρω τις δυνατότητες της μεθόδου για την πραγματοποίηση πολλαπλών αναλύσεων ταυτόχρονα και να προσφέρει βελτιωμένες δυνατότητες λήψης σήματος για τη βελτίωση της αναπαραγωγιμότητας των μετρήσεων.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Ahmadi T. S., Wang Z. L., Green T. C., Henglein A., El-Sayed M. A., *Shape-Controlled Synthesis of Colloidal Platinum Nanoparticles*, Science 272 (1996) 1924.
- Andrews D. L., Gaburro Z., *Frontiers in surface nanophotonics: Principles and Applications*, Springer Series in Optical Sciences, 133 (2007) 171.
- Barna P., Alka T., *A Brief Review on the Application of Gold Nanoparticles as Sensors in Multi Dimensional Aspects*, IOSR Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology,1 (2015) 1-7.
- Bo S., Ciccone G., Durazzo M., Gambino R., Massarenti P., Baldi I., Lezo A., Pagano G., *Efficacy of antioxidant treatment in reducing resistin serum levels: a randomized study*, PLoS Clin. Trials. 2 (2007) 1629-1637.
- Brooks T., Keevil C. W., *A simple artificial urine for the growth of urinary pathogens*, Lett. Appl. Microbiol. 24 (1997) 203-206.
- Chen S. J., Chang H. T., *Nile red-adsorbed gold nanoparticles for selective determination of thiols based on energy transfer and aggregation*, Anal. Chem., 76 (2004) 3727.
- Chen Z., Luo S. L., Liu C. B., Cai Q. Y., *Simple and sensitive colorimetric detection of cysteine based on ssDNA-stabilized gold nanoparticles*, Anal. Bioanal. Chem. 395 (2009) 489-494.
- Choleva T.G., Kappi F.A., Giokas D.L., Vlessidis A.G. , *Paper-based assay of antioxidant activity using analyte-mediated on-paper nucleation of gold nanoparticles as colorimetric probes*, Analytica Chimica Acta 860 (2015) 61-69.
- Corbett J. R., Wright, K., Baillie A. C., *The biochemical mode of action of pesticides*, 2nd ed., Academic press, London, 1984.

- Coronado-Puchau M., Saa L., Grzelczak M., Pavlov V., Liz-Marzan L. M., *Enzymatic modulation of gold nanorod growth and application to nerve gas detection*, Nano Today, 8 (2013) 461-468.
- Cui H., Zhang Z. F., Lai C. Z., Liu L.J., *Gold nanoparticle-catalyzed luminol chemiluminescence and its analytical applications*, Anal. Chem. 77 (2005) 3324.
- Daniel M. C., Astruc D., *Gold nanoparticles: assembly, supramolecular chemistry, quantum-size-related properties, and applications toward biology, catalysis, and nanotechnology.*, Chem. Rev. 104 (2004) 293-346.
- Daniel W. L., Su Han M., Lee J. S., Mirkin C. A. , *Colorimetric Nitrite and Nitrate Detection with Gold Nanoparticle Probes and Kinetic End Points*, J. Am. Chem. Soc. 131 (2009) 6362-6363.
- Dasary S. S. R., Singh A. K., Senapati D., Yu H., Ray P. C., *Gold Nanoparticle Based Label-Free SERS Probe for Ultrasensitive and Selective Detection of Trinitrotoluene*. Journal of the American Chemical Society, 131 (2009) 13806-13812.
- Deepika M., *An Overview on Nanoparticles*, J. Pharmac. Nanotech. 3 (2015) 9-13.
- Dhumale Vinayak A., Gangwar Rajesh K. , Datar Suwarna S., Sharma Rishi B., *Reversible Aggregation Control of Polyvinylpyrrolidone Capped Gold Nanoparticles as a Function of pH*, Mater. Express, 2 (2012) 311.
- Dong S. A., Zhou S. P., *Photochemical synthesis of colloidal gold nanoparticles*, Materials Science and Engineering B 140 (2007) 153-159.
- Dong S., Tang C., Zhou H., Zhao H., *Photochemical Synthesis of Gold Nanoparticles by the Sunlight Radiation using a Seeding Approach*, Gold Bulletin (2004) 187-195.
- Doria G., Conde J., Veigas B., Giestas L., Almeida C., Assuncao M., Rosa J., Baptista P. V., *Noble metal nanoparticles for biosensing applications*, 12 (2012) 1657-1687.

- Eto, M. *Organophosphorus pesticides: organic and biological chemistry*, CRS Press, Cleveland, **1974**.
- Eustis S., Hsu H. Y., El-Sayed M. A., *Gold Nanoparticle Formation from Photochemical Reduction of Au³⁺ by Continuous Excitation in Colloidal Solutions. A Proposed Molecular Mechanism*, Letters, 109 (**2005**) 4811-4815.
- Evans D. F., Wennerström H., *The Colloidal Domain: Where Physics, Chemistry, Biology and Technology Meet*, 2nd ed., Wiley-VCH, Weinheim, **1999**.
- Gatselou V. A., Giokas D. L., Vlessidis A. G., *Determination of dissolved organic matter based on UV-light induced reduction of ionic silver to metallic nanoparticles by humic and fulvic acid*, Analytica Chimica Acta 812 (**2014**) 121-128.
- Ghosh S. K., Pal T., *Interparticle Coupling Effect on the Surface Plasmon Resonance of Gold Nanoparticles: From Theory to Applications*, Chem. Rev. 107 (**2007**) 4797-4862.
- Glomm W. R. J., *Functionalized Gold Nanoparticles for Applications in Bionanotechnology*, J. Dispersion Sci. Technol., 26 (**2005**) 389-414.
- Graham S., Hansen W., Davis K., Perry C. *Effects of one-year administration of ethylenethiourea upon the thyroid of the rat*, J. Agric. Food Chem., 21 (**1973**) 324-329.
- Gupta, R. C. (Ed.). *Toxicology of organophosphate & carbamate compounds*, 1st ed., Elsevier Academic Press, London, **2006**.
- Hassall, K. A. *The chemistry of pesticides. Their metabolism, mode of action and uses in crop protection*, Verlag Chemie, Weinheim, Deerfield Beach, Florida, Basel, **1982**.
- He P., Shen L., Liu R., Luo Z., Li Z., *Direct Detection of β -Agonists by Use of Gold Nanoparticle-Based Colorimetric Assays*, Anal. Chem., 83 (**2011**) 6988-6995.
- Henglein A., *Colloidal Palladium Nanoparticles: Reduction of Pd(II) by H₂; Pd_{Core}Au_{Shell}Ag_{Shell} Particles*, J. Phys. Chem. B 104 (**2000**) 6683.

- Henglein A., Giersig M., *Reduction of Pt(II) by H₂: Effects of Citrate and NaOH and Reaction Mechanism*, J. Phys. Chem. B 104 (2000) 6767.
- Henglein A., *Preparation and Optical Absorption Spectra of Au_{core}Pt_{shell} and Pt_{core}Au_{shell} Colloidal Nanoparticles in Aqueous Solution*, J. Phys. Chem. B, 104 (2000) 2201.
- Horikoshi S., Serpone N., *Microwaves in Nanoparticle Synthesis: Fundamentals and Applications*, Chapter 1: Introduction to Nanoparticles, Wiley-VCH Verlag (2013), p. 332.
- Huang H. W., Liu X. Y., Hu T., Chu P. K., *A colorimetric probe for the rapid and selective determination of mercury(II) based on the disassembly of gold nanorods*, Biosens. Bioelectron. 25 (2010) 2078.
- Hunter R. J., *Foundations of Colloid Science*, Oxford University Press, New York, 2004.
- Jana J., Acharyya P., Negishi Y., Pal T., *Evolution of Silver-Mediated, Enhanced Fluorescent Au–Ag Nanoclusters under UV Activation: A Platform for Sensing*, ACS Omega, 3 (2018) 3463-3470.
- JMPR-731. *Monographs and evaluations: Propineb Pesticide residues in food: 1985 evaluations Part II Toxicology*, 1985.
- Johnson J.D., Graham G.D, Amarnath V., Amarnath K., Valentine M.W. *Release of carbon disulfide is a contributing mechanism in the axonopathy produced by N,N-diethyldithiocarbamate*, Toxicol. Appl. Pharm., 148 (1998) 288-296.
- Jung Y. L., Jung C., Park J. H., Kim M. I., Park H. G., *Direct detection of unamplified genomic DNA based on photo-induced silver ion reduction by DNA molecules*, Chem. Commun., 49 (2013) 2350.

- Jung Y. L., Park J. H., Kim M. I., Park H. G., *Label-free colorimetric detection of biological thiols based on target-triggered inhibition of photoinduced formation of AuNPs*, Nanotechnology 27 (2016) 055501.
- Kamanyire R., Karalliedde L., *Organophosphate toxicity and occupational exposure*, Occup. Med., 54 (2004) 69-75.
- Kappi F. A., Papadopoulos G. A., Tsogas G. Z., Giokas D. L. , *Low-cost colorimetric assay of biothiols based on the photochemical reduction of silver halides and consumer electronic imaging devices.*, Talanta, 172 (2017) 15-22.
- Kim Y.J., Johnson R.C., Hupp J.T.,*Gold nanoparticle-based sensing of “spectroscopically silent” heavy metal ions*. Nano. Lett.1 (2001) 165-170.
- Koutsoulis N. P., Giokas D. L., Vlessidis A. G., Tsogas G. Z., *Alkaline earth metal effect on the size and color transition of citrate-capped goldnanoparticles and analytical implications in periodate-luminol chemiluminescence.*, Anal. Chim. Acta 669 (2010) 45-52.
- Kumar M.A., Faubel W., *Methods of analysis of dithiocarbamate pesticides: a review*, Pestic. Sci., 55 (1999) 965-970.
- Kurihara K., Kizling J., Stenius P., Fendler,J. H., *Laser and pulse radiolytically induced colloidal gold formation in water and in water-in-oil microemulsions*, J. Am. Chem. Soc., 105 (1983) 2574.
- Lee J.S., Lytton-Jean A.K.R., Hurst S.J., Mirkin C.A., *Silver Nanoparticle–Oligonucleotide Conjugates Based on DNA with Triple Cyclic Disulfide Moieties*, Nano Lett. 7 (2007) 2112-2115.
- Lee J. S., Ulmann P. A., Han M. S., Mirkin C. A., *A DNA–Gold Nanoparticle-Based Colorimetric Competition Assay for the Detection of Cysteine*, Nano Lett.,8 (2008) 529.

- Lee J. S., Han M. S., Mirkin C. A., *Colorimetric Detection of Mercuric Ion (Hg²⁺) in Aqueous Media using DNA Functionalized Gold Nanoparticles*, *Angew. Chem. Int. Ed.* 46 (2007) 4093-4096.
- Levy R., Thanh N. T. K., Doty R. C., Hussain I., Nichols R. J., Schiffrin D. J., Brust M., Fernig D. G., *Rational and combinatorial design of peptide capping ligands for goldnanoparticles.*, *J. Am. Chem. Soc.*, 126 (2004) 10 076-10 084.
- Liu B. H., Tsao Z. J., Wang J. J., Yu F. Y., *Development of a monoclonal antibody against ochratoxin A and its application in enzyme-linked immunosorbent assay and gold nanoparticle immunochromatographic strip.*, *Anal. Chem.* 80 (2008) 7029-7035.
- Liu D., Chen W., Wei J., Li X., Wang Z., Jiang X., *A Highly Sensitive, Dual-Readout Assay Based on Gold Nanoparticles for Organophosphorus and Carbamate Pesticides*, *Anal. Chem.*, 84 (2012) 4185-4191.
- Liu, J. W., Lu, Y. *Accelerated color change of gold nanoparticles assembled by DNAzymes for simple and fast colorimetric Pb²⁺ detection.*, *J. Am. Chem. Soc.* 126 (2004) 12298-12305.
- Lu C., Li Q. Q., Liu F., Lin J. M., *Aminothiols Sensing Based on Fluorosurfactant-Mediated Triangular Gold Nanoparticle-Catalyzed Luminol Chemiluminescence*, *J. Phys. Chem. C* 115 (2011) 10964.
- Lu L., Xia Y., *Enzymatic reaction-modulated gold nanorod end-to-end self-assembly for ultrahigh sensitively colorimetric sensing of cholinesterase and organophosphate pesticides in human blood.*, *Anal. Chem.* 87 (2015) 8584-8591.
- Luo X., Morrin A., Killard A.J., Smyth M. R., *Application of Nanoparticles in Electrochemical Sensors and Biosensors*, *ELECTROANALYSIS* 18 (2006) 319-326.

- Trojanowicz M., *Based Sensing Device for Electrochemical Detection of Oxidative Stress Biomarker 8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine(8-OHdG) in Point-of-Care*, Trends in Anal Chem 84 (2016) 22-47.
- Nagarajan R., Alan Hatton T., *Nanoparticles: Synthesis, Stabilization, Passivation, and Functionalization*. American Chemical Society 2008.
- Napper D. H., *Polymeric Stabilization of Colloidal Dispersions*, Academic Press, London, 1983.
- Newman J., Roberts J. M., Blanchard G. J., *Optical Organophosphate Sensor Based upon Gold Nanoparticle Functionalized Fumed Silica Gel*, Anal. Chem. 79 (2007) 3448-3454.
- NPIC, National Pesticide Information Center - *Organophosphate Insecticides*, Chapter 4 (2007) 34-47.
- Ozin G.A., Arsenault A.C., Cademartiri L., *Nanochemistry: A Chemical Approach to Nanomaterials*, RSC publishing, 2009.
- Pan H., Li D., Liu J., Li J., Zhu W., Zhao Y., *Sensing Thermally Denatured DNA by Inhibiting the Growth of Au Nanoparticles: Spectral and Electrochemical Studies*, J. Phys. Chem. C, 115 (2011) 14461-14468.
- Pu F., Ran X., Guan M., Huang Y., Ren J., Qu X., *Biomolecule-templated photochemical synthesis of silver nanoparticles: Multiple readouts of localized surface plasmon resonance for pattern recognition*, Nano Research 11 (2018) 3213-3221.
- Quin, L. D. *A guide to organophosphorus chemistry*, Wiley-Interscience, 2000.
- Rex M., Hernandez F. E., Campiglia A. D., *Pushing the Limits of Mercury Sensors with Gold Nanorods*, Anal. Chem., 78 (2006) 445-451.

- Rycenga M., Cobley C. M., Zeng J., Li W., Moran C. H., Zhang Q., Qin D., Younan Xia Y.,
Controlling the Synthesis and Assembly of Silver Nanostructures for Plasmonic Applications, Chem Rev. 111 (2011) 3669-3712.
- Saha K., Agasti S. S., Kim C., Li X., Rotello V. M., *Gold Nanoparticles in Chemical and Biological Sensing*, Chem. Rev. 2012.
- Scampicchio M., Wang J., Blasco A. J., Arribas A. S., Mannino S., Escarpa A., *Nanoparticle-Based Assays of Antioxidant Activity*, Anal. Chem., 78 (2006) 2060-2063.
- Shim W. B. O., Kim K. Y., Chung D. H., *Development and validation of a gold nanoparticle immunochromatographic assay (ICG) for the detection of zearalenone. J., Agric. Food Chem.* 57 (2009) 4035-4041.
- Sreeprasad T. S., Pradeep T., Noble Metal Nanoparticles, *Springer Handbook of Nanomaterials* (2013).
- Sudeep P. K., Joseph S. T. S., Thomas K. G., *Selective Detection of Cysteine and Glutathione Using Gold Nanorods*, J. Am. Chem. Soc. 127 (2005) 6516-6517.
- Tan Y., Li Y., Zhu D., Noble Metal Nanoparticles, *Encyclopedia of Nanoscience and Nanotechnology*, 8 (2004) 9-40.
- Tansil N. C., Gao Z., *Nanoparticles in biomolecular detection*, Nano Today, 1(2006) 28-37.
- Uzawa H., Ohga K., Shinozaki Y., Ohsawa I., Nagatsuka T., Seto Y., Nishida Y., *A novel sugar-probe biosensor for the deadly plant proteinous toxin, ricin*, Biosens. Bioelectron. 24 (2008) 923-927.
- Valdés M.G., González A.C.V., Calzón J. A. G., Díaz-García M. E., *Analytical nanotechnology for food analysis*, Microchim. Acta 166 (2009) 1-19.
- Valentine W., Amarnath V., Amarnath K., Rimmale F., Graham D. *Carbon disulfide mediated protein cross-linking by N,N-Diethyldithiocarbamate*, Chem. Res. Toxicol., 8 (1995) 96-102.

- Van Lishaut H., Schwack W. *Selective trace determination of dithiocarbamate fungicides in fruits and vegetables by reversed-phase ion-pair liquid chromatography with ultraviolet and electrochemical detection*, J. AOAC Int., 83 (2000) 720-727.
- Virel A., Saa L., Pavlov V., *Modulated Growth of Nanoparticles. Application for Sensing Nerve Gases*, Anal. Chem., 81 (2009) 268-272.
- Walker C.H., *Organic pollutants an ecotoxicological perspective*, London: Taylor and Fransis, 2001.
- Walker H. W., Grant S. B., *Coagulation and Stabilization of Colloidal Particles by Adsorbed DNA Block Copolymers: The Role of Polymer Conformation*, Langmuir 12 (1996) 3151-3156.
- Wang L., Wei G., Guo C., Sun L., Sun Y., Song Y., Yang T., Li Z., *Photochemical synthesis and self-assembly of gold nanoparticles*, Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects 312 (2008) 148-153.
- WHO, Environmental Health Criteria 63, *Organophosphorus insecticides: a general introduction*, 1986.
- WHO, Environmental Health Criteria 78, *Dithiocarbamate pesticides, ethylenethiourea and propylenethiourea: A general introduction*, 1988.
- Willner I., Baron R., Willner B., *Growing Metal Nanoparticles by Enzymes*, Adv. Mater., 18 (2006) 1109-1120.
- Xiao N., Yu C., *Rapid-Response and Highly Sensitive Noncross-Linking Colorimetric Nitrite Sensor Using 4-Aminothiophenol Modified Gold Nanorods.*, Anal. Chem. 82 (2010) 3659-3663.
- Xiao Q., Gao H. , Lu C., Yuan Q., *Gold nanoparticles-based optical probes for sensing aminithiols*, Trends in Analytical Chemistry, 40(2012) 64-76.

- Xiao Y., Pavlov V., Levine, S., Niazov T., Markovitch G., Willner I., *Catalytic growth of Au nanoparticles by NAD(P)H cofactors: Optical sensors for NAD(P)⁺-dependent biocatalyzed transformations*, Angew. Chem., Int. Ed. 43 (2004) 4519-4522.
- Yang L., Zhang X., Li H., Li S., Jiang L., *A simple strategy for selective detection of phosphorothiolate pesticides using a hyaluronan-tyrosinegold nanoparticle probe*, Anal. Methods, 9 (2017) 6139-6147.
- Yang S., Wang Y., Wang Q., Zhang R., Ding B., *UV irradiation induced formation of Au nanoparticles at room temperature: The case of pH values*, Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects 301 (2007) 174-183.
- Yang S., Wang Y., Wang Q., Zhang R., Ding B., *UV irradiation induced formation of Au nanoparticles at room temperature: The case of pH values*, Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects 301 (2007) 174-183.
- Yu W., Liu H., *Quantity Synthesis of Nanosized Metal Clusters*, Chem. Mater., 10 (1998) 1205.
- Zayats M., Baron R., Popov I., Willner I., *Biocatalytic Growth of Au Nanoparticles: From Mechanistic Aspects to Biosensors Design*, Nanoletters, 5 (2005) 21-25.
- Zhao W., Brook M. A., Li Y., *Design of Gold Nanoparticle-Based Colorimetric Biosensing Assays*, ChemBioChem 9 (2008) 2363-2371.
- Zhao W., Chiuman W., Lam J., Brook M. A., Li Y., *Simple and rapid colorimetric enzyme sensing assays using non-crosslinking gold nanoparticle aggregation*, Chem. Commun., (2007) 3729-3731.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η μεταπτυχιακή αυτή εργασία περιγράφει μια νέα μέθοδο, για τον προσδιορισμό θειούχων ενώσεων που βασίζεται στην ικανότητά τους να επιβραδύνουν τη κινητική της φωτοαναγωγής των ιόντων χρυσού σε νανοσωματίδια χρυσού. Η μέθοδος περιλαμβάνει την παρακολούθηση του χρόνου που απαιτείται για να εμφανιστεί κόκκινος χρωματισμός στο δείγμα, το οποίο είναι ενδεικτικό του σχηματισμού των νανοσωματιδίων χρυσού, σε σχέση με το τυφλό διάλυμα, στο οποίο απουσιάζει ο αναλύτης. Η μέθοδος είναι απλή ενώ για την εφαρμογή της απαιτούνται μόνο δύο διαλύματα (ένα ρυθμιστικό διάλυμα και ένα διάλυμα ιόντων χρυσού), μία πηγή UV ή ορατού φωτός και ένα χρονόμετρο. Η μέθοδος ανταποκρίνεται σε μία μεγάλη ποικιλία θειούχων ενώσεων, συμπεριλαμβανομένων των θειολών, θειοεστέρων, δισουλφιδίων, θειοφωσφορικών δεσμών, δεσμών μετάλλου-θείου και ανόργανου θείου. Η μέθοδος βελτιστοποιήθηκε και εφαρμόστηκε για τον προσδιορισμό μιας ποικιλίας θειούχων ενώσεων όπως διθειοκαρβαμικά μυκητοκτόνα, οργανοφωσφορικά παρασιτοκτόνα, βιοθειόλες, φαρμακευτικά δραστικές ουσίες και θειούχα σε διαφορετικά δείγματα όπως φυτικά νερά και λύματα, βιολογικά υγρά και συνταγογραφούμενα φάρμακα. Τα αναλυτικά χαρακτηριστικά της μεθόδου περιλαμβάνουν ικανοποιητική ευαισθησία (όρια ποσοτικού προσδιορισμού στα χαμηλά επίπεδα των μM), καλές ανακτήσεις (από 93 έως 109%) και αναπαραγωγικότητα (4,8-9,8%). Η μέθοδος μπορεί να εφαρμοστεί εύκολα τόσο σε εργαστηριακές όσο και σε μη εργαστηριακές συνθήκες, είναι φιλική προς τον χρήστη ακόμη και για ελάχιστα εκπαιδευμένο προσωπικό και μπορεί να πραγματοποιηθεί υπό συνθήκες περιορισμένων πόρων με χαμηλό κόστος.

SUMMARY

This work describes a new, equipment-free, method for the determination of sulfur-containing compounds that is based on their ability to slow down the photo-reduction kinetics of gold ions to gold nanoparticles. The method involves tracking the time required for a red coloration to appear in the tested sample, indicative of the formation of gold nanoparticles, and compare the measured time relative to a control sample in the absence of the target analyte. The method is applicable with minimal and simple steps requiring only two solutions (i.e. a buffer and a gold solution), a source of UV or visible light and a timer. The method responds to a large variety of sulfur compounds including thiols, thioesters, disulfides, thiophosphoric bonds, metal-sulfur bonds and inorganic sulfur. On the basis of this principle, the method was optimized and applied to the determination of a variety of sulfur containing compounds such as dithiocarbamate and organophosphorous pesticides, biothiols, pharmaceutically active compounds and sulfides in different samples such as natural waters and wastewater, biological fluids and prescription drugs. The analytical figures of merit of the method include satisfactory sensitivity (quantitation limits at the low μM levels), good recoveries (from 93 to 109%), and satisfactory reproducibility (4.8-9.8%). The method is easily adoptable to both laboratory settings and non-laboratory conditions, is user-friendly even for the minimally-trained user and can be performed with limited-resources at low-cost.