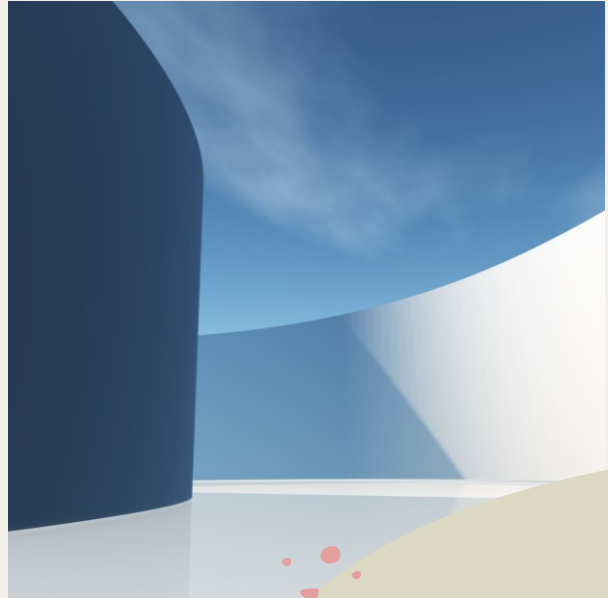


Σύγχρονες Αναλυτικές Τεχνικές

Εισαγωγικό μάθημα

Δρ. Μάριος Κωστάκης

Επίκουρος Καθηγητής



1

Εισαγωγικά

- Κάθε Παρασκευή, 9:00-12:00
 - Μεγάλη Αίθουσα Αναλυτικής Χημείας
 - Υπεύθυνη Καθηγήτρια:
- Επίκουρη Καθηγήτρια Αθηνά Μάρκου



2

Δομή μαθημάτων

Επανάληψη της θεωρίας και των γνώσεων της
Αναλυτικής των υποχρεωτικών μαθημάτων.

Βασική οργανολογία

Σύγχρονες Τάσεις

3

Σύγχρονη Αναλυτική Χημεία

Ποιος είναι ο σκοπός της Αναλυτικής Χημείας;

4

Αναλυτική Χημεία

- Προσδιορισμός της ταυτότητας ενός χημικού σωματιδίου.
- Προσδιορισμός της ποσότητας ενός χημικού σωματιδίου.
- Ανάγκη για προσδιορισμό πολλών συστατικών σε ένα πολύπλοκο φυσικό δείγμα.
- Κατηγορίες δειγμάτων: Τρόφιμα, βιολογικά δείγματα, περιβαλλοντικά δείγματα (χώμα, νερό, λύματα κλπ), υλικά κλπ
- Πέρα από τις ουσίες που μας ενδιαφέρουν (**αναλύτες**), υπάρχει μια σειρά φυσικών συστατικών (χημικών ενώσεις και άλλα συστατικά=**μήτρα**) που μπορούν να παρεμποδίζουν την ανάλυση (**παρεμποδιστές**).

5

Σύγχρονη Αναλυτική Χημεία

- Προσδιορισμός, όσο το δυνατόν περισσότερων αναλυτών στο μικρότερο εφικτό χρόνο.
- Μείωση των Παρεμποδίσεων, μείωση θορύβου και διαφόρων παρεμβολών.
- Προσδιορισμός ενώσεων σε όσο το δυνατόν πιο μικρές συγκεντρώσεις, υπολείματα (ppb->ppt)
- Αναλυτικές Τεχνικές με δυνατότητα να ταυτοποιούν αξιόπιστα άγνωστες ενώσεις, χωρίς να είναι γνωστή η σύσταση των δειγμάτων.
- Μείωση της απαραίτητης ποσότητας δείγματος.

6

Ορολογία Αναλυτικών Τεχνικών

- **Αναλυτική Τεχνική (Analytical Technique):** Η εφαρμογή ενός φυσικοχημικού φαινομένου για τον προσδιορισμό μιας χημικής ή φυσικής παραμέτρου μίας χημικής ουσίας, ενός χημικού στοιχείου ή ενός μίγματος.
- **Αναλυτική Μέθοδος (Analytical Method):** Χρησιμοποίηση μιας ή περισσότερων αναλυτικών τεχνικών για την επίλυση ενός αναλυτικού προβλήματος.
- **Αναλυτικό Πρόβλημα (Analytical Problem):** Ταυτοποίηση ή ποσοτικός προσδιορισμός μιας συγκεκριμένης ουσίας ή ομάδας ουσιών σε ένα συγκεκριμένο δείγμα. Είναι το ερώτημα που απευθύνονται προς το Εργαστήριο Ελέγχου (έλεγχος ταυτότητας, έλεγχος καθαρότητας, έλεγχος ορίων, ποσοτικός προσδιορισμός)
- Παραδείγματα.

7

Ορολογία Αναλυτικών Τεχνικών

- **Ανάλυση (Analysis):** Εφαρμογή μιας ή περισσότερων αναλυτικών μεθόδων ή/και δοκιμασιών (δοκιμών, tests), σε ένα συγκεκριμένο δείγμα για την απάντηση/επίλυση ενός αναλυτικού προβλήματος.
- **Πορεία (procedure):** Γενική περιγραφή των σταδίων για την εκτέλεση της μεθόδου.
- **Πρωτόκολλο (protocol):** Λεπτομερής περιγραφή της πορείας ενός συγκεκριμένου προσδιορισμού που περιλαμβάνει ποσότητες αντιδραστηρίων και δείγματος, χρόνους εκτελέσεως διαφόρων σταδίων, πειραματικές συνθήκες κλπ.

8

Ορολογία Αναλυτικών Τεχνικών

- **Προσοχή 1:** Οι όροι «ανάλυση» και «αναλύεται» αναφέρεται μόνο στο δείγμα και ποτέ στις ουσίες. Το δείγμα **αναλύεται** και οι ουσίες **προσδιορίζονται**.
- π.χ.: Προσδιορισμός Cu σε ιστούς ψαριών. Ανάλυση δείγματος νερού για Cu.
- **Προσοχή 2:** Η απόδοση των αγγλικών όρων
- «**Analyte**»: αναλύτης, δηλαδή η ουσία που προσδιορίζεται
- «**Analyst**»: αναλυτής, ο αναλυτικός επιστήμονας που είναι υπεύθυνος για τη μέτρηση και το αποτέλεσμα.
- «**Analyzer**»: αναλυτής, ένα αυτοματοποιημένο σύστημα που παράγει αποτελέσματα, π.χ. βιοχημικός αναλυτής, μέτρησης παραμέτρων στο αίμα.

9

Στάδια Ανάλυσης



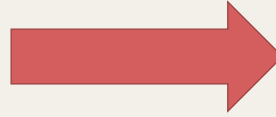
Δειγματοληψία

Αποθήκευση -
συντήρηση

Προετοιμασία -
Προεργασία

Ανάλυση

10



Τεχνικές Προετοιμασίας Δείγματος

Γιατί χρειαζόμαστε την προετοιμασία του δείγματος, πριν την ανάλυση;

Αναφέρετε τη γνώμη σας

Ποιες είναι οι Τεχνικές Προετοιμασίας Δείγματος, που γνωρίζετε;



11



Τεχνικές Προετοιμασίας Δείγματος

- Απομάκρυνση παρεμποδιστών, που μπορούν να δράσουν ως:
 - Αύξηση αναλυτικού σήματος
 - Καταστολή αναλυτικού σήματος
 - Μείωση αναλυτικού σήματος
 - Επίδραση στην λειτουργία της αναλυτικής τεχνικής
- Προσυγκέντρωση των αναλυτών ώστε να μπορούν να προσδιοριστούν.
- Μετατροπή στην κατάλληλη μορφή του αναλυτή ώστε να μπορεί να προσδιοριστούν.



12

Πιθανά στάδια προκατεργασίας δείγματος

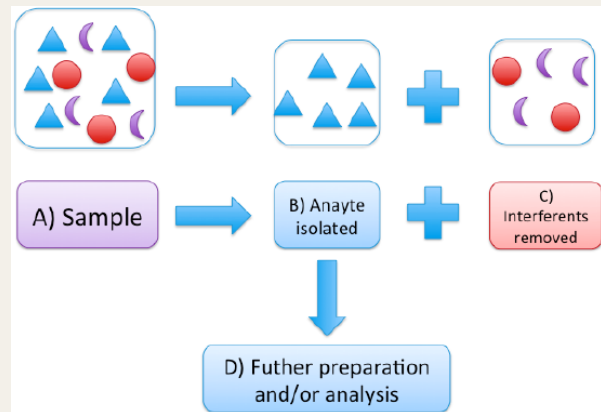
Ομοιογενοποίηση (homogenization)

Εκχύλιση (extraction)

Προσυγκέντρωση (concentration)

Καθαρισμός (cleaning)

Ποιες τεχνικές γνωρίζετε για κάθε περίπτωση;



13

Προκαταρτικές κατεργασίες δείγματος

Ανάλογα με τη φύση του δείγματος οι προκαταρτικές κατεργασίες μπορεί να είναι διαφορετικές. Οι πιο κοινές είναι οι εξής:

1. Ομοιογενοποίηση (homogenization)
2. Ρύθμιση ποσότητας νερού του δείγματος (moisture)
3. Προσυγκέντρωση/Αραίωση δείγματος
4. Μείωση της ποσότητας του δείγματος

14

Ομοιογενοποίηση (Homogenization)

Τις περισσότερες φορές οι ποσότητες του δείγματος που έρχεται σε ένα εργαστήριο είναι μεγαλύτερη από αυτή που απαιτείται για την ανάλυση.

Στα στερεά δείγματα η ομοιογενοποίηση πραγματοποιείται με μείωση του μεγέθους των σωματιδίων με σύνθλιψη, άλεση και κοσκίνισμα.

Διαφορετικό μέγεθος σωματιδίων στο δείγμα συνεπάγεται και διαφορετική σύσταση.

Παραλαβή ομοιογενούς δείγματος, με κοινή σύσταση.



15

Προσυγκέντρωση/Αραίωση Δείγματος

Προσυγκέντρωση/Συγκέντρωση Δείγματος:

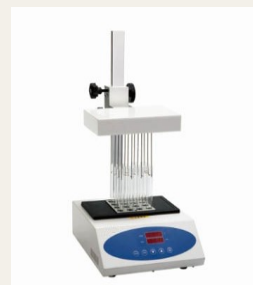
Μείωση του όγκου για την αύξηση της συγκέντρωσης του αναλύτη στο διάλυμα

- Καλύτερα όρια ανίχνευσης
- Προσοχή με τα φαινόμενα επίδρασης μήτρας.

Αραίωση Δείγματος:

Μείωση της συγκέντρωσης με σκοπό:

- τον ορθότερο προσδιορισμό (εύρος καμπύλης αναφοράς)
- αλλαγή σύστασης διαλύτη για την καλύτερη συμπεριφορά του αναλύτη κατά την ανάλυση.



16

Μείωση ποσότητας νερού

Βοηθάει στον καλύτερο χειρισμό των δειγμάτων και στην σταθερότητά τους

Εξαρτάται από τον αναλύτη.

Οι πτητικές ουσίες μπορεί να χαθούν αν υποστούν ξήρανση

Η πιο συνήθης τεχνική είναι μέσω θέρμανσης σε φούρνο.

Για θερμοσταθή δείγματα και για καλύτερη σταθερότητα, χρησιμοποιείται και η λυοφυλίωση.

Πολλές φορές απαιτείται από την μέθοδο ή την νομοθεσία να απομακρυνθεί η υγρασία (αποτελέσμα επί ξηρού)



17

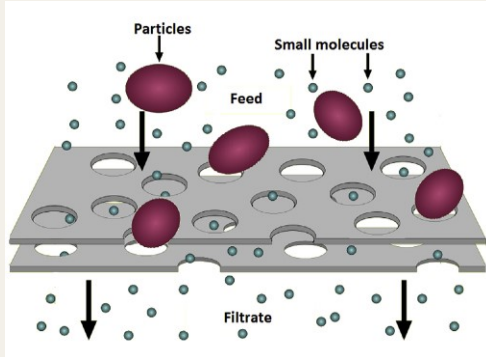
Μηχανικές διεργασίες προετοιμασίας δείγματος

Διήθηση-Φιλτράρισμα

Φυγοκέντρωση

18

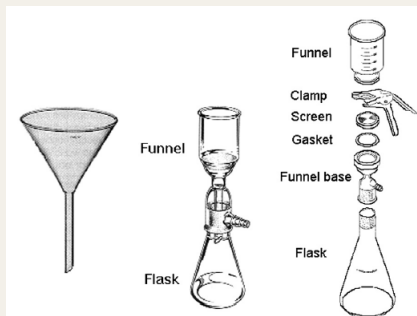
Φιλτράρισμα - Διήθηση



- Χρησιμοποιείται συνήθως για την απομάκρυνση από ένα ετερογενές δείγμα των στερεών από ένα υγρό.
- Αποφυγή φράξιμο των τμημάτων της αναλυτικής τεχνικής ή/και την απομάκρυνση στερεών που μπορούν να επηρεάσουν την ανάλυση.
- Ανάλογα με τον μέγεθος των σωματιδίων που κατακρατούνται χωρίζονται σε μικροδιήθηση (microfiltration, $>0,1 \mu\text{m}$) και υπερδιήθηση (ultrafiltration, $0,001-0,1 \mu\text{m}$)

19

Φιλτράρισμα – Διήθηση



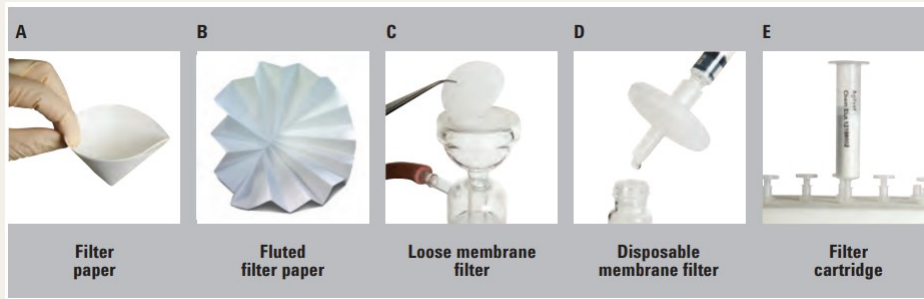
- Διήθηση κινητής φάσης για την απομάκρυνση των σωματιδίων πριν εισαχθεί στο χρωματογραφικό σύστημα
- Διήθηση δείγματος πριν εισαχθεί στο χρωματογραφικό σύστημα.



20

Φιλτράρισμα – Διήθηση

- Οι πιο διάσημοι τύποι φιλτραρίσματος για την απομάκρυνση σωματιδίων.



21

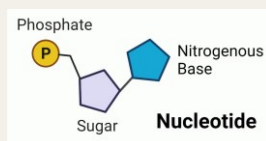
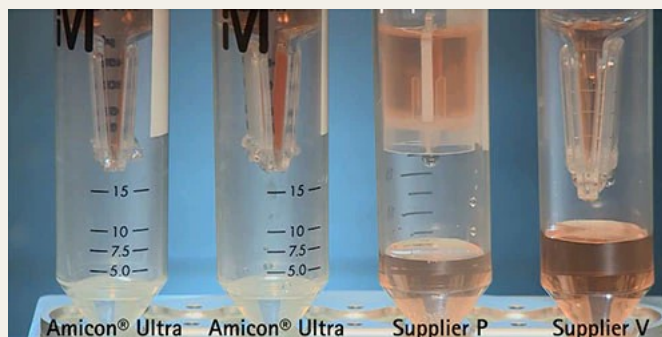
Φυγοκέντρωση

- Χρησιμοποιείται για το διαχωρισμό ετερογενών δειγμάτων, αλλά με πολλές εφαρμογές: Διαχωρισμός υγρού – στερεού & υγρό-υγρό, κλασματοποίηση σωματιδίων.
- Ασκοούνται δύο δυνάμεις, η βαρύτητα και η φυγόκεντρος δύναμη.
- Δύο μονάδες: **RCF** (relative centrifugal field) ή **RPM** (rotation per minutes)



22

Φυγοκέντρωση-Διήθηση



Παράδειγμα-Εφαρμογή

- Συνδυασμός διήθησης με φυγοκέντρωση, **centrifugal ultrafiltration**, για τον προσδιορισμό νουκλεοτιδίων σε παιδικές τροφές.
- Παρασκευάζεται το μίγμα παιδικής τροφής (infant formula) και διωχεύεται στο δοχείο με το φίλτρο αποκοπής.
- Μέσω της φυγοκέντρωσης από το φίλτρο διέρχονται μόνο μόρια μεγέθους μικρότερου που επιτρέπει το φίλτρο. Η διέλευση γίνεται μέσω φυγοκέντρωσης
- Η Διαδικασία επαναλαμβάνεται ανάλογα με την ποσότητα που απαιτείται για τη μέθοδο.



23

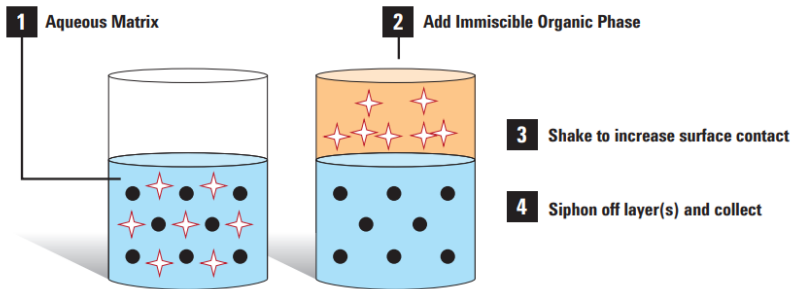
Εκχύλιση

Υγρό - Υγρό & Υγρό - Στερεό εκχύλιση

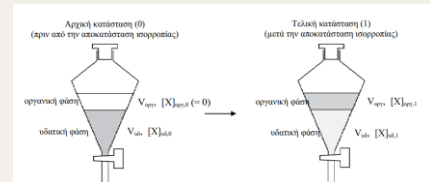
Εκχύλιση στερεάς φάσης

24

Θεωρία Εκχύλισης



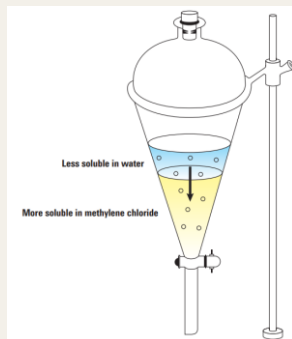
$$\frac{[X]_{\text{υδ},n}}{[X]_{\text{υδ},0}} = \left(\frac{V_{\text{υδ}}}{D V_{\text{οργ}} + V_{\text{υδ}}} \right)^n$$



25

Εκχύλιση (old school)

Liquid - Liquid Extraction

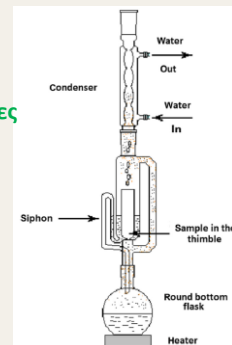


Χωάνη

+
Άμεσα διαθέσιμος εξοπλισμός
Μελετημένες συνθήκες με μικρές απώλειες
Δεν απαιτεί μεγάλη εξειδίκευση
Μικρότερη πιθανότητα σφαλμάτων

-
Χρονοβόρες διαδικασίες
Μεγάλη κατανάλωση διαλυτών

Liquid - Solid Extraction

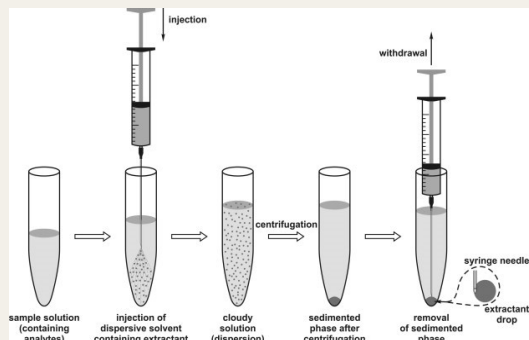


Συσκευή
Soxhlet

26

Εκχύλιση (new school)

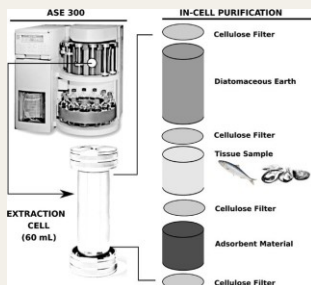
Dispersive Liquid - Liquid Micro Extraction



Accelerated Solvent Extraction



27

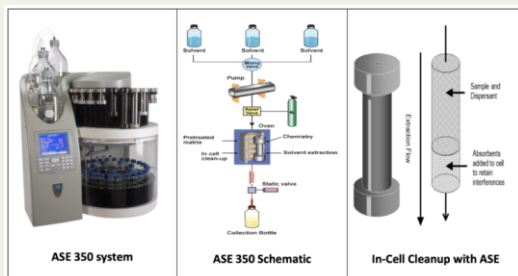


Accelerated Solvent Extraction – Αρχή λειτουργίας

Το δείγμα τοποθετείται σε ειδικό δοχείο με διάφορα προσροφητικά υλικά.

Στη συνέχεια τοποθετείται στη συσκευή όπου θερμαίνεται (**50 έως 200 °C**)

Η υψηλή πίεση που δημιουργείται στο δοχείο, επιτρέπει την θέρμανση σε συνθήκες πάνω από το σημείο ζέσης και η υψηλή θερμοκρασία επιταχύνει την διάλυση των αναλυτών στο διαλύτη.



28

Πως λειτουργεί;

Βασίζεται στην διασπορά του διαλυτη (υδρόφοβος) εκχύλισης σε ένα υδατικό διάλυμα με τη βοήθεια ενός διανεμητή διαλύτη (disperser solvent).

Χαμηλού κόστους

Απλό

Υψηλός παράγοντας προσυγκέντρωσης

Ταχεία μέθοδος εκχύλισης

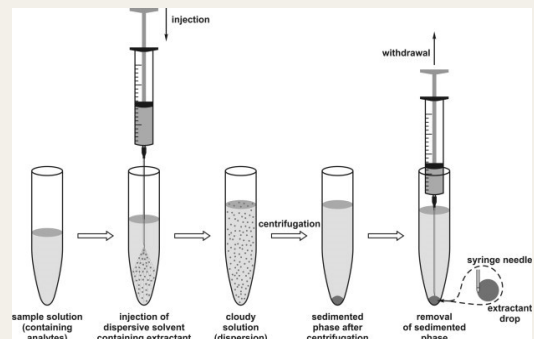
Δεν είναι επιλεκτική μέθοδος εκχύλισης

Απαιτεί τρεις διαλύτες

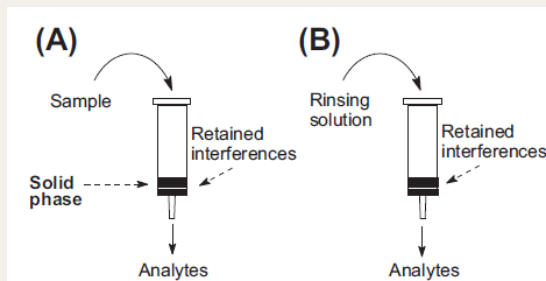
Απαιτεί φυγοκέντρηση

Περιορισμένες επιλογές διαλυτών

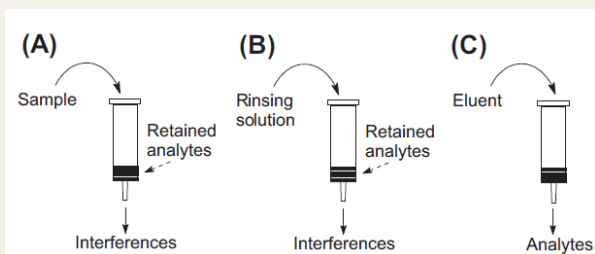
Dispersive liquid-liquid microextraction– Αρχή λειτουργίας



29



I.



II.

Εκχύλιση Στερεάς Φάσης

Βασικά στάδια εκχύλισης:

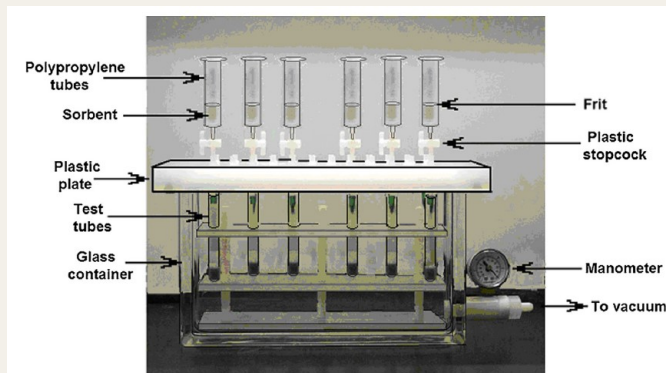
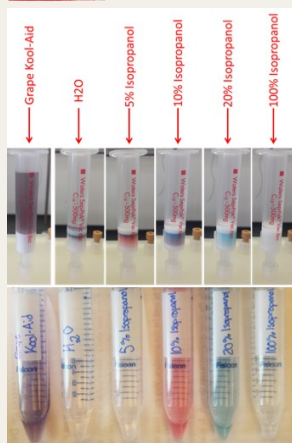
1. Προκατεργασία Δείγματος (ρύθμιση pH, αραιώση κλπ)
2. Ενεργοποίηση στερεάς φάσης
3. Φόρτωση Δείγματος
4. Έκλουση κλασμάτων

Δύο περιπτώσεις:

- I. Απομάκρυνση/παγίδευση:** Ο αναλύτης δεν κατακρατείται, αλλά κατακρατούνται οι παρεμποδιστές.
- II. Δέσμευση και έκλουση:** Κατακρατείται ο αναλύτης και εκλύεται με άλλο διαλύτη, ενώ οι παρεμποδιστές δεν κατακρατούνται.

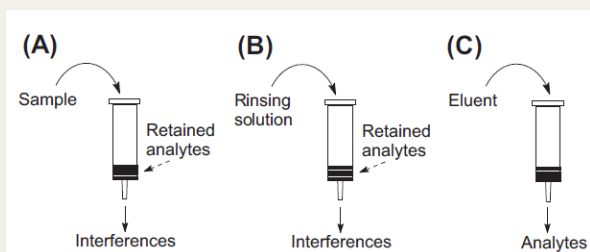
30

Εκχύλιση Στερεάς Φάσης (Στην πράξη)



31

Εκχύλιση Στερεάς Φάσης (παράδειγμα)



Προσδιορισμός Ολικών Πετρελαικών υδρογονανθράκων σε νερά.

- 1. Προκατεργασία Δείγματος (ρύθμιση pH, αραιώση κλπ):** Σε 1 L δείγματος νερού, προστίθενται 10 mL μεθανόλη και το pH ρυθμίζεται στο 2,0 με HCl 6 M
- 2. Ενεργοποίηση στερεάς φάσης:** 10 mL μεθανόλης χρησιμοποιούνται για την ενεργοποίηση του φυσιγγίου και στη συνέχεια διέρχονται 10 mL απιονισμένου νερού ρυθμισμένο στο pH 2,0 με HCl.
- 3. Φόρτωση Δείγματος:** Το δείγμα διέρχεται από το φυσιγγίο με τη βοήθεια του κενό μέσω σωλήνων. Όταν ολοκληρωθεί η φόρτωση, η στερεά φάση καθαρίζεται με 40 mL νερού.
- 4. Έκλυση κλασμάτων:** Η έκλυση γίνεται με 2 x 4 mL εξάνιο

32

QuEChERS

Προκύπτει από τα αρχικά: **Q**uick, **E**asy, **C**heap, **E**ffective, **R**ugged and **S**afe

Αποτελεί παραλλαγή της SPE, dispersive SPE (διασκορπιστική εκχύλιση στερεάς φάσης)

Χρησιμοποιείται στον τομέα των τροφίμων για τον προσδιορισμό φυτοφαρμάκων και γενικότερα υπολλειμάτων.

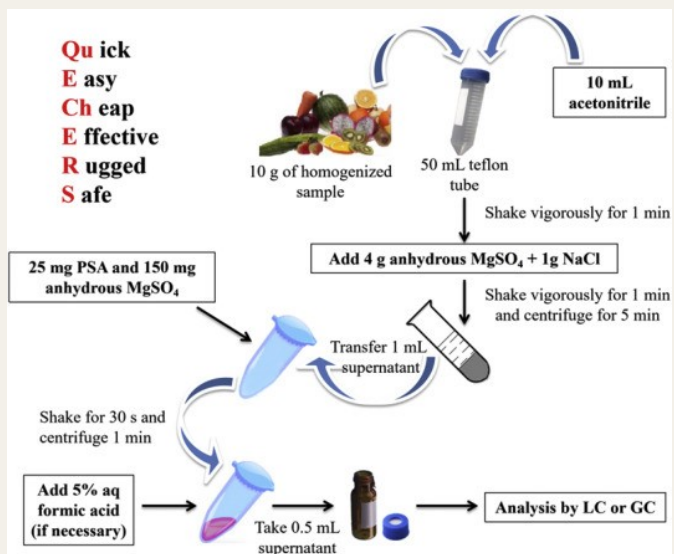
Δύο στάδια προκατεργασίας:

1. Εξαλάτωση σε ACN με MgSO_4
2. Καθαρισμός με προσροφητικά υλικά (C18 κλπ)

33

QuEChERS – Πως δουλεύει στην πράξη

Δυνατότητα Προσδιορισμού
>100 φυτοφάρμακα
Ταυτόχρονα!



34

QuEChERS vs SPE

↑ Απλή, δεν απαιτεί εξειδίκευση

Βελτιώνει την ικανότητα του διαχωρισμού και παρέχει καλύτερο καθαρισμός

Δεν απαιτείται εξοπλισμός και κενό

Δεν υπάρχουν στάδια κατακράτησης, γρήγορη και χαμηλότερη κατανάλωση διαλυτών

Μικρές απαιτήσεις σε χώρο

Μικρό ρίσκο επικινδυνότητας

Απαιτείται μικρότερη ποσότητα προσροφητικών υλικών

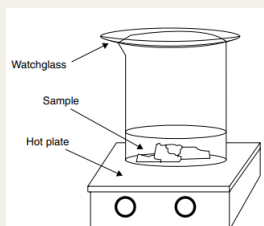
↓ Απομακρύνει μόνο τα συστατικά της μήτρας και όχι αναλύτες

Δεν διαχωρίζει αποτελεσματικά ενώσεις με μικρή διαφορά στην πολικότητα.

35

Προκατεργασία στην στοιχειακή ανάλυση

Από την εστία στα μικροκύματα!



36

Προκατεργασία στην στοιχειακή ανάλυση

Η περιεκτικότητα το μετάλλων στα δείγματα, κυμαίνεται σε ένα μεγάλο εύρος τιμών συγκεντρώσεων, ξεκινώντας από g/ 100 g μέχρι κάποια ppm

Παράλληλα κάποια μέταλλα βρίσκονται σε διαφορετικές μορφές στα δείγματα, και ο προσδιορισμός τους απαιτεί τον προσδιορισμό των χημικών ειδών τους (Chemical Speciation).

Π.χ. Προσδιορισμός ανόργανου As σε ρύζι. Προσδιορισμός εξασθενούς χρωμίου Cr(VI)

37

Προκατεργασία στην στοιχειακή ανάλυση

Οι κυριότεροι σκοποί της προκατεργασίας του δείγματος στην στοιχειακή ανάλυση είναι οι εξής:

1. Η διάσπαση και η διαλυτοποίηση της μήτρας για την απελευθέρωση όλων των μετάλλων
2. Εκχύλιση των μετάλλων από την μήτρα σε ένα διαλύτη κατάλληλο για την αναλυτική τεχνική που ακολουθεί.
3. Προσυγκέντρωση του μετάλλου, γιατί βρίσκεται σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις
4. Να διαχωριστεί ένα αναλύτης από μια ομάδα αναλυτών ή από κάποια είδη που μπορεί να παρεμποδίζουν την ανάλυση.
5. Αραίωση της μήτρας κατάλληλα ώστε να περιοριστούν τα φαινόμενα επίδρασης μήτρας
6. Να διαχωριστούν τα διαφορετικά χημικά είδη για να προσδιοριστούν.

38

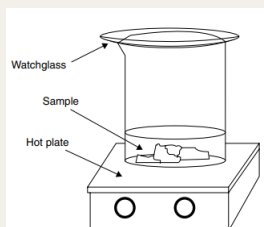
Προκατεργασία στην στοιχειακή ανάλυση

Βασικά στάδια προκατεργασίας δειγμάτων για στοιχειακή ανάλυση

- Προετοιμασία του αρχικού δείγματος
- Διάλυση ή εκχύλισης του αναλύτη (συνήθως χώνευση)
- Προσυγκέντρωση, αν είναι πολύ αραιό ή αραιώση για να είναι κατάλληλο για ανάλυση
- Μέτρηση στην αναλυτική τεχνική (FAAS, GFAAS, ICP, ICP-MS κλπ)

39

Προκατεργασία στην στοιχειακή ανάλυση



Υγρή χώνευση σε ανοικτά δοχεία

- Το δείγμα ζυγίζεται σε ένα δοχείο (γυάλινο ή Teflon)
- Προστίθενται τα οξέα (κυρίως HNO_3 , HCl , H_2O_2)
- Το δείγμα θερμαίνεται μέχρι να διαλυθεί το δείγμα
- Μετά το τέλος της χώνευσης, το διάλυμα αραιώνεται (συνήθως με νερό)
- Μέτρηση στην αναλυτική τεχνική

40

Προκατεργασία στην στοιχειακή ανάλυση



Χώνευση σε φούρνο μικροκυμάτων

- Το δείγμα ζυγίζεται σε δοχείο Teflon
- Προστίθενται τα οξέα (κυρίως HNO_3 , HCl , H_2O_2)
- Το δείγμα πωματίζεται και τοποθετείτε στη συσκευή.
- Ρυθμίζονται οι συνθήκες, πίεσης, θερμοκρασίας, έντασης μικροκυμάτων, και πραγματοποιείται η χώνευση.
- Μετά το τέλος της χώνευσης, το διάλυμα αραιώνεται (συνήθως με νερό)
- Μέτρηση στην αναλυτική τεχνική

41

Προκατεργασία στην στοιχειακή ανάλυση

Υγρή χώνευση σε ανοικτά δοχεία



Άμεσα διαθέσιμη

Δεν απαιτεί εξειδικευμένο εξοπλισμό

Απλό στη χρήση



Χρονοβόρα

Απώλειες επειδή είναι ανοικτά τα δοχεία

Χώνευση σε μικροκύματα



Αποδοτικότερη μεταφορά της ενέργειας στο δείγμα.

Ρύθμιση των συνθηκών χώνευσης αυτόματα

Αναπαραγωγίμες συνθήκες

Μείωση του χρόνου προκατεργασίας

Μείωση της κατανάλωσης αντιδραστηρίων

Μικρές απώλειες λόγω πτητικότητας των αναλυτών



Ακριβός εξοπλισμός

Απαιτεί χώρο και εκπαίδευση

42