



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ

ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ



ΤΟΜΕΑΣ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΗΣ ΚΑΙ ΑΝΑΛΥΤΙΚΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ

Εργαστήριο Περιβαλλοντικών
Χημικών Διεργασιών

Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών
«ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΕΣ ΠΡΟΣΤΑΣΙΑΣ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ»

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΔΙΠΛΩΜΑ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ
με τίτλο

ΕΙΔΟΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ Cr ΣΕ ΠΟΣΙΜΟ ΝΕΡΟ ΜΕ ΣΤΗΛΗ ΝΑΝΟΣΩΛΗΝΩΝ
ΑΝΘΡΑΚΑ ΣΕ ΣΕΙΡΑ ΜΕ ΦΑΣΜΑΤΟΜΕΤΡΙΑ ΜΑΖΑΣ ΕΠΑΓΩΓΙΚΑ
ΣΥΖΕΥΓΜΕΝΟΥ ΠΛΑΣΜΑΤΟΣ

ΤΟΥ

κ. ΜΙΧΑΛΗ Π. ΑΝΑΣΤΟΠΟΥΛΟΥ

υπό την επίβλεψη του Αναπληρωτή Καθηγητή

κ. ΣΠΥΡΙΔΩΝΑ Α. ΠΕΡΓΑΝΤΗ

Ηράκλειο, 2009



University of Crete
Department of Chemistry



**SECTION OF ENVIRONMENTAL AND
ANALYTICAL CHEMISTRY**
**Environmental Chemical Processes
Laboratory**

Postgraduate Program

«ENVIRONMENTAL PROTECTION TECHNOLOGIES»

MASTER OF SCIENCE

with title

**SPECIATION OF Cr IN DRINKING WATER USING COLUMN PACKED
WITH CARBON NANOTUBES ON LINE WITH INDUCTIVELY COUPLED
PLASMA MASS SPECTROMETRY**

by

MICHALIS P. ANASTOPOULOS

under the supervision of Associate Professor

SPYROS A. PERGANTIS

Heraklion, 2009

Τριμελής Επιτροπή Αξιολόγησης

κ. Σπύρος Περγαντής, Αναπληρωτής Καθηγητής Τμήματος Χημείας, Πανεπιστήμιο Κρήτης (επιβλέπων καθηγητής),

κ. Ευριπίδης Στεφάνου, Καθηγητής Τμήματος Χημείας, Πανεπιστήμιο Κρήτης,

κ. Παντελής Τρικαλίτης, Επίκουρος Καθηγητής Τμήματος Χημείας, Πανεπιστήμιο Κρήτης.

*Στους γονείς μου,
Πάνο και Βιργινία*

Πρόλογος

Η παρουσία του εξασθενούς χρωμίου σε πόσιμα νερά έχει απασχολήσει ευρέως την επιστημονική κοινότητα διότι όταν το χρώμιο βρίσκεται στην εξασθενή οξειδωτική του κατάσταση χαρακτηρίζεται ως επικίνδυνο και τοξικό για τον ανθρώπινο οργανισμό. Σε αντίθεση, το χρώμιο στην τρισθενή οξειδωτική κατάσταση είναι απαραίτητο θρεπτικό ιχνοστοιχείο για την υγεία του ατόμου συμβάλλοντας καθοριστικά στην αποτελεσματική δράση της ινσουλίνης να διατηρήσει το σάκχαρο σε κανονικά για τον οργανισμό επίπεδα.

Στην Ελλάδα, στην ευρύτερη περιοχή του νομού Βοιωτίας, κυρίως την τελευταία δεκαετία έχει λάβει ανησυχητικές διαστάσεις η έντονη παρουσία εξασθενούς χρωμίου στα νερά της περιοχής. Ως πιθανότερη αιτία είναι η εντατική εκβιομηχανοποίηση που έχει συντελεστεί στην περιοχή με αποτέλεσμα τον εμπλουτισμό των υδάτων σε Cr(VI) από την ανεξέλεγκτη απόρριψη των βιομηχανικών αποβλήτων. Για τον λόγο αυτό, επιλέχτηκε να πραγματοποιηθούν αναλύσεις δειγμάτων από τα πόσιμα νερά της περιοχής των Θηβών, σύμφωνα με την ανάπτυξη μιας νέας μεθοδολογίας που θα βασιζόταν στην απλότητα και αμεσότητα της αναλυτικής διαδικασίας, χωρίς να θιγεται η αξιοπιστία της.

Οι νανοσωλήνες άνθρακα, ένα υλικό που οι εφαρμογές του επεκτείνονται ακόμη, ανταποκρίθηκε ικανοποιητικά στον διαχωρισμό των οξειδωτικών καταστάσεων του χρωμίου. Για τον ποσοτικό προσδιορισμό χρησιμοποιήθηκε η τεχνική φασματομετρίας μάζας επαγωγικά συζευγμένου πλάσματος ή ICP-MS. Η τεχνική ICP-MS προσφέρει εξαιρετικές αναλυτικές δυνατότητες γι' αυτό και χαρακτηρίζεται ως η αποτελεσματικότερη τεχνική που προσφέρεται για ποσοτικό προσδιορισμό μετάλλων σε υδατικά δείγματα.

Στο Θεωρητικό Μέρος της παρούσας εργασίας περιλαμβάνονται τα δύο πρώτα κεφάλαια. Το Κεφάλαιο 1 αναφέρεται στην υδατική γεωχημεία του χρωμίου και στην αλληλεπίδρασή του με διάφορους φυσικούς παράγοντες. Επίσης, περιλαμβάνεται αναφορά για τον καθοριστικό ρόλο που διαδραματίζει στην υγεία του ατόμου. Το Κεφάλαιο 2 εστιάστηκε στην παρουσίαση του τρόπου λειτουργίας της φασματομετρίας μάζας επαγωγικά συζευγμένου πλάσματος και στην προσροφητική ικανότητα των τροποποιημένων νανοσωληνών άνθρακα πολλών τοιχωμάτων. Επιπλέον γίνεται μία σύντομη επισκόπηση των αναλυτικών τεχνικών που έχουν χρησιμοποιηθεί για την ειδοαυτοποίηση του χρωμίου, όπως επίσης και μια

αναφορά στις μελέτες που έχουν γίνει σχετικά με την χρήση νανοσωλήνων άνθρακα ως προσροφητικό υλικό για τον ποιοτικό ή ποσοτικό προσδιορισμό άλλων μετάλλων.

Το Πειραματικό Μέρος περιλαμβάνει τα κεφάλαια 3 έως 5. Στο Κεφάλαιο 3 περιγράφεται το σκεπτικό βάσει του οποίου αναπτύχθηκε η μεθοδολογία της παρούσας εργασίας. Το Κεφάλαιο 4 αναλώνεται στην επεξεργασία των δεδομένων και την παρουσίαση των αποτελεσμάτων σχετικά με το χαρακτηρισμό της μεθόδου. Ομοίως, το Κεφάλαιο 5 περιλαμβάνει την παρουσίαση των αποτελεσμάτων που προέκυψαν από την ανάλυση των δειγμάτων.

Ακολουθεί συζήτηση και σχολιασμός των αποτελεσμάτων ο οποίος περιλαμβάνει και σύγκριση με άλλες μεθόδους και τέλος, έπεται σύνοψη των συμπερασμάτων.

Ευχαριστίες

Εκφράζω τις ευχαριστίες μου προς τον κ. Σπύρο Περγαντή, Αναπληρωτή Καθηγητή του Τμήματος Χημείας του Πανεπιστημίου Κρήτης, για την καθοδήγησή του ως επιβλέπων καθηγητής της μεταπτυχιακής διατριβής μου. Στα μέλη της τριμελούς επιτροπής, κ. Ευριπίδη Στεφάνου, Καθηγητή του Τμήματος Χημείας, και κ. Παντελή Τρικαλίτη, Επίκουρο Καθηγητή του Τμήματος Χημείας. Τη φίλη Ιωσηφίνα Τσουδερού για τη στήριξη που μου παρείχε καθ' όλη τη διάρκεια εκπόνησης της παρούσας μελέτης. Τις συμφοιτήτριές μου, Κατερίνα Κανάκη και Ying Lu για την βοήθειά τους σχετικά με τη χρήση και τον τρόπο λειτουργίας του ICP-MS. Την Κατερίνα δε, ιδιαιτέρως, και για τις χρήσιμες συζητήσεις που είχαμε.

Τέλος, είμαι βαθύτατα ευγνώμων στους γονείς μου Πάνο και Βιργινία για την αμέριστη, αδιάκοπη και ανιδιοτελή υποστήριξή τους. Τους ευχαριστώ θερμά.

Η παρούσα έρευνα χρηματοδοτήθηκε από τον Ειδικό Λογαριασμό Κονδυλίων Έρευνας (Κ.Α. 2574) του Πανεπιστημίου Κρήτης. Ευχαριστίες.

Μιχάλης Π. Αναστόπουλος

Ηράκλειο, Ιανουάριος 2009

Περίληψη

Το εξασθενές και το τρισθενές χρώμιο είναι οι δύο σταθερότερες οξειδωτικές καταστάσεις του χρωμίου στο πόσιμο νερό. Το τρισθενές χρώμιο εκλαμβάνεται ως θρεπτικό στοιχείο για τον ανθρώπινο οργανισμό σε αντίθεση με το εξασθενές που θεωρείται τοξικό. Η παρούσα εργασία πραγματοποιείται την ανάπτυξη μιας νέας μεθόδου διαχωρισμού και προσδιορισμού του Cr^{VI} και του Cr^{III} σε πόσιμο νερό χρησιμοποιώντας στήλη πληρωμένη με MWCNTs-COOH σε σειρά με ICP-MS. Ο χαρακτηρισμός της μεθόδου πραγματοποιήθηκε με τη διερεύνηση και αξιολόγηση παραμέτρων όπως η ανάκτηση του χρωμίου, τα όρια ανίχνευσης, η γραμμικότητα και η επαναληψιμότητά της. Η μέθοδος κρίθηκε ικανοποιητική ενώ υπάρχουν και περιθώρια βελτίωσής της. Επιπλέον, αναλύθηκαν τρία υδατικά δείγματα που συλλέχθηκαν από οικίες και γεώτρηση της περιοχής των Θηβών, βορείως της Αθήνας, όπου η παρουσία του εξασθενούς χρωμίου είναι ήδη γνωστή και πιθανόν οφείλεται στην εντατική βιομηχανοποίηση που έχει συντελεστεί στην περιοχή τα τελευταία χρόνια. Και στα τρία δείγματα βρέθηκαν υψηλές συγκεντρώσεις εξασθενούς χρωμίου ενώ το τρισθενές κυμαίνονταν σε κανονικά επίπεδα.

Abstract

Hexavalent and trivalent chromium consists the two stable oxidation states of chromium in potable water. Trivalent is considered to be nutrient element for human body in contrast to hexavalent which is registered as toxic. The present project disserts the development of a new method for the separation and the determination of Cr^{VI} and Cr^{III} in potable water using column packed with MWCNTs-COOH on line with ICP-MS. Characterization of the method was carried out through the investigation and validation of parameters such as the recovery of chromium, the limits of detection, the linearity and the reproducibility of the method. The method satisfied the efficiency criteria while improvements are feasible. Furthermore, three water samples from houses and water drilling from the area of Thebes, north of Athens, were collected and analyzed. At this area the presence of hexavalent chromium has been already confirmed and probably caused by the accelerated industrialization in recent years. All three sample analyses showed high concentrations for hexavalent chromium while trivalent found to be in regular levels.

Περιεχόμενα

Πρόλογος	<i>i</i>
Περίληψη - Abstract	<i>iii</i>
Περιεχόμενα	<i>iv</i>
Εισαγωγή	<i>vi</i>
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1. Χρώμιο - Περιβάλλον και Υγεία	1
1.1 Χαρακτηριστικά του Χρωμίου	1
1.2 Κύκλος Χρωμίου στο Περιβάλλον - Ανθρωπογενείς Δραστηριότητες	2
1.3 Χημικά Είδη Χρωμίου (Chromium Species) στο Περιβάλλον	3
1.3.1 Υδατική Γεωχημεία Χρωμίου - Οξειδοαναγωγικές Αντιδράσεις	5
1.3.2 Αυτογενής Παρουσία Cr ^{VI} στο Φυσικό Περιβάλλον	10
1.4 Εισαγωγή του Χρωμίου στον Ανθρώπινο Οργανισμό	11
1.4.1 Ο Ρόλος του Χρωμίου στον Ανθρώπινο Οργανισμό	12
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2. Ειδοταυτοποίηση Χρωμίου	14
2.1 Μορφή, Χαρακτηριστικά και Παραγωγή CNTs	14
2.1.1 Χρήση CNTs ως Προσοφητικό Υλικό	16
2.2 Φασματομετρία Μάζας Επαγωγικά Συζευγμένου Πλάσματος	18
2.2.1 Τμήματα του ICP-MS και Λειτουργίες που Επιτελούν	19
2.2.2 Παρεμπόδιμοι	29
2.3 Επισκόπηση Ενδεικτικών Μεθόδων Ειδοταυτοποίησης Χρωμίου	30
Σκοπός της Μελέτης	35
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3. Ανάπτυξη Μεθοδολογίας	37
3.1 Αρχή της Μεθόδου	37
3.2 Πειραματικές Συνθήκες, Οργανολογία, Υλικά	39
3.3 Διαμόρφωση και Βελτιστοποίηση της Μεθόδου	41
3.4 Δομή της Μεθόδου	50
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4. Χαρακτηρισμός της Μεθόδου	55
4.1 Ανάκτηση	56
4.1.1 Ανάκτηση Cr ^{III}	58
4.1.2 Ανάκτηση Cr ^{VI}	60
4.2 Όρια ανίχνευσης	61
4.3 Γραμμικότητα	65
4.3.1 Γραμμικότητα Cr ^{III}	65
4.3.2 Γραμμικότητα Cr ^{VI}	69
4.4 Επαναληψιμότητα	72
4.4.1 Επαναληψιμότητα Cr ^{III}	72
4.4.2 Επαναληψιμότητα Cr ^{VI}	73

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5. Ανάλυση Δειγμάτων	76
5.1 Ανάλυση δείγματος Th D01 (Γεώτρηση Περιοχής Θηβών)	76
5.2 Ανάλυση δείγματος Th P01 (Οικία Περιοχής Θηβών)	88
5.3 Ανάλυση δείγματος Th G01 (Οικία Περιοχής Θηβών)	95
<i>Σοζήτηση</i>	101
<i>Συμπεράσματα</i>	113
<i>Βιβλιογραφία</i>	I
<i>Παράρτημα</i>	VIII

Εισαγωγή

Δεδομένης της τοξικότητας που παρουσιάζει το εξασθενές χρώμιο σε αντίθεση με το τρισθενές, είναι απαραίτητο η μέθοδοι που αναπτύσσονται να διαθέτουν την ικανότητα διαχωρισμού και προσδιορισμού των δύο διαφορετικών οξειδωτικών καταστάσεων του χρωμίου. Στην πλειονότητα των μεθόδων που έχουν αναπτυχθεί για την ειδοταυτοποίηση του χρωμίου, ως μέσο διαχωρισμού των οξειδωτικών καταστάσεων του χρησιμοποιείται συνήθως στήλη πακτωμένη με κάποιο υλικό που αλληλεπιδρά με τα ιόντα του χρωμίου, και ως μέσο ποσοτικού προσδιορισμού κάποια ενόργανη αναλυτική τεχνική.

Στην παρούσα εργασία, ως μέσο διαχωρισμού των οξειδωτικών καταστάσεων του χρωμίου χρησιμοποιήθηκε στήλη πακτωμένη με καρβοξυλιωμένους νανοσωλήνες άνθρακα πολλών τοιχωμάτων. Τα MWCNTs-COOH διαθέτουν την ικανότητα να προσροφούν μέταλλα που παρουσιάζουν κατιοντική συμπεριφορά σε αντίθεση με τα ανιόντα που δεν αλληλεπιδρούν με τις επιφάνειες των MWCNTs-COOH. Η στήλη συνδέθηκε σε σειρά με ICP-MS. Η αναλυτική τεχνική ICP-MS χαρακτηρίζεται από την ικανότητά της να πραγματοποιεί πολυστοιχειακές αναλύσεις με μεγάλη ακρίβεια και σε χαμηλά όρια ανίχνευσης ιδίως μετάλλων, όπως το χρώμιο, σε υδατικά δείγματα, γι' αυτό και θεωρείται μια τεχνική ολοκληρωμένη που συνίσταται για αναλύσεις ειδοταυτοποίησης.

Για την σωστή ερμηνεία των αποτελεσμάτων είναι απαραίτητη η επεξεργασία με μαθηματικά εργαλεία των δεδομένων που προκύπτουν, γι' αυτό συνηθίζεται η στατιστική ανάλυση. Μέσα από αυτή την εργασία αναδύθηκαν χρήσιμα συμπεράσματα που πέραν της αντικειμενικής τους αξίας για την παρούσα, μπορεί να αποτελέσουν τη βάση για περαιτέρω ανάπτυξη και βελτιστοποίηση μεθόδων που βασίζονται στην χρήση MWCNTs-COOH και ICP-MS.

Κεφάλαιο 1

Χρώμιο - Περιβάλλον και Υγεία

Το Κεφάλαιο 1 αναφέρεται στην παρουσία του χρωμίου στη φύση και στους κυριότερους μηχανισμούς αλληλεπίδρασης που λαμβάνουν χώρα σε σχέση με διάφορους παράγοντες του φυσικού περιβάλλοντος. Αναφορά περιλαμβάνεται και στις επιπτώσεις του χρωμίου στον ανθρώπινο οργανισμό όταν αυτό υφίσταται στις δύο διαφορετικές οξειδωτικές καταστάσεις Cr^{III} και Cr^{VI} . Επίσης, συγκαταλέγονται περιγραφές σχετικά με τα γενικά χαρακτηριστικά του χρωμίου, τις μορφές που απαντάται στη φύση, τη χρήση του και πως ο ανθρώπινος παράγοντας επιδρά στον κύκλο του χρωμίου. Στόχος του Κεφαλαίου 1 είναι να διαμορφωθεί κατά τα δυνατόν πληρέστερα ένα ευρύ γνωσιακό πλαίσιο που να σχετιζόμενο με την ύπαρξη του χρωμίου.

1.1 Χαρακτηριστικά του Χρωμίου

Το χρώμιο βρίσκεται στη στερεά φάση, ανήκει στη κατηγορία των μεταβατικών μετάλλων με ατομικό αριθμό $Z=24$. Στον Περιοδικό Πίνακα τοποθετείται στην 4^η Περίοδο στην Ομάδα VIB. Η ηλεκτρονιακή του δομή διαμορφώνεται ως $[\text{Ar}] 3d^5 4s^1$. Στον Πίνακα 1.1 φαίνονται μερικές από τις φυσικές του ιδιότητες.

Πίνακας 1.1. Φυσικές ιδιότητες του χρωμίου	
Σημείο τήξεως	1857 °C
Σημείο ζέσεως	2672 °C
Πυκνότητα	7,2 g/cm ³
Ηλεκτραρνητικότητα	1,6 (κλίμακα Pauling)
Ομοιοπολική ακτίνα	118 pm
Ιοντική ακτίνα	87 pm
Ενέργειες ιοντισμού 1 ^η /2 ^η /3 ^η	652,9 / 1590,6 / 2987 kJ·mol ⁻¹

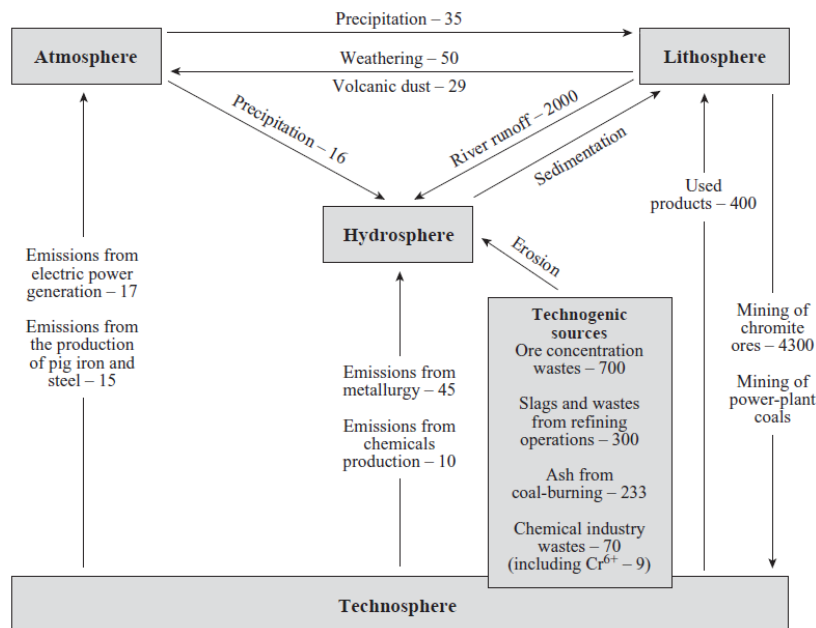
Πηγή: D. D. Ebbing & S. D. Gammon. «Γενική Χημεία», Εκδ. Τραυλός, 6^η έκδοση 2002, σελ. 996

Οι αριθμοί οξείδωσης που μπορεί να λάβει το χρώμιο είναι -2, -1, 0, +1, +2, +3, +4, +5 και +6. Στην φύση οι πιο σταθερές οξειδωτικές καταστάσεις είναι οι Cr^{III}

και Cr^{VI}. Το στοιχειακό Cr δεν υφίσταται καθόλου, ενώ το Cr^{II} είναι ασταθές και οξειδώνεται γρήγορα προς Cr^{III}. Το Cr^{IV} και το Cr^V εμφανίζονται ως ενδιάμεσες οξειδωτικές καταστάσεις του χρωμίου κατά την διάρκεια οξειδοαναγωγικών διεργασιών μεταξύ τρισθενούς και εξασθενούς, γι' αυτό παρότι υπάρχουν στη φύση έχουν περιορισμένο χρόνο ημιζωής και απομονώνονται σχετικά δύσκολα¹. Το ατομικό βάρος του χρωμίου είναι $A_r(\text{Cr}) = 51,9961(6)$ και τα σταθερά του ισότοπα είναι τέσσερα. Τα ⁵⁰Cr, ⁵²Cr, ⁵³Cr και ⁵⁴Cr, με ισοτοπικές μάζες σε amu 49,9460495(14), 51,9405115(15), 52,9406534(15) και 53,9388846(15) και κλασματική αφθονία 0,04345(13), 0,83789(18), 0,09501(17) και 0,02365(7), αντίστοιχα².

1.2 Κύκλος Χρωμίου στο Περιβάλλον - Ανθρωπογενείς Δραστηριότητες

Στο περιβάλλον το χρώμιο υπάρχει σε συγκεντρώσεις που κυμαίνονται στην ατμόσφαιρα μέχρι 0,1 μg/m³ και στα εδάφη από 5 - 1800 mg/kg³, καταλαμβάνοντας ποσοστό περίπου ίσο με το 0,03% επί της μάζας της λιθόσφαιρας⁴. Στη φύση απαντάται κυρίως στην τρισθενή οξειδωτική του κατάσταση ως στοιχείο ενώσεων, σε αντίθεση με το εξασθενές χρώμιο όπου η παρουσία του οφείλεται σχεδόν αποκλειστικά σε ανθρωπογενείς δραστηριότητες. Η αναλογία μαζών Cr^{III}/Cr^{VI} είναι περίπου ίση με 7/1⁵ και συνολικά κατανέμεται μεταξύ ατμόσφαιρας, υδρόσφαιρας, χερσαίων πετρωμάτων και τεχνόσφαιρας (ο τελευταίος όρος αναφέρεται στις ανθρωπογενείς δραστηριότητες - technosphere).



Σχήμα 1.1. Κύκλος του χρωμίου (x 10³ tons/yr)

Πηγή: Chernousov I. P., et al, Metallurgist, 47(5-6): 226-231, 2003

Το Σχήμα 1.1 απεικονίζει ροοδιαγραμματικά τον ποσοτικό κύκλο του χρωμίου μεταξύ των κυριότερων δεξαμενών του (τριών φυσικών και μίας ανθρωπογενούς) σε ετήσια βάση. Το συμπέρασμα που εξάγεται είναι ότι, η κύρια πηγή εισροής χρωμίου στο ανθρώπινο περιβάλλον είναι η εξόρυξη του ως χρωμιούχο μέταλλευμα με την ετήσια παραγωγή να ανέρχεται τους $4,3 \cdot 10^6$ τόνους. Από αυτούς περίπου $1,8 \cdot 10^6$ θα επιστρέψουν στο φυσικό περιβάλλον, κυρίως στην υδρόσφαιρα. Φαίνεται ότι σε ετήσια βάση ένα ποσοστό της τάξης του 60% της ποσότητας που εισέρχεται, θα παραμείνει και θα συσσωρευτεί στο ανθρώπινο περιβάλλον. Χρήζει παρατήρησης το γεγονός ότι η κύρια δεξαμενή-αποδέκτης τόσο των φυσικών όσο και των ανθρωπογενών ροών είναι η υδρόσφαιρα.

Άλατα του Cr^{VI} όπως το χρωμικό ασβέστιο, το χρωμικό στρόντιο και ο χρωμικός ψευδάργυρος χρησιμοποιούνται ευρέως στην μεταλλοβιομηχανία ως αντιδιαβρωτικά, προστατευτικά επιστρώματα μεταλλικών επιφανειών^{6,7,8}. Επίσης, τα χρωμικά χρησιμοποιούνται ως χρωστικές ουσίες στη φωτογραφία, ως συστατικό βαφών στο κλάδο της βυρσοδεψίας (κυρίως το χρωμικό νάτριο και αμμώνιο), στη βιομηχανία χρωμάτων αλλά και στη βιομηχανία ξύλου ως συντηρητικά για την μυκητοκτόνο και βακτηριοκτόνο δράση τους⁹.

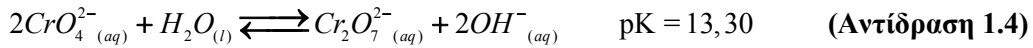
1.3 Χημικά Είδη Χρωμίου (Chromium Species) στο Περιβάλλον

Ως ορυκτό πέτρωμα, το Cr^{VI} δημιουργεί ενώσεις με το μόλυβδο με πιο χαρακτηριστικό τον κροκοΐτη (crocoite) με μοριακό τύπο PbCrO_4 και τον λιγότερο διαδεδομένο στο έδαφος μελανοχρωΐτη (melanochroite) με μοριακό τύπο Pb_2CrO_5 ¹⁰.

Όμως, το ενδιαφέρον για το Cr^{VI} στην φύση έγκειται στη παρουσία των ιόντων του και πως αυτά κατανέμονται στα υδατικά συστήματα. Τα ιόντα του μπορεί να είναι μονομερή όπως τα HCrO_4^- , CrO_4^{2-} (δισχρωμικά ή όξινα χρωμικά και χρωμικά, αντίστοιχα) ή και διμερή όπως τα ιόντα $\text{Cr}_2\text{O}_4^{2-}$ (διχρωμικά). Η κατανομή των χρωμικών ρυθμίζεται από τις κάτωθι αντιδράσεις διάστασης¹¹:



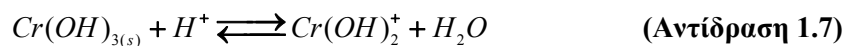
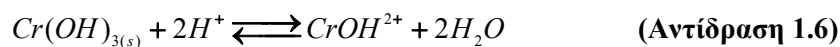
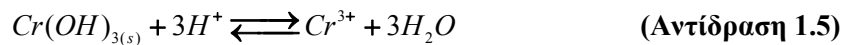
Τα διχρωμικά είναι προϊόντα πολυμερισμού των δισχρωμικών και χρωμικών ιόντων και περιγράφονται από τις κάτωθι αντιδράσεις διάστασης¹¹:



Το H_2CrO_4 υφίστανται μόνο στην ακραία τιμή όπου $pH < 1$. Σε τιμές $pH > 6,5$ το ιόν που επικρατεί είναι το CrO_4^{2-} ενώ σε τιμές $pH < 6,5$ η συγκέντρωση του ολικού Cr^{VI} θα καθορίσει ποιο από τα δύο οξοανιόντα $HCrO_4^-$, $Cr_2O_7^{2-}$ θα επικρατήσει. Γενικότερα, σε συγκεντρώσεις όπου $[Cr^{VI}]_{tot} > 30mM$ επικρατούν τα διχρωμικά ιόντα ενώ για μικρότερες συγκεντρώσεις τα όξινα χρωμικά¹².

Το Cr^{III} απαντάται ευρέως ως ορυκτό με την ονομασία χρωμίτης (chromite) και μοριακό τύπο $Fe(Mg)CrO_4$ ενώ όταν συμμετέχει Zn τότε το ορυκτό ονομάζεται ζινκοχρωμίτης (ψευδαργυροχρωμίτης-zincochromite) με μοριακό τύπο $ZnCrO_4$. Ο χρωμίτης είναι το κύριο μέταλλευμα προϊόν εξόρυξης για τη κάλυψη των ανθρώπινων αναγκών σε χρώμιο¹⁰.

Στα υδατικά συστήματα το Cr^{III} έχει τη μορφή $Cr(H_2O)_6^{3+}$ (ή εν συντομία Cr^{3+}) όταν το pH είναι μικρότερο του 3,5. Με την αύξηση του, τα ιόντα Cr^{3+} υδρολύονται σχηματίζοντας διαδοχικά τα υδρόξο-σμπλοκα $CrOH^{2+}$, $Cr(OH)_2^+$, $Cr(OH)_3^0$ και $Cr(OH)_4^-$. Η διαλυτότητα του στερεού $Cr(OH)_{3(s)}$ [Αντιδράσεις 1.5-1.8] είναι η παράμετρος που μαζί με το pH καθορίζει τη συγκέντρωση και το είδος των ιόντων του Cr^{III} .



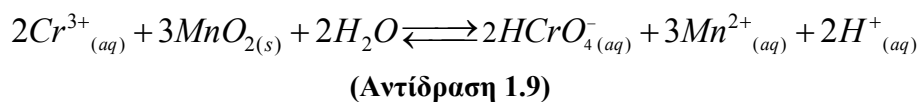
Σε περιοχές $3,5 < pH < 7,5$ επικρατούν τα ιόντα $CrOH^{2+}$. Για $8 < pH < 11$ επικρατούν τα $Cr(OH)_3^0$ και σε περιοχές με $pH > 11$ τα $Cr(OH)_4^-$. Τα ιόντα $Cr(OH)_2^+$ εμφανίζονται στη περιοχή με $pH \approx 5$ που υποσκελίζονται από τη παρουσία των $CrOH^{2+}$ ¹³. Πολυμερή ιόντα Cr^{III} όπως $Cr_2(OH)_2^{4+}$, $Cr_3(OH)_4^{5+}$, $Cr_4(OH)_6^{6+}$ αν προβλέπονται από μοντέλα δεν υπάρχουν στη φύση, ενώ σε υψηλότερες

θερμοκρασίες (~100 °C) παρατηρείται κρυσταλλοποίηση του $Cr(OH)_{3(s)}$ προς $HCrO_{2(c)}$ ή και $Cr_2O_3 \cdot H_2O_{(c)}$.

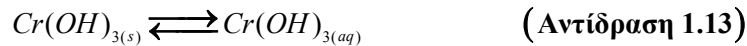
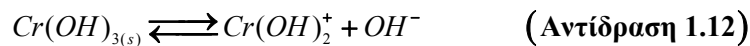
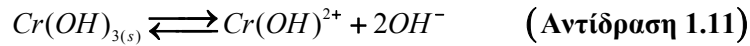
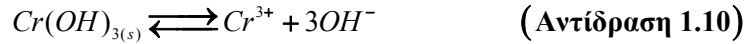
Το δυναμικό οξειδοαναγωγής των πετρωμάτων είναι σημαντική παράμετρος κυρίως όσον αφορά το Cr^{VI} . Σε υψηλά δυναμικά ευνοείται η προσρόφηση των οξοανιόντων του Cr^{VI} στα πετρώματα σε αντίθεση με τα χαμηλά δυναμικά στα οποία ο μηχανισμός που επικρατεί είναι η αναγωγή του Cr^{VI} σε Cr^{III} ¹⁴.

1.3.1 Υδατική Γεωχημεία Χρωμίου - Οξειδοαναγωγικές Αντιδράσεις

Οι μοναδικοί παράγοντες στο φυσικό περιβάλλον που μπορούν να προκαλέσουν οξείδωση του Cr^{III} σε Cr^{VI} είναι το MnO_2 και το οξυγόνο. Όμως, η οξείδωση λόγω παρουσίας οξυγόνου είναι είτε αμελητέα και παρατηρείται στο επιφανειακό στρώμα του εδάφους,¹⁵ είτε ανύπαρκτη,^{12,16} γι' αυτό και ως κυριότερο οξειδωτικό εκλαμβάνεται το MnO_2 , που ανάγεται σύμφωνα με την Αντίδραση 1.9. Η διαδικασία της οξείδωσης του Cr^{III} ολοκληρώνεται σε τρία στάδια. Αρχικά απαιτείται η προσρόφηση του Cr^{III} στην επιφάνεια του MnO_2 -πετρώματος. Γι' αυτό το λόγο, η διεργασία της προσρόφησης αποτελεί σημαντικό και αναγκαίο βήμα στην ολοκλήρωση των οξειδοαναγωγικών αντιδράσεων¹⁶. Στην συνέχεια, το Cr^{III} οξειδώνεται σε Cr^{VI} και τέλος τα προϊόντα της οξειδοαναγωγής εκροφόνται από το πέτρωμα στην υδατική φάση.



Η απόδοση (κινητική) της Αντίδρασης 1.9 εξαρτάται από το pH. Σε όξινα pH ευνοείται η οξείδωση του Cr^{III} προς Cr^{VI} με μέγιστη απόδοση σε τιμή pH περίπου 3,5¹⁷. Σε pH>5 το Mn^{2+} οξειδώνεται, επαναστερεοποιείται και καθιζάνει ως MnO_2 οπότε σταματάει η παραγωγή του Cr^{VI} , αφού πλέον η οξείδωση του Cr^{III} δεν πραγματοποιείται. Ο Bose και οι συνεργάτες του¹⁸ παρατήρησαν ότι ενώ η αρχική τιμή του pH ήταν 3 (σε αερόβιες συνθήκες) μετά από 10 ημέρες το pH αυξήθηκε στη τιμή 7 και παρέμεινε σταθερό για 60 ημέρες με ταυτόχρονη παραγωγή Cr^{VI} . Η προτεινόμενη εξήγηση περιελάμβανε ταυτόχρονη διαλυτοποίηση $Cr(OH)_{3(s)}$ και οξείδωση του Cr^{III} σύμφωνα με τις ισορροπίες των Αντιδράσεων 1.10-1.13.



Οι Αντιδράσεις 1.10, 1.11 και 1.12 πραγματοποιούνται σε χαμηλά pH (3 έως 5,5), ενώ η 1.13 σε ουδέτερο. Η κατανάλωση του Cr^{III} προς παραγωγή Cr^{VI} προξενεί ανατροπή των ισορροπιών μεταξύ διαλυτής και στερεής φάσης του Cr^{III} ευνοώντας τη διαλυτοποίηση του $Cr(OH)_{3(s)}$ με ταυτόχρονη απελευθέρωση OH^- που δίνει εξήγηση στη αύξηση του pH. Σε τιμή pH=7 το σύστημα ισορροπεί λόγω παρουσίας H^+ από την 1.9 και OH^- από τις 1.10-1.13 και λειτουργεί πλέον ως ρυθμιστικό διάλυμα σταθεροποιώντας έτσι την τιμή pH στην ουδέτερη περιοχή.

Αντιστρόφως ανάλογη είναι η σχέση προσροφούμενου Cr^{VI} και pH¹⁶. Μέγιστη προσρόφηση Cr^{VI} παρατηρείται σε pH=2, ενώ όσο αυτό αυξάνεται, φθίνει η $[Cr^{VI}]_{abs}$ λόγω ελάττωσης του θετικού ηλεκτροστατικού φορτίου των MnO_2 -πετρωμάτων, οπότε και προσροφούνται λιγότερα ανιόντα Cr^{VI} ενώ παραμένουν περισσότερα στη διαλυτή φάση¹⁸.

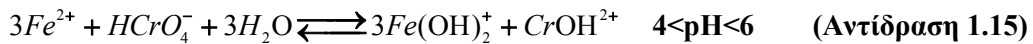
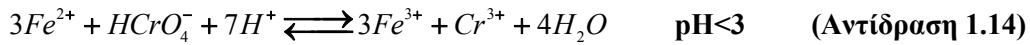
Σε ανοξικές συνθήκες, ο ρυθμός οξειδωσης του Cr^{III} ελαττώνεται (άρα και η παραγωγή Cr^{VI}) επειδή ενισχύεται η συγκέντρωση ιόντων Mn^{II} εις βάρος των Mn^{IV}¹⁹, τα οποία μπορούν να προσροφούνται στις επιφάνειες των MnO_2 -πετρωμάτων. Τα Mn^{II} ιόντα καλύπτοντας τμήμα της ενεργής επιφάνειας δρουν ανταγωνιστικά με τα ιόντα Cr^{3+} . Οπότε η προσροφημένη συγκέντρωση του τρισθενούς χρωμίου μειώνεται και λειτουργεί ανασταλτικά όσον αφορά στον σχηματισμό Cr^{VI} δεδομένου ότι ιδίως σε χαμηλές τιμές pH οι συγκεντρώσεις του προσροφημένου Cr^{VI} είναι υψηλές¹⁸.

Η ειδική επιφάνεια του MnO_2 -πετρώματος επηρεάζει σχεδόν αναλογικά την οξειδωση του Cr^{III}. Μικρή ειδική επιφάνεια συνεπάγεται μειωμένη προσροφητική ικανότητα για το Cr^{VI}. Έτσι, μπορεί μεν η τιμή των διαλυμένων ιόντων $Cr^{VI}_{(dis)}$ να λάβει μέγιστη συγκέντρωση, αλλά η συνολική συγκέντρωση του $[Cr^{VI}]_{(tot)}$ στο σύστημα θα έχει μειωθεί λόγω περιορισμένης συγκέντρωσης προσροφημένου $[Cr^{VI}]_{(abs)}$ στα MnO_2 -πετρώματα^{16,18}. Στα περισσότερα πετρώματα το οξειδωτικό Mn^{IV} συνυπάρχει με το επίσης οξειδωτικό Mn^{III}. Έρευνα²⁰ έδειξε ότι η παρουσία του

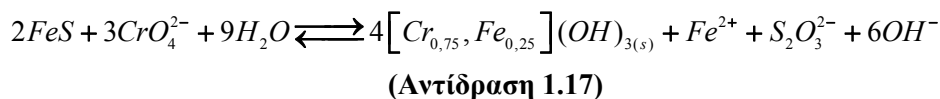
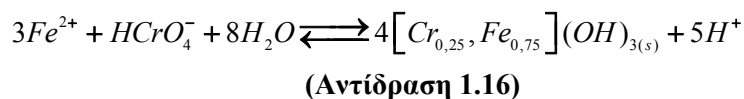
τρισθενούς μαγγανίου είναι λιγότερο ευνοϊκή για την οξείδωση του Cr^{III}. Γι' αυτό και η αύξηση του λόγου Mn^{IV}/Mn^{III} προκαλεί αύξηση της συγκέντρωσης του Cr^{VI}.

Η αναγωγή του Cr^{VI} προς Cr^{III} οφείλεται κυρίως στην παρουσία οργανικής ύλης, την παρουσία Fe και S και εξαρτάται από παράγοντες όπως το pH και την ολική συγκέντρωση του Cr.

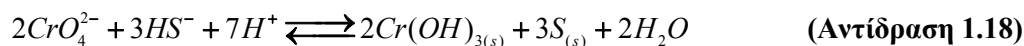
Ο δισθενής σίδηρος, Fe^{II}, στα φυσικά υδατικά συστήματα έχει τη μορφή Fe²⁺ σε pH<4 και σε μεγαλύτερες τιμές εμφανίζεται σε υδρολυομένες μορφές όπως FeOH⁺ σε 4<pH<7,5 και Fe(OH)₂⁰ σε pH>7,5 που παρότι μικρότερες οι συγκεντρώσεις τους, είναι πιο ισχυρά αναγωγικά για το Cr^{VI} σε σχέση με το Fe²⁺ ²¹. Σε όξινα pH οι κύριες αντιδράσεις αναγωγής του Cr^{VI} από τον Fe^{II} είναι οι:



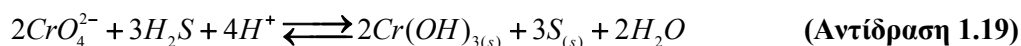
Σε pH=4 η κινητική της αντίδρασης, όσον αφορά την αναγωγή του Cr^{VI}, έχει τη μικρότερη τιμή ενώ αυξάνεται όσο μειώνεται προς pH=2, αλλά και όσο αυξάνεται προς pH=7,5²². Σε pH>10 η κινητική της αντίδρασης αναγωγής του Cr^{VI} μειώνεται παρουσία διαλυμένου οξυγόνου, επειδή το O₂(dis) ανταγωνίζεται την οξειδωτική ικανότητα του Cr^{VI} για τη μετατροπή του Fe^{II} σε Fe^{III} ^{22,23}. Καθώς η οξείδωση του Fe^{II} σε Fe^{III} αποδίδει στο σύστημα ένα e⁻, η αντίδραση της πλήρους αναγωγής του Cr^{VI} σε Cr^{III} γίνεται διαδοχικά σε τρία στάδια. Το Cr^{VI} ανάγεται πρώτα σε Cr^V μετά σε Cr^{IV} και τέλος σε Cr^{III}. Ακολουθώς, η στοιχειομετρία της οξειδοαναγωγικής αντίδρασης Cr^{VI}:Fe^{II} ισούται με 3:1, ενώ ρυθμιστής για την κινητική της πλήρους οξειδοαναγωγής θεωρείται η πρώτη αναγωγή του Cr^{VI} σε Cr^V ²³. Εκτός από τα Fe^{III} και Cr^{III} υδροξειδία που παράγονται είναι δυνατό να παραχθούν και ιζήματα της μορφής [Fe_{0,75},Cr_{0,25}](OH)_{3(s)} ²³ [Αντίδραση 1.16] σε pH ελαφρώς όξινα (5,5<pH<7) ή και [Fe_{0,25},Cr_{0,75}](OH)_{3(s)} ²⁴ [Αντίδραση 1.17] σε pH≈7 ακόμη και σε σχετικά υψηλές συγκεντρώσεις της τάξης των [Cr^{VI}]=5mM.



Η τελευταία αντίδραση αφορά την αναγωγή του Cr^{VI} από FeS, το οποίο αποδεικνύεται πάρα πολύ καλό αναγωγικό. Κατά την διάλυσή του παράγονται τόσο ιόντα Fe²⁺ όσο και ιόντα σουλφιδρύνιου (HS⁻). Τα HS⁻, σε ανοξικές συνθήκες, μπορούν και ανάγουν το Cr^{VI} σε Cr^{III} [Αντίδραση 1.18] και επιπλέον ενισχύουν καταλυτικά την αναγωγική ικανότητα του Fe^{II} ²⁵.



Η παρουσία του θείου είτε ως σουλφιδρύνιο [Αντίδραση 1.18] είτε ως υδρόθειο H₂S [Αντίδραση 1.19], ανάγει το Cr^{VI} σε Cr^{III}. Βέλτιστη απόδοση στην κινητική της οξειδοαναγωγής αλλά και ποσοτική αναγωγή του Cr^{VI}, επιτυγχάνεται σε pH=6,6 ²⁶.

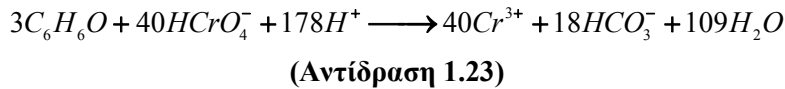
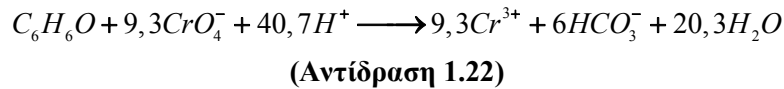


Η οργανική ύλη στα πετρώματα είναι ο κυριότερος παράγοντας που ευθύνεται για τη μετατροπή του Cr^{VI} σε Cr^{III} στα φυσικά περιβάλλοντα. Χουμικές ουσίες όπως το χουμικό και το φουλβικό οξύ παρουσιάζουν παρόμοια αναγωγική συμπεριφορά. Ο ρυθμός αναγωγής του Cr^{VI} είναι ταχύτερος σε μικρά pH με μέγιστη παραγωγή Cr^{III} σε pH=2, ενώ το φουλβικό οξύ είναι ισχυρότερο αναγωγικό από το χουμικό για τις ίδιες τιμές pH ²⁷. Ο ρυθμός αναγωγής είναι ανάλογος της αύξησης της θερμοκρασίας και για τα δύο οξέα. Αύξηση της θερμοκρασίας συνεπάγεται ταχύτερη αναγωγή του Cr^{VI}. Οι μεταβολές της ιοντικής ισχύος παρουσία αλκαλίων και αλκαλικών γαιών (Li⁺, K⁺, Mg²⁺ και Ca²⁺) δεν επηρεάζουν την κινητική της οξειδοαναγωγής²⁷. Η απόδοση της αναγωγής είναι αντιστρόφως ανάλογη της αρχικής συγκέντρωσης του εξασθενούς χρωμίου και ανάλογη των συγκεντρώσεων των δύο οξέων^{28,29}. Ο πιθανότερος μηχανισμός αναγωγής του Cr^{VI} περιλαμβάνει τη δημιουργία συμπλόκων μεταξύ χρωμικών και φαινόλων²⁹ [Αντιδράσεις 1.20, 1.21] καθώς και τα δύο οξέα διαθέτουν φαινολικούς δακτύλιους και ομάδες υδροξυλίων, ιδίως το χουμικό οξύ που παρουσιάζει εντονότερο αρωματικό χαρακτήρα³⁰.

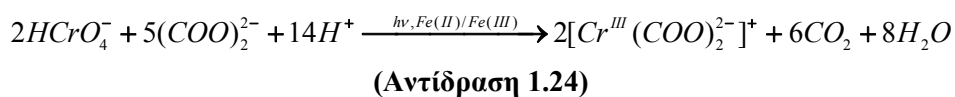


Η πρόσληψη ηλεκτρονίων για την αναγωγή του Cr^{VI} πιθανόν να συμβαίνει κατά τη διάρκεια της Αντίδρασης 1.21, που όμως τα προϊόντα της δεν είναι σαφώς

προσδιορισμένα. Η πλήρης οξειδοαναγωγική αντίδραση πρέπει να γίνεται σε περισσότερα από ένα στάδια διότι έχει παρατηρηθεί η παρουσία Cr^V ως ενδιάμεσου προϊόντος²⁹, ενώ είναι πιθανόν να λαμβάνει χώρα η αποδόμηση των φαινολικών προς όξινα ανθρακικά ιόντα³¹ [Αντιδράσεις 1.22, 1.23].



Η παρουσία Fe^{III} σε συστήματα Cr^{VI}-Χουμικών ή Φουλβικών οξέων συνδράμει καταλυτικά στην επίδραση στη κινητική της αντίδρασης οξειδοαναγωγής. Ο Fe^{III} λαμβάνει *e*⁻ από τις χουμικές ουσίες και ανάγεται σε Fe^{II} προκαλώντας ταυτόχρονα οξείδωση των χουμικών. Ο Fe^{II} με τη σειρά του διαθέτει ένα *e*⁻ και ανάγει το Cr^{VI} σε Cr(V→IV→III) και οξειδώνεται εκ νέου σε Fe^{III} για να συνεχίσει τον ίδιο κύκλο οξειδώνοντας τα χουμικά²⁷. Φαίνεται ότι σε αυτή τη περίπτωση το σύστημα Fe^{II}/Fe^{III} λειτουργεί ως μεταφορέας ηλεκτρονίων από τα χουμικά προς το Cr^{VI}. Παρόμοια καταλυτική επίδραση εμφανίζει ο Fe^{III} στη παρουσία οξαλικών ανιόντων (COO)₂²⁻ και φωτός. Σε 5<pH<7, δημιουργεί σύμπλοκα Fe^{III}Oxal_[2,3] τα οποία, σε μήκη κύματος του εγγύς υπεριώδους, ανάγονται σε Fe^{II}Oxal_[2,3] και ανάγουν το Cr^{VI} βαθμιαία σε διαλυτό Cr^{III}-Oxal σύμπλοκο³² (Αντίδραση 1.24). Το Fe^{II} επαναοξειδώνεται σε Fe^{III} και συνεχίζει το κύκλο του.



Απουσία φωτός τα οξαλικά ανιόντα δρουν λιγότερο αποδοτικά στην αναγωγή του Cr^{VI}, σε πετρώματα επίσης πλούσια σε σίδηρο. Σε αντίθεση με τα τρυγικά που ανάγουν το Cr^{VI} ταχύτερα, ενοσούμενα από τον καταλυτικό κύκλο Fe^{II}/Fe^{III} σε pH≈3³³. Γενικότερα, σε εδάφη με pH ελαφρώς όξινο (4<pH<6), η ταυτόχρονη παρουσία σιδήρου και οξέων όπως κιτρικό, σαλικυλικό, νιτριλοτριοξικό και 1,10-φαινανθρολινικό δημιουργεί διδοντικά ή πολυδοντικά σύμπλοκα στο κύκλο του Fe (Fe^{II}L_x/Fe^{III}L_y) δρώντας έτσι καταλυτικά στην αναγωγή του Cr^{VI} με προϊόντα επίσης σύμπλοκα του Cr^{III} ³⁴. Άλλες καταλυτικές, για την αναγωγή του χρωμίου, ενώσεις, πλην του σιδήρου, μπορεί να είναι το TiO₂ παρουσία του οποίου το αμυγδαλικό οξύ ανάγει το Cr^{VI} σε Cr^{III} ³⁵.

1.3.2 Αυτογενής Παρουσία Cr^{VI} στο Φυσικό Περιβάλλον

Στα φυσικά συστήματα οι διεργασίες είναι αρκετά περίπλοκες διότι δύναται να λαμβάνουν χώρα συνδυασμοί των παραπάνω χημικών αντιδράσεων. Επιπλέον, οι συγκεντρώσεις των Cr^{III} και Cr^{VI} εξαρτώνται και από παράγοντες όπως η φύση των γεωλογικών σχηματισμών, η κοκκομετρική σύσταση, η χημική σύσταση των πετρωμάτων, οι λιθολογικές μεταμορφώσεις κ.α.

Πολύ υψηλές φυσικές συγκεντρώσεις Cr^{VI} ([Cr^{VI}]=700ppb) έχουν παρατηρηθεί³⁶ σε υπερφεμικά (ultramafic) πετρώματα και συνδέονται με τη έντονη παρουσία φωσφόρου. Τα φωσφορικά οξοανιόντα ανταγωνίζονται τα χρωμικά στην προσρόφηση. Έτσι, τα χρωμικά εκροφώνται από τα πετρώματα, και στο σύνολό τους είναι διαλυτοποιημένα στην υδατική φάση. Αυτό συμβαίνει σε περίοδο ξηρασίας. Αντιθέτως, σε περιόδους βροχοπτώσεων μειώνεται το δυναμικό οξειδοαναγωγής του εδάφους και παρουσία Fe^{II} και οργανικής ύλης το Cr^{VI} ανάγεται σε Cr^{III}.

Το ορυκτό μπιρνεσοίτης (birnessite) είναι πλούσιο σε Mn^{III,IV} και συνήθως συνυπάρχει σε υπερφεμικούς σχηματισμούς οι οποίοι είναι οι κύριες αποθήκες του χρωμίτη. Η παρουσία αυτών των πετρωμάτων οδηγεί σε φυσική αύξηση της [Cr^{VI}]. Προηγείται η διαλυτοποίηση του χρωμίτη, ακολουθεί η μεταφορά και προσρόφηση των ιόντων Cr^{III} κοντά στην επιφάνεια του μπιρνεσοίτη όπου λόγω ύπαρξης Mn^{III/IV} οξειδώνεται σε Cr^{VI}³⁷. Η γεωλογική σύσταση της λεκάνης της Μεσογείου αποτελείται από τέτοια πετρώματα.

Ο μαγνητοπυρίτης (pyrrhotite) ορυκτό αποτελούμενο από FeS ανάγει σχεδόν όλο το Cr^{VI} σε Cr^{III} το οποίο ιζηματοποιείται και καθιζάνει³⁸. Σε αλκαλικά pH=13,5, ο μαγνητίτης (magnetite) Fe^{II}-ίζημα, προκαλεί αναγωγή του Cr^{VI} όμως ο παραγόμενος Fe^{III} καθιζάνει ως γκαϊτίτης (goethite) ή και μαγκεμίτης (maghemite) οι οποίοι σωματοποιούνται στην επιφάνεια του μαγνητίτη και αναστέλλουν την αναγωγή του Cr^{VI}³⁹. Στα πετρώματα σμεκτίτη (smectite) και καολινίτη (kaolinite), πλούσια σε ασβέστιο, η διαπνοή των μικροοργανισμών διαμορφώνει τοπικά δυναμικά οξειδοαναγωγής που επιτρέπουν ή όχι τη παρουσία Cr^{VI} ενώ σημαντικό ρόλο στη διάχυση του χρωμίου παίζει η συγκέντρωση των οργανικών ενώσεων⁴⁰. Σύγκριση δύο γειτονικών υπόγειων υδροφορέων ανέδειξε τη σημασία του δυναμικού οξειδοαναγωγής. Στον πρώτο, με υψηλό δυναμικό οξείδωσης, καταγράφηκαν συγκεντρώσεις [Cr^{VI}]=35 ppb, ενώ στο δεύτερο που επικρατούσαν αναγωγικές συνθήκες, οι συγκεντρώσεις ήταν κάτω του ορίου ανίχνευσης (<0,05 ppb)⁴¹.

Στα εδάφη, οι φυσικές διεργασίες αναγωγής και οξειδωσης του Cr είναι μεταξύ τους ανταγωνίσιμες και οφείλονται είτε στη παρουσία οργανικής ύλης είτε στη παρουσία MnO_2 , αντίστοιχα. Μεγαλύτερη αναγωγική ικανότητα φαίνεται να έχουν τα τυρφώδη εδάφη (peat soils) ενώ μεγαλύτερη οξειδωτική τα αργιλικά και αμμώδη⁴². Συνήθως επικρατεί η αναγωγή του Cr^{VI} σε Cr^{III} καθώς χουμικές ενώσεις υπάρχουν σε όλα τα εδάφη και επιπλέον τα περισσότερα είναι υδρογενή και έτσι διαθέτουν μικρή ικανότητα οξειδωσης και υψηλό αναγωγικό δυναμικό^{42,43}.

1.4 Εισαγωγή του Χρωμίου στον Ανθρώπινο Οργανισμό

Το χρώμιο εισέρχεται στον ανθρώπινο οργανισμό μέσω της αναπνοής, της κατανάλωσης τροφής, νερού και ποτών⁴⁴ που το περιέχουν. Οι τροφές που συνήθως περιέχουν χρώμιο σε υψηλές συγκεντρώσεις είναι το επεξεργασμένο κρέας, τροφές με ανεπεξέργαστους σπόρους δημητριακών και τα καρυκεύματα⁴⁵, ενώ υπάρχουν αναφορές^{46,47} για παρουσία του και στο μητρικό γάλα. Αντιθέτως, φρούτα και λαχανικά περιέχουν περιορισμένες ποσότητες χρωμίου.

Πίνακας 1.2. Συγκεντρώσεις χρωμίου σε τροφές και ποσότητες ημερήσιας λήψης

Food group (IDS)	Mean Chromium concentrations (mg/kg fresh weight)	Intake of Chromium mg/day
Bread	0.15	0.016
Miscellaneous cereals	0.14	0.014
Carcase meat	0.09	0.002
Offal	0.08	0.0001
Meat products	0.23	0.011
Poultry	0.09	0.002
Fish	0.13	0.002
Oils & fats	0.17	0.005
Eggs	0.04	0.001
Sugars & preserves	0.13	0.008
Green vegetables	0.02	0.001
Potatoes	0.04	0.005
Other vegetables	0.04	0.003
Canned vegetables	0.06	0.002
Fresh fruit	0.02	0.001
Fruit products	0.03	0.001
Beverages	0.02	0.019
Dairy products	0.09	0.005
Nuts	0.14	0.0003

Πηγή: Expert Group on Vitamins and Minerals, Review of Chromium, EVM/99/26

Στο νερό οι συγκεντρώσεις του χρωμίου θεωρούνται φυσιολογικές όταν κυμαίνονται μεταξύ 2-5 $\mu\text{g}/\text{L}$ ⁴⁸. Η ημερήσια απαίτηση του ανθρώπινου οργανισμού

σε τρισθενές χρώμιο κυμαίνεται μεταξύ 0,5 και 2 μg. Αυτή η ποσότητα αφορά στο πραγματικά προσροφημένο χρώμιο. Υποθέτοντας ότι προσροφάται κατά μέσο όρο το 2% της ποσότητας που εισέρχεται στον οργανισμό, οι ημερήσιες ανάγκες λήψης Cr^{III} είναι πολύ υψηλότερες⁴⁹. Το ποσοστό που δεν προσροφάται από τον ανθρώπινο οργανισμό (>98%) κυρίως αποβάλλεται με την διούρηση και αφόδευση⁴⁵. Το χρώμιο που θα απορροφηθεί κατανέμεται σε διάφορους ιστούς με μεγαλύτερη συσσώρευση στους μύες, το συκώτι και τους νεφρούς⁵⁰.

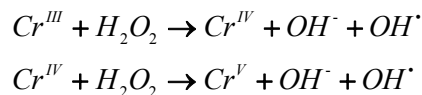
1.4.1 Ο ρόλος του Χρωμίου στον Ανθρώπινο Οργανισμό

Η οξειδωτική κατάσταση του χρωμίου που εισέρχεται στον οργανισμό είναι κρίσιμος παράγοντας για τις επιπτώσεις της παρουσίας του. Το Cr^{III} θεωρείται θρεπτικό ιχνοστοιχείο για τον οργανισμό, αφού φαίνεται να συμμετέχει στον Παράγοντα Ανοχής της Γλυκόζης (Glucose Tolerance Factor – GTF)⁵¹. Ο παράγοντας GTF μαζί με την ινσουλίνη ρυθμίζουν τα επίπεδα της γλυκόζης στο αίμα⁵². Ο τρόπος με τον οποίο το χρώμιο συνεισφέρει ενισχυτικά στην δράση της ινσουλίνης δεν είναι πλήρως αποσαφηνισμένος μέχρι σήμερα. Η πιο επικρατούσα προσέγγιση^{53,54} προτείνει τη συμμετοχή του τρισθενούς χρωμίου ως συνένζυμο σε ολιγοπεπτιδίο χαμηλού μοριακού βάρους (~1500 Da) (LMWCr) που αποτελείται από γλυκίνη, κυστεΐνη, γλουταμικό και ασπαρτικό οξύ, το τελικό ενεργό σύμπλοκο ονομάζεται και χρωμοδουλίνη (chromodulin). Η πρωτεΐνη τρανσφερίνη δεσμεύει το χρώμιο στο πλάσμα του αίματος και είναι υπεύθυνη για την μεταφορά του προς το LMWCr όπου και μετατρέπεται σε χρωμοδουλίνη⁵⁵. Όταν η χρωμοδουλίνη συνδέεται στους υποδοχείς της ινσουλίνης την ενεργοποιεί, ενισχύοντας την ικανότητά της να μετατρέπει τη γλυκόζη σε λιπίδια⁵⁶. Μεταξύ άλλων μετάλλων, μόνο το Cr^{III} διαθέτει αυτή την ικανότητα. Κλινικές μελέτες σε ασθενείς πάσχοντες από διαβήτη έδειξαν ότι η παροχή Cr^{III} στη διατροφή μειώνει τα επίπεδα γλυκόζης στο αίμα, βελτιώνει την ανοχή σε γλυκόζη, μειώνει τα επίπεδα ινσουλίνης και ελαττώνει τα επίπεδα χοληστερόλης και τα τριγλυκερίδια^{57,58}. Επίσης, αναφέρεται⁴⁵ ότι το Cr^{III} μπορεί να μειώσει το κίνδυνο καρδιαγγειακών παθήσεων αλλά και ότι συμβάλει ως αποτρεπτικός παράγοντας στην αύξηση του βάρους γι' αυτό και συναντάται σε συμπληρώματα διατροφής⁵⁹.

Το Cr^{VI}, με τη μορφή χρωμικού ιόντος, παρουσιάζει δομικές ομοιότητες με τα φωσφορικά και θειικά ιόντα και λόγω αυτού, μπορεί και εισέρχεται στο κύτταρο

διαπερνώντας την κυτταρική μεμβράνη ακολουθώντας την φυσιολογικές πορείες των φωσφορικών και θεικών. Όταν το Cr^{VI} εισέλθει στο κύτταρο τότε ανάγεται προς Cr^{III} η παρουσία του οποίου καθίσταται βλαπτική για το DNA⁶⁰.

Η πορεία αναγωγής του Cr^{VI} σε Cr^{III}, εντός του κυττάρου, είναι υπεύθυνη για την πρόκληση βλαβών στο DNA, όπως οξειδώσεις, θραύση των κλώνων του, σχηματισμό ενώσεων προσθήκης Cr^{III}-DNA, διακλωνικές συνδέσεις και συνδέσεις πρωτεϊνών-DNA^{61,62,63}. Έχει αποδειχτεί⁶⁴ ότι το Cr^{VI} που διεισδύει στο κύτταρο ανάγεται από πλήθος αναγωγικών ουσιών και ενζύμων (όπως η γλουταθειόνη) σταδιακά σε χαμηλότερο επίπεδο σθένους. Τα ενδιάμεσα προϊόντα αναγωγής του χρωμίου αντιδρώντας με το υπεροξειδίο του υδρογόνου (H_2O_2), φυσικού συστατικού του κυτταροπλάσματος (σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις), παράγουν δραστικές οξυγονούχες ρίζες (ιδιαίτερα τη ρίζα υδροξυλίου, OH[·]). Έρευνες^{65,66,67} έδειξαν ότι το Cr^V, Cr^{IV} και Cr^{III} με το H_2O_2 μπορούν να δημιουργήσουν ρίζες OH[·] με αντιδράσεις τύπου Fenton, (αντίδραση Fe^{II} με το H_2O_2) όπως:



Οι ρίζες OH[·] προκαλούν οξειδωτικές βλάβες στο DNA και συγκεκριμένα παρέχουν την οξειδωμένη μορφή της γουανοσίνης, την 8-υδροξυδεοξυ-γουανοσίνη (8-OH-dG) που είναι ένωση-δείκτης καρκινογένεσης^{67,68}. Πρόσφατα, αναφέρθηκε ότι η αναγωγή του Cr^{VI} από ασκορβικό οξύ (βιταμίνη C) στο εσωτερικό των πνευμονικών κυττάρων προκαλεί μαζικές βλάβες στο DNA⁶⁹. Έτσι, σύμφωνα με τη μελέτη αυτή, η κατά τα άλλα ευεργετική για την υγεία βιταμίνη C δρα ως ενισχυτής της τοξικής δράσης του Cr^{VI}.

Μελέτες^{70,71,72} έχουν αποδείξει ότι μεταξύ των συμπτωμάτων έκθεσης σε Cr^{VI} μέσω της εισπνοής περιλαμβάνονται στομαχικές διαταραχές, έλκη, βλάβες νεφρών και ήπατος αλλά και κίνδυνος εκδήλωσης καρκίνου. Μέχρι προσφάτως, θεωρείτο ότι η καρκινογόνος δράση του Cr^{VI} προερχόταν μόνο από την διαδικασία της εισπνοής. Ωστόσο, τα τελευταία χρόνια έχουν αρχίσει να πληθαίνουν οι μελέτες σε πειραματόζωα^{73,74}, που αξιολογούν ότι το Cr^{VI} στο πόσιμο νερό επιδεικνύει καρκινογόνο δράση. Σε μία περίπτωση⁷⁵ έχει αναφερθεί ότι ακόμη και το Cr^{III} όταν εισαχθεί στον οργανισμό από κατανάλωση πόσιμου νερού είναι δυνατό να προκαλέσει βλάβη στο DNA.

Κεφάλαιο 2

Ειδотаυτοποίηση Χρωμίου

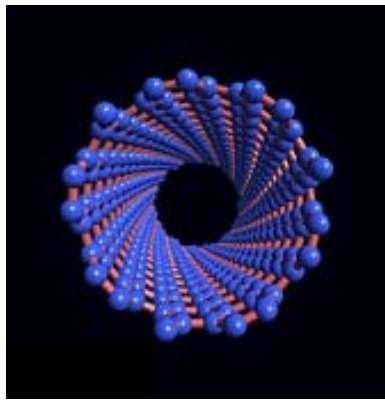
Το Κεφάλαιο 2 εστιάζει σε δύο διαφορετικά αντικείμενα. Το πρώτο, σχετίζεται με τους νανοσωλήνες άνθρακα (Carbon NanoTubes - CNTs), τον τρόπο παραγωγής τους και την προσροφητική τους ικανότητα. Το δεύτερο μέρος αναλώνεται στον τρόπο εφαρμογής και λειτουργίας της τεχνικής φασματομετρίας μάζας επαγωγικά συζευγμένου πλάσματος, διότι με αυτή τη τεχνική πραγματοποιήθηκε η ειδотаυτοποίηση του χρωμίου στην παρούσα μελέτη. Οι νανοσωλήνες άνθρακα χρησιμοποιήθηκαν για το διαχωρισμό των οξειδωτικών καταστάσεων του χρωμίου. Επίσης, στο τέλος του Κεφαλαίου θα περιλαμβάνεται και μία ανασκόπηση των αναλυτικών τεχνικών που έχουν αναπτυχθεί μέχρι σήμερα σχετικά με το χρώμιο.

2.1 Μορφή, Χαρακτηριστικά και Παραγωγή CNTs

Η παρουσία των CNTs στο χώρο της επιστήμης οριοθετείται το 1991 που παρατηρήθηκαν για πρώτη φορά από τον Sumio Iijima⁷⁶. Τα CNTs μπορούν να θεωρηθούν ως φύλλα γραφίτη (graphite sheets) τα οποία είναι τυλιγμένα με κυλινδρικό τρόπο και το σχήμα τους μοιάζει με αυτό ενός σωλήνα. Σε αντίθεση με τον αδάμαντα, όπου ένας τρισδιάστατος (3-D) κρύσταλλος σχηματίζεται από πλήθος τετραέδρων αποτελούμενων από τέσσερα άτομα άνθρακα, τα CNTs σχηματίζονται ως δυσδιάστατες (2-D) επιφάνειες αποτελούμενες από άτομα άνθρακα που είναι διατεταγμένα ως εξάγωνα. Σε αυτή την περίπτωση κάθε άτομο άνθρακα γειτνιάζει με τρία άλλα άτομα άνθρακα. Όταν αυτά τα φύλλα γραφίτη περιελιχτούν (rolled) σε σχήμα κυλίνδρου κατασκευάζεται ο κορμός του νανοσωλήνα. Τα άκρα των CNTs καταλαμβάνονται από δύο ημισφαιρικά ανθρακικά νανοσωματίδια (fullerene end caps) και κατά αυτόν τον τρόπο διαμορφώνεται η τελική μορφή των CNTs. Αφαιρώντας τον κύριο κορμό ενός CNT αυτό που θα απομείνει θα είναι αυτά τα δύο ημισφαιρικά νανοσωματίδια και όταν απαλειφθεί το κενό που προηγουμένως

καταλάμβανε ο κορμός, τότε σχηματίζεται το σφαιρικό σωματίδιο γνωστό και ως φουλερένιο⁷⁷ (fullerene).

Οι ιδιότητες των CNTs εξαρτώνται από τον τρόπο που περιελίσσονται τα φύλλα τους (σχετική διάταξη των ατόμων του άνθρακα), την διάμετρο, το μήκος και τη μορφολογία ή δομή των σχηματιζόμενων νανοσωλήνων^{78,79}. Τα CNTs εντάσσονται σε δύο μεγάλες κατηγορίες συναρτήσει του πλήθους των γραφιτικών φύλλων που τα αποτελούν. Στους νανοσωλήνες άνθρακα ενός τοιχώματος ή αλλιώς SWCNTs (Single-Wall Carbon Nanotubes) [Εικόνα 2.1] και στους νανοσωλήνες άνθρακα πολλαπλών τοιχωμάτων ή MWCNTs (Multi-Wall Carbon Nanotubes) [Εικόνα 2.2].



Εικόνα 2.1. SWCNT



Εικόνα 2.2. MWCNT

Πηγές: Εικόνα 2.1. <https://www.ccs.uky.edu/~ernst/carbontubes/tube9-6.jpg> Εικόνα 2.2 http://www.azonano.com/work/4y23uyaPSY1k6ZGQnZjI_files/image002.jpg

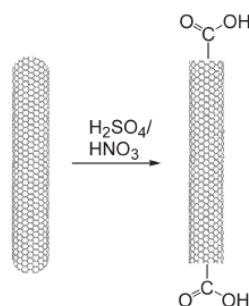
Υπάρχουν τρεις βασικές μέθοδοι παρασκευής των CNTs και πληθώρα ακόμη άλλων μεθόδων που αποτελούν παραλλαγές των βασικών. Οι κυριότερες είναι: η εξάχνωση ηλεκτροδίων άνθρακα με τη χρήση ηλεκτρικού τόξου εκκένωσης υψηλής τάσης (arc discharge), η καταλυτική χημική απόθεση από ατμό (catalytic chemical vapor deposition) όπου αέριες ενώσεις του άνθρακα (συνήθως υδρογονανθράκες ή μονοξείδιο του άνθρακα) διασπώνται καταλυτικά με τη χρήση μεταλλικών καταλυτών (Fe, Co, Ni, Y) υποστηριγμένων σε υποστρώματα οξειδίων μετάλλων ή αιωρούμενων στην αέρια φάση, και η φωτοδιάσπαση γραφίτη με διάβρωση από λέιζερ (laser ablation). Σύμφωνα με την τελευταία, ένα κομμάτι άνθρακα εξατμίζεται με ακτινοβολία από λέιζερ σε υψηλή θερμοκρασία και αδρανή ατμόσφαιρα⁸⁰.

Οι διάμετρος των CNTs κυμαίνεται σε κάποιες δεκάδες νανόμετρα και το μήκος τους είναι της τάξης των μικρόμετρων. Τα CNTs είναι υλικά υψηλής αντοχής και σκληρότητας και ταυτόχρονα εύκαμπτα και ελαφρά, ενώ επίσης μπορούν να

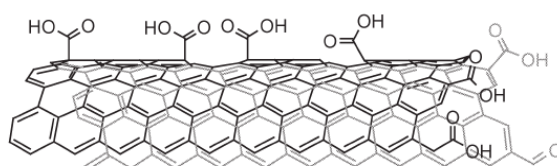
είναι είτε ημιαγωγία είτε και υπεραγωγία υλικά. Αυτές οι ιδιότητες τους προσδίδουν εξαιρετικές μηχανικές και ηλεκτρικές ικανότητες και τα καθιστούν πρωτοποριακά υλικά βρίσκοντας εφαρμογές στην βιομηχανία υψηλής τεχνολογίας, στην αεροδιαστημική, στην κατασκευή νέων εργαλείων και συσκευών, ακόμη και στην κατασκευή τεχνητών μυών⁸¹.

2.1.1 Χρήση CNTs ως Προσοφητικό Υλικό

Η επεξεργασία οξείδωσης των CNTs με μίγμα πυκνού $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{SO}_4$ [Σχήμα 2.1] προκαλεί την εμφάνιση δραστικών ομάδων υδροξυλίων, καρβοξυλίων στα σημεία που παρουσιάζονται ατέλειες (defect sides) στην επιφάνεια του νανοσωλήνα⁸² [Σχήμα 2.2].



Σχήμα 2.1. Οξείδωση νανοσωλήνα άνθρακα από μίγμα $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{SO}_4$. Απεικονίζεται η γενική οχηματική αναπαράσταση της αντίδρασης. Στην πραγματικότητα καρβοξυλομάδες εμφανίζονται σε οποιαδήποτε σημεία του κορμού εκεί που υπάρχουν ατέλειες στη δομή του νανοσωλήνα.
Πηγή: Hirsch A. & Vostrowsky O., Functionalization of carbon nanotubes, Topics in Current Chemistry, 245: 193-237, 2005

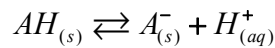


Σχήμα 2.2. Απεικόνιση τμήματος τροποποιημένου νανοσωλήνα άνθρακα. Φαίνονται οι καρβοξυλομάδες που έχουν εμφανιστεί στον κορμό και στο άκρο του νανοσωλήνα.
Πηγή: Hirsch A. & Vostrowsky O., Functionalization of carbon nanotubes, Topics in Current Chemistry, 245: 193-237, 2005

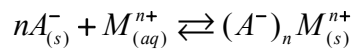
Σε διεργασίες προσρόφησης προτιμούνται τα MWCNTs διότι διαθέτουν μεγαλύτερη ειδική επιφάνεια από τα SWCNTs και επιπλέον κατά την οξείδωσή τους, εκτός από την προσθήκη δραστικών ομάδων, αυξάνεται ακόμη περισσότερο η ειδική τους επιφάνεια⁸³. Η παρουσία δραστικών οξυγονομάδων στην επιφάνειά τους τα

καθιστά υδρόφιλα ώστε να προσφέρονται για αναλύσεις υδατικών δειγμάτων ενώ παράλληλα βελτιώνεται και την ιονανταλλακτική ικανότητα τους^{84,85}.

Σημαντικός παράγοντας στην προσροφητική ικανότητα των MWCNTs είναι το Δυναμικό Ζήτα που χρησιμοποιείται για την εκτίμηση του ηλεκτρικού δυναμικού της επιφάνειας των νανοσωλήνων. Το Δυναμικό Ζήτα προσδιορίζει το ισοηλεκτρικό σημείο (isoelectric point -IEP) των MWCNTs. Το IEP απεικονίζει εκείνη την τιμή του pH στην οποία το Δυναμικό Ζήτα ισούται με μηδέν. Πρακτικά αυτό σημαίνει ότι όταν οι τροποποιημένοι με καρβοξυλομάδες νανοσωλήνες βρεθούν σε pH μεγαλύτερο του IEP τότε στην επιφάνειά τους αναπτύσσονται αρνητικά φορτία και ασκούν ελκτικές ηλεκτροστατικές δυνάμεις σε κατιόντα (και αντίστοιχα απωστικές σε ανιόντα), αντιθέτως όταν το pH του διαλύματος λάβει τιμή χαμηλότερη του IEP τότε αυτές οι δυνάμεις παύουν να ασκούνται και δεν παρατηρούνται πλέον ελκτικές δυνάμεις μεταξύ των επιφανειών και των κατιόντων. Υποθέτοντας ότι τα MWCNTs-COOH παρουσιάζουν χαρακτηριστικά οξέως μπορούν να περιγραφούν ως:



Η προηγούμενη ισορροπία μετατοπίζεται δεξιά όταν το IEP > pH. Τα μέταλλα που εμφανίζονται με κατιοντική μορφή M^{n+} έλκονται ηλεκτροστατικά από τις αρνητικά φορτισμένες επιφάνειες και προσροφούνται σύμφωνα με τον μηχανισμό:



Όταν το IEP < pH τότε η ισορροπία διάστασης του (υποθετικού) οξέως μετατοπίζεται αριστερά και το αρνητικό φορτίο (net charge) του προσροφητικού υλικού εξουδετερώνεται⁸⁴ οπότε τα προσροφημένα κατιόντα του μετάλλου M^{n+} εκροφούνται. Το IEP των μη τροποποιημένων MWCNTs έχει τιμή περίπου 5 και κατά την τροποποίησή τους, λόγω των δραστικών ομάδων, αυτό μειώνεται ακόμη περισσότερο^{85,86}.

Βασίζομενος σε αυτές τις ιδιότητες των νανοσωλήνων, ο Liang Pei και οι συνεργάτες⁸⁷ του παρατήρησαν ποσοτική προσρόφηση επτά σπάνιων γαιών σε pH ≥ 3 (δηλ. IEP = 3) χρησιμοποιώντας ως προσροφητικό υλικό MWCNTs τροποποιημένα με HNO₃. Η εκρόφηση τους πραγματοποιήθηκε με HNO₃. Προσδιορισμός τοξικού δισθενή μολύβδου επιτεύχθηκε από την ομάδα του Tarley⁸⁸ ύστερα από προσρόφηση του σε καρβοξυλιομένα MWCNTs και ανάκτηση με HNO₃, πετυχαίνοντας συντελεστή προσυγκέντρωσης 44,2. Τροποποιημένα MWCNTs χρησιμοποιήθηκαν και για την απομάκρυνση χαλκού από νερό⁸⁹ όπου σε pH ≥ 5 υπήρχε προσρόφηση

μεγαλύτερη του 95% εν συγκρίσει με τα μη τροποποιημένα MWCNTs όπου απαιτούνταν $pH \geq 8,5$ για να επιτευχθεί ίδιο ποσοστό προσρόφησης. Έρευνα⁹⁰ για τον προσδιορισμό χαλκού έδειξε ότι τα τροποποιημένα MWCNTs διαθέτουν καλύτερη προσροφητική ικανότητα από τον ενεργό άνθρακα, ενώ η ανάκτηση από την στήλη μπορεί να πραγματοποιηθεί είτε με HNO_3 είτε με HCl ⁹¹, με το δεύτερο να παρουσιάζει φθίνουσα ανάκτηση όσο αυξάνει η συγκέντρωση του χαλκού στο νερό. Χρησιμοποιώντας διαφορετικές αναλυτικές τεχνικές προσδιορισμού ελέγχθηκε η προσροφητική ικανότητα των τροποποιημένων με HNO_3 MWCNTs για τα μέταλλα του καδμίου,^{92,93} του μαγγανίου,⁹³ του νικελίου^{93,94} και του αργύρου⁹⁵ σε υδατικά δείγματα. Σε όλες τις περιπτώσεις η προσρόφηση ήταν ποσοτική ενώ η ανάκτηση γινόταν με HNO_3 . Εκτός από τα μέταλλα και τις υδρολυομένες μορφές τους, τα MWCNTs έχουν χρησιμοποιηθεί με επιτυχία ως προσροφητικό υλικό για τη δέσμευση οργανομεταλλικών⁹⁶ και οργανικών ουσιών⁹⁷ σε υδατικά δείγματα.

2.2 Φασματομετρία Μάζας Επαγωγικά Συζευγμένου Πλάσματος

Η φασματομετρία μάζας επαγωγικά συζευγμένου πλάσματος (Inductively Coupled Plasma - Mass Spectrometry, ICP-MS) είναι μια τεχνική που παρότι αναπτύχθηκε σχετικά πρόσφατα, 20 χρόνια πριν, κερδίζει συνεχώς έδαφος και δημοφιλία έναντι άλλων τεχνικών ανάλυσης, λόγω της αξιοπιστίας της και του μεγάλου εύρους εφαρμογών που βρίσκει κυρίως σε αναλύσεις περιβαλλοντικών δειγμάτων.

Η αρχή λειτουργίας της, βασίζεται στη διαδοχική μετατροπή των στοιχείων του δείγματος αρχικά στην στερεά φάση μετά στην αεριοποίησή τους, την ατομοποίηση και τον ιοντισμό τους καθώς διασχίζουν πλάσμα αέριου, συνήθως, Ar. Ακολουθεί η επιλογή του ιόντος σύμφωνα με το λόγο της μάζας του προς φορτίο που φέρει (m/z) και καταγράφεται το χρωματογράφημά του, αναλόγως της συγκέντρωσης. Η Παράγραφος 2.2.1 περιγράφει αναλυτικότερα τα βασικά τμήματα του ICP-MS και της λειτουργίας που επιτελούν.

Κύρια πλεονεκτήματα της τεχνικής ICP-MS είναι η πολυστοιχειακή ανάλυση και η μέτρηση ισοτοπικών λόγων, η μεγάλη ακρίβεια και εκλεκτικότητα στις αναλύσεις, τα χαμηλά όρια ανίχνευσης, ο μικρός χρόνος ανάλυσης, η υψηλή ευαισθησία, η ανάλυση σε μεγάλο εύρος συγκεντρώσεων, η ικανότητα ανάλυσης υγρών και στερεών δειγμάτων (αλλάζοντας το σύστημα εισαγωγής του δείγματος)

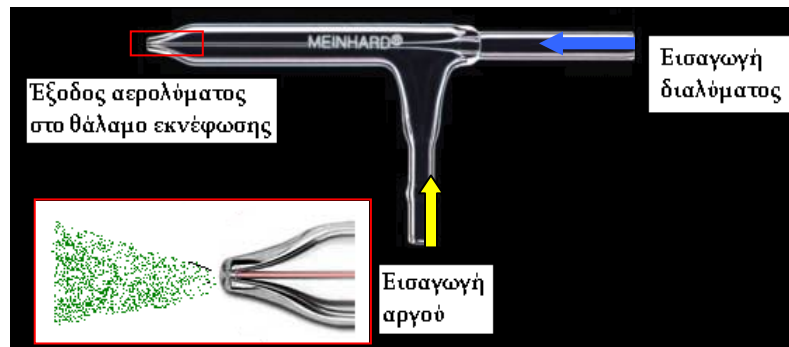
και η απλότητα στη καταγραφή του σήματος. Στα μειονεκτήματά της τεχνικής ICP-MS περιλαμβάνεται η συχνή παρουσία παρεμποδισμών, η ισχυρή εξάρτηση του σήματος από τις παραμέτρους που σχετίζονται με το πλάσμα και η καταστροφή του δείγματος κατά την ανάλυση⁹⁸.

2.2.1 Τμήματα του ICP-MS και Λειτουργίες που Επιτελούν

Ακολουθώντας την πορεία του διαλύματος, το πρώτο τμήμα αφορά το σύστημα εισαγωγής του δείγματος στο ICP. Το σύστημα εισαγωγής αποτελείται από δύο εξαρτήματα τον εκνεφωτή και τον θάλαμο εκνέφωσης.

Εκνεφωτής (nebulizer)⁹⁹

Το διάλυμα μέσω ελαστικού σωλήνα (tube) ωθείται στον πνευματικό εκνεφωτή με την χρήση περισταλτικής αντλίας με ελεγχόμενη ροή που συνήθως κυμαίνεται σε ~1 mL/min. Οι εκνεφωτές μπορεί να είναι είτε ομόκεντροι είτε διασταυρούμενης ροής και συνήθως παρασκευασμένοι από γυαλί. Ο ομόκεντρος εκνεφωτής συνδέεται με τον θάλαμο εκνέφωσης και αποτελείται από δύο κυλινδρικού σχήματος, ομόκεντρος και μεταξύ τους απομονωμένους κατά μήκος, γυάλινους αγωγούς [Σχήμα 2.3].



Σχήμα 2.3. Πνευματικός ομόκεντρος εκνεφωτής. Κάτω αριστερά μεγέθυνση του άκρου εξόδου του αερολύματος (κόκκινο πλαίσιο) με τον κώνο ψεκασμού.

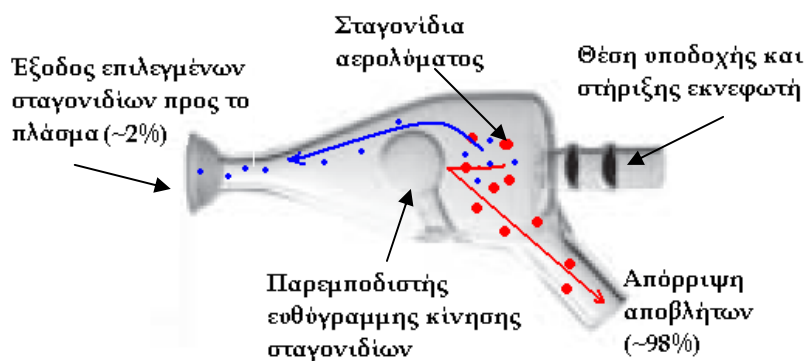
Πηγή: <http://www.meinhard.com/Store/tabid/58/cid/1/Nebulizers.aspx>

Το άκρο που βρίσκεται μέσα στο θάλαμο εκνέφωσης είναι κοινή έξοδος και για τους δύο αγωγούς. Το άλλο άκρο αφορά μόνο τον εσωτερικό αγωγό και είναι ο δίοδος εισαγωγής του διαλύματος από την αντλία. Ο εξωτερικός σωλήνας είναι ο αγωγός παροχής αερίου Ar που εισέρχεται με πίεση 20-30 psi και κινούμενο παράλληλα με την κίνηση του διαλύματος στον εσωτερικό αγωγό συγκρούεται με το

διάλυμα στο σημείο της κοινής τους εξόδου, εντός του θαλάμου εκνέφωσης. Η σύγκρουση του υπό πίεση αερίου Ar με το διάλυμα είναι ικανή να το μετατρέψει σε αερόλυμα και με αυτή τη μορφή εισέρχεται στον θάλαμο εκνέφωσης.

Θάλαμος εκνέφωσης (spray chamber)⁹⁹

Ο θάλαμος ψεκασμού βρίσκεται αμέσως μετά τον εκνεφωτή, ο οποίος ενσωματώνεται εντός του, και επιτελεί δύο βασικές λειτουργίες. Απορρίπτει όλα τα σταγονίδια του αερολύματος πλην αυτών με διάμετρο 5 - 10 μm και επίσης απαλείφει τις αυξομειώσεις της ροής που οφείλονται στην περιοδικότητα περιστροφής της περισταλτικής αντλίας. Συνήθως είναι γυάλινης κατασκευής και χωρίζεται σε δύο κατηγορίες. Τον κυκλωνικό (cyclonic) και τον θάλαμο διπλής διαδρομής (double pass) που χρησιμοποιείται ευρέως. Ο θάλαμος εκνέφωσης που χρησιμοποιήθηκε στο σύστημα εισαγωγής για τα πειράματα της παρούσας μελέτης, είναι τύπου διπλής διαδρομής. Τα σταγονίδια του αερολύματος εισέρχονται στον θάλαμο εκνέφωσης και στην διαδρομή προς τον αγωγό εισαγωγής δείγματος του πυρσού συγκρούονται με εμβόλιο «παρεμποδιστή» σφαιρικού σχήματος που τα υποχρεώνει σε απόκλιση από την ευθύγραμμη κίνησή τους [Σχήμα 2.4]. Τα σταγονίδια διαμέτρου 5 - 10 μm θα μπορέσουν να παρακάμψουν το εμπόδιο και να συνεχίσουν την πορεία τους προς το πλάσμα ενώ τα μεγαλύτερα λόγω βαρύτητας θα προσκρούσουν στον παρεμποδιστή και θα απορριφθούν. Το ποσοστό που τελικά εισέρχεται στο πλάσμα δεν ξεπερνάει το 2% του αρχικού όγκου του διαλύματος.

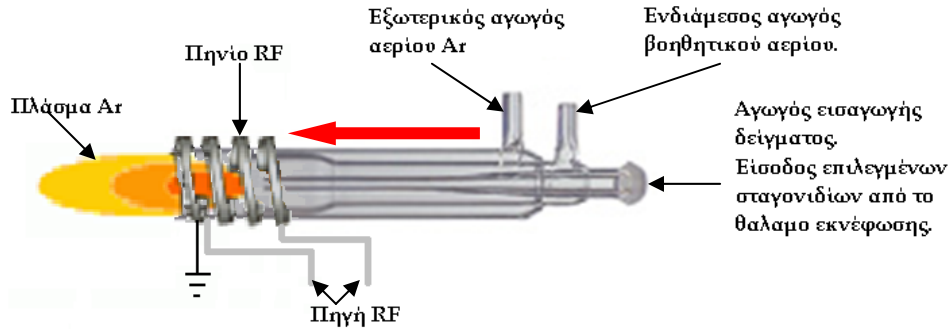


Σχήμα 2.4. Θάλαμος εκνέφωσης. Τα σταγονίδια της ιδανικής διαμέτρου (μπλε χρώμα) θα παρακάμψουν τον παρεμποδιστή και θα οδηγηθούν στο πλάσμα (μπλε διαδρομή). Τα υπόλοιπα (κόκκινο χρώμα) θα προσκρούσουν πάνω του και θα απορριφθούν (κόκκινη διαδρομή).

Πηγή: <http://www.spectronus.com/PDF/SPECTRON.CATALOG.pdf>

Πυρσός πλάσματος (plasma torch) και ιονισμός δείγματος⁹⁹

Ο πυρσός πλάσματος κατασκευάζεται από χαλαζία (quartz) και αποτελείται από τρεις ομόκεντρους κυλινδρικούς αγωγούς [Σχήμα 2.5]. Το ένα άκρο του είναι κοινή έξοδος και για τους τρεις αγωγούς και συνιστά την εστία του Ar πλάσματος. Τα άλλα άκρα των αγωγών είναι διακριτά και ασύνδετα μεταξύ τους.



Σχήμα 2.5. Πυρσός πλάσματος. Η ροή σε όλους τους αγωγούς ακολουθεί την διεύθυνση του κόκκινου βέλους.

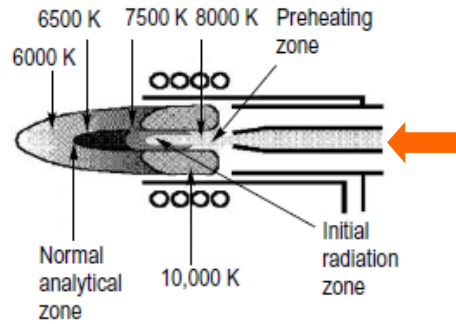
Πηγή: <http://www.geicp.com/cgi-bin/site/wrapper.pl?c1>Showpart&partno=30-808-1206>

Ο εσωτερικός αγωγός ονομάζεται αγωγός εισαγωγής δείγματος και συνδέεται με την έξοδο του θαλάμου εκνέφωσης. Είναι η συνέχεια της διαδρομής των σταγονιδίων που έχουν εξέλθει από το θάλαμο εκνέφωσης μαζί με το Ar που είχε εισαχθεί στον εκνεφωτή. Στον ενδιάμεσο αγωγό ρέει επίσης Ar απαραίτητο για την έναρξη (ignition) του πλάσματος ή και κάποιο άλλο βοηθητικό αέριο. Στον εξωτερικό αγωγό ρέει μόνο Ar για την δημιουργία και συντήρηση του πλάσματος.

Εξωτερικά του άκρου της κοινής εξόδου περιελίσσεται γειωμένο πηνίο συνδεδεμένο με AC πηγή, συχνότητας στη ζώνη των ραδιοσυχνοτήτων (RF<1GHz). Όταν εφαρμοστεί ισχύς από την πηγή (750 - 1500 W) τότε ρέει στο πηνίο εναλλασσόμενο ρεύμα συχνότητας ανάλογης της AC πηγής (συνήθως 27 ή 40 MHz) με αποτέλεσμα τη δημιουργία ισχυρού ηλεκτρομαγνητικού πεδίου. Καθώς διοχετεύεται αέριο Ar σπειροειδούς ροής από τον ενδιάμεσο και εξωτερικό αγωγό, στο άκρο του πυρσού που βρίσκεται το πηνίο εφαρμόζεται στιγμιαία σπινθηρισμός με εκκένωση ρεύματος υψηλής τάσης με αποτέλεσμα την αποδέσμευση ηλεκτρονίων από το αέριο Ar, τα οποία και επιταχύνονται εντός του μαγνητικού πεδίου. Καθώς τα ηλεκτρόνια κινούνται με μεγάλες ταχύτητες προσκρούουν στα άτομα του αερίου και απελευθερώνουν επιπλέον ηλεκτρόνια τα οποία με τη σειρά τους θα πράξουν το ίδιο και ούτω καθ' εξής, προκαλώντας επαγόμενο ιονισμό στο αέριο Ar. Εν τέλει, από την αλυσιδωτή αντίδραση το αέριο Ar καταρρέει σε άτομα, ιόντα και ηλεκτρόνια

σχηματίζοντας αυτό που είναι γνωστό ως επαγωγικά συζευγμένο πλάσμα και διατηρείται όσο τροφοδοτείται από αέριο Ar. Η θερμοκρασία του πλάσματος στην αναλυτική ζώνη συνήθως κυμαίνεται μεταξύ 6000 και 7000 K.

Το πλάσμα διατηρεί διαφορετικές θερμοκρασιακές ζώνες, κατά μήκος του [Σχήμα 2.6]. Καθώς το δείγμα εισέχεται από τον εσωτερικό αγωγό εισαγωγής υπόκειται σε φυσικές μεταβολές. Υποθέτοντας ότι το υπό εξέταση μέταλλο είναι με τη μορφή άλατος, τότε τα σταγονίδια που εισέρχονται αρχικά στη ζώνη προθέρμανσης και μετά στην ζώνη αρχικής ακτινοβολίας, θα αποδιαλυτοποιηθούν (εξάτμιση διαλυτή) και το δείγμα θα υφίσταται πλέον με τη μορφή πολύ μικρών στερών σωματιδίων.



Σχήμα 2.6. Θερμοκρασιακές ζώνες πλάσματος. Με κόκκινο βέλος φαίνεται η ροή δείγματος. Πηγή: <http://www.spectroscopyonline.com>

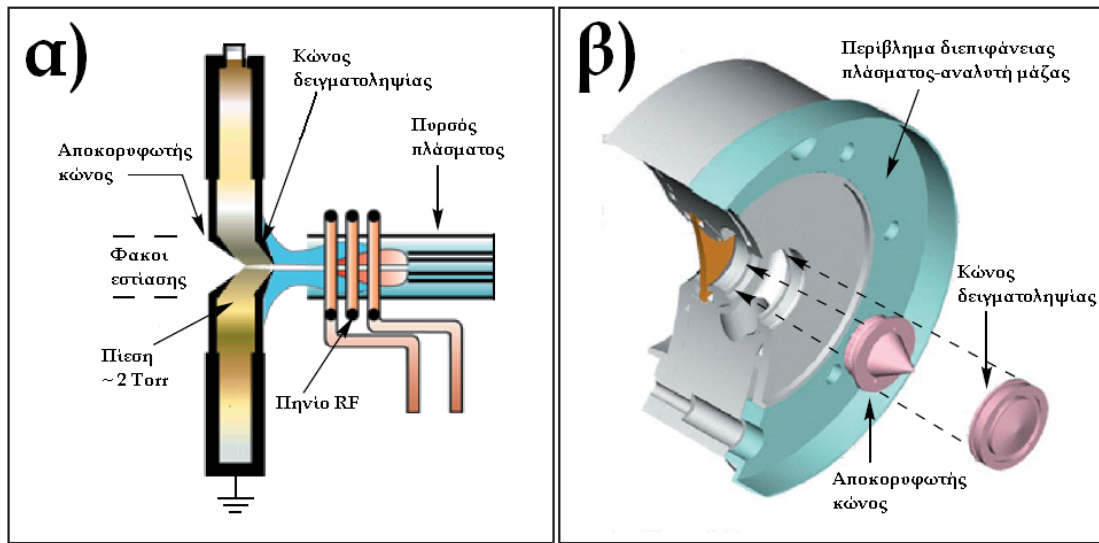
Συνεχίζοντας την κίνησή του μέσα στο πλάσμα διασχίζοντας τις διαφορετικές θερμοκρασιακές ζώνες, θα αεριοποιηθεί και έπειτα θα ατομοποιηθεί στην χαμηλότερη ενεργειακή του κατάσταση (θεμελιώδης κατάσταση - ground state). Όταν το άτομο βρεθεί στη θεμελιώδη κατάσταση η σύγκρουσή του με τα ηλεκτρόνια του πλάσματος θα απομακρύνει ένα ηλεκτρόνιο, θα το μετατραπεί σε θετικά φορτισμένο ιόν και θα εξέλθει προς τη διεπιφάνεια πλάσματος - αναλυτή μάζας.

Είναι απαραίτητο το πηνίο να γειώνεται ώστε το πλάσμα να παραμένει σε μηδενικό δυναμικό για την αποτροπή εμφάνισης του φαινομένου της χωρητικής σύζευξης μεταξύ πλάσματος και κώνου δειγματοληψίας (δημιουργία δευτερογενούς ηλεκτρικού πεδίου - pinch effect).

Διεπιφάνεια πλάσματος - αναλυτή μάζας (interface region)⁹⁹

Η δέσμη ιόντων που εξέρχεται από το πλάσμα συναντά δύο διαδοχικούς μεταλλικούς κώνους (συνήθως νικελίου) με την κορυφή τους στραμμένη προς το πλάσμα. Η κορυφή κάθε κώνου διαθέτει οπή διαφορετικής διαμέτρου [Σχήμα 2.7]. Ο πρώτος με μεγαλύτερη γωνία κώνου, ονομάζεται κώνος δειγματοληψίας (sample cone) και έχει διάμετρο οπής 0,8 - 1,2 mm. Ο δεύτερος, με μικρότερη γωνία κώνου, ονομάζεται αποκορυφωτής κώνος (skimmer cone) με διάμετρο οπής 0,4 - 0,8 mm. Η δέσμη ιόντων θα πρέπει να εισέλθει από την οπή του κώνου δειγματοληψίας, να

διασχίσει την απόσταση ως την οπή του αποκορυφωτή κώνου και να εξέλθει από αυτή.



Σχήμα 2.7. α) Εγκάρσια τομή κατά μήκος της δέσμης ιόντων της διεπιφάνειας πλάσματος - αναλυτή μάζας. β) Τρισδιάστατη τομή του περιβλήματος της διεπιφάνειας με τους κώνους δειγματοληψίας και αποκορυφωτή.

Πηγή: http://matematicas.udea.edu.co/~carlopez/beginer_guide_icpms.pdf

Η περιοχή μεταξύ των δύο κώνων ονομάζεται διεπιφάνεια πλάσματος - αναλυτή μάζας και είναι τμήμα ιδιαίτερης σημασίας για την ορθή λειτουργία του ICP-MS, διότι πρέπει διαμέσου της περιοχής αυτής να μεταφερθούν τα ιόντα από τη ζώνη του πλάσματος όπου επικρατεί ατμοσφαιρική πίεση, στον αναλυτή μάζας που βρίσκεται σε πίεση 10^{-6} Torr, χωρίς να απολεσθεί το ηλεκτρικό φορτίο των ιόντων.

Το περιβλήμα της διεπιφάνειας [Σχήμα 2.7.β] είναι υδρόψυκτο και παρασκευασμένο από θερμοαγώγιμο υλικό για απομάκρυνση της θερμότητας. Η πίεση στην περιοχή της διεπιφάνειας συντηρείται με μηχανική αντλία σε επίπεδα πίεσης περίπου 2 Torr.

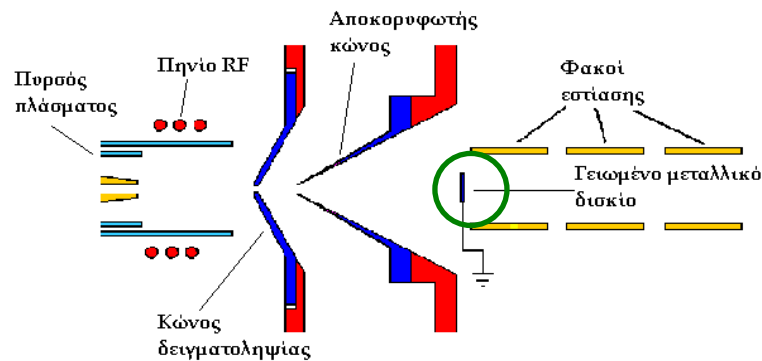
Καθώς τα ιόντα εξέρχονται του πλάσματος θα έχουν διαφορετική κινητική ενέργεια η οποία θα είναι συνάρτηση του λόγου μάζας προς φορτίο. Οι ταχύτητές τους όμως θα είναι παρόμοιες λόγω της ισχυρής ώθησης από το Ar πλάσμα. Όταν εισέλθουν στην περιοχή της διεπιφάνειας τότε η δέσμη τους θα διασταλθεί λόγω της μεταβολής της πίεσης (από 760 Torr σε 2 Torr). Η διαστολή θα πρέπει να είναι κατά το δυνατό ανώδυνη για να διατηρηθεί η συνεκτικότητα της δέσμης και να μην μεταβληθούν οι ισχύουσες κινητικές ενέργειες. Για να συμβεί αυτό θα πρέπει τόσο το πλάσμα όσο και οι κώνοι να παραμένουν σταθερά γειωμένοι (δυναμικό μηδέν). Εάν δε συμβεί αυτό, τότε θα υπάρχουν μεταβολές στο ηλεκτρικό φορτίο των ιόντων, τα

διπλά φορτισμένα ιόντα θα έχουν έντονη παρουσία και η ενέργεια των ιόντων θα είναι αρκετά διευρυμένη για να εστιάσουν αποτελεσματικά οι φακοί εστίασης αργότερα. Γι' αυτό, η σημασία της διεπιφάνειας έγκειται στην βέλτιστη ενοποίηση με το τμήμα του πυρσού πλάσματος.

Σύστημα εστίασης ιόντων (ion focusing system)⁹⁹

Το σύστημα εστίασης ιόντων βρίσκεται μετά τη διεπιφάνεια και ο ρόλος που επιτελεί είναι η μεταφορά, του κατά το δυνατό μεγαλύτερου πλήθους ιόντων του αναλύτη (analyte) στον αναλυτή μαζών που βρίσκεται σε υψηλό κενό (10^{-6} Torr), απομακρύνοντας τα ανεπιθύμητα σωματίδια από τη δέσμη ιόντων. Το κενό συντηρείται με τουρμπομοριακή αντλία. Το σύστημα εστίασης ιόντων περιλαμβάνει έναν ή περισσότερους μεταλλικούς δίσκους ή κυλίνδρους που ελέγχονται ηλεκτροστατικά με εφαρμογή ηλεκτρικής τάσης και ονομάζονται φακοί εστίασης ιόντων (ion lens).

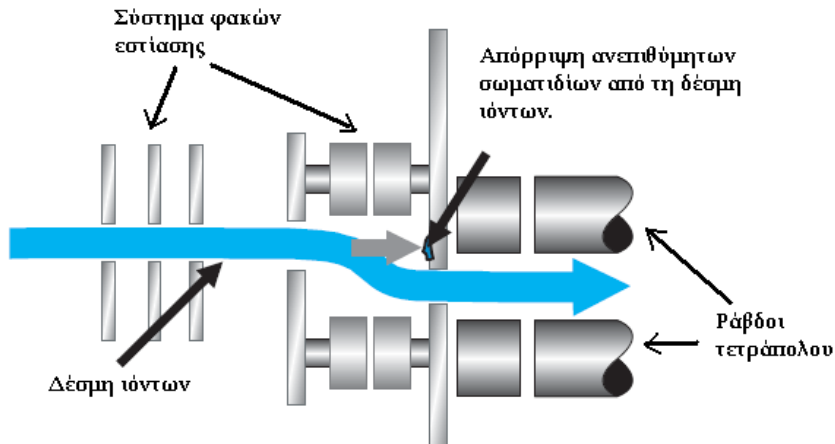
Δύο διαφορετικές διατάξεις χρησιμοποιούνται για την απομάκρυνση των ανεπιθύμητων σωματιδίων, ουδέτερων μορίων, συστατικών της μήτρας και φωτονίων. Η πρώτη περιλαμβάνει την προσθήκη ενός γειωμένου μεταλλικού δισκίου στην διεύθυνση κίνησης της δέσμης των ιόντων, αμέσως μετά τον αποκορυφωτή κώνο [Σχήμα 2.8]. Η δέσμη ιόντων περιστρέφεται από το δισκίο και συνεχίζει τη πορεία της ενώ τα ανεπιθύμητα σωματίδια προσκρούουν πάνω του και αποβάλλονται από τη δέσμη.



Σχήμα 2.8. Προσθήκη γειωμένου δισκίου (πράσινος κύκλος) μετά τον αποκορυφωτή κώνο
 Πηγή: <http://www.icp-ms.de/tech/inter.html>

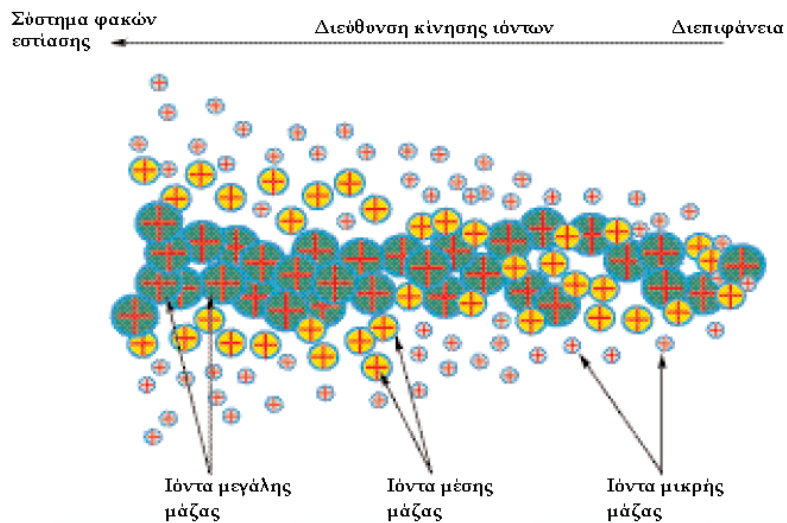
Η δεύτερη αφορά την τοποθέτηση των φακών εστίασης ή του αναλυτή μαζών παράκεντρα εκτός θέσης (off-axis) [Σχήμα 2.9]. Σε αυτή την περίπτωση εκτρέπεται η δέσμη ιόντων από την ευθύγραμμη πορεία με τέτοιο τρόπο ώστε μονάχα τα αποκλίνοντα της πορείας τους ιόντα να κατευθυνθούν στον αναλυτή μαζών, εν

αντιθέσει των υπολοίπων σωματιδίων που συνεχίζουν την ευθύγραμμη κίνησή τους και απορρίπτονται .



Σχήμα 2.9. Σύστημα φακών εστίασης με τον αναλυτή μαζών εκτός θέσης.
 Πηγή: Agilent Technologies ICP-MS Principles & Hardware, 2005

Τη στιγμή που η δέσμη εξέρχεται από τον αποκορυφωτή κώνο προς το σύστημα φακών εστίασης διογκώνεται λόγω της πολύ χαμηλής πίεσης που επικρατεί. Λόγω του μικρού μεγέθους τους, σε σχέση με τα ιόντα, τα ηλεκτρόνια θα εξαπλωθούν προς τα εξωτερικά τμήματα και θα αποβληθούν από τη δέσμη ιόντων, ενώ τα θετικά φορτισμένα ιόντα θα επικρατήσουν στο κέντρο της δέσμης. Κατ’ αυτό τον τρόπο πραγματοποιείται ο διαχωρισμός των ηλεκτρονίων από τα θετικά φορτισμένα ιόντα. Η δέσμη θα αποτελείται πλέον από θετικά φορτισμένα ιόντα τα οποία λόγω του ομόσημου φορτίου τους θα απωθούνται ηλεκτροστατικά μεταξύ τους. Η απώθηση θα διατάξει τα ιόντα με διακεκριμένο τρόπο στη δέσμη αναλόγως της κινητικής ενέργειας ή αλλιώς του λόγου μάζας προς φορτίο που φέρει κάθε ιόν [Σχήμα 2.10].



Σχήμα 2.10. Διάταξη ιόντων στη δέσμη αναλόγως της μάζας τους.
 Πηγή : http://matematicas.udea.edu/~carlopez/beginer_guide_icpms.pdf

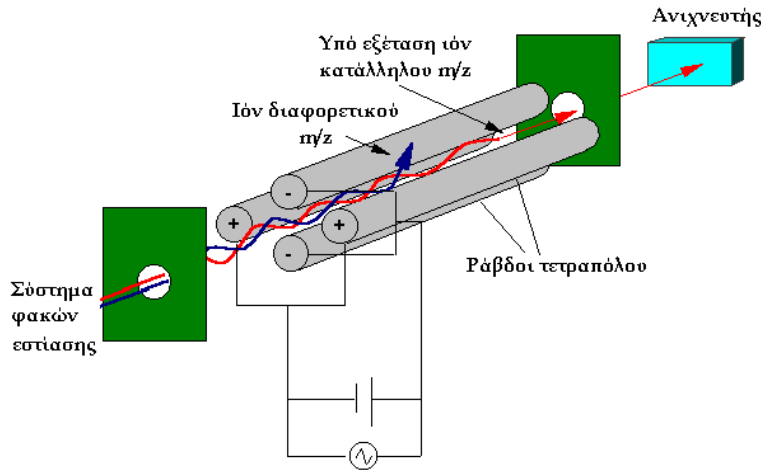
Τα ιόντα μεγαλύτερης μάζας που διαθέτουν υψηλότερη κινητική ενέργεια και μεγαλύτερο λόγο m/z , θα επικρατήσουν στο κέντρο της δέσμης και όσο μειώνεται η μάζα των ιόντων τόσο αυτά θα διατάσσονται σε μεγαλύτερη ακτίνα από το κέντρο της δέσμης.

Εφαρμόζοντας τα ανάλογα ηλεκτρικά δυναμικά στους φακούς εστίασης τα φορτισμένα ιόντα επηρεάζονται ηλεκτροστατικά και επαναδιατάσσονται με τέτοιο τρόπο ώστε τα υπό εξέταση ιόντα, που θα οδηγηθούν στον αναλυτή μαζών, να εστιαστούν στο κέντρο της δέσμης. Πλέον, γίνεται προφανής ο λόγος για τον οποίο πρέπει όλο το σύστημα που προηγείται να βρίσκεται συνεχώς σε δυναμικό μηδέν, γειώνοντας όλα τα τμήματα. Η παρουσία μη μηδενικών δυναμικών θα προκαλέσει μεταβολές στην κινητική ενέργεια όλων των ιόντων με αποτέλεσμα την αστοχία εστίασης των υπό εξέταση ιόντων στο κέντρο της δέσμης.

Τετράπολος αναλυτής μάζας (quadrupole mass analyzer)⁹⁹

Υπάρχουν τέσσερις κύριοι αναλυτές μάζας. Το τετράπολο φίλτρο μάζας (quadrupole mass filter), ο αναλυτής μάζας χρόνου-πτήσης (time - of - flight ή TOF), ο αναλυτής μαζών διπλής εστίασης (double focusing mass analyzer) και ο αναλυτής μαζών με χρήση κυψελίδας πρόσκρουσης - αντίδρασης (collision - reaction cell technology). Το τετράπολο φίλτρο μάζας (ή τετράπολο) είναι ο πιο ευρέως χρησιμοποιούμενος αναλυτής μάζας και αυτός με τον οποίο ήταν εφοδιασμένο το ICP-MS που πραγματοποιήθηκαν τα πειράματα της παρούσας εργασίας.

Η θέση του τετράπολου είναι αμέσως μετά το σύστημα φακών εστίασης και λειτουργεί σε συνθήκες υψηλού κενού (10^{-6} Torr) με χρήση τουρμπομοριακής αντλίας. Αποτελείται από τέσσερις μεταλλικές ράβδους κυλινδρικού ή παραβολικού σχήματος, μήκους 15 - 20 cm και διαμέτρου περίπου 1 cm, κατασκευασμένους από ανοξείδωτο ατσάλι ή μολυβδένιο. Τοποθετούνται παράλληλα μεταξύ τους καταλαμβάνοντας τις γωνίες ενός ιδεατού τετραγώνου. Το ένα ζεύγος αντιδιαμετρικών ράβδων τροφοδοτείται από πηγή συνεχούς ρεύματος (DC source) και το άλλο από πηγή εναλλασσόμενης τάσης (AC source) στη ζώνη των ραδιοσυχνοτήτων (radiofrequency, RF), δηλαδή με συχνότητα ω της AC πηγής κυμαινόμενη συνήθως μεταξύ 2 και 3 MHz [Σχήμα 2.11].



Σχήμα 2.11. Τετράπολος αναλυτής μάζας.

Πηγή: <http://www.ion.fraunhofer.de/ms/ms-analyzers.html#Quadrupole>

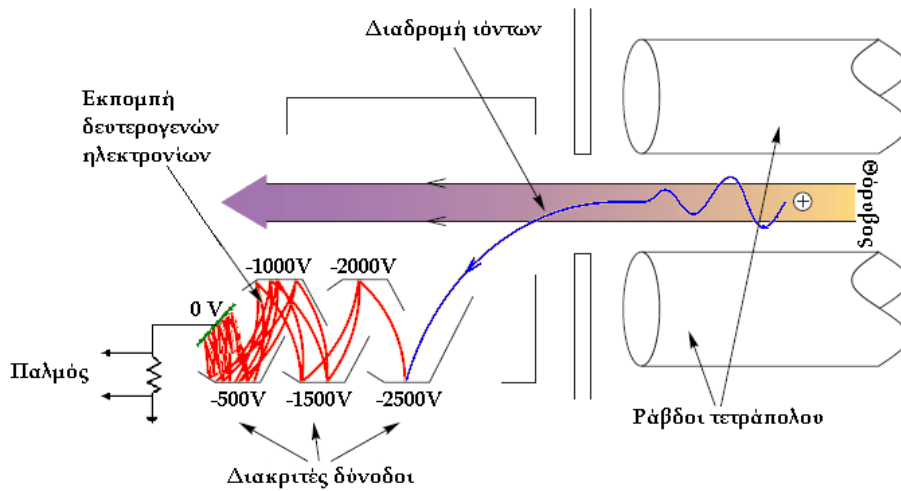
Εφαρμόζοντας DC-RF τιμές στο κύκλωμα δημιουργείται ηλεκτρικό πεδίο με δυναμικό μηδέν ακριβώς στο κέντρο της περιοχής μεταξύ των ράβδων και καθ' όλο το μήκος τους. Καθώς τα ιόντα εισέρχονται εντός της περιοχής του τετράπολου, υπό την επίδραση του πεδίου θα αρχίσουν να ταλαντώνονται λόγω της εναλλασσόμενης πολικότητας στα ζεύγη των ράβδων (οφειλόμενη στην AC τάση). Το πλάτος και η συχνότητα της ταλάντωσης θα είναι ανάλογα των εντάσεων DC - AC και της ραδιοσυχνότητας RF (ω της AC πηγής)¹⁰⁰. Αποτέλεσμα θα είναι τα ιόντα να διαγράφουν μια σπειροειδή τροχιά κατά μήκος του τετράπολου, με διαφορετικά πλάτη ταλάντωσης ανάλογα του λόγου m/z που διαθέτει το καθένα. Για κάθε ιόν με λόγο m/z αντιστοιχεί μία συγκεκριμένη τιμή DC-RF τέτοια ώστε να του επιτρέψει να ισορροπήσει μεταξύ των ράβδων, καθώς κινείται με σπειροειδή τροχιά, και να διασχίσει την απόσταση μέχρι τον ανιχνευτή. Για την ίδια τιμή DC-RF τα υπόλοιπα ιόντα με διαφορετικό m/z , θα ταλαντώνονται με διαφορετικό πλάτος και δεν θα μπορέσουν να διατηρήσουν την ισορροπία τους οπότε θα απορριφθούν προσκρούοντας ή περνώντας ανάμεσα στις ράβδους. Έτσι στον ανιχνευτή που ακολουθεί θα εισέλθουν μόνο τα ιόντα συγκεκριμένου λόγου m/z .

Μεταβάλλοντας τις τιμές DC-RF ανιχνεύεται ένα άλλο ιόν με διαφορετικό λόγο m/z και ούτω καθ' εξής μέχρι να ολοκληρωθεί μια πολυστοιχειακή ανάλυση. Συνήθως 25 στοιχεία χρειάζονται χρόνο λιγότερο του 1 min για να ανιχνευθούν με μεγάλη ακρίβεια. Η αποτελεσματικότητα της λειτουργίας ενός τετράπολου καθορίζεται από δύο παραμέτρους. Την διακριτική του ικανότητα (resolution) και την ευαισθησία (sensitivity). Η σχέση μεταξύ των δύο μεγεθών είναι αντίστροφη. Αύξηση της διακριτικής ικανότητας ισοδυναμεί με μείωση στην ευαισθησία και

αντιστρόφως. Η διακριτική ικανότητα μπορεί να κυμανθεί από 0,3 μέχρι 3 amu, αλλά σε συνθήκες λειτουργίας συνήθως θέτεται μεταξύ 0,7 και 1,0 amu.

Ανίχνευση ιόντων (ion detection)⁹⁹

Στην παρούσα εργασία η ανίχνευση των ιόντων πραγματοποιήθηκε με την χρήση ηλεκτρονιοπολλαπλασιαστή διακριτών δυνόδων (discrete dynode electron multiplier). Αυτού του τύπου οι ανιχνευτές αποτελούνται από δύο σειρές αντικριστών μεταξύ τους διακριτών (απομονωμένων μεταξύ τους) δυνόδων. Το πλήθος των δυνόδων δεν ξεπερνάει τους 24 και το υλικό επιστρώσης της επιφάνειάς τους είναι συνήθως από Cu/Be. Βρίσκεται μετά το τετράπολο τοποθετημένος εκτός θέσης (off-axis) για την αποτροπή καταγραφής θορύβου βελτιώνοντας έτσι το λόγο σήματος προς θόρυβο (s/n ratio). Η πρώτη δύνodos αμέσως μετά το τετράπολο βρίσκεται σε υψηλό αρνητικό δυναμικό το οποίο βαθμιαία μειώνεται σε μηδέν στην τελευταία δύνodos [Σχήμα 2.12]. Η αρχή λειτουργίας του βασίζεται στη δευτερογενή εκπομπή ηλεκτρονίων.



Σχήμα 2.12. Σχηματική απεικόνιση της αρχής λειτουργίας του ηλεκτρονιοπολλαπλασιαστή διακριτών δυνόδων. Διαδρομή μπλε χρώματος για το ιόν, κόκκινου χρώματος για τα ηλεκτρόνια.
 Πηγή: http://matematicas.udea.edu.co/~carlopez/beginer_guide_icpms.pdf

Το θετικά φορτισμένο ιόν εξέρχεται από το τετράπολο και προσκρούει στην επιφάνεια της πρώτης δυνόδου λόγω της έλξης που δέχεται από το ισχυρό αρνητικό δυναμικό. Η αρχική πρόσκρουση εκπέμπει ηλεκτρόνια που με τη σειρά τους επιταχύνονται λόγω του πεδίου και προσκρούουν στη δεύτερη δύνodos απελευθερώνοντας επιπλέον ηλεκτρόνια τα οποία θα προσκρούσουν στην τρίτη

δύνοδο και ούτω καθ' εξής. Η δέσμη των ηλεκτρονίων που θα εξέλθει από την τελευταία δύνοδο ανιχνεύεται (sensed) από τον προενισχυτή (preamplifier). Ο προενισχυτής επιτελεί την λειτουργία του απαριθμητή του πλήθους των ηλεκτρονίων. Οι ηλεκτρονιοπολλαπλασιαστές διακριτών δυνόδων κατασκευάζονται έτσι ώστε όταν προσκρούσει ένα ιόν στην πρώτη δύνοδο τότε στην τελευταία δύνοδο η δέσμη των ηλεκτρονίων να απαριθμεί συγκεκριμένο πλήθος ηλεκτρονίων. Το πλήθος αυτό συνήθως είναι $10^6 e^-$ και ονομάζεται κέρδος (gain) ή απόδοση του ηλεκτρονιοπολλαπλασιαστή. Τα $10^6 e^-$ καταμετρούνται, μετατρέπονται και καταγράφονται ως ψηφιακός παλμός. Άρα ένας παλμός (ή αλλιώς $10^6 e^-$) αντιστοιχεί σε ένα ιόν του υπό εξέταση αναλύτη. Εάν προσκρούσουν στην πρώτη δύνοδο 2 ιόντα στην τελευταία θα καταμετρηθούν $2 \cdot 10^6 e^-$ και θα ψηφιοποιηθούν ως 2 παλμοί και ούτω καθεξής, έτσι ώστε τελικά το πλήθος των παλμών να ταυτίζεται αριθμητικά με το πλήθος των ιόντων. Οι ψηφιακοί, πλέον, παλμοί αποθηκεύονται σε πολυκάναλο (20 channels) σύστημα συλλογής δεδομένων (multichannel data acquisition system). Το προφίλ που εμφανίζουν οι παλμοί σε όλα τα κανάλια απεικονίζεται ως η κορυφή του χρωματογραφήματος στην οθόνη του υπολογιστή. Οι μονάδες μέτρησης στο σύστημα αξόνων που καταγράφεται το σήμα είναι παλμοί ανά δευτερόλεπτο (counts per second - cps) στον κάθετο άξονα και χρόνος στον οριζόντιο. Οπότε το ολοκλήρωμα μιας κορυφής εκφράζεται σε παλμούς που ταυτίζονται με το πλήθος των ιόντων που προσέκρουσαν στην πρώτη δύνοδο.

2.2.2 Παρεμπόδιοι

Κύριο μειονέκτημα της φασματομετρίας μάζας επαγωγικά συζευγμένου πλάσματος είναι οι παρεμπόδιοι που επηρεάζουν το σήμα καταγραφής του υπό εξέταση αναλύτη. Η κύρια κατηγορία είναι οι φασματοσκοπικοί παρεμπόδιοι και αφορά τα φορτισμένα εκείνα σωματίδια που φέρουν τον ίδιο λόγο m/z με αυτόν του αναλύτη. Μια υποκατηγορία φασματοσκοπικών παρεμπόδιοσεων περιλαμβάνει την δημιουργία πολυατομικών ιόντων του αερίου Ar με οξυγόνο, υδρογόνο ή και άλλα στοιχεία της μήτρας. Για παράδειγμα στα, υδατικά διαλύματα σχηματίζεται το πολυατομικό ιόν $^{40}\text{Ar}^{16}\text{O}^+$ με λόγο $m/z=56$, όμοιο με εκείνον του κύριου ισότοπου του Fe ($^{56}\text{Fe}^+$) επικαλύπτοντας το χρωματογράφημα καταγραφής του σιδήρου. Αν το υδατικό διάλυμα φέρει οργανικές ουσίες, τότε δημιουργείται το πολυατομικό ιόν $^{40}\text{Ar}^{12}\text{C}^+$ που επικαλύπτει το σήμα καταγραφής του κύριου ισότοπου του χρωμίου

$^{52}\text{Cr}^+$. Άλλη υποκατηγορία περιλαμβάνει την δημιουργία υδριδίων, οξειδίων και υδροξειδίων με στοιχεία που εμπεριέχονται στην μήτρα του διαλύματος. Για παράδειγμα η επικάλυψη του ισότοπου $^{59}\text{Co}^+$ από την παρουσία $^{43}\text{Ca}^{16}\text{O}^+$. Οι ισοβαρικοί παρεμποδισμοί περιλαμβάνουν την επικάλυψη του σήματος του ισότοπου ενός στοιχείου από το ισότοπο ενός άλλου στοιχείου με ίδιο λόγο m/z , π.χ. του ισότοπου $^{114}\text{Cd}^+$ από το $^{114}\text{Zn}^+$. Τέλος στους φασματοσκοπικούς παρεμποδισμούς ανήκει και η δημιουργία ιόντων που φέρουν διπλό φορτίο. Σε αυτή την περίπτωση ο λόγος m/z ενός στοιχείου υποδιπλασιάζεται και ισούται με αυτόν του αναλύτη παρεμποδίζοντας το σήμα καταγραφής του. Η απαλοιφή των παρεμποδιστικών παραγόντων μπορεί να πραγματοποιηθεί με την χρήση χρωματογραφικών μεθόδων για το διαχωρισμό της μήτρας από τον αναλύτη ή όταν πρόκειται για ισοβαρικούς παρεμποδισμούς με μαθηματική επεξεργασία των δεδομένων βασιζόμενη στην φυσική αφθονία των ισωτόπων. Οι παρεμποδισμοί του αερίου Ar με O ή και H μπορούν να εξαλειφθούν με χρήση ψυχρού πλάσματος (cool plasma) με χαμηλότερη ισχύ λειτουργίας (500 – 800 W). Οι παρεμποδισμοί πολυατομικών ιόντων μπορούν να εξαλειφθούν με τη χρήση κυψελίδας πρόσκρουσης διοχετεύοντας και δευτερεύων αέριο, εκτός από Ar, πριν τον αναλυτή μάζας. Η παρουσία διπλά φορτισμένων ιόντων συνήθως οφείλεται στις κακές συνθήκες ιοντισμού του πλάσματος που προκαλεί δευτερογενή ηλεκτρικά πεδία. Αυτού του είδους οι παρεμποδισμοί διορθώνονται με ρύθμιση του πλάσματος στις κατάλληλες συνθήκες λειτουργίας⁹⁹.

2.3 Επισκόπηση Ενδεικτικών Μεθόδων Ειδοαυτοποίησης Χρωμίου

Στήλη ιοντικής χρωματογραφίας σε σειρά με φασματομετρία μάζας επαγωγικά συζευγμένου πλάσματος έχει χρησιμοποιηθεί σε αρκετές περιπτώσεις. Μια αρκετά περίπλοκη μέθοδος αναπτύχθηκε από τους Gürtleyük H. και Wallschläger D.¹⁰¹ χρησιμοποιώντας διάταξη δύο διαδοχικών στηλών σε σειρά με καταστολέα (suppressor) και ICP-MS. Προηγούνταν συμπλοκοποίηση του Cr^{III} με EDTA (ethylenediaminetetraacetic acid) στο δείγμα για 1 ώρα και μετά με αντλία εισαγόταν στο σύστημα. Στην πρώτη δεσμευόταν το Cr^{VI} και στη δεύτερη το Cr^{III} -EDTA. Η έκλυση γινόταν με NH_4NO_3 50mM. Με τη χρήση του καταστολέα εξουδετερωνόταν το Na^+ από το NaOH που χρησιμοποιήθηκε για τη ρύθμιση του pH.

Παρόμοια διάταξη, χρησιμοποιώντας στήλη σε σειρά με ICP-MS, ο Chen Z. και οι συνεργάτες του¹⁰² διαχώρισαν το Cr^{VI} από το Cr^{III} αφού πρώτα το συμπλοκοποίησαν με EDTA (Cr^{III}-EDTA), ωστόσο, στα χρωματογραφήματα φαίνεται ότι υπάρχει επικάλυψη των κορυφών. Ως διάλυμα έκλουσης χρησιμοποιήθηκε NH₄NO₃-NH₄H₂PO₄ ενώ απαιτούνταν αρχική ρύθμιση στο pH του δείγματος.

Με IC-ICP-MS διαχωρίστηκαν το Cr^{III} από το Cr^{VI} σε στερεά δείγματα¹⁰³ χρησιμοποιώντας κυψελίδα αντίδρασης οκτώ πόλων με αέριο He. Δεν υπήρχε συμπλοκοποιητής και η έκλυση γινόταν με διάλυμα NH₄NO₃-(NH₄)₂PO₄ υπό θέρμανση. Το pH του δείγματος αρχικά ρυθμιζόταν στην τιμή 3,5. Με ICP-MS εφοδιασμένο με κυψελίδα πρόσκρουσης έγινε άμεση μέτρηση του ολικού χρωμίου σε βιολογικά δείγματα και νερό¹⁰⁴.

Ο άνθρακας από τις χουμικές ενώσεις δεν φαίνεται να δημιουργεί παρεμποδισμούς στην καταγραφή του ισοτόπου ⁵²Cr ενώ ο παρεμποδισμός ³⁵Cl¹⁶OH και ³⁷Cl¹⁶O είναι ισχυρός όταν το χλώριο είναι σε συγκεντρώσεις >10ppm σύμφωνα με τον Séby F. και τους συνεργάτες του¹⁰⁵, οι οποίοι χρησιμοποιώντας HPLC σε σειρά με ICP-MS διαχώρισαν το Cr^{III} από το Cr^{VI}. Η έκλυση σε αυτή την περίπτωση πραγματοποιήθηκε μόνο με HNO₃ διαφορετικής συγκέντρωσης για κάθε οξειδωτική κατάσταση του χρωμίου.

Με χρήση στήλης πληρωμένης με τροποποιημένα MWCNTs πραγματοποιήθηκε προσρόφηση των Cr^{VI}-APDC συμπλόκων σε συγκεκριμένες συνθήκες pH¹⁰⁶. Η διάταξη ήταν off-line και η έκλυση πραγματοποιήθηκε με διάλυμα HNO₃ 1M σε ακετόνη. Το έκλυσμα αφηνόταν σε θερμοκρασία για την απομάκρυνση της ακετόνης, μετά προσθέτονταν νερό και εισάγονταν στο ICP-MS. Ο προσδιορισμός του Cr^{III} γινόταν έμμεσα. Το δείγμα χωριζόταν σε δύο όγκους α και β. Στον πρώτο, στις κατάλληλες συνθήκες pH, συμπλοκοποιόταν μόνο το Cr^{VI} με APDC (ammonium pyrrolidine dithiocarbamate) ενώ στο δεύτερο οξειδωνόταν όλο το χρώμιο σε Cr^{VI}, έτσι ώστε [Cr^{VI}]=[Cr_{tot}]. Οι δύο όγκοι αναλυόταν ξεχωριστά και η διαφορά [Cr_{tot}]_{β'όγκου} - [Cr^{VI}]_{α'όγκου} = [Cr^{III}]. Αμφιβολίες υπάρχουν σχετικά με την αποτελεσματική απομάκρυνση της ακετόνης. Επίσης, το διάλυμα έκλουσης κατά την εξάτμιση της ακετόνης εμπλουτίζεται σε HNO₃ και υπό συνθήκες θέρμανσης το μίγμα αυτό χαρακτηρίζεται ως εκρηκτικό.

Συνδυασμένη τεχνική χρωματογραφίας λεπτής στοιβάδας υψηλής απόδοσης (HPTLC) για το διαχωρισμό του Cr^{III} από το Cr^{VI} και μέτρησή τους με ICP-MS εφοδιασμένο με σύστημα εισαγωγής δείγματος διάβρωσης με λέιζερ (laser ablation),

αναπτύχθηκε από τους Salin E. D. και Lafleur J. P.¹⁰⁷. Η τεχνική αυτή προσφέρεται για διαχωρισμό των οξειδωτικών καταστάσεων του χρωμίου στο πεδίο μέτρησης αμέσως μετά την δειγματοληψία. Το δείγμα μετά τη συλλογή του, τοποθετείται στο πλακίδιο και διαχωρίζεται το Cr^{III} από το Cr^{VI} με κινητή φάση απιονισμένο νερό. Η ανάλυση ακολουθεί οποιαδήποτε στιγμή αργότερα χωρίς να απαιτείται συντήρηση του δείγματος με ρυθμιστικά διαλύματα.

Εκτός από ICP-MS έχει χρησιμοποιηθεί και τεχνική φασματομετρίας ατομικής εκπομπής επαγωγικά συζευγμένου πλάσματος ICP-AES¹⁰⁸. Πριν το ICP-AES προηγούνταν δύο στήλες πακτωμένες με το ίδιο υλικό. Στην πρώτη δεσμευόταν μονάχα το Cr^{III} και στην δεύτερη το Cr^{VI}, αφού πρώτα είχε αναχθεί σε Cr^{III} με έγχυση αναγωγικής ουσίας στο tube κατά τη διαδρομή από την πρώτη στη δεύτερη στήλη. Το μήκος αυτού του tube ήταν 10m για να προλάβει να αναχθεί το Cr^{VI}. Στη βέλτιστη περίπτωση αναγόταν το 85% αφού πρώτα είχε ρυθμιστεί το pH του δείγματος. Η έκλυση γινόταν με HNO₃, και η διάταξη αν και περίπλοκη ήταν αυτοματοποιημένη.

Φασματομετρία ατομικής απορρόφησης φλόγας (FAAS) χρησιμοποιήθηκε από τον Demirata B.¹⁰⁹ Σε στήλη πακτωμένη με μη εμπορικό προσροφητικό υλικό πραγματοποιούνταν προσρόφηση του Cr^{VI}, εκλούονταν με NH₄OH και μεταφερόταν για ανάλυση με FAAS, σε off-line διάταξη. Για τον προσδιορισμό του Cr^{III}, προηγούνταν οξείδωση του ολικού χρωμίου του δείγματος σε Cr^{VI} και ανάλυση όπως περιγράφηκε πριν στην βιβλιογραφική αναφορά 106. Το pH του αρχικού δείγματος ρυθμιζόταν στην τιμή 2, και μετά την έκλυση με NH₄OH το pH του εκλούσματος ρυθμιζόταν ξανά στην ίδια τιμή.

Με ίδια φασματοσκοπική τεχνική (FAAS) σε σειρά με στήλη και χρησιμοποιώντας συμπλοκοποιητή APDC προσδιορίστηκε το Cr^{VI}¹¹⁰. Το Cr^{III} προσδιορίστηκε έμμεσα με οξείδωση του ολικού χρωμίου σε Cr^{VI} (βλ. αναφορά 106). Η έκλυση γινόταν με HNO₃ σε μεθανόλη. Η διαδικασία ήταν αρκετά περίπλοκη γιατί δοκιμάστηκε ταυτόχρονη χρήση και EDTA και απαιτούνταν διαφορετικές ρυθμίσεις pH και θερμοκρασίας. Σε άλλη περίπτωση¹¹¹ γίνεται συμπλοκοποίηση του Cr^{III} με βάση Schiff's και εκχυλίζεται με διάλυμα επιφανειοδραστικών ομάδων (surfactants) Triton - X 114 σε θερμοκρασία 65 °C. Με φυγοκέντριση διαχωρίζονται οι φάσεις, απομακρύνεται η φάση με το Cr^{III}-Schiff's base-Triton X 114 σύμπλοκο, αραιώνεται με HNO₃-MeOH και μετά αναλύεται με FAAS. Για τον προσδιορισμό του Cr^{VI} προηγείται αυτή τη φορά αναγωγή όλου του χρωμίου του δείγματος σε Cr^{III} και από τη διαφορά [Cr_{tot}] - [Cr^{III}] υπολογίζεται η [Cr^{VI}]. Στήλη προσρόφησης του

συμπλόκου Cr^{VI}-APDC off-line με FAAS αναπτύχθηκε και από τους Soyulak M. και τους συνεργάτες του¹¹². Η έκλυση του συμπλόκου γινόταν με HCl σε ακετόνη και για τη δημιουργία του συμπλόκου απαιτούνταν αρχική ρύθμιση στο pH του δείγματος. Ο προσδιορισμός του Cr^{III} γινόταν έμμεσα (βλ. αναφορά 106).

Με αυτοματοποιημένο σύστημα, στήλη πακτωμένη με ενεργό άνθρακα σε σειρά με ηλεκτροθερμική φασματομετρία ατομικής απορρόφησης (ETAAS) χρησιμοποιήθηκε για την προσρόφηση του Cr^{III} και έκλουσή του με HNO₃¹¹³. Το pH του δείγματος ρυθμιζόταν αρχικά στην τιμή 5, ενώ ο προσδιορισμός του Cr^{VI} γινόταν έμμεσα με αναγωγή του ολικού χρωμίου σε Cr^{III}. Η διαδικασία αναγωγής διαρκούσε 1 ώρα.

Υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης με ανιχνευτή διάταξης διόδων (HPLC-DAD) χρησιμοποίησε ο Cathum S. και οι συνεργάτες του¹¹⁴ για τον προσδιορισμό χρωμικών και διχρωμικών ιόντων. Ο προσδιορισμός έγινε με συμπλοκοποίηση των Cr^{III} και Cr^{VI} με APDC και η έκλουσή τους με χλωρομεθάνιο. Επειδή το Cr^{VI} δημιουργεί σύμπλοκο ίδιας δομής με το Cr^{III}¹¹⁵ έγινε μαθηματική διόρθωση στον προσδιορισμό των συγκεντρώσεων των ειδών του χρωμίου. Ομοίως χρησιμοποιώντας APDC και τεχνική HPLC με ανιχνευτή υπεριώδους διαχωρίστηκαν και προσδιορίστηκαν οι δύο οξειδωτικές καταστάσεις του Cr¹¹⁶, χρησιμοποιώντας επίσης οργανικό διαλύτη ως διάλυμα έκλυσης. Το APDC έχει χρησιμοποιηθεί για την συμπλοκοποίηση του Cr^{VI} σε pH=4, και τον προσδιορισμό του με μέθοδο φθορισμομετρίας ακτίνων Χ ενέργειας σκέδασης¹¹⁷ (EDXRF). Το Cr^{III} όπως και στις περισσότερες των περιπτώσεων προσδιορίζονταν έμμεσα (βλ. αναφορά 106). Η προετοιμασία ήταν χρονοβόρα γιατί απαιτούνταν χρόνος για την συμπλοκοποίηση αλλά και για την οξείδωση του Cr^{III} σε Cr^{VI}.

Εκτός από τους συμπλοκοποιητές APDC και EDTA χρησιμοποιείται και το DPC (diphenylcarbazine) το οποίο συμπλοκοποιεί επιλεκτικά μόνο το Cr^{VI}. Σε δείγματα πόσιμου και θαλασσινού νερού προσδιορίστηκε το Cr^{VI} ύστερα από συμπλοκοποίησή του με DPC. Πραγματοποιήθηκε εκχύλιση με οργανικό διαλύτη και τα δείγματα αναλύθηκαν με τεχνική ηλεκτροθερμικής φασματομετρίας ατομικής απορρόφησης¹¹⁸. Φασματοφωτομετρικά με τον ίδιο συμπλοκοποιητή DPC προσδιορίστηκαν επίσης και οι δύο οξειδωτικές καταστάσεις του χρωμίου¹¹⁹. Χρησιμοποιήθηκε στήλη και το Cr^{VI} καταγράφονταν ως σύμπλοκο Cr^{VI}-DPC ενώ το Cr^{III} προσδιορίζονταν εμμέσως (βλ. αναφορά 106). Η διάταξη ήταν

αυτοματοποιημένη αλλά αρκετά περίπλοκη αφού χρησιμοποιήθηκαν 2 βαλβίδες 6 θέσεων και 1 τεσσάρων.

Η σύντομη επισκόπηση σε διάφορες ενόργανες αναλυτικές τεχνικές αφορά μόνο ένα μέρος από το πλήθος που έχουν αναπτυχθεί. Στον Πίνακα 2.1 καταχωρούνται κάποια χαρακτηριστικά των μεθόδων που αναφέρθηκαν βάσει της παρούσας βιβλιογραφίας.

Πίνακας 2.1. Παρουσίαση χαρακτηριστικών των μεθόδων που αναφέρονται στην παρούσα βιβλιογραφία.

α/α αναφοράς	Ρύθμιση συνθηκών		Σύμπλοκο	Χρήση οργανικού διαλύτη	Όρια ανίχνευσης**	
	pH*	T (°C)			Cr ^{III}	Cr ^{VI}
101	-	70	EDTA	-	5 ng/L	12 ng/L
102	6	80	EDTA	-	0,2 µg/L	0,1 µg/L
103	-	40	-	-	0,5 µg/L	0,5 µg/L
104	-	-	-	-	Cr _{tot} = 0,015 ng/mL	
105	-	-	-	-	0,19 µg/L	0,20 µg/L
106	2	80	APDC	Ακετόνη	-	0,9 µg/L
107	-	-	-	-	0,9 µg/L	11 µg/L
108	3,3	-	-	-	0,08 µg/L	0,17 µg/L
109	2	-	-	-	απροσδιόριστο	
110	<5	-	APDC	-	-	0,6 µg/L
111	8	65	Schiff's base	Μεθανόλη	0,17 µg/L	-
112	2,5	-	APDC	Ακετόνη	-	2,7 µg/L
113	5	50	-	Αιθανόλη	3 ng/L	-
114	-	-	APDC	Χλωρομεθάνιο	7 mg/L	4 mg/L
115	4	50	APDC	Χλωροφόρμιο	απροσδιόριστο	
116	4,66	60	APDC	Ακετονιτρίλιο	2,4 µg/L	2,1 µg/L
117	4	-	APDC	-	-	2,95 µg/L
118	2	-	DPC	Ισοαμλική αλκοόλη	-	0,03 µg/L
119	2	80	DPC	-	-	70 pg/7,9 mL

* Η ρύθμιση του pH πραγματοποιήθηκε είτε για αποτελεσματική προσρόφηση του χρωμίου στη στήλη είτε για δημιουργία συμπλόκων. Δεν αναφέρεται στο pH του διαλύματος έκλουσης.

** Οι παύλες στις στήλες των ορίων ανίχνευσης του Cr^{III} και Cr^{VI} υποδηλώνουν ότι ο προσδιορισμός αυτής της οξειδωτικής κατάστασης έγινε έμμεσα και γι' αυτό δεν αναφέρεται. Το ολικό χρώμιο είτε ανάχθηκε σε Cr^{III} είτε οξειδώθηκε σε Cr^{VI}. Από τη διαφορά του Cr_{tot} με το πραγματικά προσδιοριζόμενο χρώμιο υπολογίστηκε έμμεσα η συγκέντρωση της άλλης οξειδωτικής κατάστασης.

Σκοπός της Μελέτης

Η ειδοταυτοποίηση του χρωμίου αποτελούσε ανέκαθεν πεδίο ανάπτυξης μεθόδων, κυρίως εστιαζόμενων στον διαχωρισμό και ποσοτικό προσδιορισμό των δύο σταθερών οξειδωτικών καταστάσεων, Cr^{III} και Cr^{VI} , λόγω της τοξικότητας που παρουσιάζει το εξασθενές⁷⁰⁻⁷⁵ σε αντίθεση με το τρισθενές που χαρακτηρίζεται ως θεραπευτικό στοιχείο⁶¹⁻⁶⁷ για τον ανθρώπινο οργανισμό.

Η πλειονότητα των μεθόδων αυτών στηρίζεται στον άμεσο προσδιορισμό της μίας οξειδωτικής κατάστασης και στον έμμεσο της άλλης.^{106,110-112} Η γενικότερη προσέγγιση που ακολουθείται σε αυτές τις περιπτώσεις επικεντρώνεται αρχικά στο διαχωρισμό του δείγματος σε δύο όγκους, στη συνέχεια πραγματοποιείται ο άμεσος προσδιορισμός του χρωμίου που βρίσκεται στη μία εκ των δύο οξειδωτικών καταστάσεων στο πρώτο δείγμα και τελικώς ακολουθεί η μέτρηση του ολικού χρωμίου στο δεύτερο. Από την διαφορά των συγκεντρώσεων των δύο διαφορετικών όγκων, του ίδιου όμως δείγματος, εκτιμάται πλαγιοτρόπως και η συγκέντρωση της άλλης οξειδωτικής κατάστασης.

Σε περιπτώσεις όπου πραγματοποιείται διαχωρισμός, συμβαίνει κυρίως με μεθόδους συμπλοκοποίησης της μίας ή και των δύο οξειδωτικών καταστάσεων του χρωμίου. Έχουν χρησιμοποιηθεί στήλες με διάφορα προσροφητικά υλικά, ακόμη επιλεκτικοί συμπλοκοποιητές όπως το EDTA^{101,102} για την συμπλοκοποίηση του Cr^{III} ή το DPC^{118,119} για το Cr^{VI} αλλά και το APDC^{114,116} που συμπλοκοποιεί και τις δύο. Πολύ συχνά απαιτείται προεργασία που περιλαμβάνει τη ρύθμιση του pH του διαλύματος^{102,106,108-113} είτε για τη δημιουργία συμπλόκων με τον αναλύτη είτε για την δέσμευση των ιόντων χρωμίου από το προσροφητικό υλικό ενώ για την εκρόφηση των προσροφηθέντων, η πλειονότητα των διαλυμάτων έκλουσης περιλαμβάνει σε ποσοστό κάποιον οργανικό διαλύτη,^{106,111-116} που είναι πρόδρομος για τον εν δυνάμει παρεμπόδιση $^{40}\text{Ar}^{12}\text{C}$ στο σήμα καταγραφής του ^{52}Cr . Γί αυτό πολύ συχνά μετά το διαχωρισμό πραγματοποιείται ο προσδιορισμός με φασματομετρία ατομικής απορρόφησης^{109-113,118} ή με φασματοφωτομετρία υπεριώδους-ορατού.^{116,119} Σε αρκετές περιπτώσεις ο διαχωρισμός και προσδιορισμός του χρωμίου χαρακτηρίζεται από περιπλοκότητα λόγω «παρέμβασης» στο δείγμα, είτε για την ρύθμιση του pH είτε λόγω διεργασιών για τη δημιουργία των συμπλόκων χρωμίου,^{101-103,106} η οποία με τη σειρά της επιφέρει αφενός αβεβαιότητα στη τελική εκτίμηση¹⁰² και αφετέρου τις καθιστά χρονοβόρες μεθοδολογίες.^{106,109-112}

Οι τροποποιημένοι νανοσωλήνες άνθρακα με καρβοξυλομάδες (MWCNTs-COOH) έχουν χρησιμοποιηθεί ως προσροφητικό υλικό κατιόντων μετάλλων όπως Pb⁸⁸, Cu⁸⁹, Cd⁹², Mn⁹³, Ni⁹⁴, Ag⁹⁵ και σπάνιων γαιών.⁸⁷ Σε αυτές τις περιπτώσεις απαιτήθηκε κατανάλωση μεγάλου όγκου δείγματος διότι απώτερος σκοπός ήταν ο εμπλουτισμός του μετάλλου μέσω της προσυγκέντρωσής του. Η προσροφητική ικανότητα των MWCNTs-COOH όσον αφορά σύμπλοκα του χρωμίου με APDC έχει ήδη αναφερθεί¹⁰⁶ όμως δεν έχει υπάρξει αναφορά στη χρήση τους για τον διαχωρισμό των ιόντων του τρισθενούς χρωμίου από αυτά του εξασθενούς χωρίς τη χρήση συμπλοκοποιητή.

Στο πόσιμο νερό, που αποτελεί σημαντικό φορέα εισαγωγής του χρωμίου στον ανθρώπινο οργανισμό, το τρισθενές χρώμιο παρουσιάζει κυρίως χαρακτηριστικά κατιόντος^{13,18} σε αντίθεση με το εξασθενές που αποκλειστικά διαθέτει ανιοντική συμπεριφορά.^{11,12}

Χρησιμοποιώντας στήλη πληρωμένη με MWCNTs-COOH και βασιζόμενοι στην διαφανόμενη ικανότητά τους να προσροφούν κατιόντα μετάλλων και όχι ανιόντα, είναι δυνατό να πραγματοποιηθεί ο διαχωρισμός τους, ενώ διατάσσοντας εν σειρά την στήλη με ICP-MS μπορεί να πραγματοποιηθεί και ο ποσοτικός προσδιορισμός τους.

Δεδομένων των προαναφερθέντων, κύριος σκοπός της μελέτης αυτής είναι η ανάπτυξη μεθοδολογίας διαχωρισμού του Cr^{III} από το Cr^{VI} σε δείγματα πόσιμου νερού χρησιμοποιώντας στήλη πληρωμένη με MWCNTs-COOH συζευγμένη σε σειρά με ICP-MS για το ποσοτικό προσδιορισμό τους.

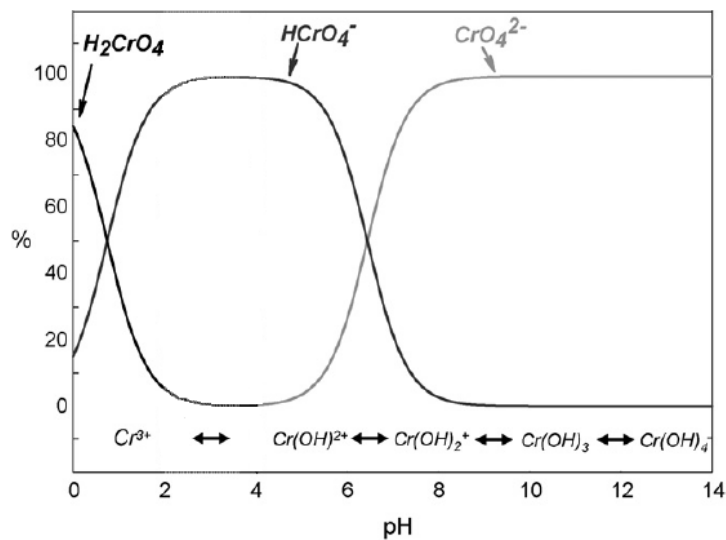
Επιπλέον, κατά τη διαδικασία εκπλήρωσης του κύριου σκοπού θα επιχειρηθεί και η επίτευξη επιμέρους στόχων όπως η κατανάλωση μικρού όγκου δείγματος, η κατά το δυνατό βραχύχρονη ανάλυση των δειγμάτων, η αποφυγή ρύθμισης του pH του δείγματος και η αποφυγή χρήσης οργανικών διαλυτών.

Κεφάλαιο 3

Ανάπτυξη Μεθοδολογίας

3.1 Αρχή της Μεθόδου

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, το χρώμιο στο φυσικό περιβάλλον παρουσιάζει δύο σταθερές οξειδωτικές καταστάσεις την III+ και την VI+ (από δω και στο εξής Cr^{III} και Cr^{VI}). Σε υδατικά διαλύματα, στη τρισθενή του μορφή, όταν 4 < pH < 10, υφίστανται υδρόλυση σχηματίζοντας κατιόντα της μορφής Cr(OH)²⁺, Cr(OH)₂⁺, ενώ όταν το pH λαμβάνει τιμές μικρότερες του 4 τότε επικρατεί η επίσης κατιοντική μορφή Cr(H₂O)₆³⁺ ή αλλιώς Cr³⁺. Σε τιμές όπου pH ~ 9, το Cr^{III} καθιζάνει ως Cr(OH)₃⁰, ενώ σε ακραίες βασικές τιμές όπου pH > 12, πάλι ως υδατικό σύμπλοκο, εμφανίζει ανιοντικό χαρακτήρα της μορφής Cr(OH)₄⁻. Σε αντίθεση, το Cr^{VI} σε υδατικά διαλύματα παρουσιάζει σε όλες τις τιμές pH ανιοντικό χαρακτήρα και έχει τη μορφή οξοανιόντος. Σε τιμές pH < 6 επικρατούν τα οξοανιόντα HCrO₄⁻ και σε τιμές pH > 6 τα ιόντα CrO₄²⁻. Σε ακραίες συνθήκες όπου pH < 1, το εξασθενές χρώμιο εμφανίζει πλέον τη μορφή αδιάστατου οξέος H₂CrO₄¹²⁰ [Διάγραμμα 3.1].



Διάγραμμα 3.1. Κλασματική αναλογία ειδών Cr^{VI} και Cr^{III} σε υδατικά συστήματα
Πηγή: Goessler W. & Hagendorfer H., Talanta, 76: 656-661, 2008

Οπότε, στα φυσικά υδατικά συστήματα, το Cr^{VI} βρίσκεται πάντα με τη μορφή οξοανιόντων δηλαδή φέρεται ως αρνητικά φορτισμένο μοριακό ιόν, ενώ το Cr^{III} έχει τη μορφή υδρολυομένου κατιοντικού συμπλόκου. Για το διαχωρισμό των ιόντων χρωμίου χρησιμοποιήθηκε στήλη πληρωμένη με καρβοξυλομένους νανοσωλήνες άνθρακα πολλαπλών τοιχωμάτων (MultiWall Carbon NanoTubes - COOH, MWCNTs-COOH) και για τον ποσοτικό προσδιορισμό τους η στήλη συνδέθηκε σε σειρά με ICP-MS.

Η παρουσία των καρβοξυλομάδων, από την τροποποίηση των MWCNTs, προκαλεί πτώση του ισοηλεκτρικού σημείου (IEP - IsoElectric Point) των MWCNTs. Έτσι, όταν το pH του υδατικού διαλύματος είναι υψηλότερο από το IEP των MWCNTs-COOH τότε εμφανίζονται αρνητικά φορτία στην επιφάνεια των τροποποιημένων νανοσωλήνων που είναι ικανά να αναπτύξουν ηλεκτροστατικές ελκτικές δυνάμεις και να προσροφήσουν τα κατιόντα του διαλύματος. Το pH των προτύπων διαλυμάτων χρωμίου ήταν $\text{pH} \sim 5,5$ και των δειγμάτων του πόσιμου νερού $\text{pH} \sim 6$, αμφότερα πάνω από το IEP που είχε ως πιθανότερη τιμή ~ 3 .^{85,89,93}

Στην περίπτωση των Cr^{VI} οξοανιόντων, η παρουσία αρνητικού φορτίου στο μοριακό ιόν θα προκαλέσει απωστικές δυνάμεις με το επίσης αρνητικά φορτισμένο νανοσωλήνα. Οπότε, τα Cr^{VI} οξοανιόντα του υδατικού διαλύματος απλώς διέρχονται μέσω της στήλης χωρίς να υπάρξει αλληλεπίδραση με το προσροφητικό υλικό MWCNTs-COOH και οδηγούνται κατευθείαν στο ICP-MS.

Αντίθετα, τα Cr^{III} υδρολυομένα κατιόντα προσροφούνται στην επιφάνεια του προσροφητικού υλικού δεδομένου ότι φέρουν θετικό φορτίο και έλκονται από την παρουσία των αρνητικών φορτίων που, όπως ειπώθηκε, οφείλονται στο γεγονός ότι το pH του υδατικού διαλύματος είναι υψηλότερο από το IEP των MWCNTs-COOH. Αφού πραγματοποιηθεί η προσρόφηση των Cr^{III} -ιόντων, για την εκρόφησή τους απαιτείται η διέλευση μέσω στήλης όξινου διαλύματος έκλουσης έτσι ώστε να επικρατήσουν συνθήκες pH μικρότερης τιμής από το IEP, για την εξουδετέρωση των αρνητικών φορτίων του προσροφητικού υλικού. Οπότε σε υδατικό διάλυμα που περιέχονται ταυτόχρονα ιόντα Cr^{III} και Cr^{VI} , ανεξαρτήτως αν η μήτρα είναι πόσιμο φυσικό νερό ή απονισμένο, όταν το pH του είναι υψηλότερο από το ισοηλεκτρικό σημείο των MWCNTs-COOH, τότε κατά τη διέλευσή του μέσω της στήλης, τα ιόντα του εξασθενούς χρωμίου θα εξέλθουν αμέσως ενώ τα ιόντα του τρισθενούς θα προσροφηθούν και στη συνέχεια μπορούν να ανακτηθούν με κατάλληλο διάλυμα έκλουσης.

Το χαμηλό IEP του προσροφητικού υλικού αναδεικνύεται ως πλεονέκτημα για τη μέθοδο διότι αποφεύχθηκε η ρύθμιση του pH του υδατικού διαλύματος, χωρίς όμως να απολεσθεί η προσροφητική ικανότητα των MWCNTs-COOH, σε αντίθεση με άλλες περιπτώσεις^{103,109,113} που αποτελεί στοιχειώδες βήμα. Τα οφέλη που προκύπτουν είναι αφενός μεν η άμεση μέτρηση του δείγματος, αποφεύγοντας «επιβάρυνση» της μήτρας με ρυθμιστικά διαλύματα^{101,105}, αφετέρου δε η οικονομία του χρόνου που απαιτείται για την ολοκλήρωση των αναλύσεων.

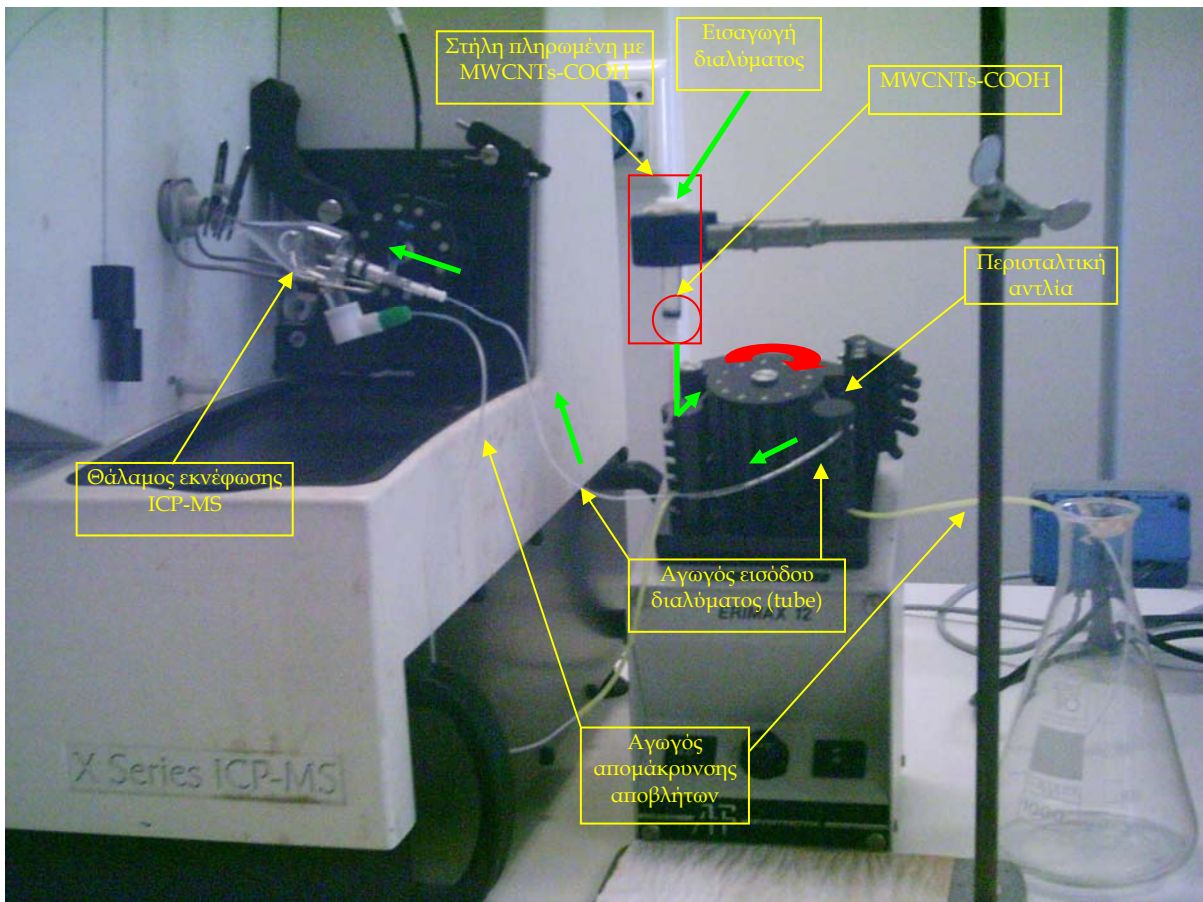
3.2 Πειραματικές Συνθήκες, Οργανολογία, Υλικά

Τα MWCNTs-COOH προμηθεύτηκαν από την εταιρία “NANOTHINX S.A.”. Τα πιστοποιημένα χαρακτηριστικά τους φαίνονται στον Πίνακα 3.1. Οι διαστάσεις των MWCNTs-COOH που επιλέχθηκαν διαθέτουν τις κατάλληλες τιμές (μήκος ≥ 10 μm και διάμετρο 18-35 nm) για βέλτιστη προσροφητική ικανότητα¹²¹, ενώ στο υψηλό ποσοστό καρβοξυλομάδων (8%), που συνήθως στα εμπορικά διαθέσιμα MWCNTs δεν υπερβαίνει το 5%, οφείλεται το χαμηλό IEP που διαθέτουν. Πριν την τοποθέτησή τους στη στήλη καθαρίστηκαν οχολαστικά με διάλυμα HNO₃ 1M σε ακετόνη για την απομάκρυνση του άμορφου άνθρακα και των μεταλλικών υπολειμμάτων.

Πίνακας 3.1. Πιστοποιητικό ανάλυσης των MWCNTs-COOH από εταιρία “NANOTHINX S.A.”	
Material	Multi-wall carbon nanotubes
Production method	CVD (chemical vapor deposition)
Available form	Black powder
Diameter	18-35 nm
Length	$\geq 10 \mu\text{m}$
Layers	16-37
Carbon purity	97,2 %
COOH functional groups	8 %
Metal particles	2,8 %
Amorphous carbon	<1 %
Bulk density	0,165 g/cm ³
Odor	Odorless
Storage	Dry, at room temperature

Η στήλη, χωρητικότητας 3,7 mL, τοποθετήθηκε κάθετα με το άνω άκρο της ελεύθερο για απρόσκοπτη τροφοδότηση με διαλύματα. Στο κάτω εσωτερικό τμήμα της στήλης τοποθετήθηκαν τα MWCNTs-COOH, τα οποία εγκλωβίστηκαν μεταξύ δύο διαπερατών επιφανειών συγκράτησης (frits) έτσι ώστε να επιτρέπεται η διέλευση

διαλύματος διαμέσου των MWCNTs-COOH χωρίς να παρατηρείται μετακίνηση, κατ' επέκταση και απώλεια, προσροφητικού υλικού. Η στήλη ήταν κατασκευασμένη από υλικό PTFE (polytetrafluoro ethylene), και όχι μεταλλική, για την αποφυγή πρόκλησης παρεμποδισμών στην καταγραφή του χρωμίου¹⁰³. Ως αγωγός μεταφοράς του διαλύματος από τη στήλη στο ICP-MS χρησιμοποιήθηκε ελαστικός αγωγός (tube) παρασκευασμένος από πολυμερές (tygon) εσωτερικής διαμέτρου 0,51 mm. Το ένα άκρο του tube ήταν ενωμένο με την έξοδο της στήλης (κάτω μέρος στήλης) και το άλλο άκρο με τον εκνεφωτή. Η περισταλτική αντλία, στην οποία προσαρμόστηκε εφαπτόμενο το ενδιάμεσο τμήμα του tube, περιστρέφονταν με 700 rpm και οδηγούσε το διάλυμα, μέσω του εκνεφωτή, στο θάλαμο εκνέφωσης. Η παροχή ροών ήταν 280-300 $\mu\text{L}/\text{min}$. Οπότε, το διάλυμα εισέρχονταν με πιπέτα στο ανοιχτό άνω άκρο της στήλης και «υποχρεώνονταν», λόγω περιστροφής της περισταλτικής αντλίας, να διέλθει μέσω του προσροφητικού υλικού, εν συνεχεία να εξέλθει από το κάτω άκρο της στήλης και έπειτα να οδηγηθεί, διασχίζοντας το tube, στο θάλαμο εκνέφωσης μέσω του εκνεφωτή. Η πειραματική διάταξη φαίνεται στην Εικόνα 3.1.



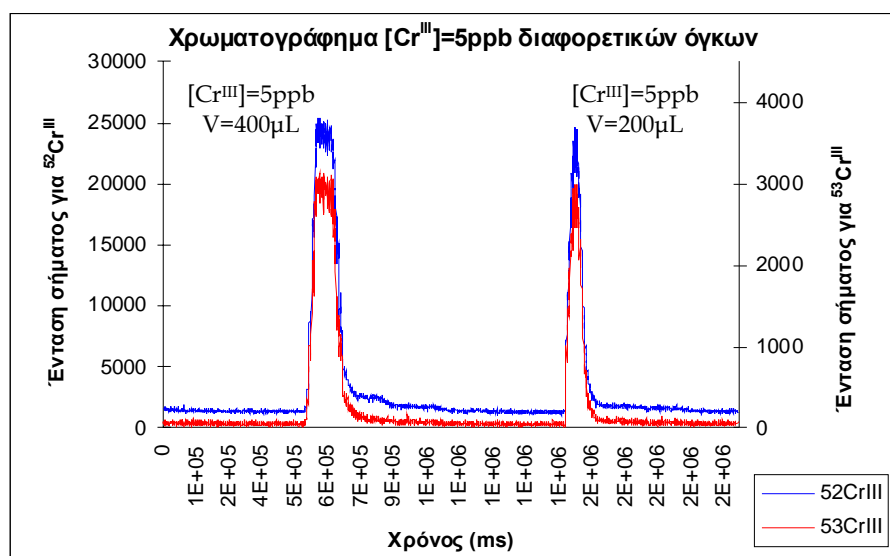
Εικόνα 3.1. Πειραματική διάταξη σύζευξης της πληρωμένης με MWCNTs-COOH στήλης με ICP-MS. Με κόκκινο βέλος συμβολίζεται η φορά περιστροφής της περισταλτικής αντλίας, με πράσινα η διαδρομή του υδατικού διαλύματος χρωμίου.

Τα πρότυπα διαλύματα του Cr^{VI} παρασκευάστηκαν με διαδοχικές αραιώσεις πυκνού διαλύματος 1000 mg/L Cr^{VI} (ως K₂CrO₄, εταιρία παρασκευής Fluka, προμηθευτής Sigma-Aldrich, product No: 17059) σε απιονισμένο νερό 18,2 MΩ·cm. Τα Cr^{III} πρότυπα διαλύματα παρασκευάστηκαν αρχικά με διάλυση ένυδρου τριχλωριούχου χρωμίου (CrCl₃·6H₂O, εταιρία παρασκευής Fluka, προμηθευτής Sigma-Aldrich, product No: 27096) σε 2% HCl και στην συνέχεια με διαδοχικές αραιώσεις σε απιονισμένο νερό 18,2 MΩ·cm. Όλα τα προς ανάλυση πρότυπα παρασκευάζονταν καθημερινά.

Ο ποσοτικός προσδιορισμός του χρωμίου πραγματοποιήθηκε με την τεχνική φασματομετρίας μάζας επαγωγικά συζευγμένου πλάσματος (ICP-MS) χρησιμοποιώντας φασματόμετρο μάζας τετραπολικού αναλυτή μαζών X Series ICP-MS. Οι κώνοι δειγματοληψίας (sampling cone) και επιλογής (ή αποκορυφωτής κώνος - skimmer cone) ήταν παρασκευασμένοι από νικέλιο διαμέτρου 1,0 και 0,75 mm, αντίστοιχα. Το ICP-MS ρυθμίστηκε να μετράει ιόντα με m/z 50, m/z 52, m/z 53 και m/z 54, κατ' αντιστοιχία με τις ατομικές μάζες των 4 ισοτόπων του χρωμίου.

3.3 Διαμόρφωση και Βελτιστοποίηση της Μεθόδου

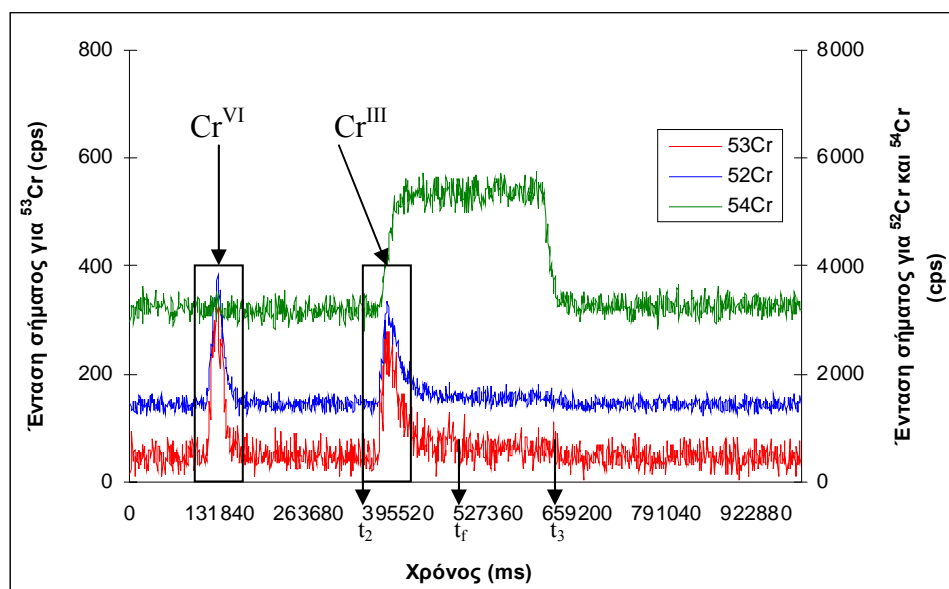
Ήταν ζητούμενο η μέθοδος να μπορεί να εφαρμοστεί καταναλώνοντας μικρό όγκο δείγματος ούτως ώστε να μειωθεί κατά το δυνατό περισσότερο ο απαιτούμενος χρόνος της μέτρησης.



Γράφημα 3.1. Χρωματογράφημα ⁵²Cr^{III} και ⁵³Cr^{III} συγκέντρωσης 5ppb, όγκου 400μL (πρώτη κορυφή) και 200μL (δεύτερη κορυφή).

Ο μικρός όγκος του δείγματος θα συνεισέφερε και στη χρήση μειωμένης ποσότητας προσροφητικού υλικού. Η ποσότητα των MWCNTs-COOH που επιλέχτηκε για την πλήρωση της στήλης ήταν 30 mg, που έχει χρησιμοποιηθεί και σε παρόμοιες περιπτώσεις⁹³, χωρίς να προκύψουν προβλήματα στην προσρόφηση του Cr^{III} ακόμη και όταν αναλύθηκαν πρότυπα συγκέντρωσης [Cr^{III}]=100ppb. Δοκιμάστηκε αρχικά όγκος υδατικού διαλύματος χρωμίου 400μL αλλά αντί για κορύφωση του σήματος, καταγράφηκε πλατό [Γράφημα 3.1, 1^η κορυφή]. Ο ιδανικός όγκος διαλύματος όπου το χρωματογράφημα παρουσίαζε κορυφή βρέθηκε να είναι 200μL [Γράφημα 3.1, 2^η κορυφή].

Το ισότοπο ⁵⁴Cr παρουσιάζει την μικρότερη ισοτοπική κλασματική αφθονία (0,02365) μεταξύ των τεσσάρων σταθερών φυσικών ισοτόπων του χρωμίου και το σήμα καταγραφής του καθίσταται αρκετά ευειρηρέαστο από τον φασματοσκοπικό παρεμπόδισμό του πολυατομικού ιόντος ⁴⁰Ar¹⁴N⁺. Το άζωτο προέρχεται από το διάλυμα έκλουσης (μίγμα HNO₃-NH₄OH) ενώ το αργό συνιστά το αέριο του πλάσματος. Η ένταση του σήματος λόγω αυτού του παρεμπόδισμού είναι αρκετά ισχυρή με αποτέλεσμα την επικάλυψη στο σήμα καταγραφής του ⁵⁴Cr [Γράφημα 3.2].

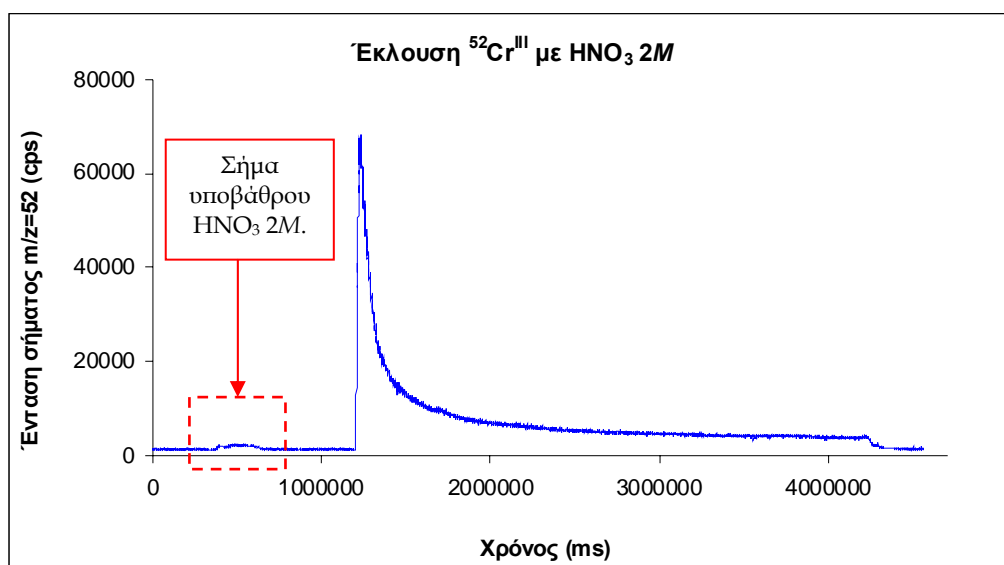


Γράφημα 3.2. Καταγραφή παρεμπόδιστικού πολυατομικού ιόντος ⁴⁰Ar¹⁴N⁺ για m/z 54 (πράσινο χρώμα), ⁵²Cr (μπλε χρώμα) και ⁵³Cr (κόκκινο χρώμα).

Το σήμα πράσινου χρώματος υποδηλώνει την καταγραφή του λόγου m/z 54 για τη μέτρηση του ⁵⁴Cr. Τη χρονική στιγμή t₂ αρχίζει η έκλυση με 80mM HNO₃ - 0,004% NH₄OH για την εκρόφηση του Cr^{III} και διαρκεί μέχρι την στιγμή t₃. Η ανάκτηση του χρωμίου έχει ολοκληρωθεί την στιγμή t_f γι' αυτό εμφανίζονται οι

κορυφές στο σήμα των ^{52}Cr και ^{53}Cr σε αντίθεση με το ^{54}Cr όπου δεν εμφανίζει κορυφή στο σήμα του αλλά διαγράφει πλατό για όση διάρκεια ρέει στη στήλη το διάλυμα $80\text{mM HNO}_3-0,004\%\text{NH}_4\text{OH}$, με τον ισχυρό παρεμποδισμό $^{40}\text{Ar}^{14}\text{N}^+$ να επικρατεί. Πριν και μετά την έκλυση, για m/z 54 το σήμα καταγράφει την τιμή υποβάθρου. Το χρωματογράφημα αυτό μπορεί μόνο να παράσχει πληροφορία για την χρονική διάρκεια της έκλυσης όχι όμως για τη συγκέντρωση του ^{54}Cr , γι' αυτό και απορρίφθηκε από τις υπόλοιπες αναλύσεις.

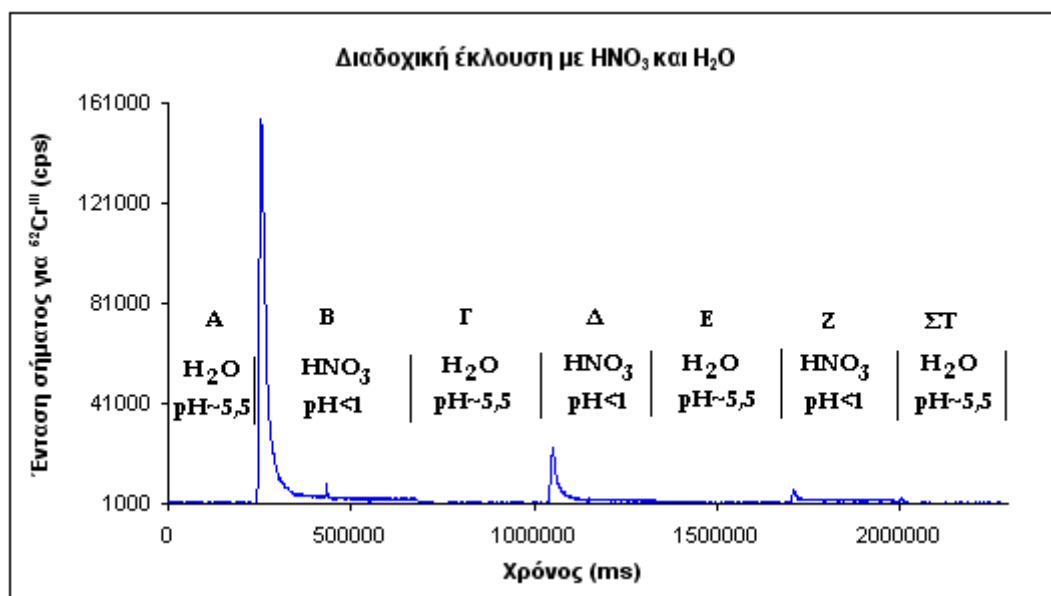
Ιδιαίτερη έμφαση δόθηκε στην επιλογή του κατάλληλου διαλύματος έκλυσης για την εκρόφιση του Cr^{III} . Η αρχική επιλογή αφορούσε πυκνό διάλυμα HNO_3 2M. Όμως παρατηρήθηκε μεγάλη καθυστέρηση στο χρόνο έκλυσης (50min). Επιπλέον η ανάκτηση του Cr^{III} ήταν αρκετά μικρότερη από 100% και θα μπορούσε να χαρακτηριστεί και ως απροσδιόριστη, ακόμη και ύστερα από έκλυση με 16mL HNO_3 2M [Γράφημα 3.3]. Εάν ήταν πλήρης η ανάκτηση το σήμα υποβάθρου του HNO_3 θα έπρεπε να είχε ίδια τιμή έντασης με το τελείωμα της «ουράς» της κορυφής.



Γράφημα 3.3. Έκλυση $^{52}\text{Cr}^{\text{III}}$ με 16mL HNO_3 2M.

Η ατελής ανάκτηση αλλά και η παρουσία παρατεταμένης ουράς της κορυφής στο Γράφημα 3.3 υποδεικνύει ότι κάποια ή κάποιες από τις υδρολυμένες μορφές του Cr^{III} δεν εκροφόνται ικανοποιητικά στις παρούσες συνθήκες ($\text{pH}<1$). Για την διερεύνηση αυτού του ενδεχόμενου δοκιμάστηκε η έκλυση συγκέντρωσης 50 ppb Cr^{III} μεταβάλλοντας το pH της στήλης. Η μεταβολή του pH στα προσροφημένα ιόντα θα επιφέρει μεταβολή και στην μορφή τους σύμφωνα με την κλασματική αναλογία των ειδών που περιγράφεται στο Διάγραμμα 3.1. Για το λόγο αυτό μετά την

προσρόφηση στη στήλη, πραγματοποιήθηκε έκλουση με HNO_3 1M ($\text{pH}<1$) και αφού η ουρά της κορυφής έκανε πλατό, προστέθηκε απιονισμένο νερό για να επικρατήσουν συνθήκες $\text{pH}\sim 5,5$. Ο κύκλος HNO_3 - H_2O επαναλήφθηκε τρεις φορές και το χρωματογράφημα ανάκτησης $^{52}\text{Cr}^{\text{III}}=50$ ppb φαίνεται στο Γράφημα 3.4.



Γράφημα 3.4. Εκρόφηση $^{52}\text{Cr}^{\text{III}}=50$ ppb με διαδοχικές εκλούσεις της στήλης με HNO_3 1M και H_2O απιονισμένο. Οι κάθετες γραμμές ορίζουν τις μεταβολές των συνθηκών που επικρατούν στη στήλη κατά την διάρκεια των φάσεων Α-ΣΤ.

Κατά την διάρκεια της πρώτης έκλουσης με HNO_3 (φάση Β) εκροφήθηκε περίπου το 80% του προσροφημένου Cr^{III} και όταν η ουρά παρουσίασε πλατό (ολοκλήρωση ανάκτησης) προστέθηκε H_2O . Με την προσθήκη νερού (φάση Γ) το pH της στήλης αυξήθηκε σε $\sim 5,5$ άρα τα ιόντα θα πρέπει να έχουν την μορφή $\text{Cr}(\text{OH})^{2+}$, $\text{Cr}(\text{OH})_2^+$ τα οποία παραμένουν προσροφημένα αφού το IEP των MWCNTs-COOH (~ 3) είναι μικρότερο από το pH . Με την νέα προσθήκη HNO_3 (φάση Δ) το pH στη στήλη μειώνεται <1 και ισχύει πλέον $\text{IEP}>\text{pH}$ οπότε εξουδετερώνεται το αρνητικό φορτίο στην επιφάνεια των MWCNTs-COOH , παύουν οι ελκτικές ηλεκτροστατικές δυνάμεις⁸⁵⁻⁹⁵, και αρχίζει η εκρόφηση των $\text{Cr}(\text{OH})^{2+}$, $\text{Cr}(\text{OH})_2^+$ που επικρατούσαν από την φάση Γ. Όμως σε τόσο χαμηλό pH αρχίζει να ενισχύεται και η παρουσία των Cr^{3+} τα οποία δεσμεύονται ισχυρότερα. Έτσι, πριν προλάβει να ανακτηθεί πλήρως η ποσότητα του Cr^{III} υπό την μορφή των $\text{Cr}(\text{OH})^{2+}$, $\text{Cr}(\text{OH})_2^+$, λόγω μετατόπισης της ισορροπίας, από την πτώση της τιμής του pH , αυξάνεται η συγκέντρωση των Cr^{3+} ιόντων, τα οποία παραμένουν ισχυρά προσροφημένα στο προσροφητικό υλικό.

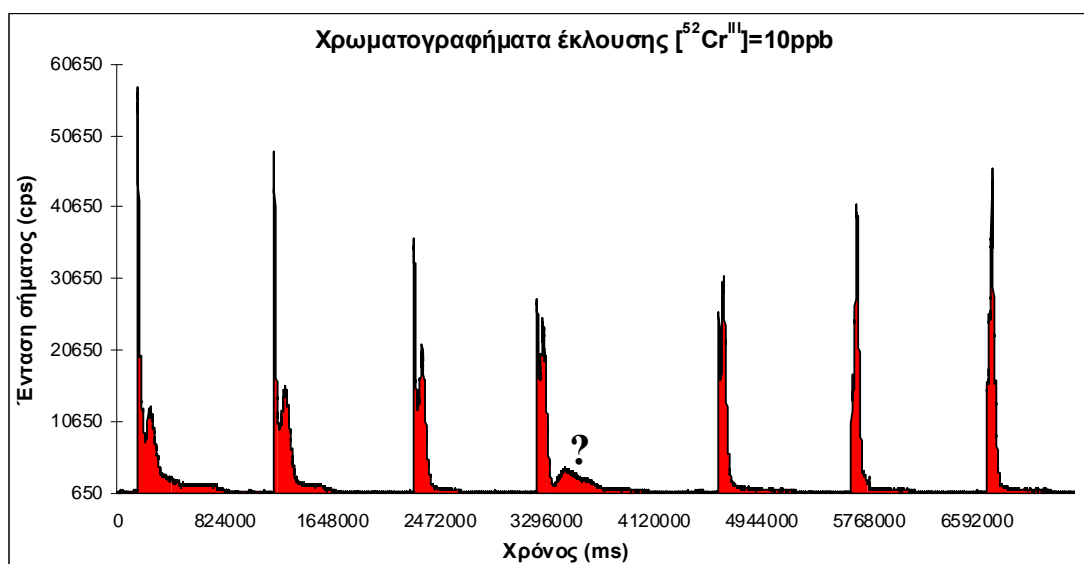
Σύμφωνα με αυτή την ερμηνεία, το πρότυπο των 50ppb σε απιονισμένο νερό (pH~5,5) εισήχθη στη στήλη και προσροφήθηκε πλήρως ως $Cr(OH)^{2+}$, $Cr(OH)_2^+$ (φάση Α). Κατά την έκλουσή του με HNO_3 (φάση Β) ποσότητα 20% παρέμεινε ως Cr^{3+} και ανακτήθηκε το 80%. Το 20% του Cr^{III} που παρέμεινε προσροφημένο, με τη διάλυση H_2O μετατράπηκε σε $Cr(OH)^{2+}$, $Cr(OH)_2^+$ (φάση Γ) και ανακτήθηκε μερικώς τη δεύτερη φορά (φάση Δ), όπου πάλι παρέμεινε ένα ποσοστό της τάξης του 20% το οποίο και ανακτήθηκε με τον ίδιο μηχανισμό (φάσεις Ε, ΣΤ) την τρίτη φορά.

Φαίνεται ότι τα $Cr(OH)^{2+}$, $Cr(OH)_2^+$ δρουν ως ιονανταλλάξιμα ιόντα με τα H^+ του HNO_3 ^{105,122}, σε αντίθεση με τα Cr^{3+} ιόντα που δεσμεύονται ισχυρότερα, φέροντας μεγαλύτερο φορτίο (3+) οπότε και απαιτείται αύξηση της ιοντικής ισχύος για την εκρόφησή τους. Ωστόσο, σύμφωνα με άλλες δημοσιεύσεις υπάρχουν ενδείξεις ότι το Cr^{III} μπορεί να δεσμεύεται και με μηχανισμούς χημειορόφησης ή συμπλοκοποίησης με την επιφάνεια των προσροφητικών υλικών. Δημιουργία συμπλόκων Cr^{III} με την επιφάνεια ενεργού άνθρακα έχει παρατηρηθεί από τον Ramos R. L. και τους συνεργάτες του¹²³, ενώ Ο Wang X. και οι συνεργάτες του¹²⁴ διερευνώντας την περίπτωση προσρόφησης Am^{III} από MWCNTs-COOH πιθανολόγησε ότι τα τρισθενή ιόντα Am σε υδατικά συστήματα είναι πιθανόν να δεσμεύονται με δεσμούς υδρογόνου στο εσωτερικό τμήμα του νανοσωλήνα και να εκροφούνται δύσκολα. Επίσης συμπλοκοποίηση Cr^{III} με οργανικούς υποκαταστάτες σε φυσικά προσροφητικά υλικά έχει παρατηρηθεί και από τον Dubbin W. E,¹²⁵ ενώ έχει προταθεί η δημιουργία συμπλόκων στις επιφάνειες του προσροφητικού υλικού και για άλλα μέταλλα¹²⁶. Ακόμη, σε χαμηλά pH παρουσία χλωρίου (από το διάλυμα stock του Cr^{III}) εικάζεται¹⁰⁵ ο σχηματισμός συμπλόκων $Cr(H_2O)_5Cl^{2+}$ και $Cr(H_2O)_5Cl_2^+$, τα οποία είναι άγνωστο πως μπορεί να ροφούνται στις επιφάνειες των MWCNTs-COOH. Οπότε δεν είναι απίθανο στις διεργασίες που αφορούν τα Cr^{3+} ιόντα να εμπλέκονται και άλλοι μηχανισμοί ρόφησης.

Σε κάθε περίπτωση, το ποσοστό της πρώτης ανάκτησης δεν κρίθηκε ικανοποιητικό (~80%) και δοκιμάστηκε αύξηση της ιοντικής ισχύος του διαλύματος έκλουσης με προσθήκη NH_4OH ενώ παράλληλα μειώθηκε η συγκέντρωση του HNO_3 για να ελαττωθεί η συνεισφορά του παρεμποδισμού $^{38}Ar^{14}N$ στο σήμα καταγραφής του $^{52}Cr^{III}$. Έχει παρατηρηθεί⁹⁴ ότι η αύξηση της ιοντικής ισχύος προκαλεί περιορισμό στην προσροφητική ικανότητα των καρβοξυλιωμένων MWCNTs. Πιθανές αιτίες^{126,127} είναι ο ανταγωνισμός των ιόντων NH_4^+ με τις θέσεις προσρόφησης του Cr^{III} στην

επιφάνεια των MWCNTs-COOH και η αποδυνάμωση των ελκτικών ηλεκτροστατικών δυνάμεων μεταξύ των MWCNTs-COOH και των Cr^{III}.

Αρχικά διερευνήθηκε ποια είναι η μικρότερη δυνατή συγκέντρωση του HNO₃ για την μερική εκρόφιση του τρισθενούς χρωμίου. Η συγκέντρωση στην οποία οι κορυφές καταγράφονταν με ικανοποιητική τιμή έντασης βρέθηκε να είναι 80mM. Πάραυτα, το ποσοστό ανάκτησης του χρωμίου κατά την ανάλυση προτύπων διαλυμάτων, όπως και πριν, δεν υπερέβαινε το 85%. Πέραν τούτου όμως, αξιοσημείωτη ήταν η μορφή των κορυφών, οι οποίες εμφανιζόταν διχοτομημένες όταν το πρότυπο διάλυμα αναλυόταν αμέσως μετά την παρασκευή του, σε αντίθεση με την ανάλυση «ώριμων» προτύπων όπου η κορυφή αποκτούσε το αναμενόμενο σχήμα μιας χρωματογραφικής κορυφής.

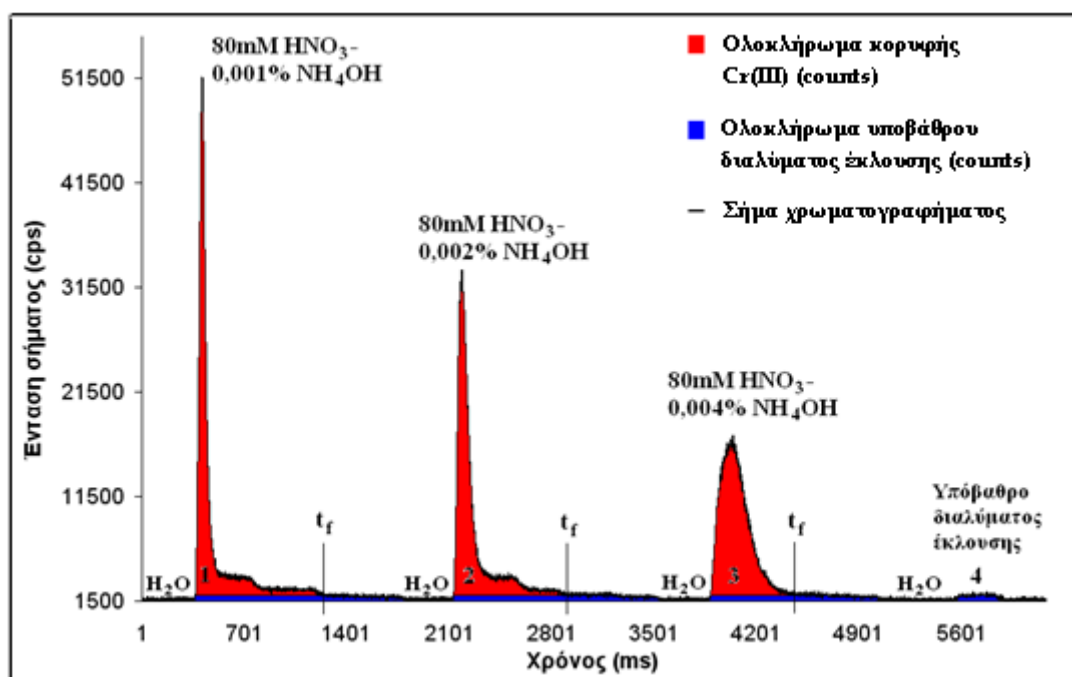


Γράφημα 3.5. Χρωματογραφήματα έκλουσης [52Cr^{III}]=10ppb με 80mM HNO₃. Η ανάλυση αφορά στο ίδιο πρότυπο διάλυμα χρωμίου. Η πρώτη κορυφή είναι αμέσως μετά την παρασκευή του και η τελευταία ~2,5 ώρες μετά. Τα ολοκληρώματα των κορυφών απεικονίζονται στη κόκκινη περιοχή. Το ερωτηματικό αφορά άγνωστη κορυφή.

Το Γράφημα 3.5 απεικονίζει το χρωματογράφημα διαδοχικών καταγραφών του ίδιου πρότυπου Cr^{III} συγκέντρωσης 10 ppb, με αναλύσεις ανά 20 λεπτά. Στην πρώτη μέτρηση, που πραγματοποιήθηκε 10 λεπτά μετά την παρασκευή του προτύπου, η κύρια κορυφή εμφανίζεται διχοτομημένη, με την πρώτη εκ των δύο επιμέρους κορυφών να έχει αρκετά μεγαλύτερη ένταση από τη δεύτερη. Όσο το πρότυπο «ωριμάζει» μειωνόταν η ένταση της πρώτης κορυφής και αυξανόταν η ένταση της δεύτερης. Μετά ~2,5 ώρες από την παρασκευή του προτύπου, η διχοτόμηση της κύριας κορυφής εξαλείφθηκε και καταγραφόταν μία κύρια κορυφή. Δεδομένου ότι η ανάκτηση ήταν ατελής, δεν διενεργήθηκαν περαιτέρω πειράματα

για την ταυτοποίηση των επιμέρους κορυφών. Όμως, το πιθανότερο είναι το χρωματογράφημα του Γραφήματος 3.5 να περιγράφει την εν εξελίξει μετατόπιση της χημικής ισορροπίας μεταξύ διαφορετικών ειδών του Cr^{III} . Υποθέτοντας ότι είναι ορθή η προηγούμενη προσέγγιση, και ότι τα Cr^{3+} ιόντα δεν εκροφώνται με HNO_3 , είναι πολύ πιθανό η μεταβολή της ισορροπίας που φαίνεται στο Γράφημα 3.5 να αφορά τα ιόντα $\text{Cr}(\text{OH})_2^{2+}$ και $\text{Cr}(\text{OH})_2^+$. Η παρατήρηση αυτή λήφθηκε υπ' όψιν και τα πρότυπα (όχι τα δείγματα) αναλυόταν με χρονοκαθυστέρηση 2 ωρών από τη στιγμή της παρασκευής τους.

Στην συνέχεια, στο διάλυμα έκλυσης HNO_3 80mM προστέθηκαν διάφορες ποσότητες NH_4OH για να ελεγχθεί το ποσοστό ανάκτησης του Cr^{III} . Στο Γράφημα 3.6 φαίνεται το χρωματογράφημα της ανάκτησης του Cr^{III} από τρία πρότυπα υδατικά διαλύματα συγκέντρωσης $[\text{}^{52}\text{Cr}^{\text{III}}]=10\text{ppb}$ με διάλυμα έκλυσης 80mM HNO_3 και αυξανόμενης συγκέντρωσης NH_4OH (οι τιμές φαίνονται στο Γράφημα 3.6).



Γράφημα 3.6. Ανάκτηση $^{52}\text{Cr}^{\text{III}}$ με διαλύματα 1) 80mM HNO_3 -0,001% NH_4OH , 2) 80mM HNO_3 -0,002% NH_4OH και 3) 80mM HNO_3 -0,004% NH_4OH . Κόκκινο χρώμα για ολοκλήρωση κορυφής αντίστοιχο της συγκέντρωσης του χρωμίου, μπλε χρώμα ολοκλήρωμα αντίστοιχο του διαλύματος έκλυσης.

Με την προσθήκη NH_4OH και στις τρεις περιπτώσεις, 1, 2 και 3 του Γραφήματος 3.6, η ανάκτηση χρωμίου είναι ~103%, ύστερα από σύγκριση των ολοκληρωμάτων αυτών των προτύπων, που είχαν διέλθει από τη στήλη, με ολοκλήρωμα κορυφής πρότυπου διαλύματος Cr^{III} 10 ppb που μετρήθηκε χωρίς να περάσει από την στήλη.

Η αύξηση της συγκέντρωσης NH_4OH (από κορυφή 1 προς 3), προκαλεί μείωση στην ένταση της κορυφής και αύξηση του πλάτους στη βάση της. Η ένταση του σήματος υποβάθρου για το απιονισμένο νερό ταυτίζεται με τον οριζόντιο άξονα (~1500 cps) ενώ η ένταση για το διάλυμα έκλουσης είναι ελαφρώς υψηλότερη, περίπου 1750 cps, και οριοθετείται στη μπλε περιοχή. Η ένταση αυτή προσδιορίστηκε από το μέσο όρο όλων των τιμών έντασης της κορυφής 4, που αφορά τη διέλευση από τη στήλη διαλύματος 80mM HNO_3 -0,004% NH_4OH απουσία χρωμίου (εκλαμβάνεται ως «τυφλό» για την περίπτωση έκλουσης του Cr^{III}).

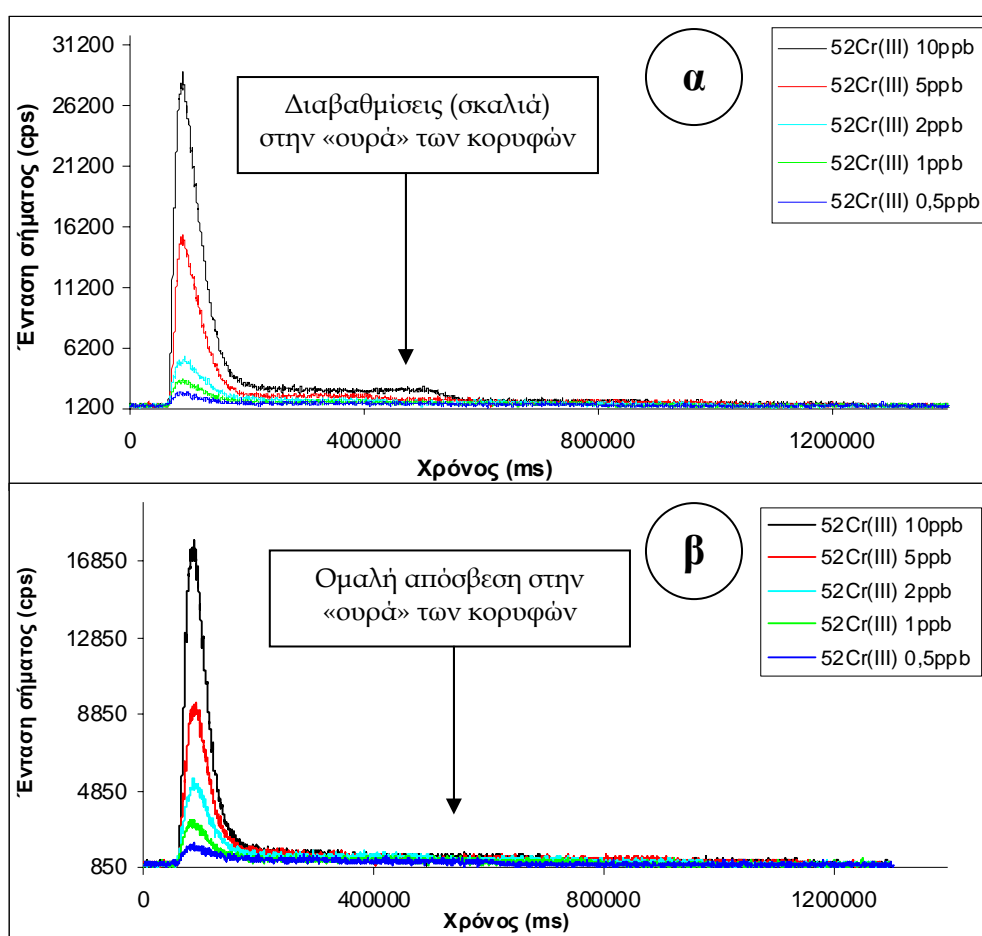
Οπότε, κατά την ανάκτηση του Cr^{III} , το ύψος της αντίστοιχης κορυφής δεν προέρχεται μόνο από τη παρουσία χρωμίου αλλά ενισχύεται και από το διάλυμα έκλουσης. Γι' αυτό και η ανάκτηση του Cr^{III} ολοκληρώνεται στο σημείο t_f όπου η ένταση του σήματος λαμβάνει ίδια τιμή με αυτή του «τυφλού» (κορυφή 4). Η «ουρά» των κορυφών που φαίνεται μετά οφείλεται στην παρουσία του διαλύματος έκλουσης και όχι στο χρώμιο. Έτσι, κατά τον υπολογισμό των ολοκληρωμάτων των κορυφών αφαιρείται από το συνολικό εμβαδό, αυτό της μπλε περιοχής (διάλυμα έκλουσης) και υπολογίζεται μόνο αυτό της κόκκινης περιοχής (χρώμιο).

Όταν στο διάλυμα έκλουσης προστέθηκε NH_4OH , το pH του απέκτησε τιμή $\text{pH} \sim 1,5$, οπότε παρέμειναν ίδιες οι συνθήκες εκρόφησης για τα $\text{Cr}(\text{OH})_2^{2+}$ και $\text{Cr}(\text{OH})_2^+$, ενώ η παρουσία NH_4^+ προκάλεσε την εκρόφηση των ιόντων Cr^{3+} . Στην «ουρά» των κορυφών 1 και 2 [Γράφημα 3.6], πριν από τον χρόνο t_f , παρουσιάζονται διαβαθμίσεις (σκαλιά), μεγαλύτερης διάρκειας στην περίπτωση 1 απ' ότι στη 2, ενώ στη κορυφή 3 η «ουρά» φθίνει ομαλά προς το υπόβαθρο. Με τη προσθήκη NH_4OH παρατηρήθηκε πλήρης ανάκτηση του Cr^{III} , ενδεχομένως τότε οι διαβαθμίσεις στην «ουρά» των κορυφών να απεικονίζουν την ανάκτηση του Cr^{III} υπό την μορφή Cr^{3+} λόγω παρουσίας NH_4OH το οποίο αυξανόμενης της συγκέντρωσής του, τις εξομάλυνε όταν απέκτησε συγκέντρωση 0,004% (κορυφή 3), δεδομένου ότι $\text{Cr}(\text{OH})_2^{2+}$ και $\text{Cr}(\text{OH})_2^+$ εκροφόνταν και απουσία NH_4OH μόνο με HNO_3 .

Η προηγούμενη περιγραφή περιλαμβάνει το μηχανισμό της ιονανταλλαγής των $\text{Cr}(\text{OH})_2^{2+}$ και $\text{Cr}(\text{OH})_2^+$ με τα H^+ προϊόντα διάστασης του HNO_3 όταν το pH του διαλύματος είναι χαμηλότερο από το IEP των MWCNTs-COOH. Τα ισχυρότερα προσροφημένα Cr^{3+} απαιτούν την παρουσία των NH_4^+ με αδιευκρίνιστο μηχανισμό ρόφησης εκρόφησης. Ωστόσο, η ανάκτησή τους με αύξηση της ιοντικής

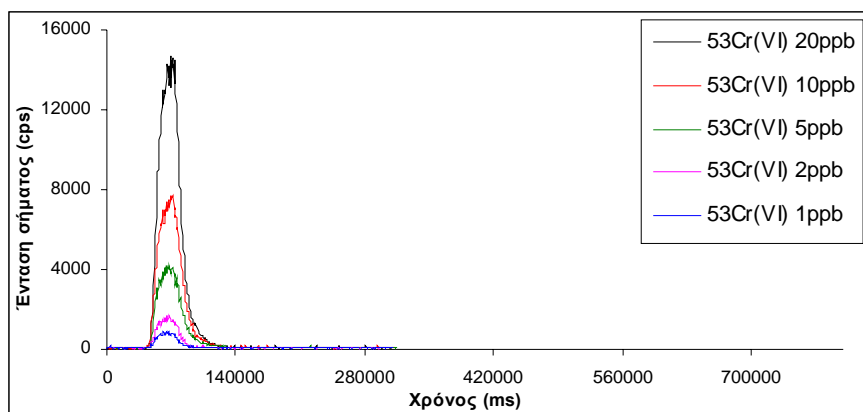
ισχύος μάλλον παραπέμπει σε μηχανισμό ιονανταλλαγής. Άρα, χρησιμοποιώντας «ώριμα» πρότυπα και διάλυμα έκλουσης 80mM HNO₃ - 0,004% NH₄OH καταγράφεται μία κορυφή που αντιστοιχεί στην ποσοτική ανάκτηση του Cr^{III} [Γράφημα 3.6, κορυφή 3].

Το Γράφημα 3.7 απεικονίζει της κορυφές προτύπων διαλυμάτων ⁵²Cr^{III}. Στο 3.7.α η έκλυση έγινε με 80mM HNO₃-0,002%NH₄OH ενώ στο 3.7.β με 80mM HNO₃-0,004%NH₄OH. Στο 3.7.α είναι εμφανείς οι διαβαθμίσεις του σήματος στις «ουρές» των κορυφών σε αντίθεση με τα χρωματογραφήματα του 3.7.β όπου το σήμα φθίνει ομαλότερα. Επίσης, στη δεύτερη περίπτωση είναι χαρακτηριστική και η μειωμένη ένταση του σήματος όπως επισημάνθηκε και στην ανάλυση του Γραφήματος 3.6.



Γράφημα 3.7. Χρωματογράφημα προτύπων υδατικών διαλυμάτων ⁵²Cr^{III}. Οι συγκεντρώσεις από χαμηλή κορυφή προς υψηλή είναι: 0,5, 1, 2, 5 και 10ppb. Η έκλυση πραγματοποιήθηκε με α) 80mM HNO₃-0,002%NH₄OH και β) 80mM HNO₃-0,004%NH₄OH.

Όσον αφορά την ανάκτηση του εξασθενούς χρωμίου δεν παρουσιάστηκε κάποια ιδιαιτερότητα στη μορφή των χρωματογραφημάτων του, διότι δεν φαίνεται να υπήρχε αλληλεπίδραση με το προσροφητικό υλικό της στήλης.



Γράφημα 3.8. Καταγραφή $^{53}\text{Cr}^{\text{VI}}$. Οι συγκεντρώσεις από χαμηλή προς υψηλή κορυφή είναι: 1, 2, 5, 10 και 20ppb.

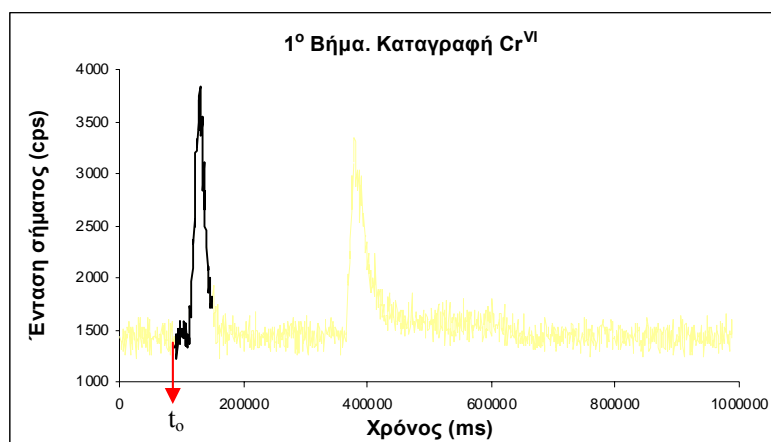
Το Cr^{VI} απλώς διέρχονταν της στήλης για όση διάρκεια αναλυόταν το πρότυπο διάλυμα και μετά ακολουθούσε έκπλυση με αποιονισμένο νερό. Στο Γράφημα 3.8 φαίνεται το χρωματογράφημα ανάκτησης για το ισότοπο $^{53}\text{Cr}^{\text{VI}}$ σε συγκεντρώσεις 1, 2, 5, 10 και 20 ppb.

3.4 Δομή της Μεθόδου

Σύμφωνα με όσα ειπώθηκαν, η διαδικασία μέτρησης διαλυμάτων που εμπεριέχουν Cr^{III} και Cr^{VI} μπορεί να ολοκληρωθεί σε τέσσερα βήματα.

i) Βήμα 1^ο

Το πρώτο βήμα περιλαμβάνει την είσοδο του υδατικού πρότυπου διαλύματος (ή δείγματος) χρωμίου όγκου 200μL, στη στήλη τη χρονική στιγμή t_0 και την άμεση καταγραφή της πρώτης κορυφής που αντιστοιχεί στο Cr^{VI} .

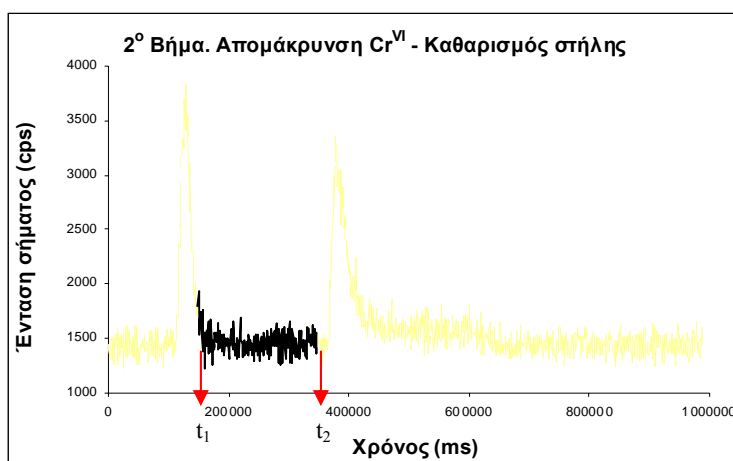


Γράφημα 3.9. 1^ο Βήμα της μέτρησης. Καταγραφή Cr^{VI} (μαύρο χρώμα). Στο φόντο φαίνεται η συνολική μέτρηση. Σε χρόνο t_0 οριοθετείται η είσοδος του διαλύματος ή η έναρξη της πειραματικής διαδικασίας.

Σε αυτή τη φάση το Cr^{III} προσροφάται από τα MWCNTs-COOH σε αντίθεση με το Cr^{VI} που απλώς διέρχεται της στήλης γι' αυτό και καταγράφεται άμεσα [Γράφημα 3.9]. Η χρονική διάρκεια είναι 40s.

ii) Βήμα 2^ο

Το δεύτερο βήμα ορίζεται χρονικά από το πέρας του πρώτου βήματος t_1 μέχρι το σημείο t_2 [Γράφημα 3.10]. Αμέσως μετά την διέλευση του υδατικού διαλύματος χρωμίου (όπου ήδη καταγράφηκε η κορυφή του Cr^{VI}) και χωρίς να υπάρξει διακοπή στη ροή (άρα και στην καταγραφή του σήματος), προστίθεται απιονισμένο νερό (18,2 ΜΩ·cm) αποσκοπώντας αφενός στον καθαρισμό της στήλης από τη μήτρα του υδατικού διαλύματος χρωμίου που έχει προηγηθεί, αφετέρου στην πλήρη απομάκρυνση του εξασθενούς χρωμίου που πιθανόν να έχει εναπομείνει στα τοιχώματα τη στήλης ή στο tube. Γι' αυτό, εξάλλου, το σήμα αμέσως μετά το χρονικό σημείο t_1 , είναι ελαφρώς υπερυψωμένο και φθίνει προς το υπόβαθρο.

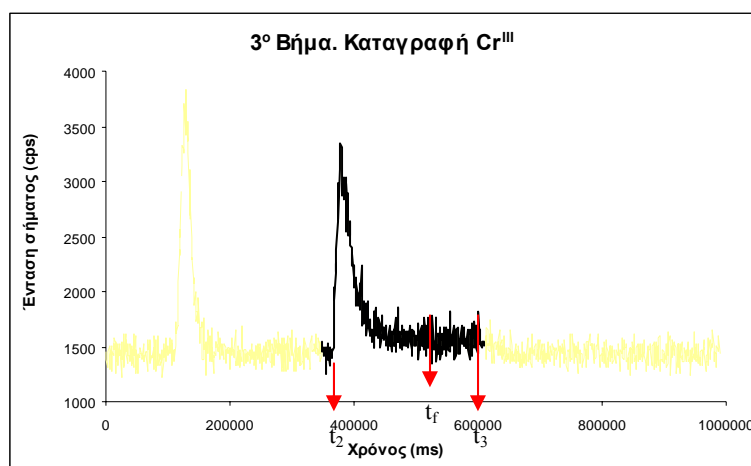


Γράφημα 3.10. 2^ο βήμα της μέτρησης. Από χρόνο t_1 έως t_2 ρέει απιονισμένο νερό για τον καθαρισμό της στήλης (μαύρο χρώμα). Το φόντο απεικονίζει την συνολική μέτρηση.

Το pH του απιονισμένου νερού, άρα και της στήλης, έχει υψηλότερη τιμή (~5,5) από το IEP των MWCNTs-COOH στα οποία παραμένει προσροφημένο το Cr^{III} , οπότε δεν συντρέχουν λόγοι να παρατηρηθεί κάποιου είδους μεταβολή (π.χ. εκρόφιση Cr^{III}) στην παρούσα φάση. Η συγκέντρωση του Cr^{VI} καθορίζει τη ποσότητα του απιονισμένου νερού για το καθαρισμό της στήλης άρα και το χρόνο που διαρκεί αυτή η φάση. Για 100ppb απαιτήθηκαν 4 mL H_2O μέχρι το σήμα να «φτάσει» την ένταση υποβάθρου, δηλαδή περίπου 13 min. Σε συγκεντρώσεις χαμηλότερες του 1ppb αρκούσε 1 mL H_2O με χρόνο διέλευσης 3,5 min.

iii) Βήμα 3^ο

Στο 3^ο βήμα ακολουθεί η ανάκτηση του Cr^{III}, που είχε προσροφηθεί στη διάρκεια του 1^{ου} βήματος, με διάλυμα έκλουσης 80mM HNO₃ - 0,004%NH₄OH στη χρονική διάρκεια από t₂ έως t_f [Γράφημα 3.11]. Μετά την διέλευση του απιονισμένου νερού του 2^{ου} βήματος, αμέσως προστίθεται το διάλυμα έκλουσης για να υπάρχει συνέχεια στη καταγραφή του σήματος. Η ανάκτηση έχει ολοκληρωθεί στο χρονικό σημείο t_f. Μετά και μέχρι το σημείο t₃ καταγράφεται η ένταση του υποβάθρου του διαλύματος έκλουσης.



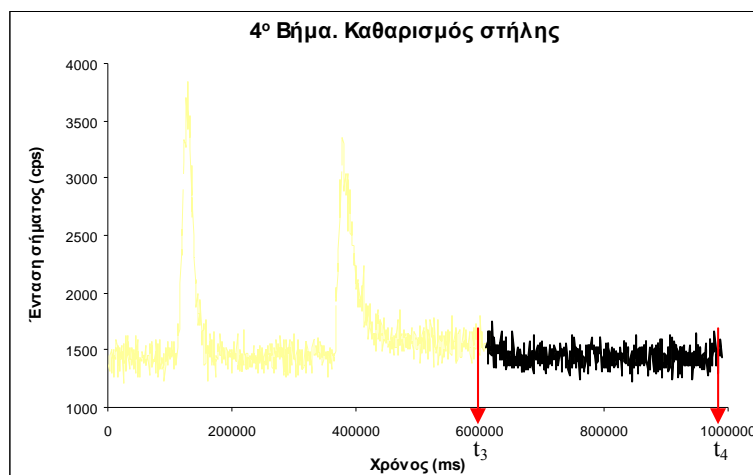
Γράφημα 3.11. 3^ο βήμα της μέτρησης. Καταγραφή Cr^{III} (μαύρο χρώμα). Στο φόντο φαίνεται η συνολική μέτρηση. Σε χρόνο t₂ οριοθετείται η είσοδος του διαλύματος έκλουσης το οποίο ρέει μέχρι τη χρονική στιγμή t₃.

Ο όγκος του διαλύματος έκλουσης ήταν επίσης συνάρτηση της συγκέντρωσης του Cr^{III}. Για την ανάκτηση 100 ppb Cr^{III} χρειάστηκαν 5mL διαλύματος 80mM HNO₃ - 0,004%NH₄OH με διάρκεια έκλουσης 17 min, ενώ για 1ppb Cr^{III} χρειάστηκαν 2 mL με διάρκεια έκλουσης 7 min.

iv) Βήμα 4^ο

Στο τελευταίο βήμα απαιτείται ο καθαρισμός της στήλης από την διαδικασία που έχει προηγηθεί, με έκπλυσή της με απιονισμένο νερό 18,2 MΩ·cm. Το σήμα που καταγράφεται φαίνεται με μαύρο χρώμα στο Γράφημα 3.12 μεταξύ των χρόνων t₃ και t₄. Αρχικά η ένταση του καταγραφόμενου σήματος έχει υψηλή τιμή και αποδίδεται στην πρωτότερη διέλευση του διαλύματος 80mM HNO₃ - 0,004%NH₄OH, αλλά πολύ γρήγορα η εναπομείνουσα ποσότητα απομακρύνεται και η ένταση επιστρέφει στην τιμή υποβάθρου του απιονισμένου νερού, όπως ακριβώς και στην αρχή του πειράματος. Η ποσότητα του νερού που χρησιμοποιήθηκε ήταν 6mL με διάρκεια

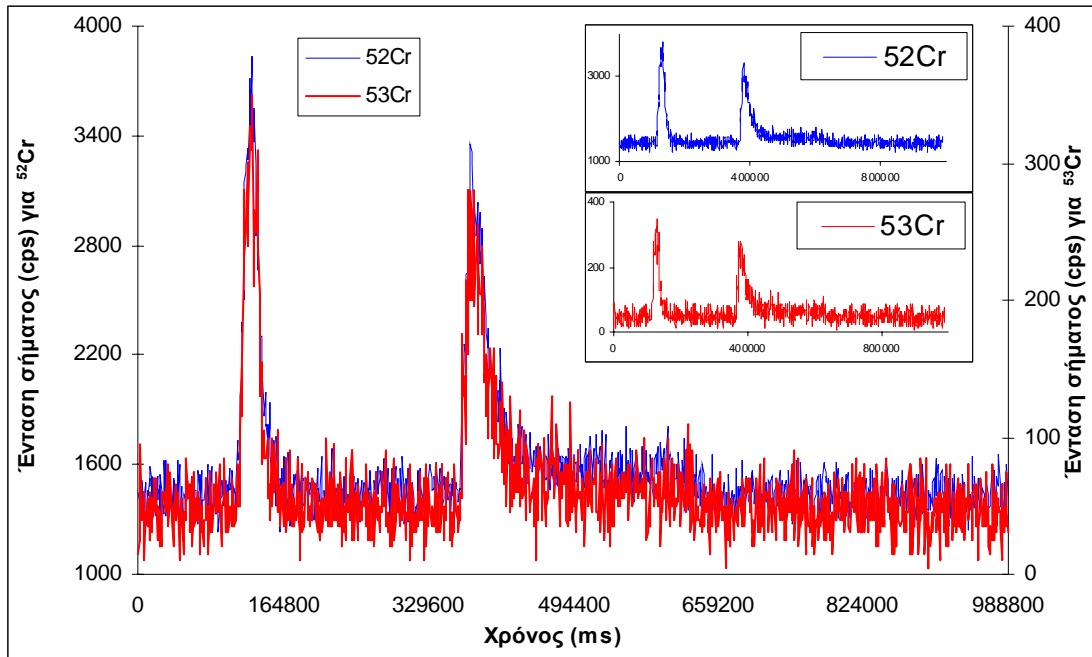
διέλευσης από τη στήλη 20 min. Ο χρόνος αυτός αν και δεν ανήκει στην «πραγματική» πειραματική διάρκεια μέτρησης, δεδομένου ότι ο προσδιορισμός του χρωμίου έχει ολοκληρωθεί τη στιγμή t_3 , συνυπολογίζεται διότι συνήθως έπονται διαδοχικά και άλλες μετρήσεις διαλυμάτων και σε αυτή την περίπτωση επηρεάζει αυξητικά τη συνολική χρονική διάρκεια.



Γράφημα 3.12. Καθαρισμός της στήλης με αποιονισμένο νερό μετά την λήξη του πειράματος

Συμπερασματικά, η μέγιστη χρονική διάρκεια που απαιτείται για ανάλυση δείγματος που περιέχει 100 ppb Cr^{III} και 100 ppb Cr^{VI} είναι περίπου 31 min ενώ για διαλύματα μικρότερων συγκεντρώσεων ο χρόνος αυτός μειώνεται μέχρι 11 min για συγκεντρώσεις Cr^{III} και Cr^{VI} μικρότερες από 2 ppb. Εάν πρόκειται να ακολουθήσουν και άλλες μετρήσεις τότε στους παραπάνω χρόνους συνεκτιμώνται και τα 20 min που απαιτούνται για το καθαρισμό της στήλης μεταξύ των μετρήσεων.

Τελικά, το πλήρες σήμα καταγραφής υδατικού διαλύματος που περιέχει Cr^{VI} και Cr^{III} θα έχει τη μορφή που φαίνεται στο Γράφημα 3.13 το οποίο απεικονίζει τις μαύρες περιοχές των Γραφημάτων 3.9 έως 3.12 και αφορά στη μέτρηση πρότυπου διαλύματος $[\text{Cr}^{\text{III}}]=0,5$ ppb και $[\text{Cr}^{\text{VI}}]=0,5$ ppb. Η πρώτη κορυφή αφορά στην καταγραφή του Cr^{VI} και η δεύτερη στο Cr^{III} . Στο Γράφημα 3.13 φαίνονται μόνο τα ισότοπα ^{52}Cr (μπλε χρώμα) και ^{53}Cr (κόκκινο χρώμα). Στις μικρογραφίες φαίνονται τα χρωματογραφήματα κάθε ισότοπου χωριστά. Το ^{54}Cr αποκλείστηκε λόγω ισχυρών παρεμποδισμών (βλ. §3.3) και το ^{50}Cr λόγω μεγάλης διακύμανσης στο σήμα καταγραφής του, οφειλόμενη στη χαμηλή ισοτοπική του αφθονία (βλ. § 4.1).



Γράφημα 3.13. Χρωματογράφημα μέτρησης των ισοτόπων ^{52}Cr (μπλε χρώμα) και ^{53}Cr (κόκκινο χρώμα) των δύο οξειδωτικών καταστάσεων του χρωμίου Cr^{III} και Cr^{VI} συγκέντρωσης 0,5 ppb έκαστο.

Κεφάλαιο 4

Χαρακτηρισμός της μεθόδου

Ο χαρακτηρισμός της μεθόδου πραγματοποιήθηκε με την διερεύνηση και αξιολόγηση τεσσάρων κύριων παραμέτρων που μπορούν να την περιγράψουν. Την ανάκτηση, τα όρια ανίχνευσης, τη γραμμικότητα και την επαναληψιμότητα.

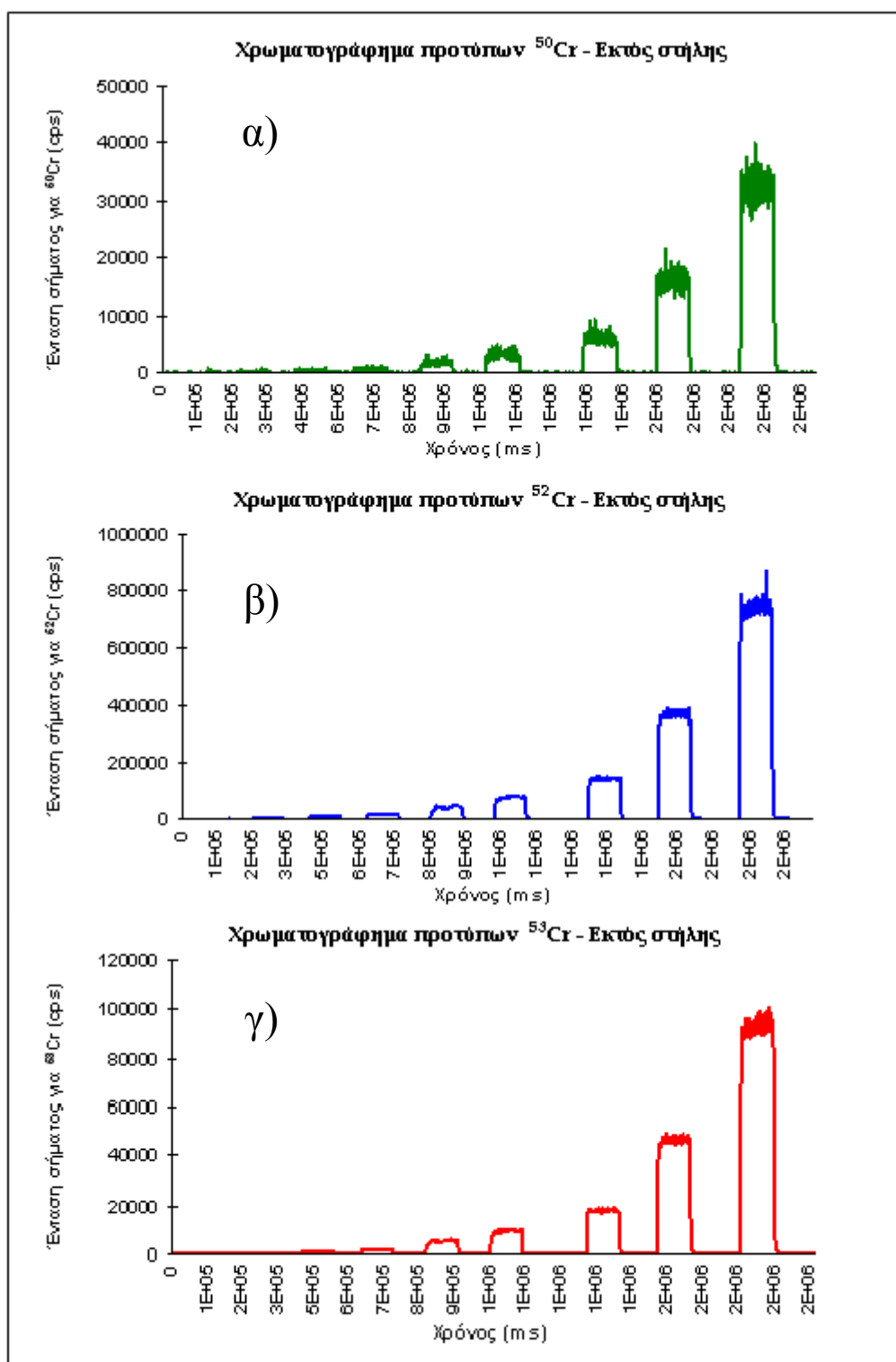
Η ανάκτηση του χρωμίου ήταν η πρώτη παράμετρος που εξετάστηκε για να διασφαλιστεί ότι δεν πραγματοποιείται εσφαλμένη εκτίμηση των συγκεντρώσεων οφειλόμενη σε πιθανούς παρεμποδισμούς από τη διαδικασία. Εστιάστηκε κυρίως στην εκρόφηση του Cr^{III} με διάλυμα έκλουσης 80mM HNO₃ - 0,004% NH₄OH (pH=1,5) δεδομένου ότι τα οξοανιόντα του Cr^{VI} δεν αλληλεπιδρούν με το προσροφητικό υλικό και απλώς διέρχονται της στήλης. Ο προσδιορισμός των ορίων ανίχνευσης μιας μεθόδου, ως ποσοτικό χαρακτηριστικό, αποτελεί κρίσιμη παράμετρο που απαραίτητως πρέπει να εκτιμηθεί. Η γραμμικότητα της μεθόδου πραγματοποιήθηκε με τη διερεύνηση της σχέσης που συνδέει τα ολοκληρώματα των κορυφών με τις αντίστοιχες συγκεντρώσεις του χρωμίου, σε εύρος συγκεντρώσεων από 0,5 έως 100 ppb. Οι εξισώσεις που περιγράφουν τη γραμμικότητα ενδέχεται να διαφέρουν αφού το καταγραφόμενο σήμα εξαρτάται από την απόκριση του ICP-MS της ημέρας που γίνεται η μέτρηση. Από τον έλεγχο της επαναληψιμότητας απορρέει, σε ένα βαθμό, η βεβαιότητα για τη συνεχή και όμοια καταγραφή του χρωματογραφήματος της αυτής συγκέντρωσης, όταν, όπως είναι λογικό, υπεισέρχονται τυχαία πειραματικά σφάλματα στις μετρήσεις. Οι μαθηματικοί τύποι και η στατιστική ανάλυση των δεδομένων βασίστηκε στο βιβλίο «Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry»¹²⁸.

4.1 Ανάκτηση

Για την ορθότητα των αποτελεσμάτων της μεθόδου εξετάστηκε το ενδεχόμενο η διεργασία διέλευσης διαλυμάτων χρωμίου μέσω της στήλης να προκαλεί αλλοίωση στη καταγραφή σήματος (υποεκτίμηση ή υπερεκτίμηση της συγκέντρωσης). Ο έλεγχος αυτός πραγματοποιήθηκε συγκρίνοντας τα ολοκληρώματα κορυφών, που αντιστοιχούν σε συγκεκριμένες γνωστές συγκεντρώσεις διαλυμάτων χρωμίου που δεν έχουν διέλθει από τη στήλη, με εκείνα διαλυμάτων χρωμίου που έχουν διέλθει από τη στήλη. Είναι αναμενόμενο, η σύγκριση δύο τέτοιων ολοκληρωμάτων να παρουσιάσει απόκλιση δεδομένου ότι στις τιμές των ολοκληρωμάτων εισέρχονται σφάλματα προερχόμενα από αστάθμητους πειραματικούς παράγοντες (τυχαίο σφάλμα) γι' αυτό και πέραν της σύγκρισης των ολοκληρωμάτων, ελέγχθηκαν επίσης η τυπική απόκλιση της μέσης ανάκτησης και η διακύμανση των τιμών.

Τα χρωματογραφήματα των πρότυπων διαλυμάτων που δεν διήλθαν της στήλης αφορούν μετρήσεις ολικού χρωμίου, αφού δεν έχει προηγηθεί διεργασία διαχωρισμού των οξειδωτικών καταστάσεων του χρωμίου. Οπότε, ο έλεγχος για ανάκτηση διενεργήθηκε με σύγκριση των ολοκληρωμάτων διαφορετικών προτύπων Cr^{III} και Cr^{VI} που διήλθαν από τη στήλη και αυτών του ολικού χρωμίου που μετρήθηκαν εκτός στήλης.

Οι συγκεντρώσεις που μετρήθηκαν ήταν 0,5, 1, 2, 5, 10, 20, 50 και 100 ng Cr/mL (ppb). Οι όγκοι των προτύπων διαλυμάτων ήταν 1000 μL και το ολοκλήρωμα των κορυφών τους διαιρέθηκε δια 5, για να γίνει αναγωγή των τιμών των ολοκληρωμάτων σε όγκους όμοιους με εκείνων των προτύπων που διήλθαν της στήλης που ήταν 200 μL . Στον Πίνακα 4.1 καταγράφονται οι τιμές των ολοκληρωμάτων μετά τη διαίρεσή τους, και στο Γράφημα 4.1 φαίνεται το σήμα καταγραφής για τα τρία ισότοπα ^{50}Cr , ^{52}Cr και ^{53}Cr .



Γράφημα 4.1. Χρωματογραφήματα προτύπων α) ^{50}Cr , β) ^{52}Cr και γ) ^{53}Cr που δεν έχουν διέλθει από τη στήλη. Όγκος διαλυμάτων 1000 μL . Από αριστερά προς τα δεξιά οι συγκεντρώσεις είναι: 0,5, 1, 2, 5, 10, 20, 50 και 100 ng Cr/mL (ppb).

Πίνακας 4.1. Ολοκληρώματα κορυφών προτύπων διαλυμάτων Cr_{tot} εκτός στήλης								
	0,5 ppb	1 ppb	2 ppb	5 ppb	10 ppb	20 ppb	50 ppb	100 ppb
$^{50}\text{Cr}_{\text{tot}}$	2876	5886	12149	35143	67201	126686	331822	666925
$^{52}\text{Cr}_{\text{tot}}$	75869	155697	303104	824227	1543007	2893145	7545255	15338866
$^{53}\text{Cr}_{\text{tot}}$	9355	19529	38562	104593	195402	366761	951546	1922373

4.1.1 Ανάκτηση Cr^{III}

Παρασκευάστηκαν πρότυπα διαλύματα Cr^{III}, όγκου 200 μL. Οι συγκεντρώσεις των προτύπων ήταν 0,5, 1, 2, 5, 10, 20 και 50 ppb και ακολούθησε η έκλουσή τους μέσω της MWCNTs - COOH στήλης. Τα ολοκληρώματα των κορυφών από την ανάκτηση του Cr^{III}, με διάλυμα έκλουσης HNO₃ 80 mM - NH₄OH 0,004%, καταχωρούνται στον Πίνακα 4.2 και συγκρίθηκαν με αυτά του Πίνακα 4.1.

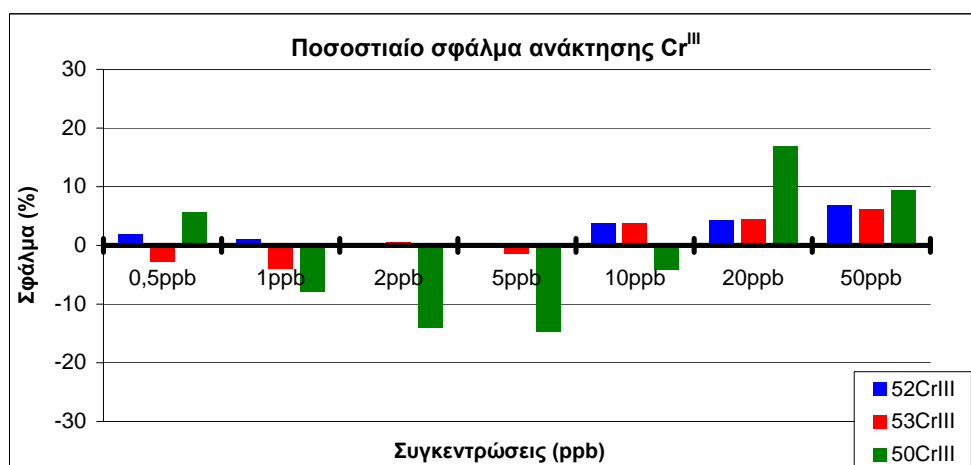
Πίνακας 4.2. Ολοκληρώματα κορυφών ανακτημένων προτύπων Cr^{III}							
	0,5 ppb	1 ppb	2 ppb	5 ppb	10 ppb	20 ppb	50 ppb
⁵⁰ Cr ^{III}	3041	5423	10450	29980	64440	148171	363187
⁵² Cr ^{III}	77373	157414	303027	825569	1600564	3016645	8069743
⁵³ Cr ^{III}	9090	18744	38803	103139	202982	383192	1011090

Για όλες τις συγκεντρώσεις του Πίνακα 4.2 και για κάθε ισότοπο, υπολογίζεται το επί τοις εκατό σφάλμα από τη σχέση :

$$\%σφάλμα = \left(\frac{\text{ολοκλήρωμα } Cr^{III} - \text{ολοκλήρωμα } Cr_{tot}}{\text{ολοκλήρωμα } Cr_{tot}} \right) 100\% \quad \text{Εξίσωση 4.1}$$

Τα αποτελέσματα από την Εξίσωση 4.1 καταχωρούνται στον Πίνακα 4.3 και η γραφική τους απεικόνιση στο Γράφημα 4.2.

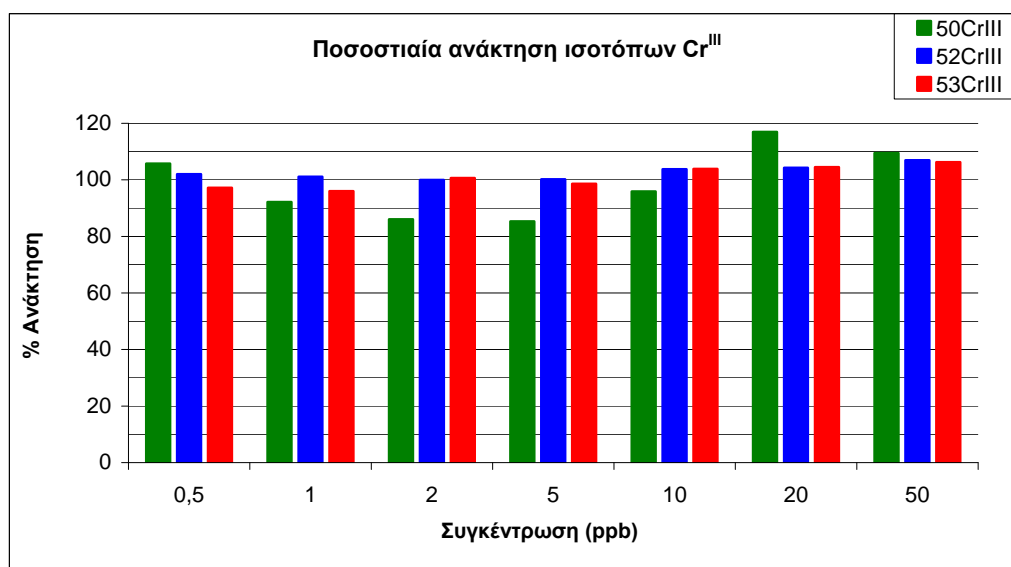
Πίνακας 4.3. Ποσοστιαίο σφάλμα ανάκτησης προτύπων Cr^{III}							
	σφάλμα % για 0,5 ppb	σφάλμα % για 1 ppb	σφάλμα % για 2 ppb	σφάλμα % για 5 ppb	σφάλμα % για 10 ppb	σφάλμα % για 20 ppb	σφάλμα % για 50 ppb
⁵⁰ Cr ^{III}	5,75	-7,87	-13,99	-14,69	-4,11	16,96	9,45
⁵² Cr ^{III}	1,98	1,10	-0,03	0,16	3,73	4,27	6,95
⁵³ Cr ^{III}	-2,83	-4,02	0,62	-1,39	3,88	4,48	6,26



Γράφημα 4.2. Απεικόνιση ποσοστιαίου σφάλματος ανάκτησης των τριών κυριότερων ισωτόπων του Cr^{III}.

Υπολογίστηκε η επί τοις εκατό ανάκτηση των ισωτόπων του Cr^{III} από το άθροισμα της ιδανικής 100% ανάκτησης συν το %σφάλμα [Γράφημα 4.3], καθώς επίσης η μέση ανάκτηση, η τυπική της απόκλιση και η διακύμανση για κάθε ένα από τα ισότοπα [Πίνακας 4.4].

	Ποσοστιαία ανάκτηση (%)							Μέση ανάκτηση (%)	1 τυπική απόκλιση s (%)	Διακύμανση v (%)
	0,5 (ppb)	1 (ppb)	2 (ppb)	5 (ppb)	10 (ppb)	20 (ppb)	50 (ppb)			
⁵⁰ Cr ^{III}	105,8	92,1	86,0	85,3	95,9	117,0	109,5	98,8	12,2	12,3
⁵² Cr ^{III}	102,0	101,1	100,0	100,2	103,7	104,3	107,0	102,6	2,5	2,5
⁵³ Cr ^{III}	97,2	96,0	100,6	98,6	103,9	104,5	106,3	101,0	4,0	3,9



Γράφημα 4.3. Ποσοστιαία ανάκτηση των ισωτόπων του τρισθενούς χρωμίου.

Η μέση ανάκτηση μπορεί να θεωρηθεί ικανοποιητική και για τα τρία ισότοπα του τρισθενούς χρωμίου που εξετάστηκαν. Η διακύμανση (λόγος τυπικής απόκλισης προς τη μέση τιμή) λαμβάνει αποδεκτές τιμές για τα δύο ισότοπα ⁵²Cr^{III} και ⁵³Cr^{III}, μικρότερες από 4%. Όμως, για το ισότοπο ⁵⁰Cr^{III} παρουσιάζεται υψηλή τιμή διακύμανσης οφειλόμενη στο ότι το ισότοπο ⁵⁰Cr^{III} έχει μικρή κλασματική ισοτοπική αφθονία (0,04345) οπότε το καταγραφόμενο σήμα για m/z 50 είναι περισσότερο επιδεκτικό σε παρεμποδισμούς, γεγονός που καθιστά επισφαλή τη διεξαγωγή συμπερασμάτων.

Για το λόγο αυτό η μέτρηση του ισωτόπου ⁵⁰Cr^{III} κρίνεται αναξιόπιστη και δεν συμπεριλαμβάνεται σε οποιανδήποτε περαιτέρω ανάλυση ή μέτρηση.

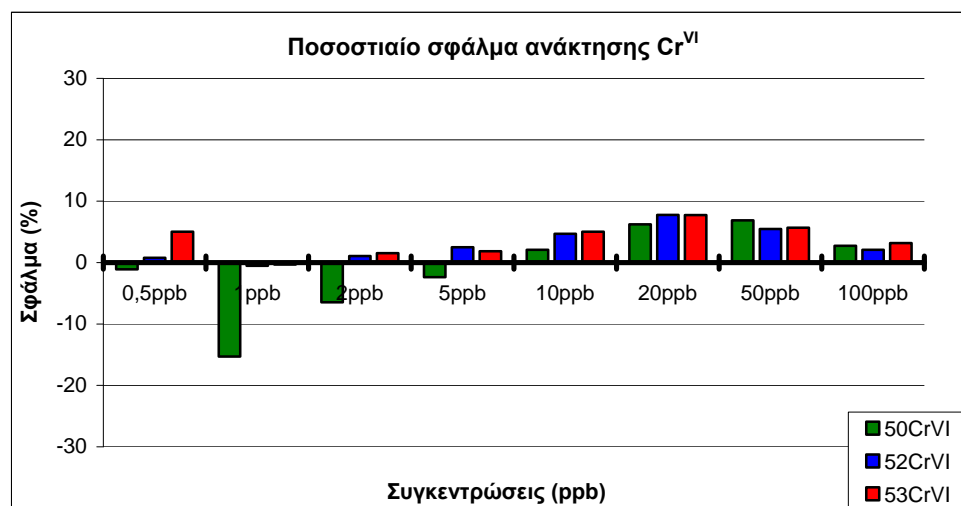
4.1.2 Ανάκτηση Cr^{VI}

Όπως με το Cr^{III} έτσι και με το Cr^{VI} παρασκευάστηκαν πρότυπα διαλύματα όγκου 200 μL. Οι συγκεντρώσεις των προτύπων ήταν 0,5, 1, 2, 5, 10, 20, 50 και 100 ppb και ακολούθησε η έκλουσή τους μέσω της MWCNTs – COOH στήλης. Τα ολοκληρώματα των κορυφών που προέκυψαν από την «ανάκτηση»¹ του Cr^{VI}, καταχωρούνται στον Πίνακα 4.5 και συγκρίθηκαν με αυτά του Πίνακα 4.1.

Πίνακας 4.5. Ολοκληρώματα κορυφών ανακτημένων προτύπων Cr ^{VI}								
	0,5 ppb	1 ppb	2 ppb	5 ppb	10 ppb	20 ppb	50 ppb	100 ppb
⁵⁰ Cr ^{VI}	2844	4986	11365	34310	68601	134563	354629	685163
⁵² Cr ^{VI}	76452	154887	306340	844771	1615543	3117523	7957654	15657897
⁵³ Cr ^{VI}	9825	19466	39160	106520	205240	395107	1005532	1983379

Για κάθε ολοκλήρωμα του Πίνακα 4.5, υπολογίζεται το επί τοις εκατό σφάλμα από τη Εξίσωση 4.1 και τα αποτελέσματα καταχωρούνται στον Πίνακα 4.6 και απεικονίζονται στο Γράφημα 4.4.

Πίνακας 4.6. Ποσοστιαίο σφάλμα ανάκτησης προτύπων Cr ^{VI}								
	σφάλμα % για 0,5 ppb	σφάλμα % για 1 ppb	σφάλμα % για 2 ppb	σφάλμα % για 5 ppb	σφάλμα % για 10 ppb	σφάλμα % για 20 ppb	σφάλμα % για 50 ppb	σφάλμα % για 100 ppb
⁵⁰ Cr ^{VI}	-1,10	-15,29	-6,46	-2,37	2,08	6,22	6,87	2,73
⁵² Cr ^{VI}	0,77	-0,52	1,07	2,49	4,70	7,76	5,47	2,08
⁵³ Cr ^{VI}	5,03	-0,32	1,55	1,84	5,03	7,73	5,67	3,17



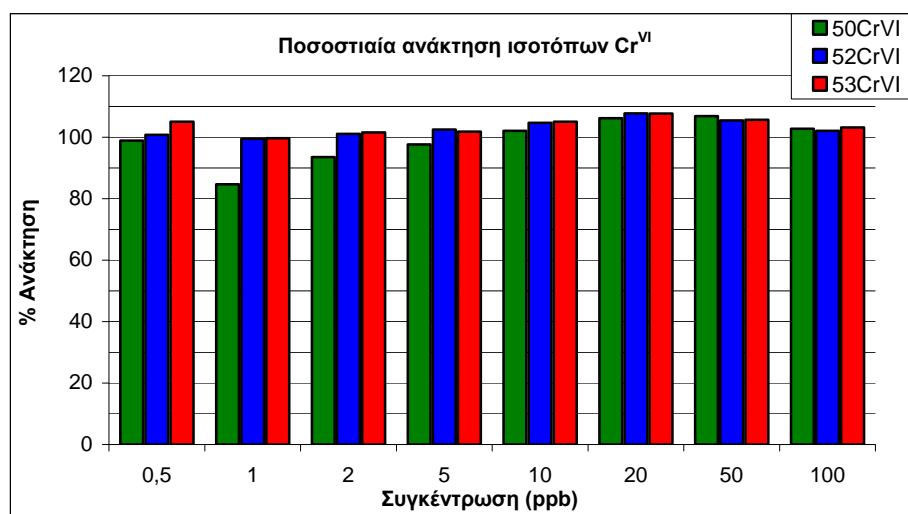
Γράφημα 4.4. Απεικόνιση ποσοστιαίου σφάλματος ανάκτησης των τριών κορυότερων ισotόπων του Cr^{VI}.

¹ Η λέξη «ανάκτηση» βρίσκεται σε εισαγωγικά διότι στην περίπτωση του Cr^{VI} δεν παρατηρείται στην πραγματικότητα ανάκτηση δεδομένου ότι το προσροφητικό υλικό της στήλης (MWCNTs – COOH) δεν αλληλεπιδρά με τα οξοανιόντα του Cr^{VI}. Οπότε ο έλεγχος που διενεργήθηκε αφορούσε πιθανούς παρεμποδισμούς στη καταγραφόμενη συγκέντρωση του Cr^{VI} προερχόμενους από τον άνθρακα των νανοσωλήνων ή γενικά από τη συνολική διεργασία

Υπολογίστηκε η επί τοις εκατό ποσοστιαία «ανάκτηση» για το Cr^{VI} ως το άθροισμα της ιδανικής 100% ανάκτησης συν το ποσοστιαίο σφάλμα, καθώς και τα απαιτούμενα στατιστικά μεγέθη. Τα αποτελέσματα καταχωρήθηκαν στις στήλες του Πίνακα 4.7 ενώ η γραφική απεικόνιση της ανάκτησης φαίνεται στο Γράφημα 4.5.

Πίνακας 4.7. Ποσοστιαία ανάκτηση προτύπων Cr^{VI}

	Ποσοστιαία ανάκτηση (%)								Μέση ανάκτηση (%)	Τυπική απόκλιση s (%)	Διακύμανση ν (%)
	0,5 (ppb)	1 (ppb)	2 (ppb)	5 (ppb)	10 (ppb)	20 (ppb)	50 (ppb)	100 (ppb)			
⁵⁰ Cr ^{VI}	98,9	84,7	93,5	97,6	102,1	106,2	106,9	102,7	99,09	7,30	7,37
⁵² Cr ^{VI}	100,8	99,5	101,1	102,5	104,7	107,8	105,5	102,1	102,98	2,77	2,69
⁵³ Cr ^{VI}	105,0	99,7	101,6	101,8	105,0	107,7	105,7	103,2	103,71	2,62	2,53



Γράφημα 4.5. Ποσοστιαία ανάκτηση των ισοτόπων του εξασθενούς χρωμίου.

Και τα τρία ισότοπα του εξασθενούς χρωμίου που εξετάστηκαν παρουσιάζουν καλή τιμή μέσης ανάκτησης που προσεγγίζει κανονποιητικά το 100%. Η διακύμανση, όμως, ενώ είναι κανονποιητική για τα ισότοπα ⁵²Cr^{VI} και ⁵³Cr^{VI} (μικρότερη του 3%) παρουσιάζεται αρκετά υψηλή για το ισότοπο ⁵⁰Cr^{VI}. Για τους ίδιους λόγους που αναφέρθηκαν πριν για τη περίπτωση του ⁵⁰Cr^{III}, το ισότοπο ⁵⁰Cr^{VI} δεν περιλαμβάνεται πλέον στις αναλύσεις αφού η διακύμανση του σήματος είναι αρκετά μεγάλη (>7%).

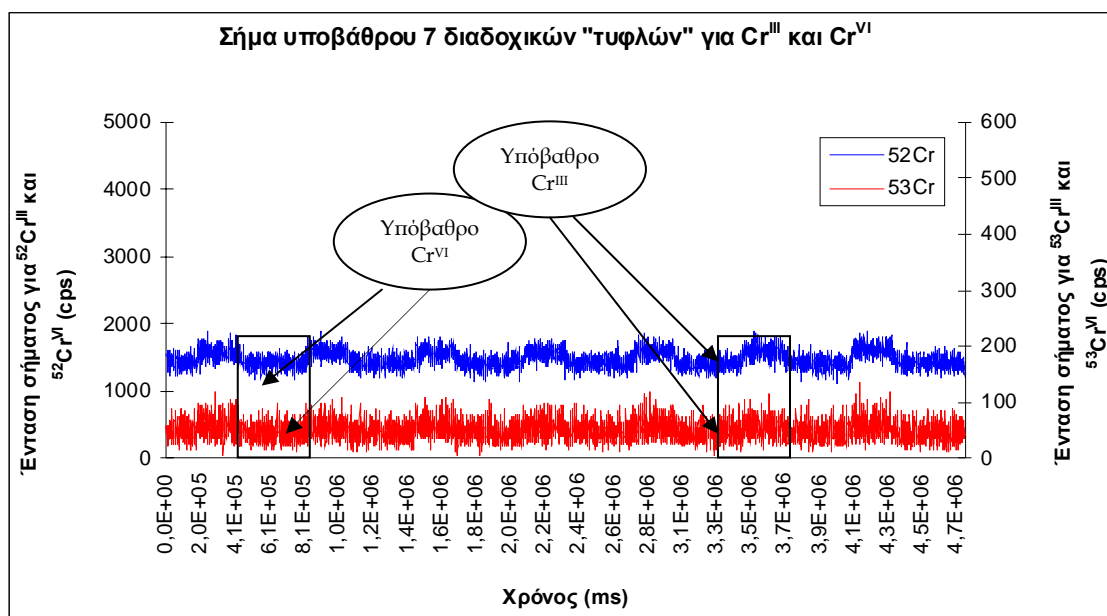
4.2 Όρια Ανίχνευσης

Ο υπολογισμός των ορίων ανίχνευσης ελέγχθηκε για τις δύο οξειδωτικές καταστάσεις του χρωμίου, Cr^{III} και Cr^{VI}, και τα δύο κυριότερα ισότοπά τους, ⁵²Cr και ⁵³Cr. Η διαδικασία που ακολουθήθηκε περιελάμβανε τη μέτρηση της έντασης 7

διαδοχικών «τυφλών» προτύπων για την εκτίμηση του υποβάθρου (baseline) για το Cr^{III} και ομοίως για το Cr^{VI}, δεδομένου ότι το διάλυμα έκλυσης του τρισθενούς χρωμίου διαφέρει από εκείνο του εξασθενούς. Ο μέσος όρος της έντασης των επτά επαναλήψεων προσδιορίζει τη μέση τιμή του υποβάθρου και οι 3 τυπικές αποκλίσεις της μέσης τιμής ταυτίζονται με το τυπικό σφάλμα εντός εύρους εμπιστοσύνης μεγαλύτερου του 99%. Οπότε η ένταση της ελάχιστης μετρούμενης ποσότητας χρωμίου που μπορεί να γίνει σχεδόν κατά 100% αποδεκτή και αξιόπιστη, θα πρέπει να ισούται με το άθροισμα της τιμής έντασης του υποβάθρου συν τρεις τυπικές αποκλίσεις (Εξίσωση 4.2).

$$\text{Limit of Detection} = y_{\text{blank}} + 3s_{\text{blank}} \quad \text{Εξίσωση 4.2}$$

Έπεται η μέτρηση της έντασης (μέσος όρος 3 επαναλήψεων) μιας χαμηλής συγκέντρωσης του τρισθενούς και του εξασθενούς χρωμίου. Στη προκειμένη περίπτωση, η χαμηλή συγκέντρωση που επιλέχθηκε για το Cr^{III} και το Cr^{VI} ήταν 0,5 ppb. Στο Γράφημα 4.6 απεικονίζεται το σήμα 7 επαναλήψεων «τυφλών» προτύπων που προσδιορίζουν το υπόβαθρο του τρισθενούς και ομοίως 7 επαναλήψεων «τυφλών» για τη περίπτωση του εξασθενούς χρωμίου, συναρτήσει του χρόνου.



Γράφημα 4.6. Σήμα 7 επαναλήψεων για Cr^{III} και Cr^{VI} για τα ισότοπα ⁵²Cr (μπλε χρώμα) και ⁵³Cr (κόκκινο χρώμα). Τα βέλη υποδεικνύουν το υποβαθμισμένο πλατό που αφορά το υπόβαθρο του Cr^{VI} και αντιστοίχως το υπερυψωμένο πλατό του υποβάθρου του Cr^{III}.

Τα υπερυψωμένα πλατό του σήματος αφορούν το υπόβαθρο του Cr^{III} και τα υποβαθμισμένα (που έπονται κάθε φορά) αφορούν το υπόβαθρο του Cr^{VI}.

Διακρίνεται καλύτερα η ένταση υποβάθρου του ισότοπου ^{52}Cr (μπλε χρώμα) που έχει μεγαλύτερη τιμή εν συγκρίσει με την ένταση υποβάθρου του ισότοπου ^{53}Cr (κόκκινη χρώμα) που είναι χαμηλότερης έντασης.

Υπολογίζεται η μέση τιμή του υποβάθρου των επτά μετρήσεων για το $^{52}\text{Cr}^{\text{III}}$ και $^{53}\text{Cr}^{\text{III}}$ μαζί με τα στατιστικά μεγέθη που απαιτούνται. Τα αποτελέσματα καταχωρούνται στις στήλες του Πίνακα 4.8.

Πίνακας 4.8. Στατιστικά μεγέθη από ανάλυση επτά υποβάθρων για τα ισότοπα $^{52}\text{Cr}^{\text{III}}$ και $^{53}\text{Cr}^{\text{III}}$.

α/α	Ένταση υπόβαθρου επτά «τυφλών» προτύπων (cps)		Μέση τιμή υποβάθρου (cps)		Τυπική απόκλιση s (cps)		3s (cps)		Άθροισμα μέσης τιμής υποβάθρου + 3s (cps)	
	$^{52}\text{Cr}^{\text{III}}$	$^{53}\text{Cr}^{\text{III}}$	$^{52}\text{Cr}^{\text{III}}$	$^{53}\text{Cr}^{\text{III}}$	$^{52}\text{Cr}^{\text{III}}$	$^{53}\text{Cr}^{\text{III}}$	$^{52}\text{Cr}^{\text{III}}$	$^{53}\text{Cr}^{\text{III}}$	$^{52}\text{Cr}^{\text{III}}$	$^{53}\text{Cr}^{\text{III}}$
1	1585	58	1583	57	40	2	119	6	1702	63
2	1584	56								
3	1505	53								
4	1577	57								
5	1592	59								
6	1605	57								
7	1636	59								

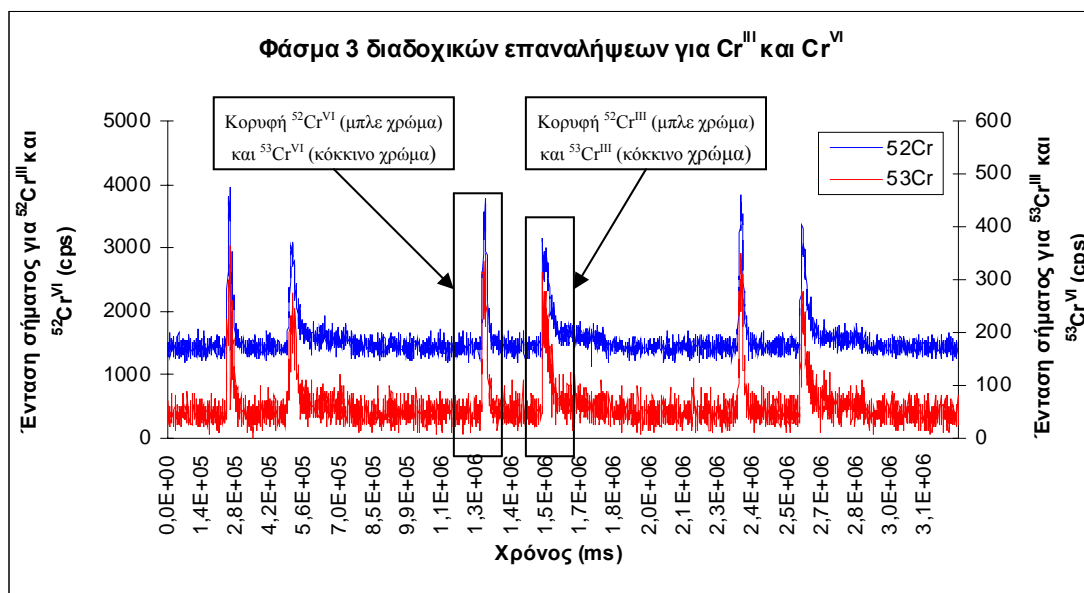
Η τελευταία στήλη αντανακλά το αποτέλεσμα της Εξίσωσης 4.2 όπου προσδιορίζεται ποια θα πρέπει να είναι η ένταση του σήματος που θα πρέπει να αντιστοιχεί στην ελάχιστη μετρούμενη συγκέντρωση του Cr^{III} , αποκλείοντας με βεβαιότητα σχεδόν 100% η ένταση αυτή να προέρχεται από πιθανή διακόμανση της έντασης του υποβάθρου. Για το $^{52}\text{Cr}^{\text{III}}$ είναι 1702 cps και για το $^{53}\text{Cr}^{\text{III}}$ είναι 63 cps. Ομοίως και για το Cr^{VI} κατασκευάζεται ο Πίνακας 4.9.

Πίνακας 4.9. Στατιστικά μεγέθη από ανάλυση επτά υποβάθρων για τα ισότοπα $^{52}\text{Cr}^{\text{VI}}$ και $^{53}\text{Cr}^{\text{VI}}$.

α/α	Ένταση υπόβαθρου επτά «τυφλών» προτύπων (cps)		Μέση τιμή υποβάθρου (cps)		Τυπική απόκλιση s (cps)		3s (cps)		Άθροισμα μέσης τιμής υποβάθρου + 3s (cps)	
	$^{52}\text{Cr}^{\text{VI}}$	$^{53}\text{Cr}^{\text{VI}}$	$^{52}\text{Cr}^{\text{VI}}$	$^{53}\text{Cr}^{\text{VI}}$	$^{52}\text{Cr}^{\text{VI}}$	$^{53}\text{Cr}^{\text{VI}}$	$^{52}\text{Cr}^{\text{VI}}$	$^{53}\text{Cr}^{\text{VI}}$	$^{52}\text{Cr}^{\text{VI}}$	$^{53}\text{Cr}^{\text{VI}}$
1	1415	46	1414	46	9	1	26	2	1440	49
2	1418	46								
3	1400	46								
4	1426	48								
5	1404	46								
6	1414	46								
7	1418	46								

Από την επίλυση της Εξίσωσης 4.2 υπολογίζεται η ένταση της ελάχιστης μετρούμενης ποσότητας για το $^{52}\text{Cr}^{\text{VI}}$ που είναι 1440 cps και για το $^{53}\text{Cr}^{\text{VI}}$ που είναι 49 cps.

Υπολογίζεται ο μέσος όρος της έντασης τριών επαναλήψεων Cr^{III} και Cr^{VI} και των δύο ισοτόπων τους, συγκέντρωσης 0,5 ppb [Γράφημα 4.7] και τα αποτελέσματα καταχωρούνται στις στήλες του Πίνακα 4.10.



Γράφημα 4.7. Σήμα καταγραφής 3 διαδοχικών επαναλήψεων ⁵²Cr^{III} και ⁵²Cr^{VI} (μπλε χρώμα) και ⁵³Cr^{III}, ⁵³Cr^{VI} (κόκκινο χρώμα) συγκέντρωσης 0,5 ppb. Ανά ζεύγος κορυφών, η πρώτη αντιστοιχεί στο Cr^{VI} και η δεύτερη στο Cr^{III}.

Πίνακας 4.10. Μέση τιμή έντασης 3 επαναλήψεων για [Cr ^{III}]=0,5 ppb και [Cr ^{VI}]=0,5 ppb				
	⁵² Cr ^{III} (cps)	⁵³ Cr ^{III} (cps)	⁵² Cr ^{VI} (cps)	⁵³ Cr ^{VI} (cps)
1	3351	281	3841	365
2	3156	265	3676	350
3	3056	275	3966	350
Μέση τιμή	3188	274	3828	355

Οπότε:

$$\left. \begin{aligned} \text{Για } [^{52}\text{Cr}^{\text{III}}] = 0,5 \text{ ppb} \text{ η ένταση σήματος είναι } 3188 \text{ cps} \\ \text{Για } [^{52}\text{Cr}^{\text{III}}] = x \text{ ppb} \text{ το όριο ανίχνευσης θα είναι } 1702 \text{ cps} \end{aligned} \right\} x = 0,27 \text{ ppb}$$

Αρα σε όγκο προτύπου 200 μL θα περιέχεται μάζα ⁵²Cr^{III} ίση με:

$$0,27 \text{ ppb} = \frac{0,27 \mu\text{g}}{L} = \frac{0,27 \mu\text{g} \cdot 200 \cdot 10^{-6}}{200 \cdot 10^{-6} L} = \frac{54 \cdot 10^{-6} \mu\text{g}}{200 \mu\text{L}} = \frac{54 \text{ pg } ^{52}\text{Cr}^{\text{III}}}{200 \mu\text{L}}$$

Ομοίως υπολογίζονται τα όρια ανίχνευσης και για τα ⁵³Cr^{III}, ⁵²Cr^{VI} και ⁵³Cr^{VI}. Τα αποτελέσματα καταχωρούνται στις στήλες του Πίνακα 4.11.

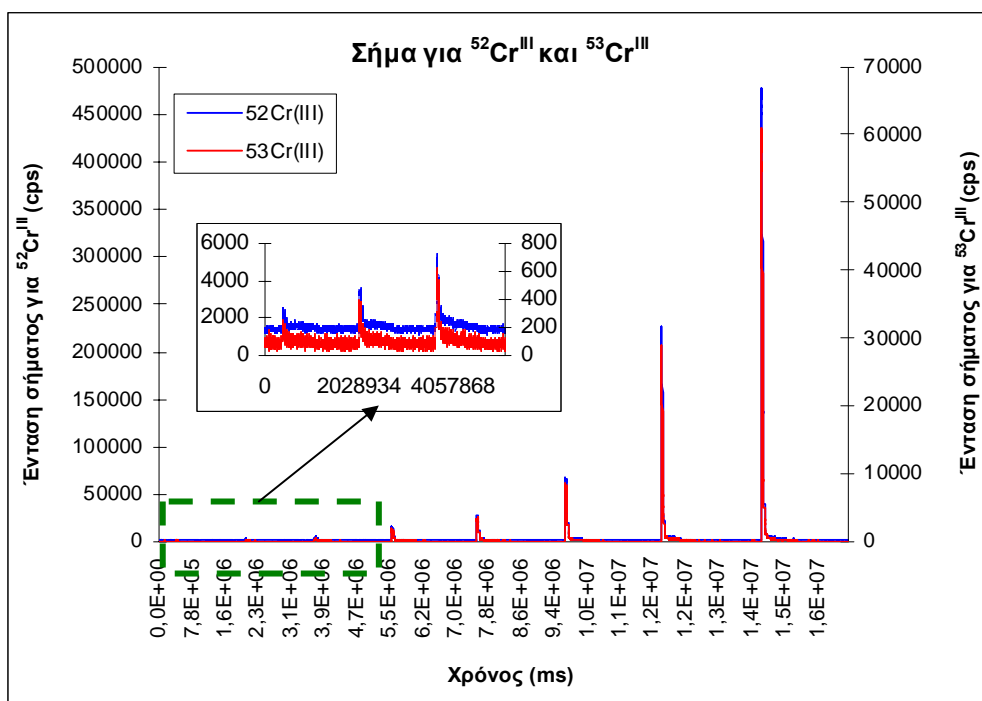
Πίνακας 4.11. Όρια ανίχνευσης για Cr ^{III} και Cr ^{VI}		
	Συγκέντρωση ng/mL (ppb)	Μάζα που αντιστοιχεί σε 200μL (pg)
⁵² Cr ^{III}	0,27	54
⁵³ Cr ^{III}	0,11	22
⁵² Cr ^{VI}	0,19	38
⁵³ Cr ^{VI}	0,07	14

4.3 Γραμμικότητα

Η γραμμικότητα της μεθόδου ελέγχθηκε για τα δύο κυριότερα ισότοπα του χρωμίου ⁵²Cr και ⁵³Cr στις δύο οξειδωτικές του καταστάσεις (Cr^{III} και Cr^{VI}) κατασκευάζοντας καμπύλες αναφοράς από πρότυπα διαλύματα χρωμίου και κάνοντας στατιστική ανάλυση των δεδομένων. Το εύρος συγκεντρώσεων των προτύπων που αναλύθηκαν κυμαίνονταν σε δύο τάξεις μεγέθους.

4.3.1 Γραμμικότητα Cr^{III}

Οι συγκεντρώσεις των προτύπων του Cr^{III} ήταν 0,5, 1, 2, 5, 10, 20, 50 και 100 ppb. Τα σήματα των δύο ισωτόπων ⁵²Cr^{III} και ⁵³Cr^{III} απεικονίζονται στο Γράφημα 4.8.

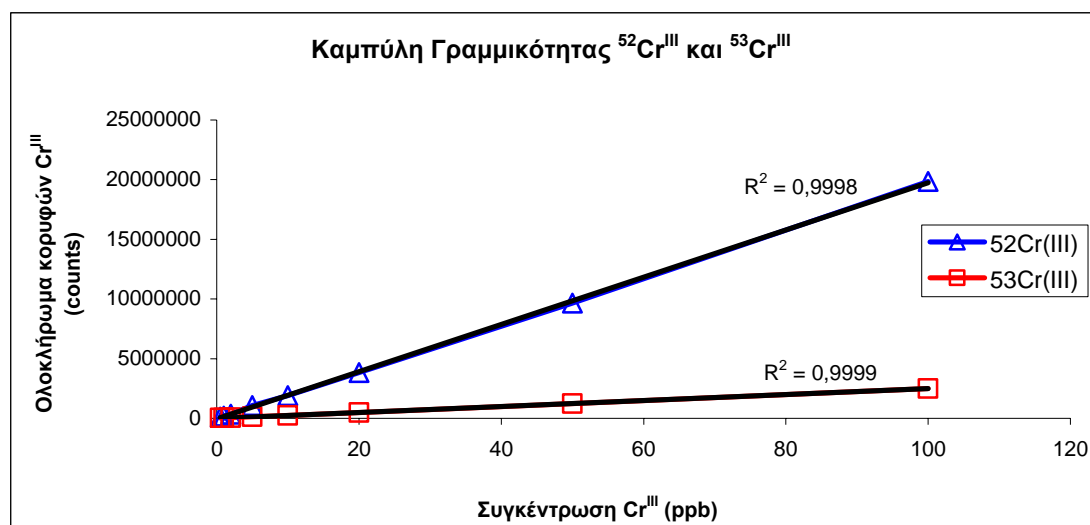


Γράφημα 4.8. Ένταση σήματος συναρτήσει του χρόνου για τα ισότοπα ⁵²Cr^{III} και ⁵³Cr^{III}. Σε μεγέθυνση απεικονίζονται οι κορυφές των συγκεντρώσεων 0,5, 1 και 2 ppb που περικλείονται στην πράσινη διακεκομμένη γραμμή.

Υπολογίζονται τα ολοκληρώματα των κορυφών συναρτήσεων των συγκεντρώσεων, βάσει των οποίων κατασκευάζεται η καμπύλη γραμμικότητας. Οι τιμές των ολοκληρωμάτων για κάθε ισότοπο καταχωρούνται στις στήλες του Πίνακα 4.12.

Πίνακας 4.12. Ολοκληρώματα κορυφών για $^{52}\text{Cr}^{\text{III}}$ και $^{53}\text{Cr}^{\text{III}}$

	0,5 ppb	1 ppb	2 ppb	5 ppb	10 ppb	20 ppb	50 ppb	100 ppb
$^{52}\text{Cr}^{\text{III}}$	98445	192995	358408	1061816	1910819	3832684	9664491	19857725
$^{53}\text{Cr}^{\text{III}}$	14518	26349	47355	132371	243145	486089	1228584	2500633



Γράφημα 4.9. Καμπύλη Γραμμικότητας των ισότοπων του τρισθενούς χρωμίου ^{52}Cr και ^{53}Cr για εύρος συγκεντρώσεων από 0,5 ppb έως και 100 ppb.

Από το Γράφημα 4.9 παρατηρείται ότι και τα δύο ισότοπα του τρισθενούς χρωμίου παρουσιάζουν εξαιρετική γραμμικότητα για εύρος συγκεντρώσεων από 0,5 έως 100 ppb, δεδομένου ότι οι συντελεστές συσχέτισης και των δύο γραμμών τάσεων προσεγγίζουν τη μονάδα.

Η σχέση μεταξύ των ολοκληρωμάτων των κορυφών και των συγκεντρώσεων τους μπορεί να περιγραφεί προσδιορίζοντας την ευθεία παλινδρόμησης ή αλλιώς ευθεία ελαχίστων τετραγώνων. Στα λογισμικά πακέτα η γραμμή τάσης που εξάγεται στα γραφήματα είναι της μορφής $y=a+bx$ όπου όμως δεν εμπεριέχεται το σφάλμα που απορρέει από την απόκλιση των τιμών των πειραματικών y -δεδομένων από τις θεωρητικές της γραμμής τάσης. Οπότε μια ορθή προσέγγιση της εξίσωσης που περιγράφει την ευθεία παλινδρόμησης θα πρέπει να προβλέπει και το σφάλμα που δύναται να εμπεριέχεται στους συντελεστές που περιγράφουν τη γραμμική συσχέτιση (συντελεστές a και b).

Για τον προσδιορισμό της ευθείας παλινδρόμησης υπολογίστηκαν οι συντελεστές b από την Εξίσωση 4.3, (στη προκειμένη περίπτωση απεικονίζει το ρυθμό μεταβολής του ολοκληρώματος του σήματος από το ICP-MS συναρτήσει της συγκέντρωσης του Cr^{III}) και a από την Εξίσωση 4.4 (τεταγμένη επί την αρχή) και ακολούθησε ο προσδιορισμός του τυπικού σφάλματος των δύο αυτών παραμέτρων.

$$b = \frac{\sum_i \{(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})\}}{\sum_i (x_i - \bar{x})^2} \quad \text{Εξίσωση 4.3}$$

$$a = \bar{y} - b\bar{x} \quad \text{Εξίσωση 4.4}$$

Στις στήλες του Πίνακα 4.13 καταχωρούνται οι ενδιάμεσες τιμές γινομένων και συνόλων που προκύπτουν από τη στατιστική ανάλυση που αφορά την περίπτωση του $^{52}\text{Cr}^{\text{III}}$.

Πίνακας 4.13. Ενδιάμεσα γινόμενα και σύνολα προσδιορισμού ευθείας παλινδρόμησης για το $^{52}\text{Cr}^{\text{III}}$

Συγκέντρωση (x_i)	Ολοκληρώματα $^{52}\text{Cr}^{\text{III}}$ (y_i)	$x_i - \bar{x}_{\text{average}}$	$y_i - \bar{y}_{\text{average}}$	$(x_i - \bar{x}_{\text{average}}) * (y_i - \bar{y}_{\text{average}})$	$(x_i - \bar{x}_{\text{average}})^2$
0,5	98445	-23,06	-4523727,88	104328474,12	531,88
1	192995	-22,56	-4429177,88	99933325,80	509,07
2	358408	-21,56	-4263764,88	91937430,12	464,94
5	1061816	-18,56	-3560356,88	66089124,49	344,57
10	1910819	-13,56	-2711353,88	36772736,93	183,94
20	3832684	-3,56	-789488,88	2812554,12	12,69
50	9664491	26,44	5042318,13	133306285,43	698,94
100	19857725	76,44	15235552,13	1164567515,55	5842,69
Μέση τιμή	23,56	4622173	-	-	-
Άθροισμα	-	-	-	1699747446,56	8588,72

Από την επίλυση των Εξισώσεων 4.3 και 4.4 προκύπτει για τη περίπτωση του $^{52}\text{Cr}^{\text{III}}$:

$$b = 197904,7 \text{ και}$$

$$a = -40955,6$$

Η εκτίμηση της τυπικής απόκλισης υπολογίστηκε με τη χρήση των Εξισώσεων 4.5, 4.6 και 4.7.

$$s_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum_i (y_i - \hat{y}_i)^2}{n - 2}} \quad \text{Εξίσωση 4.5}$$

$$s_b = \frac{s_{y/x}}{\sqrt{\sum_i (x_i - \bar{x})^2}} \quad \text{Εξίσωση 4.6}$$

$$s_a = s_{y/x} \sqrt{\frac{\sum_i x_i^2}{n \sum_i (x_i - \bar{x})^2}} \quad \text{Εξίσωση 4.7}$$

Κατασκευάζεται ο Πίνακας 4.14 με τα επιμέρους υποσύνολα που απαιτούνται για την επίλυση των Εξισώσεων 4.5, 4.6 και 4.7.

Πίνακας 4.14. Επιμέρους υποσύνολα προσδιορισμού τυπικού σφάλματος για το $^{52}\text{Cr}^{\text{III}}$						
Συγκέντρωση (x_i)	Ολοκλήρωμα $^{52}\text{Cr}^{\text{III}}$ (y_i)	x_i^2	\hat{y}_i	$ y_i - \hat{y}_i $	$(y_i - \hat{y}_i)^2$	
0,5	98445	0,25	57996,7	40448,3	1,64E+09	
1	192995	1,00	156949	36045,97	1,30E+09	
2	358408	4,00	354853,7	3554,312	1,26E+07	
5	1061816	25,00	948567,7	113248,3	1,28E+10	
10	1910819	100,00	1938091	27271,95	7,44E+08	
20	3832684	400,00	3917138	84453,53	7,13E+09	
50	9664491	2500,00	9854277	189786,3	3,60E+10	
100	19857725	10000,00	19749510	108214,8	1,17E+10	
Άθροισμα	-	-	13030,25	-	-	7,14E+10

Από τις Εξισώσεις 4.5, 4.6 και 4.7 και για $n = 8$ (πλήθος προτύπων) υπολογίστηκαν :

$$s_{y/x} = 109070,8$$

$$s_b = 1176,9$$

$$s_a = 47498$$

Ο προσδιορισμός του τυπικού σφάλματος, τόσο για το συντελεστή b όσο και για τον a , επιλέχθηκε να ταυτίζεται με μία τυπική απόκλιση, δηλαδή να περιλαμβάνεται σε εύρος εμπιστοσύνης 95% και υπολογίστηκε από τις Εξισώσεις 4.8 και 4.9 (για το b και a αντίστοιχα) όπου:

$$95\% \text{Conf. Limits}_b = b \pm t_{(n-2)} s_b \quad \text{Εξίσωση 4.8}$$

$$95\% \text{Conf. Limits}_a = a \pm t_{(n-2)} s_a \quad \text{Εξίσωση 4.9}$$

Για $n-2=6$ ο όρος $t_{(n-2)}$ ισούται με 2,45 (από Π.Π1). Οπότε η κλίση της ευθείας παλινδρόμησης και η τεταγμένη επί την αρχή για τη περίπτωση του $^{52}\text{Cr}^{\text{III}}$ είναι:

$$b = 197904,7 \pm (2,45 \times 1176,9) = 197904,7 \pm 2883,4$$

$$a = -40955,6 \pm (2,45 \times 47498) = -40955,6 \pm 116370,1$$

Τελικά, η σχέση που συνδέει το ολοκλήρωμα του χρωματογραφήματος συναρτήσει της συγκέντρωσης του $^{52}\text{Cr}^{\text{III}}$ μπορεί να περιγραφεί από την εξίσωση:

$$y = (197904,7 \pm 2883,4) x + (-40955,6 \pm 116370,1)$$

Η ανάλυση και τα αποτελέσματα που εξήχθησαν μέχρι τώρα αφορούν μονάχα την περίπτωση του $^{52}\text{Cr}^{\text{III}}$. Με τον ίδιο τρόπο υπολογίζεται η γραμμική σχέση που συνδέει τα ολοκληρώματα των φασμάτων από το ICP-MS με τις συγκεντρώσεις, για τη περίπτωση του δεύτερου ισοτόπου του τρισθενούς χρωμίου, το $^{53}\text{Cr}^{\text{III}}$. Ακολουθώντας την ίδια αναλυτική διαδικασία κατασκευάζεται ο Πίνακας 4.15.

Πίνακας 4.15. Στατιστικά μεγέθη ευθείας παλινδρόμησης για $^{53}\text{Cr}^{\text{III}}$

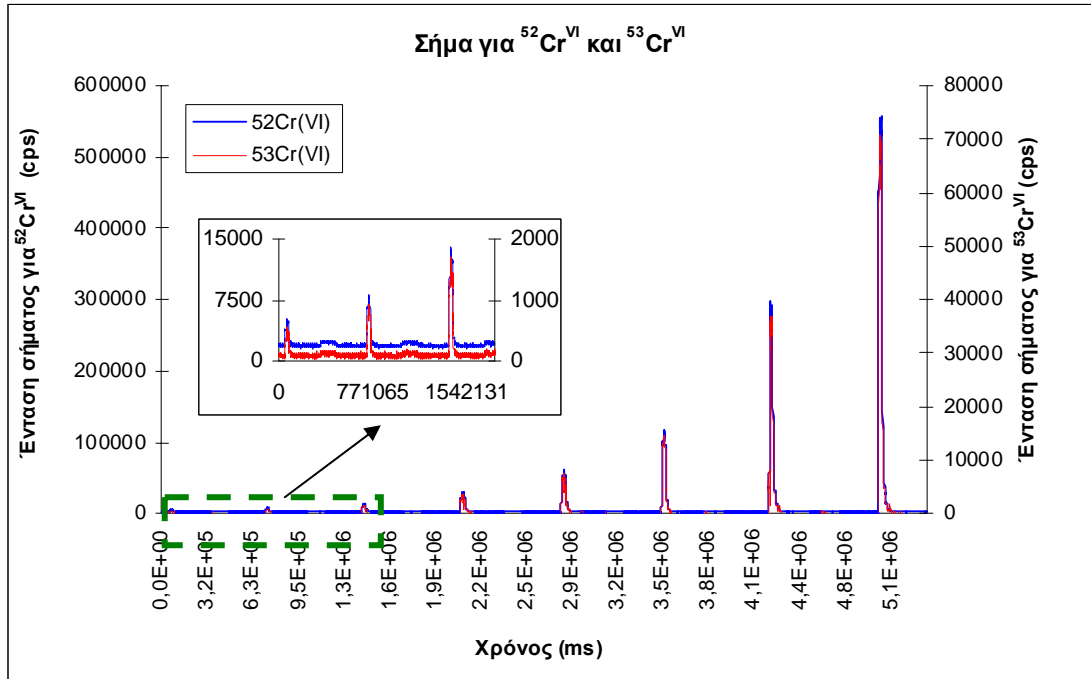
Συγκέντρωση (x_i)	Ολοκλήρωμα $^{53}\text{Cr}^{\text{III}}$ (y_i)	r	b	a	$s_{y/x}$	s_b	s_a
0,5	14518	0,9999	24938,1	-2722,4	9949,0	107,4	4332,6
1	26349						
2	47355						
5	132371						
10	243145						
20	486089						
50	1228584						
100	2500633						

Ομοίως με πριν, για $n = 8$ και $t_{(n-2)} = 2,45$, υπολογίζεται η γραμμική σχέση που συνδέει το ολοκλήρωμα του χρωματογραφήματος συναρτήσει της συγκέντρωσης του $^{53}\text{Cr}^{\text{III}}$ με τυπικό σφάλμα εύρους εμπιστοσύνης 95%.

$$y = (24938,1 \pm 263,1) x + (-2722,4 \pm 10614,9)$$

4.3.2 Γραμμικότητα Cr^{VI}

Οι συγκεντρώσεις των προτύπων του Cr^{VI} ήταν 0,5, 1, 2, 5, 10, 20, 50 και 100 ppb. Τα χρωματογραφήματα των δύο ισοτόπων $^{52}\text{Cr}^{\text{VI}}$ και $^{53}\text{Cr}^{\text{VI}}$ απεικονίζονται στο Γράφημα 4.10.

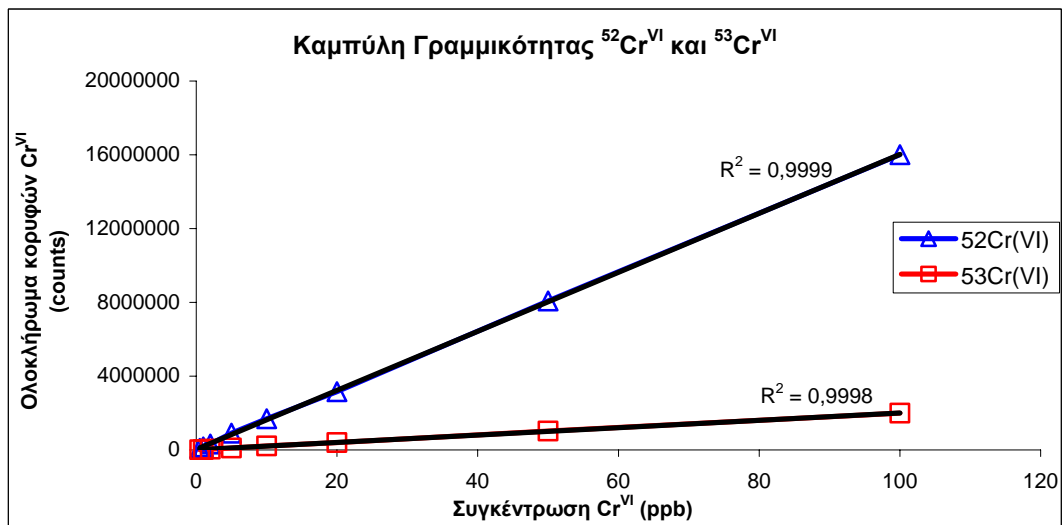


Γράφημα 4.10. Ένταση σήματος συναρτήσει του χρόνου για τα ισότοπα $^{52}\text{Cr}^{\text{VI}}$ και $^{53}\text{Cr}^{\text{VI}}$. Σε μεγέθυνση απεικονίζονται οι κορυφές των συγκεντρώσεων 0,5, 1 και 2 ppb που περικλείονται στην πράσινη διακεκομμένη γραμμή.

Υπολογίζονται τα ολοκληρώματα των κορυφών συναρτήσει των συγκεντρώσεων, βάσει των οποίων θα παρασκευαστεί και η καμπύλη γραμμικότητας [Γράφημα 4.11]. Οι τιμές των ολοκληρωμάτων καταχωρούνται στις στήλες του Πίνακα 4.16.

Πίνακας 4.16. Ολοκληρώματα κορυφών για $^{52}\text{Cr}^{\text{VI}}$ και $^{53}\text{Cr}^{\text{VI}}$

	0,5 ppb	1 ppb	2 ppb	5 ppb	10 ppb	20 ppb	50 ppb	100 ppb
$^{52}\text{Cr}^{\text{VI}}$	84412	164146	317040	907580	1689944	3160510	8076793	16008335
$^{53}\text{Cr}^{\text{VI}}$	10732	20346	41899	107134	212813	398741	1027095	1993445



Γράφημα 4.11. Καμπύλη Γραμμικότητας των ισότοπων του εξασθενούς χρωμίου ^{52}Cr και ^{53}Cr για εύρος συγκεντρώσεων από 0,5 ppb έως και 100 ppb.

Με τον ίδιο τρόπο όπως και στη περίπτωση του Cr^{III}, υπολογίστηκαν τα στατιστικά μεγέθη βάσει των οποίων προσδιορίζεται η ευθεία παλινδρόμησης περιλαμβανομένων και των τυπικών σφαλμάτων σε διάστημα εμπιστοσύνης 95% για τα δύο κύρια ισότοπα ⁵²Cr^{VI} και ⁵³Cr^{VI} [Πίνακας 4.17]. Τα δεδομένα προέκυψαν από την ανάλυση των μετρήσεων που είναι καταχωρημένες στις στήλες του Πίνακα 4.16 και η ανάλυση ακολούθησε την ίδια διαδικασία με πριν χρησιμοποιώντας τις Εξισώσεις 4.3 - 4.7.

Πίνακας 4.17. Στατιστικά μεγέθη ευθείας παλινδρόμησης για ⁵²Cr^{VI}

Συγκέντρωση (x _i)	Ολοκλήρωμα ⁵² Cr ^{VI} (y _i)	r	b	a	S _{y/x}	S _b	S _a
0,5	84412	0,9999	159937,1	32577,2	56958,6	614,6	24804,3
1	164146						
2	317040						
5	907580						
10	1689944						
20	3160510						
50	8076793						
100	16008335						

Σύμφωνα με τις Εξισώσεις 4.8, 4.9, για $n = 8$ και $t_{(n-2)} = 2,45$, υπολογίζεται η γραμμική σχέση που συνδέει τα ολοκληρώματα των κορυφών του χρωματογραφήτος με τις συγκεντρώσεις του ⁵²Cr^{VI} με τυπικό σφάλμα εύρους εμπιστοσύνης 95% που είναι :

$$y = (159937,1 \pm 1505,8) x + (32577,2 \pm 60770,5)$$

Ομοίως, από τη στατιστική επεξεργασία των δεδομένων του Πίνακα 4.16 για τη περίπτωση του ισότοπου ⁵³Cr^{VI} και μετά την επίλυση των Εξισώσεων 4.3-4.9 προέκυψαν τα αποτελέσματα του Πίνακα 4.18.

Πίνακας 4.18. Στατιστικά μεγέθη ευθείας παλινδρόμησης για ⁵³Cr^{VI}

Συγκέντρωση (x _i)	Ολοκλήρωμα ⁵³ Cr ^{VI} (y _i)	r	b	a	S _{y/x}	S _b	S _a
0,5	10732	0,9998	19982,3	5692,8	11348,1	122,4	4941,8
1	20346						
2	41899						
5	107134						
10	212813						
20	398741						
50	1027095						
100	1993445						

Για $n = 8$ και $t_{(n-2)} = 2,45$, υπολογίζεται η γραμμική σχέση που είναι :

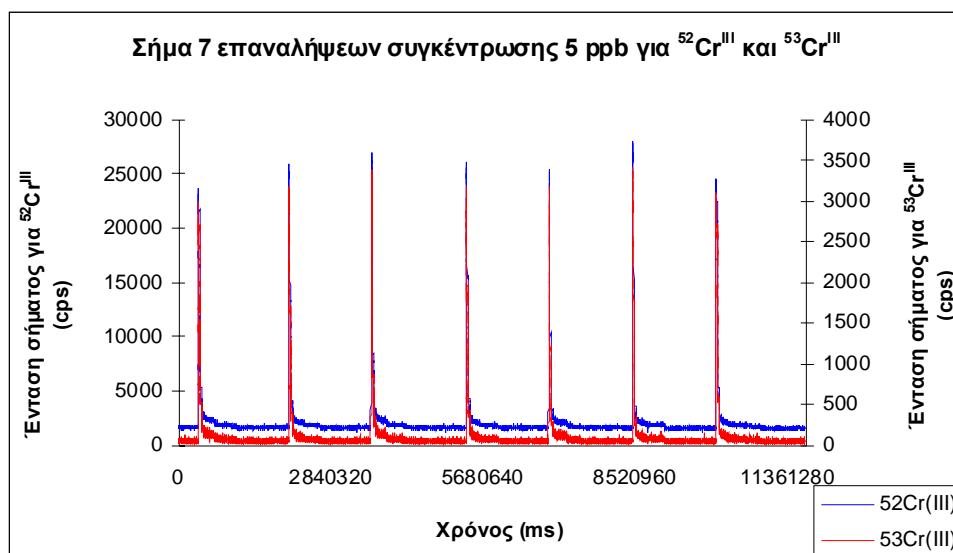
$$y = (19982,3 \pm 299,9) x + (5692,8 \pm 12107,4)$$

4.4 Επαναληψιμότητα

Η επαναληψιμότητα της μεθόδου ελέγχθηκε με στατιστική ανάλυση 7 διαδοχικών μετρήσεων για τις δύο οξειδωτικές καταστάσεις του χρωμίου, όπως επίσης και για τα δύο κυριότερα ισότοπα τους. Η επαναληψιμότητα της μεθόδου μπορεί να θεωρηθεί ικανοποιητική όταν η διακύμανση των πειραματικών τιμών δεν υπερβαίνει τη τιμή 3, ενώ για τιμές που κυμαίνονται από 3 έως 5 θεωρείται αποδεκτή αλλά όχι ικανοποιητική. Τέλος, όταν η διακύμανση υπερβεί την τιμή 5 τότε η μέθοδος θεωρείται ως επισφαλής οπότε και απορρίπτεται.

4.4.1 Επαναληψιμότητα Cr^{III}

Ο έλεγχος της επαναληψιμότητας για το Cr^{III} πραγματοποιήθηκε επαναλαμβάνοντας 7 διαδοχικές μετρήσεις πρότυπων διαλυμάτων [Cr^{III}]=5 ppb, και αφορούσε στα ισότοπα ⁵²Cr^{III} και ⁵³Cr^{III}. Στο Γράφημα 4.12 απεικονίζεται το σήμα των 7 επαναλήψεων.



Γράφημα 4.12. Σήμα επτά διαδοχικών επαναλήψεων των δύο ισότοπων ⁵²Cr^{III} και ⁵³Cr^{III} συγκέντρωσης 5 ppb το καθένα.

Υπολογίστηκαν τα ολοκληρώματα των κορυφών για τις 7 επαναλήψεις των 5 ppb Cr^{III} και για τα δύο ισότοπα. Τα αποτελέσματα καταχωρούνται στις στήλες του Πίνακα 4.19.

Πίνακας 4.19. Ολοκληρώματα 7 διαδοχικών επαναλήψεων για τα ισότοπα $^{52}\text{Cr}^{\text{III}}$ και $^{53}\text{Cr}^{\text{III}}$ συγκέντρωσης 5 ppb

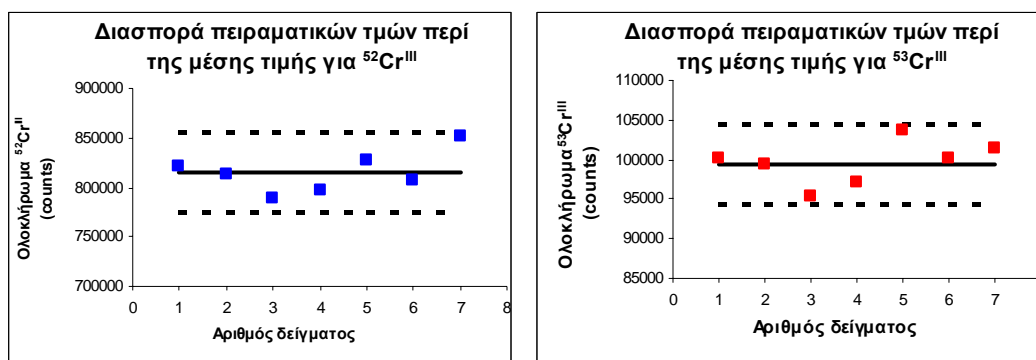
	1	2	3	4	5	6	7
$^{52}\text{Cr}^{\text{III}}$	820966	812515	787922	797817	827913	807549	851750
$^{53}\text{Cr}^{\text{III}}$	100252	99443	95448	97231	103796	100236	101299

Από την επεξεργασία των τιμών του προηγούμενου πίνακα υπολογίστηκαν τα απαιτούμενα στατιστικά μεγέθη και καταχωρούνται στις στήλες του Πίνακα 4.20.

Πίνακας 4.20. Αποτελέσματα στατιστικής ανάλυσης για $^{52}\text{Cr}^{\text{III}}$ και $^{53}\text{Cr}^{\text{III}}$

	Μέση τιμή (cps)	Τυπική απόκλιση (cps)	Διακύμανση (%)	Όρια περί της μέσης τιμής - 5 %	+ 5 %
$^{52}\text{Cr}^{\text{III}}$	815204,6	20987,2	2,6	774444,3	855964,8
$^{53}\text{Cr}^{\text{III}}$	99672,1	2713,0	2,7	94688,5	104655,8

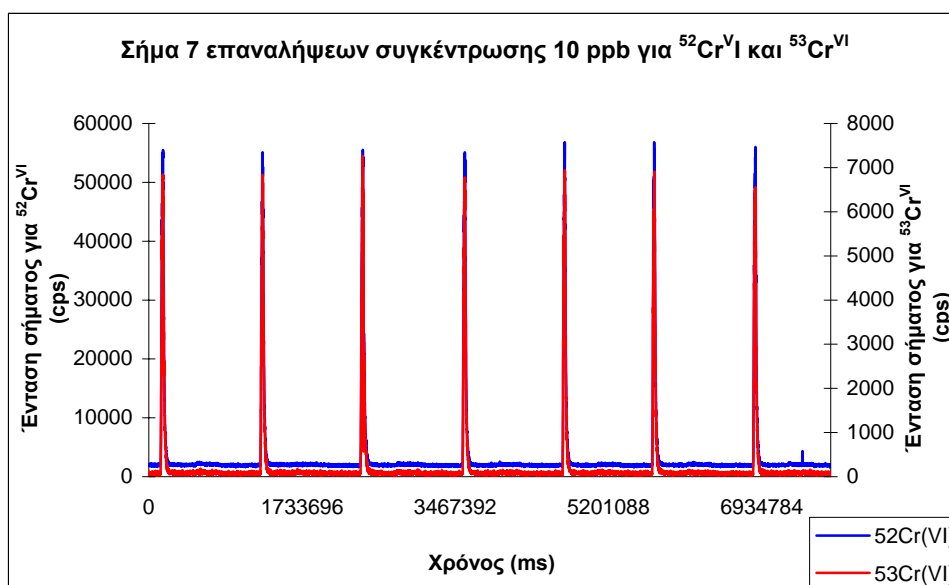
Η διασπορά των πειραματικών τιμών περί της μέσης τιμής απεικονίζεται στο επόμενο γράφημα.



Γράφημα 4.13. Διασπορά των πειραματικών τιμών περί της μέσης τιμής για τα ισότοπα $^{52}\text{Cr}^{\text{III}}$ και $^{53}\text{Cr}^{\text{III}}$. Η συμπαγής γραμμή απεικονίζει τη μέση τιμή των ολοκληρωμάτων των 7 επαναλήψεων των 5 ppb. Οι δύο σικτές γραμμές εκατέρωθεν τις μέσης τιμής οριοθετούν το +5% (άνω γραμμή) και το -5% (κάτω γραμμή) της τιμής της μέσης τιμής.

4.4.2 Επαναληψιμότητα Cr^{VI}

Ο έλεγχος της επαναληψιμότητας του Cr^{III} πραγματοποιήθηκε επίσης επαναλαμβάνοντας 7 διαδοχικές μετρήσεις συγκέντρωσης 10 ppb αυτή τη φορά, και αφορούσε στα ισότοπα $^{52}\text{Cr}^{\text{VI}}$ και $^{53}\text{Cr}^{\text{VI}}$. Στο Γράφημα 4.14 απεικονίζεται το σήμα των 7 επαναλήψεων.



Γράφημα 4.14. Σήμα επτά διαδοχικών επαναλήψεων των δύο ισωτόπων $^{52}\text{Cr}^{\text{VI}}$ και $^{53}\text{Cr}^{\text{VI}}$ συγκέντρωσης 10 ppb το καθένα.

Υπολογίστηκαν τα ολοκληρώματα των κορυφών για τις 7 επαναλήψεις των 10 ppb και για τα δύο ισότοπα. Τα αποτελέσματα καταχωρούνται στις στήλες του Πίνακα 4.21.

Πίνακας 4.21. Ολοκληρώματα 7 διαδοχικών επαναλήψεων για τα ισότοπα $^{52}\text{Cr}^{\text{VI}}$ και $^{53}\text{Cr}^{\text{VI}}$ συγκέντρωσης 10 ppb

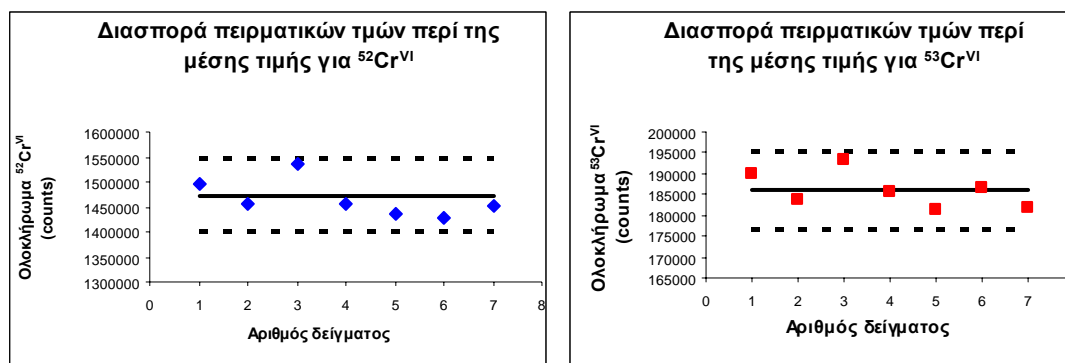
	1	2	3	4	5	6	7
$^{52}\text{Cr}^{\text{VI}}$	1497113	1456168	1534081	1457637	1437061	1428568	1451420
$^{53}\text{Cr}^{\text{VI}}$	189899	183502	193220	185504	181203	186352	181837

Από την επεξεργασία των τιμών του προηγούμενου πίνακα υπολογίστηκαν τα απαιτούμενα στατιστικά μεγέθη τα οποία καταχωρούνται στις στήλες του Πίνακα 4.22.

Πίνακας 4.22. Αποτελέσματα στατιστικής ανάλυσης για $^{52}\text{Cr}^{\text{VI}}$ και $^{53}\text{Cr}^{\text{VI}}$

	Μέση τιμή (cps)	Τυπική απόκλιση (cps)	Διακύμανση (%)	Όρια περί της μέσης τιμής	
				- 5 %	+ 5 %
$^{52}\text{Cr}^{\text{VI}}$	1466006,9	37015,4	2,5	1392706,5	1539307,2
$^{53}\text{Cr}^{\text{VI}}$	185931,0	4363,7	2,3	176634,5	195227,6

Η διασπορά των πειραματικών τιμών περί της μέσης τιμής απεικονίζεται στο επόμενο γράφημα.



Γράφημα 4.15. Διασπορά των πειραματικών τιμών περί της μέσης τιμής για τα ισότοπα $^{52}\text{Cr}^{\text{VI}}$ και $^{53}\text{Cr}^{\text{VI}}$. Η συμπαγής γραμμή απεικονίζει τη μέση τιμή των ολοκληρωμάτων των 7 επαναλήψεων των 10 ppb. Οι δύο σικτές γραμμές εκατέρωθεν τις μέσης τιμής οριοθετούν το +5% (άνω γραμμή) και το -5% (κάτω γραμμή) της τιμής της μέσης τιμής.

Κεφάλαιο 5

Ανάλυση δειγμάτων

Βάσει της μεθόδου που περιγράφηκε, αναλύθηκαν τρία δείγματα πόσιμου νερού προερχόμενα από την περιοχή της Θήβας. Τα δύο εξ' αυτών αφορούσαν οικίες της περιοχής (δείγματα Th P01 και Th G01) και το τρίτο συλλέχθηκε από γεώτρηση (δείγμα Th D01). Ο λόγος που επλέχτηκε η περιοχή του Νομού Βοιωτίας σχετίζεται με το γεγονός ότι τα τελευταία χρόνια έχουν δημοσιοποιηθεί άρθρα¹²⁹ που αναδεικνύουν την ύπαρξη Cr^{VI} στα νερά του Νομού.

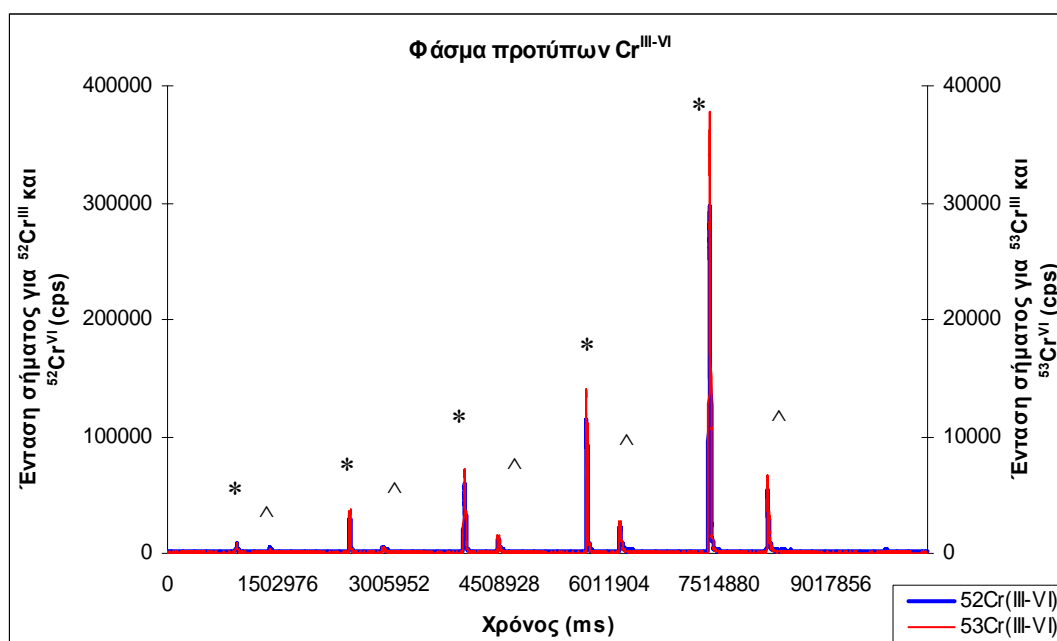
Για την ανάλυση των δειγμάτων κατασκευάστηκε αρχικά καμπύλη αναφοράς από πρότυπα χρωμίου γνωστών συγκεντρώσεων και υπολογίστηκε η κλίση της ευθείας παλινδρόμησης και ο σταθερός όρος της εξίσωσης. Από την εξίσωση της γραμμής τάσης των προτύπων υπολογίστηκε η άγνωστη ποσότητα του χρωμίου. Για τον έλεγχο πιθανών παρεμποδισμών οφειλόμενων στη μήτρα του δείγματος ακολούθησε ανάλυση του δείγματος εφαρμόζοντας τη μέθοδο προσθήκης γνωστής ποσότητας. Βάσει της οποίας, στο δείγμα προστίθεται ποσότητα γνωστής συγκέντρωσης της ουσίας του αναλύτη (Cr^{VI} και Cr^{III}) και ακολουθεί μαθηματική επεξεργασία των δεδομένων για τον προσδιορισμό της αρχικής άγνωστης συγκέντρωσης του δείγματος. Τα αποτελέσματα των δύο διαφορετικών προσεγγίσεων είναι μεταξύ τους συγκρίσιμα.

Το pH των τριών δειγμάτων μετρήθηκε και βρέθηκε μεταξύ 7,2 και 7,9. Για την αποφυγή καθίζησης του Cr^{III} ως Cr(OH)₃ που συμβαίνει σε pH~8,5, προστέθηκε 1μL αραιού HCl σε 199μL δείγματος έτσι ώστε το pH τους να μειωθεί σε τιμή κοντά στο 6. Η προσροφητική ικανότητα των MWCNTs - COOH δεν επηρεάστηκε διότι το IEP παρέμενε υψηλότερο από το pH.

5.1 Ανάλυση Δείγματος Th D01 (γεώτρηση περιοχής Θηβών)

Κατασκευάστηκε καμπύλη αναφοράς από πρότυπα διαλύματα χρωμίου που περιείχαν Cr^{III} και Cr^{VI}. Οι συγκεντρώσεις για το Cr^{III} ήταν 0,5, 1, 2, 5, και 10 ppb και

για το Cr^{VI} ήταν 1, 5, 10, 20 και 50 ppb. Το σήμα καταγραφής των προτύπων των δύο ισοτόπων ⁵²Cr (μπλε χρώμα) και ⁵³Cr (κόκκινο χρώμα) φαίνεται στο Γράφημα 5.1. Ανά ζεύγος κορυφών, η πρώτη αντιστοιχεί στο εξασθενές και η δεύτερη στο τρισθενές χρώμιο. Έτσι, στο πρώτο ζεύγος κορυφών η πρώτη αντιστοιχεί σε 1 ppb Cr^{VI} και η δεύτερη σε 0,5 ppb Cr^{III}, στο δεύτερο ζεύγος κορυφών η πρώτη αντιστοιχεί σε 5 ppb Cr^{VI} και η δεύτερη σε 1 ppb Cr^{III} και ούτω καθεξής μέχρι το τελευταίο ζεύγος κορυφών όπου η πρώτη κορυφή αφορά σε 50 ppb Cr^{VI} και η δεύτερη σε 10 ppb Cr^{III}.

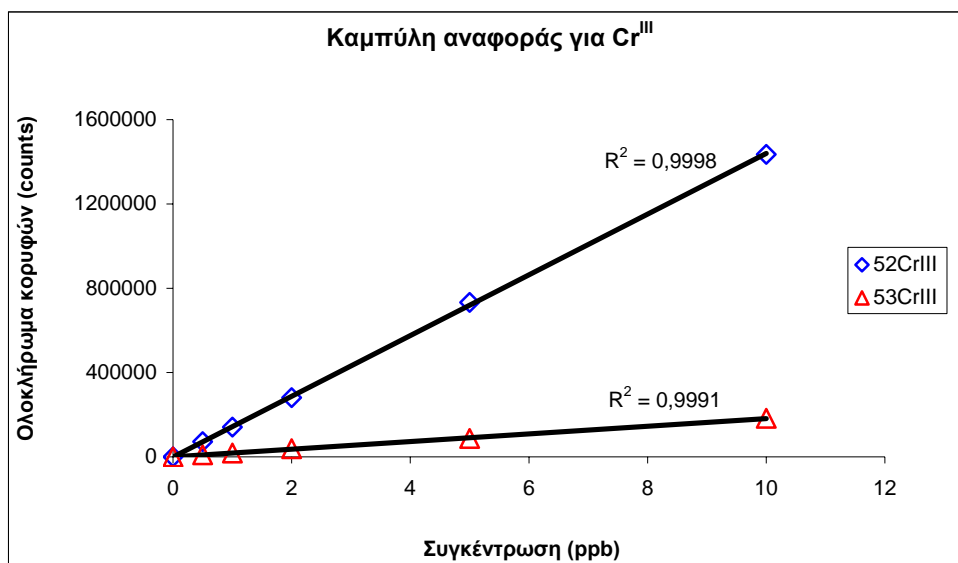


Γράφημα 5.1. Ένταση σήματος συναρτήσεως του χρόνου, των προτύπων διαλυμάτων χρωμίου των ισοτόπων ⁵²Cr (μπλε χρώμα) και ⁵³Cr (κόκκινη χρώμα). Οι συγκεντρώσεις για το Cr^{VI} (πρώτη κορυφή ανά ζεύγος κορυφών [*]) είναι 1, 5, 10, 20 και 50 ppb, και για το Cr^{III} (δεύτερη κορυφή ανά ζεύγος κορυφών [^]) 0,5, 1, 2, 5 και 10 ppb.

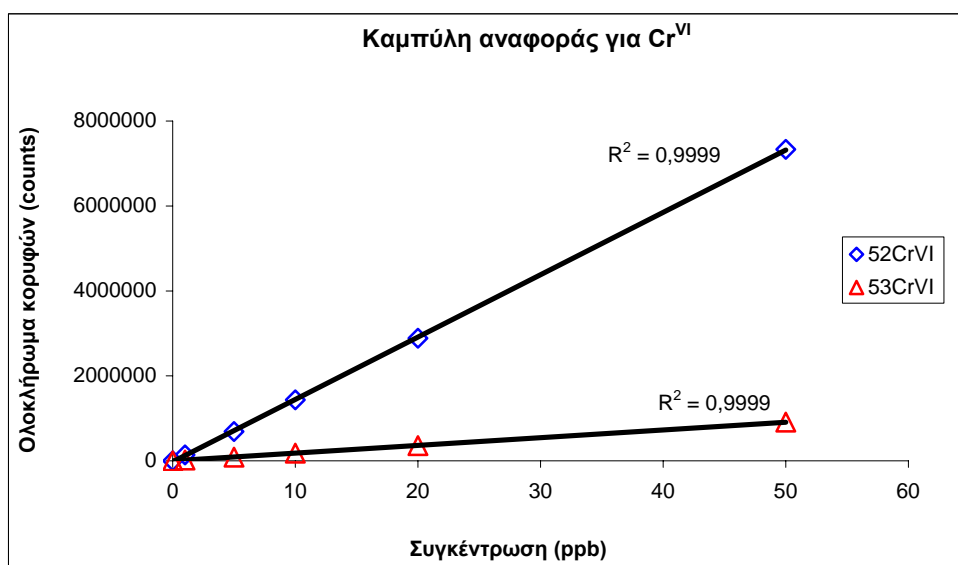
Από το Γράφημα 5.1 υπολογίστηκαν τα ολοκληρώματα των κορυφών για τα δύο ισοτόπια ⁵²Cr και ⁵³Cr και τις δύο οξειδωτικές καταστάσεις του χρωμίου (Cr^{III} και Cr^{VI}). Οι τιμές των ολοκληρωμάτων καταχωρούνται στον Πίνακα 5.1.

Πίνακας 5.1. Ολοκληρώματα κορυφών προτύπων διαλυμάτων χρωμίου					
Ολοκληρώματα κορυφών Cr^{III}					
	0,5 ppb	1 ppb	2 ppb	5 ppb	10 ppb
⁵² Cr ^{III}	71998	141397	280899	732518	1434904
⁵³ Cr ^{III}	9957	18118	38821	87044	182821
Ολοκληρώματα κορυφών Cr^{VI}					
	1 ppb	5 ppb	10 ppb	20 ppb	50 ppb
⁵² Cr ^{VI}	139729	688792	1436981	2885326	7331266
⁵³ Cr ^{VI}	17817	88419	182325	357044	910603

Από τις τιμές του Πίνακα 5.1 κατασκευάζονται οι καμπύλες αναφοράς, χωριστά για κάθε οξειδωτική κατάσταση του χρωμίου και για κάθε ισότοπο.



Γράφημα 5.2. Καμπύλη αναφοράς για $^{52}\text{Cr}^{\text{III}}$ (μπλε χρώμα) και $^{53}\text{Cr}^{\text{III}}$ (κόκκινη χρώμα).



Γράφημα 5.3. Καμπύλη αναφοράς για $^{52}\text{Cr}^{\text{VI}}$ (μπλε χρώμα) και $^{53}\text{Cr}^{\text{VI}}$ (κόκκινο χρώμα).

Σε όλες τις περιπτώσεις ο συντελεστής συσχέτισης (R^2) προσεγγίζει ικανοποιητικά τη μονάδα οπότε είναι αποδεκτό ότι η σχέση που συνδέει τα ολοκληρώματα των κορυφών με τις συγκεντρώσεις είναι γραμμική της μορφής $y=a+bx$. Βασιζόμενοι σε αυτό, υπολογίστηκαν από τις Εξισώσεις 4.3 και 4.4, η κλίση (b) και η τεταγμένη επί τη αρχή (a) της ευθείας παλινδρόμησης, για όλες τις περιπτώσεις. Τα μεγέθη αυτά καταχωρήθηκαν στις στήλες του Πίνακα 5.3. Για τους

υπολογισμούς προηγήθηκε ο προσδιορισμός των ενδιάμεσων στατιστικών μεγεθών που φαίνονται στο Πίνακα 5.2.

Πίνακας 5.2. Υπολογισμός ενδιάμεσων μεγεθών προσδιορισμού ευθείας παλινδρόμησης καμπύλης αναφοράς						
Στατιστική ανάλυση για Cr ^{III}						
	Συγκέντρωση (x _i)	Ολοκληρώματα κορυφών (y _i)	x _i -x _{av.}	y _i -y _{av.}	(x _i -x _{av.})*(y _i -y _{av.})	(x _i -x _{av.}) ²
⁵² Cr ^{III}	0,5	71998	-3,2	-460345	1473104	10,2
	1	141397	-2,7	-390946	1055554	7,3
	2	280899	-1,7	-251444	427455	2,9
	5	732518	1,3	200175	260228	1,7
	10	1434904	6,3	902561	5686134	39,7
	Μέση τιμή	3,7	532343	-	-	-
Αθροισμα	-	-	-	-	8902475	61,8
⁵³ Cr ^{III}	0,5	9957	-3,2	-57395	183664	10,2
	1	18118	-2,7	-49234	132932	7,3
	2	38821	-1,7	-28531	48503	2,9
	5	87044	1,3	19692	25600	1,7
	10	182821	6,3	115469	727455	39,7
	Μέση τιμή	3,7	67352	-	-	-
Αθροισμα	-	-	-	-	1118153	61,8
Στατιστική ανάλυση για Cr ^{VI}						
⁵² Cr ^{VI}	1	139729	-16,2	-2356690	38178378	262
	5	688792	-12,2	-1807627	22053049	149
	10	1436981	-7,2	-1059438	7627954	52
	20	2885326	2,8	388907	1088940	8
	50	7331266	32,8	4834847	158582982	1076
	Μέση τιμή	17,2	2496419	-	-	-
Αθροισμα	-	-	-	-	227531302	1547
⁵³ Cr ^{VI}	1	17817	-16,2	-293425	4753485	262
	5	88419	-12,2	-222823	2718441	149
	10	182325	-7,2	-128917	928202	52
	20	357044	2,8	45802	128246	8
	50	910603	32,8	599361	19659041	1076
	Μέση τιμή	17,2	311242	-	-	-
Αθροισμα	-	-	-	-	28187414	1547

Πίνακας 5.3. Συντελεστές ευθειών παλινδρόμησης καμπύλων αναφοράς		
	Ρυθμός μεταβολής (b)	Τεταγμένη επί τη αρχή (a)
⁵² Cr ^{III}	144053,0	-652,9
⁵³ Cr ^{III}	18093,1	407,8
⁵² Cr ^{VI}	147098,1	-33668,1
⁵³ Cr ^{VI}	18223,1	-2194,9

Οπότε οι εξισώσεις που περιγράφουν τις ευθείες παλινδρόμησης είναι:

i)	για ⁵² Cr ^{III} :	$y = 144053,0 x - 652,9$
ii)	για ⁵³ Cr ^{III} :	$y = 18093,1 x + 407,8$

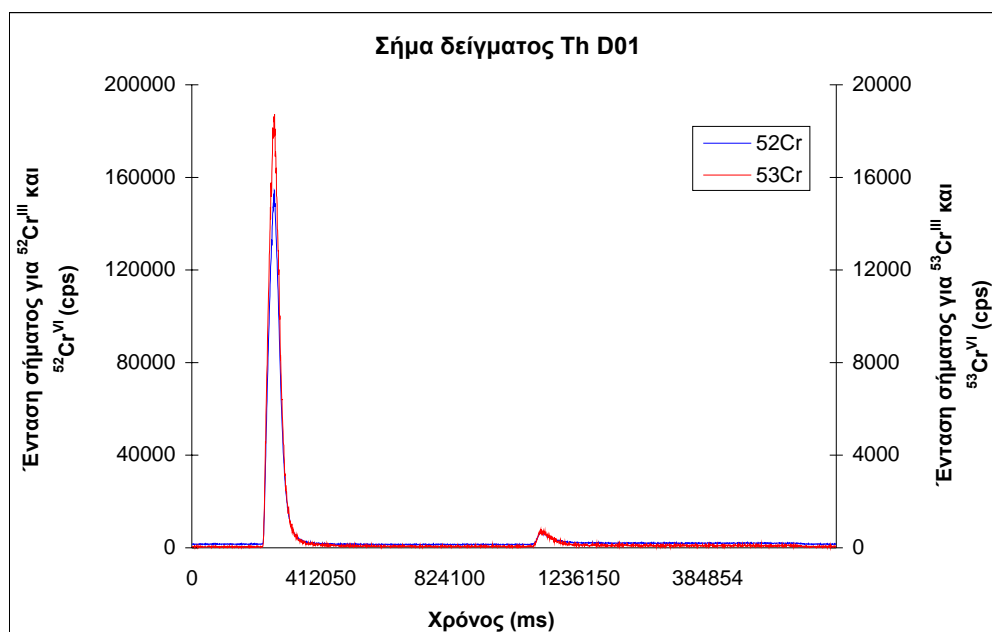
iii)	για $^{52}\text{Cr}^{\text{VI}}$:	$y = 147098,1 x - 33668,1$
iv)	για $^{53}\text{Cr}^{\text{VI}}$:	$y = 18223,1 x - 2194,9$

Από την Εξίσωση 4.5 υπολογίστηκε ανά περίπτωση το στατιστικό μέγεθος $s_{y/x}$ [Πίνακας 5.5] το οποίο αποτελεί τον εκτιμητή των τυχαίων σφαλμάτων κατά τη διεύθυνση του κάθετου άξονα Υ. Απαιτήθηκε πριν ο υπολογισμός των συνόλων που φαίνονται στον Πίνακα 5.4.

Πίνακας 5.4. Υπολογισμός συνόλων για το προσδιορισμό του μεγέθους $s_{y/x}$				
Στατιστική ανάλυση για Cr^{III}				
	Ολοκληρώματα κορυφών (y_i)	\hat{y}_i	$ y_i - \hat{y}_i $	$(y_i - \hat{y}_i)^2$
$^{52}\text{Cr}^{\text{III}}$	71998	71374	624	389837
	141397	143400	2003	4012515
	280899	287453	6554	42956443
	732518	719612	12906	166562581
	1434904	1439877	4973	24731115
Άθροισμα	-	-	-	238652490
$^{53}\text{Cr}^{\text{III}}$	9957	9454	503	252687
	18118	18501	383	146585
	38821	36594	2227	4959745
	87044	90873	3829	14662877
	182821	181339	1482	2197360
Άθροισμα	-	-	-	22219254
Στατιστική ανάλυση για Cr^{VI}				
$^{52}\text{Cr}^{\text{VI}}$	139729	113430	26299	691638074
	688792	701822	13030	169788370
	1436981	1437313	332	109999
	2885326	2908293	22967	527501905
	7331266	7321236	10030	100607810
Άθροισμα	-	-	-	1489646158
$^{53}\text{Cr}^{\text{VI}}$	17817	16028	1789	3199866
	88419	88920	501	251387
	182325	180036	2289	5241183
	357044	362266	5222	27270759
	910603	908958	1645	2707163
Άθροισμα	-	-	-	38670358

Πίνακας 5.5. Τιμές στατιστικού μεγέθους $s_{y/x}$	
	$s_{y/x}$
$^{52}\text{Cr}^{\text{III}}$	8919,1
$^{53}\text{Cr}^{\text{III}}$	2721,5
$^{52}\text{Cr}^{\text{VI}}$	22283,4
$^{53}\text{Cr}^{\text{VI}}$	3590,3

Οι προηγούμενοι υπολογισμοί ήταν απαραίτητοι για να προσδιοριστεί η άγνωστη συγκέντρωση (x_0) του δείγματος Th D01 μαζί με το τυπικό σφάλμα. Το χρωματογράφημα της μέτρησης του άγνωστου δείγματος φαίνεται στο Γράφημα 5.4.



Γράφημα 5.4. Σήμα δείγματος Th D01 (γεώτρηση). Η πρώτη κορυφή αντιστοιχεί στο Cr^{VI} και η δεύτερη στο Cr^{III}. Με μπλε χρώμα απεικονίζεται το χρωματογράφημα του ισότοπου ⁵²Cr (αριστερός κάθετος άξονας) και με κόκκινο του ⁵³Cr (δεξιός κάθετος άξονας).

Τα ολοκληρώματα των κορυφών του δείγματος φαίνονται στις στήλες του Πίνακα 5.6.

Πίνακας 5.6. Ολοκληρώματα κορυφών δείγματος Th D01	
	Ολοκλήρωμα (counts)
⁵² Cr ^{III}	249828
⁵³ Cr ^{III}	35940
⁵² Cr ^{VI}	6455096
⁵³ Cr ^{VI}	783465

Από τις εξισώσεις που περιγράφουν την ευθεία παλινδρόμησης [Πίνακας 5.3] υπολογίστηκαν οι άγνωστες συγκεντρώσεις, για κάθε ισότοπο και για τις δύο οξειδωτικές καταστάσεις του χρωμίου. Τα αποτελέσματα καταχωρούνται στον Πίνακα 5.7.

Πίνακας 5.7. Εκτιμώμενες συγκεντρώσεις δείγματος Th D01	
	Συγκέντρωση x₀ (ppb)
⁵² Cr ^{III}	1,7
⁵³ Cr ^{III}	2,0
⁵² Cr ^{VI}	44,4
⁵³ Cr ^{VI}	43,1

Από την Εξίσωση 5.1, για $n=5$, $s_{y/x}$ και b τα αντίστοιχα κάθε φορά από Πίνακες 5.5 και 5.3, και y_0 τα ολοκληρώματα των κορυφών του δείγματος, υπολογίστηκε η τυπική απόκλιση (s_{x_0}) κάθε συγκέντρωσης του δείγματος που

εντάσσεται σε εύρος εμπιστοσύνης 95% και τα αποτελέσματα καταχωρήθηκαν στον Πίνακα 5.8.

$$s_{x_o} = \frac{s_{y/x}}{b} \sqrt{1 + \frac{1}{n} + \frac{(y_o - \bar{y})^2}{b^2 \sum_i (x_i - \bar{x})^2}}$$

Εξίσωση 5.1

Πίνακας 5.8. Τυπική απόκλιση των συγκεντρώσεων του δείγματος Th D01

	Τυπική απόκλιση s_{x_o} σε 95% διάστημα εμπιστοσύνης (ppb)
$^{52}\text{Cr}^{\text{III}}$	0,1
$^{53}\text{Cr}^{\text{III}}$	0,2
$^{52}\text{Cr}^{\text{VI}}$	0,2
$^{53}\text{Cr}^{\text{VI}}$	0.3

Τελικά, οι συγκεντρώσεις ανά ισότοπο Cr^{III} και Cr^{VI} στο δείγμα Th D01 συμπεριλαμβανομένου και του τυπικού σφάλματος, εντός εύρους εμπιστοσύνης 95%, δίνονται από την Εξίσωση 5.2 (για $n=5$ και $t_{(n-2)}=3,18$, από Π. Π1) και τα αποτελέσματα φαίνονται στον Πίνακα 5.9.

$$95\% \text{Conf. Limits}_{x_o} = x_o \pm t_{(n-2)} s_{x_o}$$

Εξίσωση 5.2

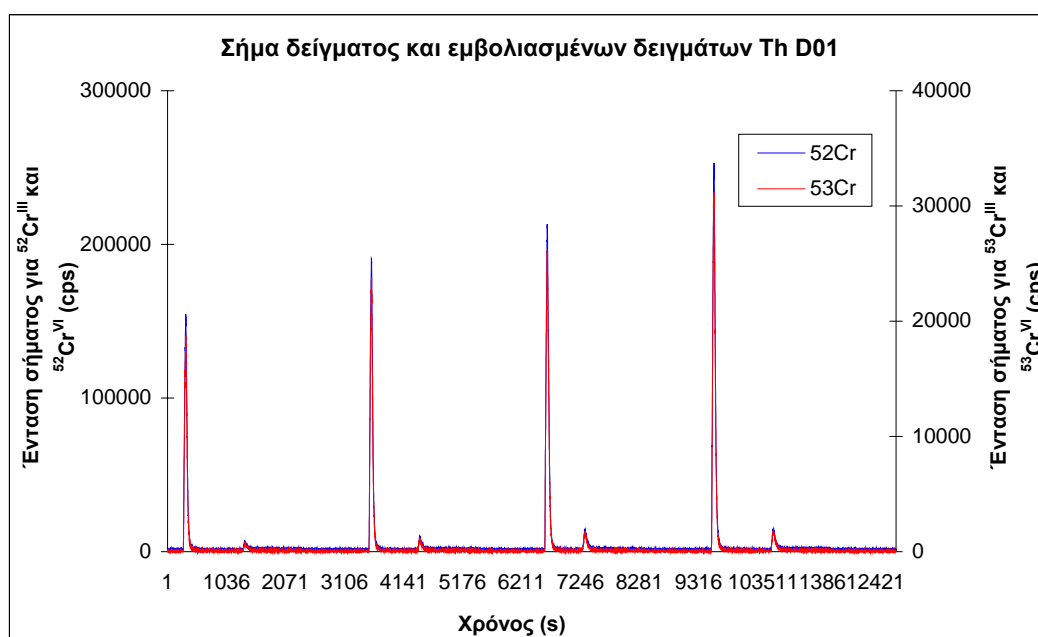
Πίνακας 5.9. Εκτιμώμενες συγκεντρώσεις δείγματος Th D01 με τυπικό σφάλμα εντός ορίων εμπιστοσύνης 95%

	Συγκέντρωση (ppb)	
$^{52}\text{Cr}^{\text{III}}$	$1,7 \pm 0,2$	} $[\text{Cr}^{\text{III}}] = 1,9 \text{ ppb} \pm 0,4 \text{ ppb}$
$^{53}\text{Cr}^{\text{III}}$	$2,0 \pm 0,5$	
$^{52}\text{Cr}^{\text{VI}}$	$44,4 \pm 0,6$	} $[\text{Cr}^{\text{VI}}] = 43,7 \text{ ppb} \pm 0,7 \text{ ppb}$
$^{53}\text{Cr}^{\text{VI}}$	$43,1 \pm 0,8$	

Ωστόσο, οι εκτιμήσεις αυτές βασίστηκαν σε καμπύλες αναφοράς προτύπων διαλυμάτων χρωμίου όπου δεν υπήρχαν παρεμποδισμοί από τη μήτρα των προτύπων, σε αντίθεση με το δείγμα όπου παραμένει άγνωστος ο βαθμός επίδρασης της μήτρας του στο χρωματογράφημα που απεικονίζεται στο Γράφημα 5.4.

Για το λόγο αυτό, πραγματοποιήθηκε και ο προσδιορισμός των αγνώστων συγκεντρώσεων με τη μέθοδο της προσθήκης γνωστής ποσότητας για σύγκριση των αποτελεσμάτων. Στο δείγμα Th D01 προστέθηκε Cr^{VI} σε συγκεντρώσεις 10, 20 και 30 ppb και Cr^{III} σε συγκεντρώσεις 1, 3 και 3 ppb. Ο τελικός όγκος των δειγμάτων ήταν 200 μL και ο εμβολιασμός πραγματοποιήθηκε προσθέτοντας 10 μL πυκνού διαλύματος Cr^{III} ή Cr^{VI} συγκεντρώσεων τέτοιων ώστε, ύστερα από αραιώση σε 190 μL

δείγματος, να προκύψουν οι επιθυμητές συγκεντρώσεις. Για παράδειγμα, ο εμβολιασμός με 10 ppb Cr^{VI} πραγματοποιήθηκε με προσθήκη 10μL προτύπου Cr^{VI} συγκέντρωσης 200ppb σε 190 μL δείγματος Th D01. Η αραιώση πυκνού και μικρού όγκου διαλύματος χρωμίου στο δείγμα ήταν θεμιτή για να υπάρχει κατά το δυνατό μικρότερη επίδραση (αραιώση) στη μήτρα του δείγματος. Το σήμα που καταγράφηκε εμφανίζεται στο Γράφημα 5.5.



Γράφημα 5.5. Χρωματογράφημα αλληλουχίας δείγματος και τριών εμβολιασμένων δειγμάτων. Το πρώτο ζεύγος κορυφών αντιστοιχεί στο δείγμα, τα υπόλοιπα τρία στα εμβολιασμένα δείγματα. Ανά ζεύγος κορυφών, η πρώτη αντιστοιχεί σε Cr^{VI} και η δεύτερη σε Cr^{III}. Στο 2^ο ζεύγος κορυφών ο εμβολιασμός είναι με 10ppb Cr^{VI} και 1ppb Cr^{III}, στο 3^ο ζεύγος κορυφών ο εμβολιασμός είναι με 20ppb Cr^{VI} και 3ppb Cr^{III} και στο 4^ο ζεύγος κορυφών ο εμβολιασμός είναι με 30ppb Cr^{VI} και 3ppb Cr^{III}. Το χρωματογράφημα μπλε χρώματος αφορά στο ισότοπο ⁵²Cr και κόκκινου χρώματος στο ⁵³Cr.

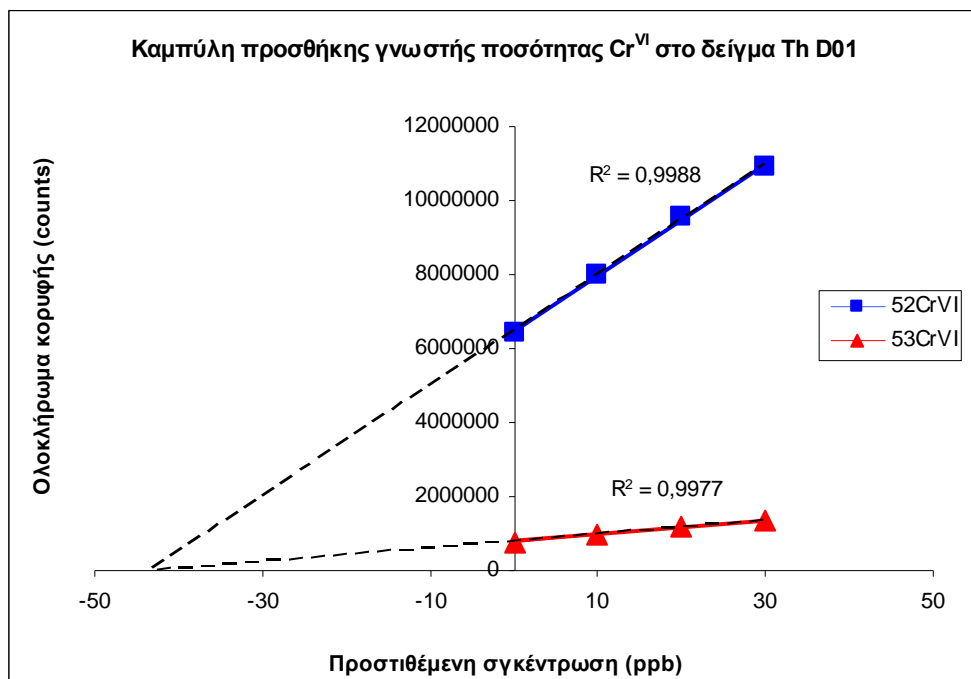
Υπολογίστηκαν τα ολοκληρώματα όλων των κορυφών [Πίνακας 5.10].

Πίνακας 5.10. Ολοκληρώματα κορυφών δείγματος Th D01 και εμβολιασμένων δειγμάτων

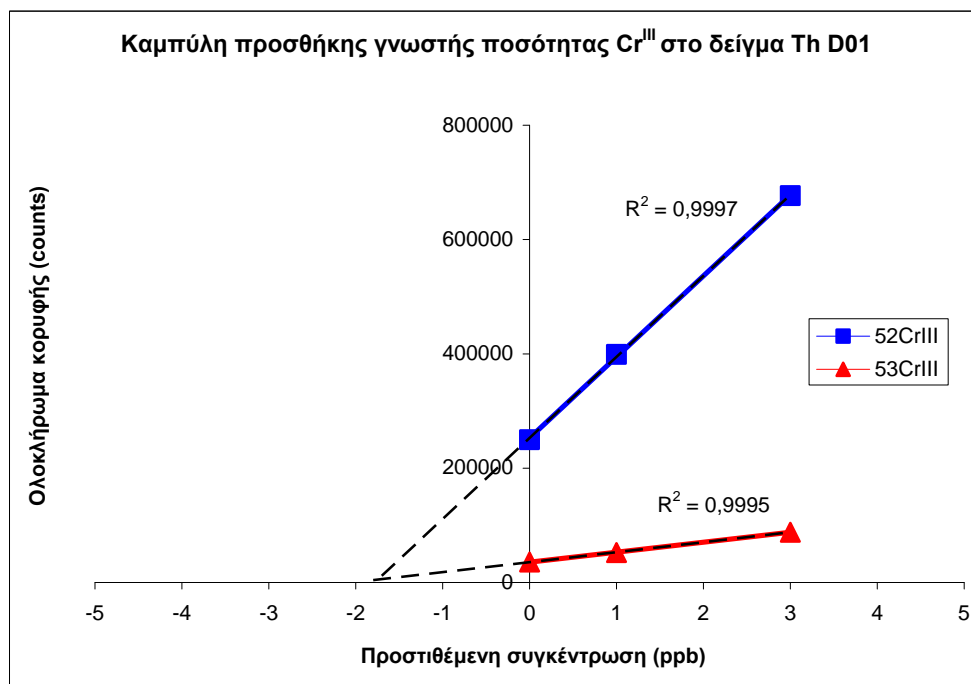
	Δείγμα Th D01	Δείγμα εμβολιασμένο με [Cr ^{III}]=1ppb και [Cr ^{VI}]=10ppb	Δείγμα εμβολιασμένο με [Cr ^{III}]=3ppb και [Cr ^{VI}]=20ppb	Δείγμα εμβολιασμένο με [Cr ^{III}]=3ppb και [Cr ^{VI}]=30ppb
⁵² Cr ^{III}	249828	399030	676841	728589
⁵³ Cr ^{III}	35940	52277	88034	94611
⁵² Cr ^{VI}	6455096	7975096	9567346	10910601
⁵³ Cr ^{VI}	783465	978750	1176962	1336970

Ακολούθησε ο χειρισμός του δείγματος και των εμβολιασμένων δειγμάτων με τον ίδιο τρόπο που αναλύθηκαν και τα πρότυπα διαλύματα. Κατασκευάστηκαν τα γραφήματα των ολοκληρωμάτων συναρτήσει της προστιθέμενης συγκέντρωσης χρωμίου (και όχι της αρχικής συγκέντρωσης χρωμίου), έτσι ώστε το άγνωστο δείγμα

να χαρακτηρίζεται ως διάλυμα μηδενικής προστιθέμενης συγκέντρωσης χρωμίου και να εκλαμβάνεται ως «τυφλό». Στις καμπύλες που προέκυψαν ελέγχθηκε ο συντελεστής συσχέτισης των μεταβλητών και υπολογίστηκαν οι συντελεστές που περιγράφουν την εξίσωση της σχέσης (κλίση (b) και τεταγμένη επί τη αρχή (a)).



Γράφημα 5.6. Καμπύλες προσθήκης γνωστής ποσότητας Cr^{VI} στο δείγμα Th D01. ⁵²Cr^{VI} (μπλε χρώμα) και ⁵³Cr^{VI} (κόκκινο χρώμα).



Γράφημα 5.7. Καμπύλες προσθήκης γνωστής ποσότητας Cr^{III} στο δείγμα Th D01. ⁵²Cr^{III} (μπλε χρώμα) και ⁵³Cr^{III} (κόκκινο χρώμα).

Στα Γραφήματα 5.6 και 5.7, σε όλες τις περιπτώσεις, οι συντελεστές συσχέτισης προσεγγίζουν τη μονάδα οπότε η σχέση που συνδέει τα ολοκληρώματα με τις προστιθέμενες συγκεντρώσεις είναι γραμμική της μορφής $y=bx+a$. Δεδομένου ότι το δείγμα μεταχειρίστηκε ως «τυφλό», δηλαδή μεταβλητή $x=0$, οι τιμές των ολοκληρωμάτων του δείγματος ταυτίζονται με τον άξονα Y , ενώ τα υπόλοιπα σημεία αφορούν στα εμβολιασμένα δείγματα. Εφόσον οι μετρήσεις των εμβολιασμένων δειγμάτων εμπεριέχουν την πιθανή αλλοίωση του σήματος από ενδεχόμενους παρεμποδισμούς της μήτρας και εφόσον η μήτρα του δείγματος παραμένει η ίδια με αυτή των εμβολιασμένων δειγμάτων, τότε και η εξίσωση που περιγράφει την ευθεία παλινδρόμησης θα εμπεριέχει κατά ίδια αναλογία τις αλλοιώσεις από τους παρεμποδισμών. Οπότε στην εξίσωση της ευθείας παλινδρόμησης όταν μηδενιστεί η μεταβλητή y η απόλυτη τιμή του x που προκύπτει αποκαλύπτει τη συγκέντρωση του άγνωστου δείγματος (x_E). Αυτό υποδηλώνουν και οι στικτές γραμμές ως προέκταση της ευθείας παλινδρόμησης.

Πίνακας 5.11. Υπολογισμός ενδιάμεσων μεγεθών προσδιορισμού ευθείας παλινδρόμησης μεθόδου προσθήκης γνωστής ποσότητας

Στατιστική ανάλυση για Cr ^{III}							
	Προστιθέμενη συγκέντρωση (ppb) (x_i)	Ολοκληρώματα κορυφών (counts) (y_i)	$x_i - x_{av.}$	$y_i - y_{av.}$	$(x_i - x_{av.}) * (y_i - y_{av.})$	$(x_i - x_{av.})^2$	
⁵² Cr ^{III}	0	249828	-1,33	-192072	256096	1,78	
	1	399030	-0,33	-42870	14290	0,11	
	3	676841	1,67	234941	391569	2,78	
	Μέση τιμή	1,33	441900	-	-	-	-
	Άθροισμα	-	-	-	-	661954	4,67
⁵³ Cr ^{III}	0	35940	-1,33	-22810	30414	1,78	
	1	52277	-0,33	-6473	2158	0,11	
	3	88034	1,67	29284	48806	2,78	
	Μέση τιμή	1,33	58750	-	-	-	-
	Άθροισμα	-	-	-	-	81378	4,67
Στατιστική ανάλυση για Cr ^{VI}							
⁵² Cr ^{VI}	0	6455096	-15	-2271939	34079081	225	
	10	7975096	-5	-751939	3759694	25	
	20	9567346	5	840311	4201556	25	
	30	10910601	15	2183566	32753494	225	
	Μέση τιμή	15	8727035	-	-	-	-
	Άθροισμα	-	-	-	-	74793825	500
⁵³ Cr ^{VI}	0	783465	-15	-285572	4283576	225	
	10	978750	-5	-90287	451434	25	
	20	1176962	5	107925	539626	25	
	30	1336970	15	267933	4018999	225	
	Μέση τιμή	15	1069037	-	-	-	-
	Άθροισμα	-	-	-	-	9293635	500

Υπολογίστηκαν τα ενδιάμεσα απαιτούμενα μεγέθη για τη περιγραφή των ευθειών παλινδρόμησης [Πίνακας 5.11] και από τις Εξισώσεις 4.3 και 4.4 οι συντελεστές b και a [Πίνακας 5.12].

Πίνακας 5.12. Συντελεστές εξισώσεων ευθειών παλινδρόμησης μεθόδου προθήκης γνωστής συγκέντρωσης		
	Κλίση ευθείας (b)	Τεταγμένη επί τη αρχή (a)
$^{52}\text{Cr}^{\text{III}}$	141847,4	252769,9
$^{53}\text{Cr}^{\text{III}}$	17438,1	35499,6
$^{52}\text{Cr}^{\text{VI}}$	149587,7	6483220,0
$^{53}\text{Cr}^{\text{VI}}$	18587,3	790227,7

Οπότε οι εξισώσεις που περιγράφουν τις ευθείες παλινδρόμησης κατά περίπτωση είναι :

i)	για το $^{52}\text{Cr}^{\text{III}}$:	$y = 141847,4 x + 252769,9$
ii)	για το $^{53}\text{Cr}^{\text{III}}$:	$y = 17438,1 x + 35499,6$
iii)	για το $^{52}\text{Cr}^{\text{VI}}$:	$y = 149587,7 x + 6483220,0$
iv)	για το $^{53}\text{Cr}^{\text{VI}}$:	$y = 18587,3 x + 790227,7$

Από την Εξίσωση 4.5 υπολογίστηκε το στατιστικό μέγεθος $s_{y/x}$ [Πίνακας 5.14] αφού προηγήθηκε ο υπολογισμός των απαιτούμενων συνόλων [Πίνακας 5.13].

Πίνακας 5.13. Υπολογισμός συνόλων για το προσδιορισμό $s_{y/x}$				
Στατιστική ανάλυση για Cr^{III}				
	Ολοκληρώματα κορυφών (y_i)	\hat{y}_i	$y_i - \hat{y}_i$	$(y_i - \hat{y}_i)^2$
$^{52}\text{Cr}^{\text{III}}$	249828	252770	2942	8654523
	399030	394617	4413	19472678
	676841	678312	1471	2163631
	Άθροισμα	-	-	302908032
$^{53}\text{Cr}^{\text{III}}$	35940	35500	440	193977
	52277	52938	661	436449
	88034	87814	220	48494
	Άθροισμα	-	-	678920
Στατιστική ανάλυση για Cr^{VI}				
$^{52}\text{Cr}^{\text{VI}}$	6455096	6483220	28124	790959376
	7975096	7979097	4001	16004000
	9567346	9474973	92373	8532771129
	10910601	10970849	60249	3629881752
	Άθροισμα	-	-	1,297E+10
$^{53}\text{Cr}^{\text{VI}}$	783465	790228	6763	45734111
	978750	976100	2650	7020380
	1176962	1161973	14989	224667123
	1336970	1347846	10876	118283026
	Άθροισμα	-	-	395704640

Από την Εξίσωση 5.3 υπολογίστηκε η τιμή μίας τυπικής απόκλισης (s_{x_E}) για να υπολογιστεί κατ' αναλογία και το τυπικό σφάλμα της άγνωστης συγκέντρωσης του δείγματος [Πίνακας 5.14]. Για το Cr^{III} $n=3$ και για το Cr^{VI} $n=4$.

$$s_{x_E} = \frac{s_{y/x}}{b} \sqrt{\frac{1}{n} + \frac{\bar{y}^2}{b^2 \sum_i (x_i - \bar{x})^2}}$$

Εξίσωση 5.3

Πίνακας 5.14. Τιμές στατιστικού μεγέθους $s_{y/x}$ και 1 τυπικής απόκλισης s_{x_E} , μεθόδου προσθήκης γνωστής ποσότητας

	$s_{y/x}$	s_{x_E}
$^{52}\text{Cr}^{\text{III}}$	5503,7	0,1
$^{53}\text{Cr}^{\text{III}}$	824,0	0,1
$^{52}\text{Cr}^{\text{VI}}$	80528,3	1,4
$^{53}\text{Cr}^{\text{VI}}$	14066,0	2,0

Η ζητούμενη άγνωστη συγκέντρωση x_E ισούται με την απόλυτη τιμή του x που προκύπτει μηδενίζοντας το συντελεστή y στις εξισώσεις των ευθειών παλινδρόμησης [Πίνακας 5.12]. Τα αποτελέσματα φαίνονται στο Πίνακα 5.15.

Πίνακας 5.15. Εκτιμώμενες συγκεντρώσεις δείγματος Th D01 με τη μέθοδο προσθήκης γνωστής συγκέντρωσης

	Συγκέντρωση x_E (ppb)
$^{52}\text{Cr}^{\text{III}}$	1,8
$^{53}\text{Cr}^{\text{III}}$	2,0
$^{52}\text{Cr}^{\text{VI}}$	43,3
$^{53}\text{Cr}^{\text{VI}}$	42,5

Τέλος, από την Εξίσωση 5.4 υπολογίστηκε το τυπικό σφάλμα, εντός ορίων εμπιστοσύνης 95%, της ζητούμενης άγνωστης συγκέντρωσης x_E [Πίνακας 5.16]. Για την επίλυση των Εξισώσεων, $n=3$ και $t_{(n-2)}=12,71$ (από Π.Π1) για το Cr^{III} και $n=4$ και $t_{(n-2)}=4,3$ για το Cr^{VI} .

$$95\% \text{Conf. Limits}_{x_E} = x_E \pm t_{(n-2)} s_{x_E}$$

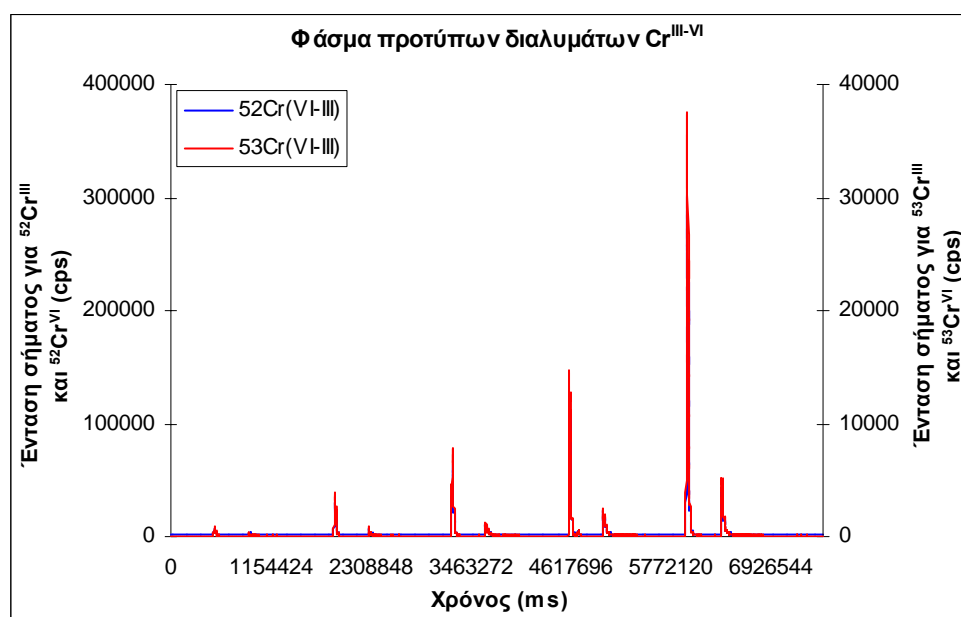
Εξίσωση 5.4

Πίνακας 5.16. Εκτιμώμενες συγκεντρώσεις δείγματος Th D01 με τυπικό σφάλμα εντός ορίων εμπιστοσύνης 95%

	Συγκέντρωση (ppb)	
$^{52}\text{Cr}^{\text{III}}$	$1,8 \pm 0,8$	} $[\text{Cr}^{\text{III}}] = 1,9 \text{ ppb} \pm 0,9 \text{ ppb}$
$^{53}\text{Cr}^{\text{III}}$	$2,0 \pm 1,0$	
$^{52}\text{Cr}^{\text{VI}}$	$43,3 \pm 6,1$	} $[\text{Cr}^{\text{VI}}] = 42,9 \text{ ppb} \pm 7,3 \text{ ppb}$
$^{53}\text{Cr}^{\text{VI}}$	$42,5 \pm 8,5$	

5.2 Ανάλυση Δείγματος Th P01 (οικία περιοχής Θηβών)

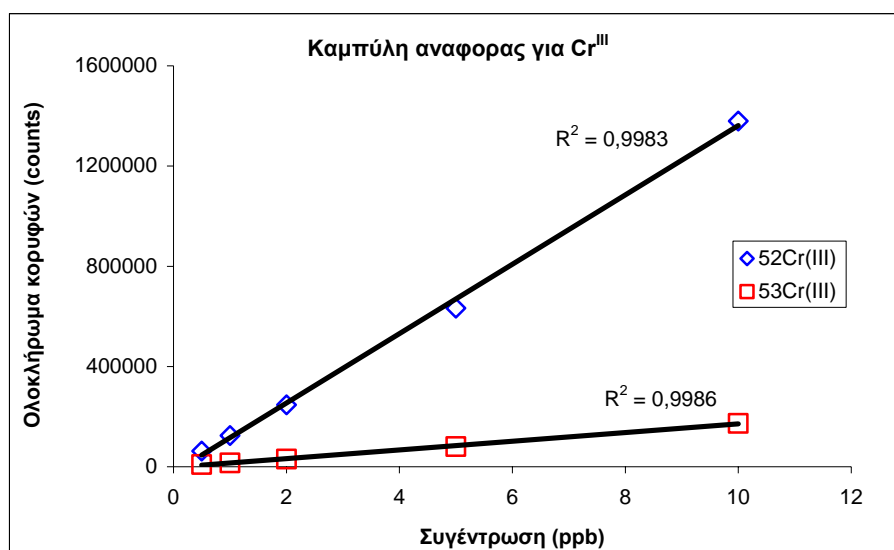
Η διαδικασία ανάλυσης που ακολουθήθηκε είναι παρόμοια με αυτήν που χρησιμοποιήθηκε στην ανάλυση του προηγούμενου δείγματος, Th D01. Αρχικά κατασκευάστηκε καμπύλη αναφοράς με πρότυπα διαλύματα που περιείχαν ταυτόχρονα Cr^{III} και Cr^{VI}. Οι συγκεντρώσεις των προτύπων διαλυμάτων για το Cr^{III} ήταν 0,5, 1, 2, 5, και 10 ppb και για το Cr^{VI} 1, 5, 10, 20 και 50 ppb. Το σήμα των προτύπων διαλυμάτων φαίνεται στο Γράφημα 5.8. Ανά ζεύγος κορυφών η πρώτη αφορά στο Cr^{VI} και η δεύτερη στο Cr^{III}. Άρα το πρώτο ζεύγος κορυφών αφορά στο πρότυπο διάλυμα χρωμίου με [Cr^{VI}]=1 ppb και [Cr^{III}]=0,5 ppb και κατά αύξουσα σειρά μέχρι το πέμπτο ζεύγος κορυφών όπου οι συγκεντρώσεις του χρωμίου είναι [Cr^{VI}]=50 ppb και [Cr^{III}]=10 ppb. Τα ολοκληρώματα των κορυφών καταχωρήθηκαν στον Πίνακα 5.17.



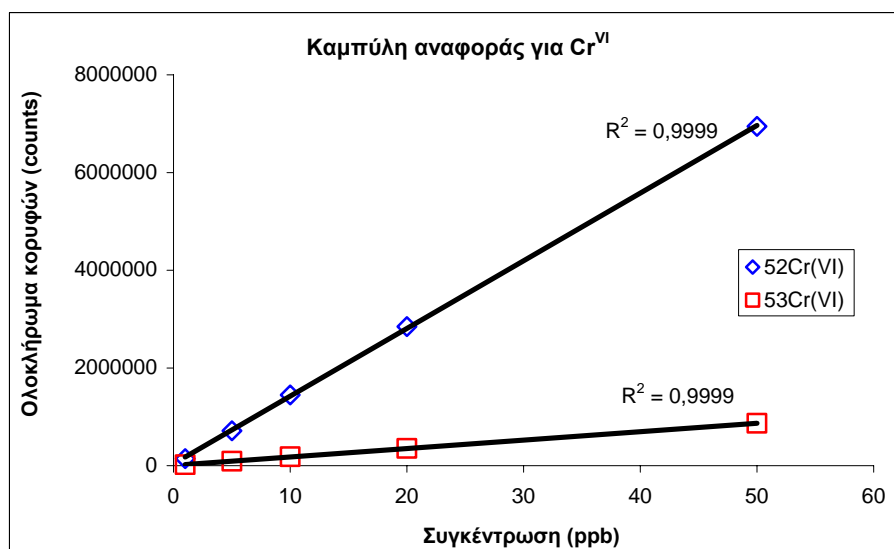
Γράφημα 5.8. Ένταση σήματος συναρτήσει του χρόνου, των προτύπων διαλυμάτων χρωμίου των ισοτόπων ⁵²Cr (μπλε χρώμα) και ⁵³Cr (κόκκινο χρώμα). Οι συγκεντρώσεις για το Cr^{VI} (πρώτη κορυφή ανά ζεύγος κορυφών) είναι 1, 5, 10, 20 και 50 ppb, και για το Cr^{III} (δεύτερη κορυφή ανά ζεύγος κορυφών) 0,5, 1, 2, 5 και 10 ppb.

Πίνακας 5.17. Ολοκληρώματα κορυφών προτύπων διαλυμάτων χρωμίου					
Ολοκληρώματα κορυφών Cr^{III}					
	0,5 ppb	1 ppb	2 ppb	5 ppb	10 ppb
⁵² Cr ^{III}	62743	124814	247065	632739	1379624
⁵³ Cr ^{III}	8931	15459	30784	80676	172801
Ολοκληρώματα κορυφών Cr^{VI}					
	1 ppb	5 ppb	10 ppb	20 ppb	50 ppb
⁵² Cr ^{VI}	144958	714044	1446594	2847497	6944379
⁵³ Cr ^{VI}	19188	90340	182684	355370	866584

Κατασκευάστηκαν οι καμπύλες αναφοράς ανά οξειδωτική κατάσταση και ανά ισότοπο του χρωμίου από τα δεδομένα του Πίνακα 5.17.



Γράφημα 5.9. Καμπύλη αναφοράς για $^{52}\text{Cr}^{\text{III}}$ (μπλε χρώμα) και $^{53}\text{Cr}^{\text{III}}$ (κόκκινο χρώμα).



Γράφημα 5.10. Καμπύλη αναφοράς για $^{52}\text{Cr}^{\text{VI}}$ (μπλε χρώμα) και $^{53}\text{Cr}^{\text{VI}}$ (κόκκινο χρώμα).

Ο συντελεστής συσχέτισης σε όλες τις περιπτώσεις προσεγγίζει τη μονάδα οπότε δεχόμαστε ότι η σχέση που συνδέει τις δύο μεταβλητές είναι γραμμική της μορφής $y=a+bx$. Από την επίλυση των Εξισώσεων 4.3 και 4.4 προσδιορίζονται οι συντελεστές b (κλίση της ευθείας) και a (τεταγμένη επί τη αρχή) για τη περιγραφή της ευθείας παλινδρόμησης [Πίνακας 5.18].

Πίνακας 5.18. Συντελεστές ευθειών παλινδρόμησης καμπόλων αναφοράς		
	Κλίση ευθείας (b)	Τεταγμένη επί τη αρχή (a)
$^{52}\text{Cr}^{\text{III}}$	138453,1	-22879,5
$^{53}\text{Cr}^{\text{III}}$	17328,1	-2383,7
$^{52}\text{Cr}^{\text{VI}}$	138527,0	36830,7
$^{53}\text{Cr}^{\text{VI}}$	17255,4	6040,0

Οπότε οι ευθείες παλινδρόμησης των καμπόλων αναφοράς περιγράφονται από τις παρακάτω εξισώσεις:

i)	για $^{52}\text{Cr}^{\text{III}}$:	$y = 138453,1 x - 22879,5$
ii)	για $^{53}\text{Cr}^{\text{III}}$:	$y = 17328,1 x - 2383,7$
iii)	για $^{52}\text{Cr}^{\text{VI}}$:	$y = 138527,0 x + 36830,1$
iv)	για $^{53}\text{Cr}^{\text{VI}}$:	$y = 17255,4 x + 6040,0$

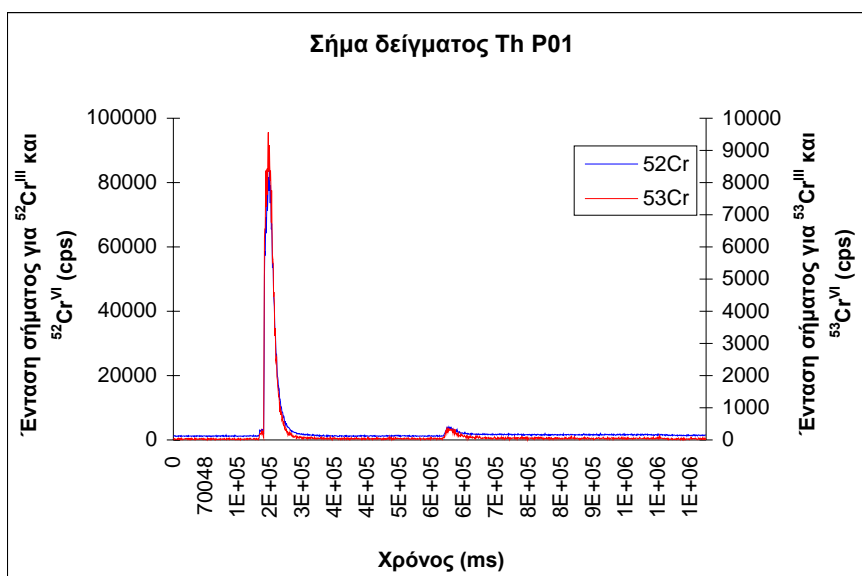
Υπολογίστηκε το στατιστικό μέγεθος $s_{y/x}$ [Πίνακας 5.19] από την Εξίσωση 4.5.

Πίνακας 5.19. Τιμές στατιστικού μεγέθους $s_{y/x}$	
	$s_{y/x}$
$^{52}\text{Cr}^{\text{III}}$	26259,8
$^{53}\text{Cr}^{\text{III}}$	2941,1
$^{52}\text{Cr}^{\text{VI}}$	35239,9
$^{53}\text{Cr}^{\text{VI}}$	4482,9

Το σήμα της μέτρησης του δείγματος απεικονίζεται στο Γράφημα 5.11 και τα ολοκληρώματα κάθε κορυφής στον Πίνακα 5.20. Από τις εξισώσεις που περιγράφουν τις ευθείες παλινδρόμησης υπολογίστηκε η άγνωστη συγκέντρωση (x_0) του δείγματος Th P01 [Πίνακας 5.21] και από την Εξίσωση 5.1 η τυπική απόκλιση (s_{x_0}) [Πίνακας 5.22].

Πίνακας 5.20. Ολοκληρώματα κορυφών δείγματος Th P01	
	Ολοκλήρωμα (counts)
$^{52}\text{Cr}^{\text{III}}$	67750
$^{53}\text{Cr}^{\text{III}}$	9384
$^{52}\text{Cr}^{\text{VI}}$	1883177
$^{53}\text{Cr}^{\text{VI}}$	201352

Πίνακας 5.21. Εκτιμώμενες συγκεντρώσεις δείγματος Th P01	
	Συγκέντρωση x_0 (ppb)
$^{52}\text{Cr}^{\text{III}}$	0,7
$^{53}\text{Cr}^{\text{III}}$	0,7
$^{52}\text{Cr}^{\text{VI}}$	13,3
$^{53}\text{Cr}^{\text{VI}}$	11,3



Γράφημα 5.11. Σήμα δείγματος Th P01 (οικία). Η πρώτη κορυφή αντιστοιχεί στο Cr^{VI} και η δεύτερη στο Cr^{III}. Με μπλε χρώμα απεικονίζεται το χρωματογράφημα του ισότοπου ⁵²Cr (αριστερός κάθετος άξονας) και με κόκκινο του ⁵³Cr (δεξιός κάθετος άξονας).

Πίνακας 5.22. Τυπική απόκλιση των συγκεντρώσεων του δείγματος Th P01

	Τυπική απόκλιση s_{x_0} σε 95% διάστημα εμπιστοσύνης (ppb)
⁵² Cr ^{III}	0,2
⁵³ Cr ^{III}	0,2
⁵² Cr ^{VI}	0,3
⁵³ Cr ^{VI}	0,3

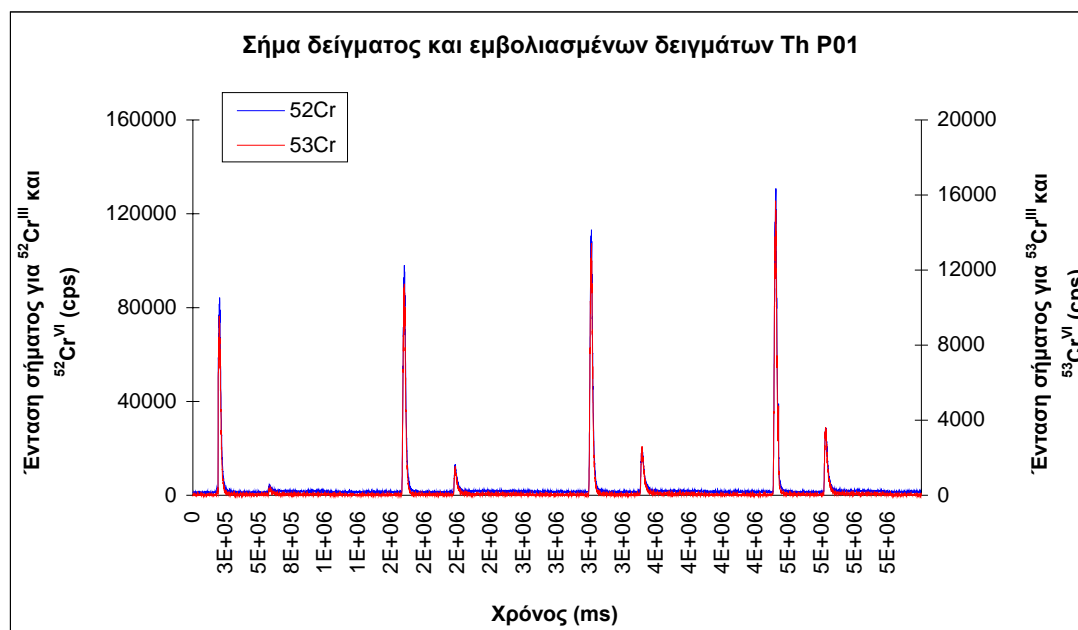
Τελικά, από την Εξίσωση 5.2 (για $n=5$ και $t_{(n-2)}=3,18$, από Π.Π1) υπολογίστηκαν οι συγκεντρώσεις ανά ισότοπο Cr^{III} και Cr^{VI} στο δείγμα Th P01 συμπεριλαμβανομένου και του τυπικού σφάλματος εντός εύρους εμπιστοσύνης 95%. Τα αποτελέσματα φαίνονται στον Πίνακα 5.23.

Πίνακας 5.23. Εκτιμώμενες συγκεντρώσεις δείγματος Th P01 με τυπικό σφάλμα εντός ορίων εμπιστοσύνης 95%

	Συγκέντρωση (ppb)	
⁵² Cr ^{III}	$0,7 \pm 0,7$	} [Cr ^{III}] = $0,7 \text{ ppb} \pm 0,7 \text{ ppb}$
⁵³ Cr ^{III}	$0,7 \pm 0,6$	
⁵² Cr ^{VI}	$13,3 \pm 0,9$	} [Cr ^{VI}] = $12,3 \text{ ppb} \pm 0,9 \text{ ppb}$
⁵³ Cr ^{VI}	$11,3 \pm 0,9$	

Οι συγκεντρώσεις του Πίνακα 5.23 αποτελούν μια πρώτη προσέγγιση για τις συγκεντρώσεις του δείγματος Th P01. Στη προσέγγιση αυτή δεν αξιολογήθηκε το ενδεχόμενο παρεμποδισμών οφειλόμενων στη μήτρα του δείγματος γι' αυτό και ακολούθησε ο προσδιορισμός των αγνώστων συγκεντρώσεων με τη μέθοδο

προσθήκης γνωστής ποσότητας χρωμίου. Στο Γράφημα 5.12 φαίνεται το σήμα καταγραφής του δείγματος και των εμβολιασμένων δειγμάτων.



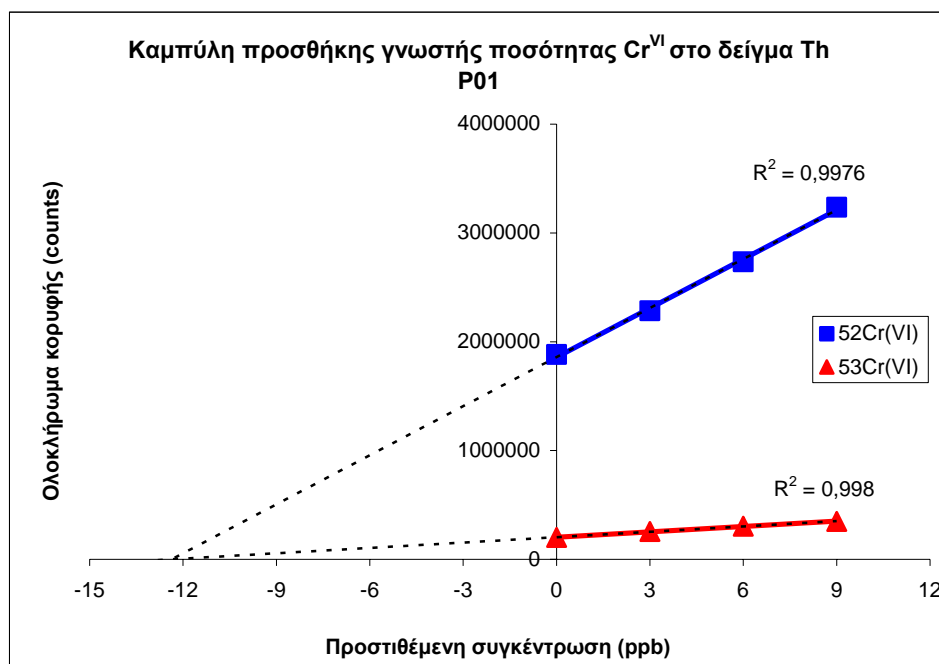
Γράφημα 5.12. Χρωματογράφημα αλληλουχίας δείγματος και τριών εμβολιασμένων δειγμάτων. Το πρώτο ζεύγος κορυφών αντιστοιχεί στο δείγμα, τα υπόλοιπα τρία σε εμβολιασμένα δείγματα. Ανά ζεύγος κορυφών, η πρώτη αντιστοιχεί σε Cr^{VI} και η δεύτερη σε Cr^{III}. Στο 2^ο ζεύγος κορυφών ο εμβολιασμός είναι με 3ppb Cr^{VI} και 2ppb Cr^{III}, στο 3^ο ζεύγος κορυφών ο εμβολιασμός είναι με 6ppb Cr^{VI} και 4ppb Cr^{III} και στο 4^ο ζεύγος κορυφών ο εμβολιασμός είναι με 9ppb Cr^{VI} και 6ppb Cr^{III}. Το σήμα μπλε χρώματος αφορά στο ισότοπο ⁵²Cr και κόκκινου χρώματος στο ⁵³Cr.

Το πρώτο ζεύγος κορυφών του Γραφήματος 5.12 αφορά το δείγμα Th P01 και τα υπόλοιπα τρία, τα εμβολιασμένα με Cr^{III} και Cr^{VI} Th P01 δείγματα. Οι συγκεντρώσεις των εμβολιασμένων δειγμάτων είναι από το δεύτερο έως και το τέταρτο ζεύγος κορυφών [Cr^{III}]=2, 4, 6 ppb και [Cr^{VI}]=3, 6, 9 ppb. Όπως και στη περίπτωση του δείγματος Th D01 έτσι και σε αυτή τη περίπτωση η προσθήκη γνωστής συγκεντρώσεως χρωμίου έγινε με πυκνά πρότυπα χρωμίου. Τα ολοκληρώματα των κορυφών καταχωρούνται στις στήλες του Πίνακα 5.24.

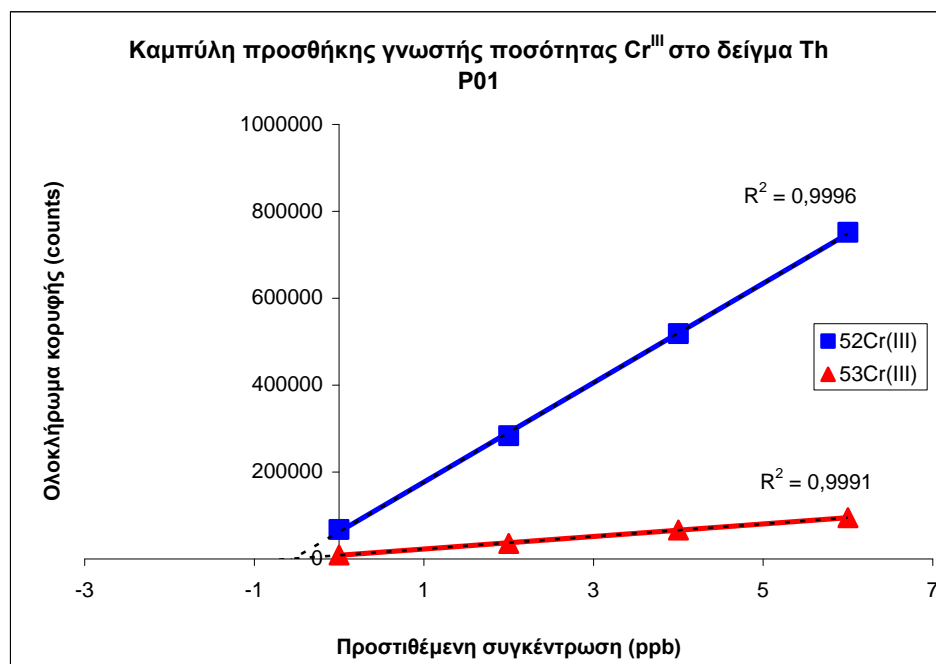
Πίνακας 5.24. Ολοκληρώματα κορυφών δείγματος Th P01 και εμβολιασμένων δειγμάτων

	Δείγμα Th P01	Δείγμα εμβολιασμένο με [Cr ^{III}]=2ppb και [Cr ^{VI}]=3ppb	Δείγμα εμβολιασμένο με [Cr ^{III}]=4ppb και [Cr ^{VI}]=6ppb	Δείγμα εμβολιασμένο με [Cr ^{III}]=6ppb και [Cr ^{VI}]=9ppb
⁵² Cr ^{III}	67750	283703	518655	751573
⁵³ Cr ^{III}	9384	35784	66803	95025
⁵² Cr ^{VI}	1883177	2284299	2654957	3025872
⁵³ Cr ^{VI}	201352	255260	304957	351976

Κατασκευάζονται καμπύλες αναφοράς των ολοκληρωμάτων των κορυφών συναρτήσει της προστιθέμενης συγκέντρωσης, όπου το δείγμα εκλαμβάνεται ως «τυφλό» [Γραφήματα 5.13 και 5.14]. Η απόλυτη τιμή του x στο σημείο τομής της στικτής γραμμής με τον οριζόντιο άξονα X , αντιστοιχεί στη ζητούμενη άγνωστη συγκέντρωση x_E .



Γράφημα 5.13. Καμπύλες προσθήκης γνωστής ποσότητας Cr^{VI} στο δείγμα Th P01. ⁵²Cr^{VI} (μπλε χρώμα) και ⁵³Cr^{VI} (κόκκινο χρώμα).



Γράφημα 5.14. Καμπύλες προσθήκης γνωστής ποσότητας Cr^{III} στο δείγμα Th P01. ⁵²Cr^{III} (μπλε χρώμα) και ⁵³Cr^{III} (κόκκινο χρώμα).

Υπολογίστηκαν τα ενδιάμεσα απαιτούμενα μεγέθη για τη περιγραφή των ευθειών παλινδρόμησης των Γραφημάτων 5.13 και 5.14. και από τις Εξισώσεις 4.3 και 4.4 οι συντελεστές b και a [Πίνακας 5.25].

Πίνακας 5.25. Συντελεστές εξισώσεων ευθειών παλινδρόμησης μεθόδου προσθήκης γνωστής ποσότητας		
	Ρυθμός μεταβολής (b)	Τεταγμένη επί τη αρχή (a)
$^{52}\text{Cr}^{\text{III}}$	114321,0	62457,0
$^{53}\text{Cr}^{\text{III}}$	14397,1	8557,4
$^{52}\text{Cr}^{\text{VI}}$	150291,5	1858264,6
$^{53}\text{Cr}^{\text{VI}}$	16418,9	203750,9

Άρα οι ευθείες παλινδρόμησης περιγράφονται από τις κάτωθι εξισώσεις:

i)	για το $^{52}\text{Cr}^{\text{III}}$:	$y = 114321,0 x + 62457,0$
ii)	για το $^{53}\text{Cr}^{\text{III}}$:	$y = 14397,1 x + 8557,4$
iii)	για το $^{52}\text{Cr}^{\text{VI}}$:	$y = 150291,5 x + 1858264,6$
iv)	για το $^{53}\text{Cr}^{\text{VI}}$:	$y = 16418,9 x + 293750,9$

Από την Εξίσωση 4.5 υπολογίστηκε το στατιστικό μέγεθος $s_{y/x}$ και από την Εξίσωση 5.3 υπολογίστηκε η τιμή της τυπικής απόκλισης (s_{x_E}) για να υπολογιστεί κατ' αναλογία και το τυπικό σφάλμα της άγνωστης συγκέντρωσης του δείγματος [Πίνακας 5.26]. Για το Cr^{III} και το Cr^{VI} $n=4$.

Πίνακας 5.26. Τιμές στατιστικού μεγέθους $s_{y/x}$ και 1 τυπικής απόκλισης s_{x_E}, μεθόδου προσθήκης γνωστής ποσότητας		
	$s_{y/x}$	s_{x_E}
$^{52}\text{Cr}^{\text{III}}$	6858,5	0,1
$^{53}\text{Cr}^{\text{III}}$	1338,0	0,1
$^{52}\text{Cr}^{\text{VI}}$	35282,6	0,6
$^{53}\text{Cr}^{\text{VI}}$	3503,9	0,5

Η ζητούμενη άγνωστη συγκέντρωση x_E ισούται με την απόλυτη τιμή του x που προκύπτει μηδενίζοντας το συντελεστή y στις εξισώσεις των ευθειών παλινδρόμησης [Πίνακας 5.25]. Τα αποτελέσματα φαίνονται στον Πίνακα 5.27.

Πίνακας 5.27. Εκτιμώμενες συγκεντρώσεις δείγματος Th P01 με τη μέθοδο προσθήκης γνωστής ποσότητας	
	Συγκέντρωση x_E (ppb)
$^{52}\text{Cr}^{\text{III}}$	0,5
$^{53}\text{Cr}^{\text{III}}$	0,6
$^{52}\text{Cr}^{\text{VI}}$	12,4
$^{53}\text{Cr}^{\text{VI}}$	12,4

Τέλος, από την Εξίσωση 5.4 υπολογίστηκε το τυπικό σφάλμα, εντός ορίων εμπιστοσύνης 95%, της ζητούμενης άγνωστης συγκέντρωσης x_E [Πίνακας 5.28]. Για την επίλυση των Εξισώσεων και $n=4$ και $t_{(n-2)}=4,3$ (από Π.Π1) για το Cr^{III} και Cr^{VI} .

Πίνακας 5.28. Εκτιμούμενες συγκεντρώσεις δείγματος Th P01 με τυπικό σφάλμα εντός ορίων εμπιστοσύνης 95%			
Συγκέντρωση (ppb)			
$^{52}Cr^{III}$	$0,5 \pm 0,2$	}	[Cr ^{III}] = 0,5 ppb ± 0,3 ppb
$^{53}Cr^{III}$	$0,6 \pm 0,4$		
$^{52}Cr^{VI}$	$12,4 \pm 2,6$	}	[Cr ^{VI}] = 12,4 ppb ± 2,5 ppb
$^{53}Cr^{VI}$	$12,4 \pm 2,4$		

5.3 Ανάλυση Δείγματος Th G01 (οικία περιοχής Θηβών)

Για το δείγμα Th G01 δεν κατασκευάστηκε νέα καμπύλη αναφοράς διότι η ανάλυση πραγματοποιήθηκε την ίδια ημέρα με την ανάλυση του δείγματος Th P01, οπότε χρησιμοποιήθηκε η ίδια καμπύλη αναφοράς με πριν. Το χρωματογράφημα των προτύπων διαλυμάτων χρωμίου φαίνεται στο Γράφημα 5.8 και τα ολοκληρώματα των κορυφών είναι καταχωρημένα στις στήλες του Πινάκα 5.17. Ο Πίνακας 5.29 είναι αντίγραφο των αποτελεσμάτων της στατιστικής ανάλυσης των καμπύλων αναφοράς της Παραγράφου 5.2 (ανάλυση δείγματος Th P01).

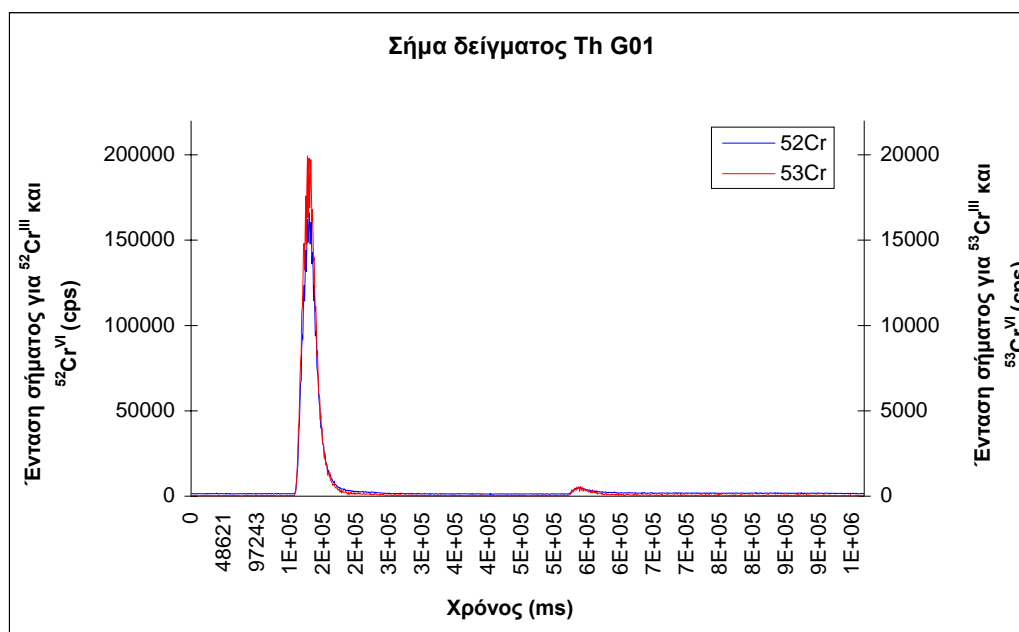
Πίνακας 5.29. Συντελεστές ευθειών παλινδρόμησης καμπύλων αναφοράς και στατιστικό μέγεθος $s_{y/x}$			
	Κλίση ευθείας (b)	Τεταγμένη επί τη αρχή (a)	$s_{y/x}$
$^{52}Cr^{III}$	138453,1	-22879,5	26259,8
$^{53}Cr^{III}$	17328,1	-2383,7	2941,1
$^{52}Cr^{VI}$	138527,0	36830,7	35239,9
$^{53}Cr^{VI}$	17255,4	6040,0	4482,9

Οπότε και οι ευθείες παλινδρόμησης των καμπύλων αναφοράς περιγράφονται από τις ίδιες εξισώσεις με πριν, που είναι :

i)	για $^{52}Cr^{III}$:	$y = 138453,1 x - 22879,5$
ii)	για $^{53}Cr^{III}$:	$y = 17328,1 x - 2383,7$
iii)	για $^{52}Cr^{VI}$:	$y = 138527,0 x + 36830,1$
iv)	για $^{53}Cr^{VI}$:	$y = 17255,4 x + 6040,0$

Το χρωματογράφημα του δείγματος Th G01 απεικονίζεται στο Γράφημα 5.15 και τα ολοκληρώματα των κορυφών του, στον Πίνακα 5.30.

Πίνακας 5.30. Ολοκληρώματα κορυφών δείγματος Th G01	
Ολοκλήρωμα (counts)	
$^{52}\text{Cr}^{\text{III}}$	103061
$^{53}\text{Cr}^{\text{III}}$	14261
$^{52}\text{Cr}^{\text{VI}}$	3962819
$^{53}\text{Cr}^{\text{VI}}$	460270



Γράφημα 5.15. Χρωματογράφημα δείγματος Th G01 (ουκία). Η πρώτη κορυφή αντιστοιχεί στο Cr^{VI} και η δεύτερη στο Cr^{III} . Με μπλε χρώμα απεικονίζεται το χρωματογράφημα του ισότοπου ^{52}Cr (αριστερός κάθετος άξονας) και με κόκκινο του ^{53}Cr (δεξιός κάθετος άξονας).

Θέτοντας ως γ τις τιμές των ολοκληρωμάτων των κορυφών του δείγματος στις αντίστοιχες εξισώσεις των ευθειών παλινδρόμησης υπολογίζονται οι άγνωστες συγκεντρώσεις x_0 [Πίνακας 5.31] και από την Εξίσωση 5.1 υπολογίζεται η τυπική απόκλιση s_{x_0} [Πίνακας 5.32].

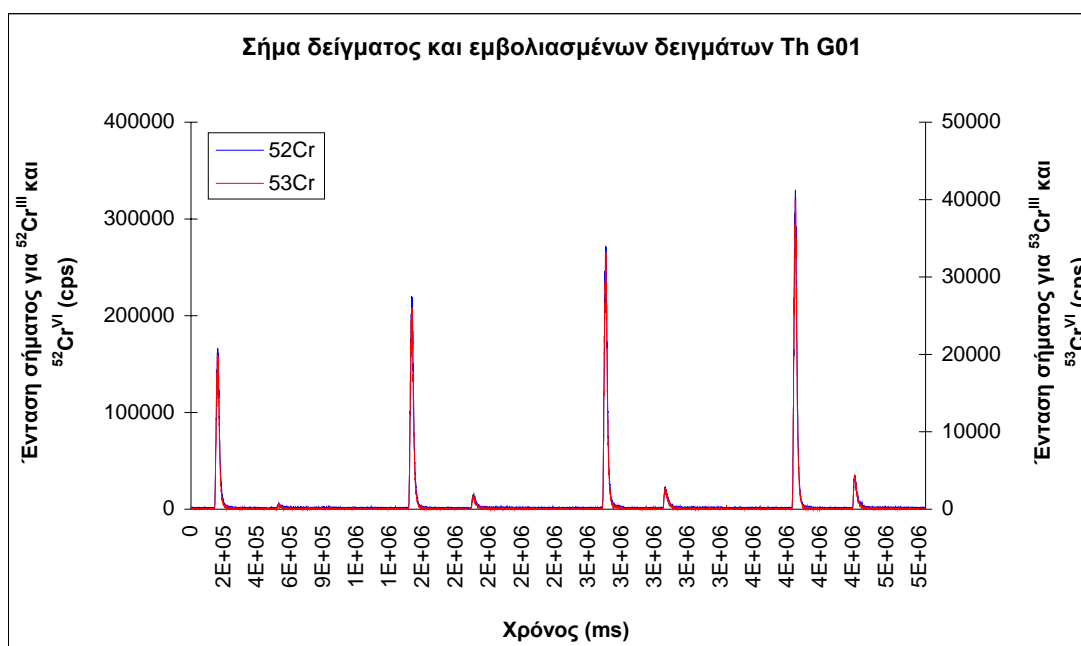
Πίνακας 5.31. Εκτιμώμενες συγκεντρώσεις δείγματος Th G01	
Συγκέντρωση x_0 (ppb)	
$^{52}\text{Cr}^{\text{III}}$	0,9
$^{53}\text{Cr}^{\text{III}}$	1,0
$^{52}\text{Cr}^{\text{VI}}$	28,3
$^{53}\text{Cr}^{\text{VI}}$	26,3

Πίνακας 5.32. Τυπική απόκλιση των συγκεντρώσεων του δείγματος Th G01	
Τυπική απόκλιση s_{x_0} σε 95% διάστημα εμπιστοσύνης (ppb)	
$^{52}\text{Cr}^{\text{III}}$	0,2
$^{53}\text{Cr}^{\text{III}}$	0,2
$^{52}\text{Cr}^{\text{VI}}$	0,3
$^{53}\text{Cr}^{\text{VI}}$	0,3

Τελικά, από την Εξίσωση 5.2 (για $n=5$ και $t_{(n-2)}=3,18$, από Π.Π1) υπολογίστηκαν οι συγκεντρώσεις ανά ισότοπο Cr^{III} και Cr^{VI} στο δείγμα Th G01 συμπεριλαμβανομένου και του τυπικού σφάλματος εντός εύρους εμπιστοσύνης 95%. Τα αποτελέσματα φαίνονται στον Πίνακα 5.33.

Πίνακας 5.33. Εκτιμώμενες συγκεντρώσεις δείγματος Th G01 με τυπικό σφάλμα εντός ορίων εμπιστοσύνης 95%		
Συγκέντρωση (ppb)		
$^{52}\text{Cr}^{\text{III}}$	$0,9 \pm 0,7$	} $[\text{Cr}^{\text{III}}] = 0,9 \text{ ppb} \pm 0,7 \text{ ppb}$
$^{53}\text{Cr}^{\text{III}}$	$1,0 \pm 0,6$	
$^{52}\text{Cr}^{\text{VI}}$	$28,3 \pm 0,9$	} $[\text{Cr}^{\text{VI}}] = 27,3 \text{ ppb} \pm 0,9 \text{ ppb}$
$^{53}\text{Cr}^{\text{VI}}$	$26,3 \pm 0,9$	

Ακολούθησε η ανάλυση με τη μέθοδο προσθήκης γνωστής ποσότητας χρωμίου. Στο δείγμα Th G01 προστέθηκε Cr^{VI} σε συγκεντρώσεις 10, 20 και 30 ppb και Cr^{III} σε συγκεντρώσεις 2, 4 και 6 ppb. Το χρωματογράφημα που καταγράφηκε εμφανίζεται στο Γράφημα 5.16.



Γράφημα 5.16. Χρωματογράφημα αλληλουχίας δείγματος και τριών εμβολιασμένων δειγμάτων. Το πρώτο ζεύγος κορυφών αντιστοιχεί στο δείγμα, τα υπόλοιπα τρία σε εμβολιασμένα δείγματα. Ανά ζεύγος κορυφών, η πρώτη αντιστοιχεί σε Cr^{VI} και η δεύτερη σε Cr^{III} . Στο 2^ο ζεύγος κορυφών ο εμβολιασμός είναι με 10ppb Cr^{VI} και 2ppb Cr^{III} , στο 3^ο ζεύγος κορυφών ο εμβολιασμός είναι με 20ppb Cr^{VI} και 4ppb Cr^{III} και στο 4^ο ζεύγος κορυφών ο εμβολιασμός είναι με 30ppb Cr^{VI} και 6ppb Cr^{III} . Το σήμα μπλε χρώματος αφορά στο ισότοπο ^{52}Cr και κόκκινου χρώματος στο ^{53}Cr .

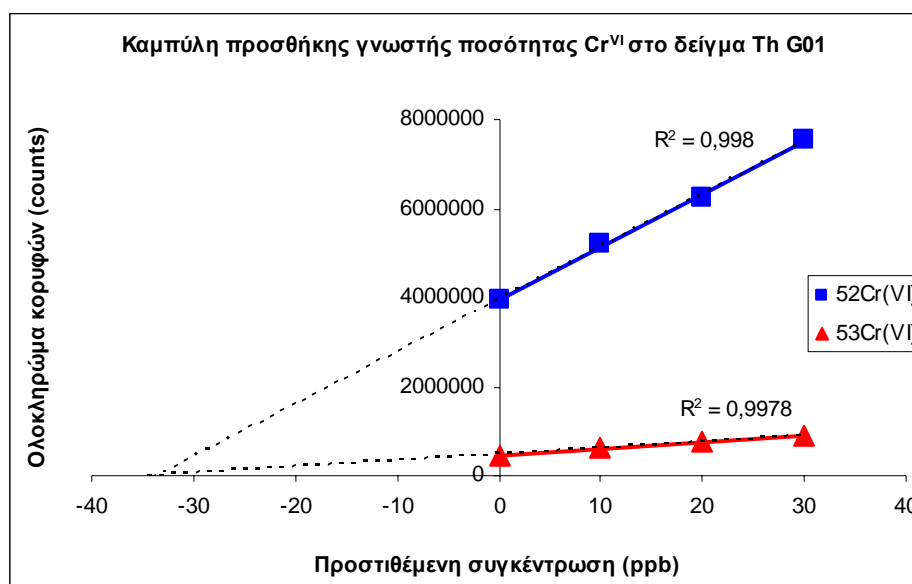
Ο εμβολιασμός πραγματοποιήθηκε με προσθήκη 10μL προτύπων χρωμίου σε όγκο δείγματος 190μL. Ο τελικός όγκος ήταν 200μL. Στο Γράφημα 5.16 το πρώτο ζεύγος κορυφών αφορά στο δείγμα Th G01 και τα υπόλοιπα που ακολουθούν, στα

εμβολιασμένα δείγματα. Οι συγκεντρώσεις που προστέθηκαν στα εμβολιασμένα δείγματα ήταν κατά αυξανόμενη σειρά $[Cr^{III}] = 2, 4, 6$ ppb και $[Cr^{VI}] = 10, 20$ και 30 ppb. Δηλαδή, το δεύτερο ζεύγος κορυφών αντιστοιχεί σε δείγμα Th G01 εμβολιασμένο με $[Cr^{III}] = 10$ ppb και $[Cr^{VI}] = 2$ ppb και ούτω καθεξής. Η πρώτη κορυφή κάθε ζεύγους απεικονίζει τη συγκέντρωση του εξασθενούς χρωμίου και η δεύτερη του τρισθενούς. Στον Πίνακα 5.34 καταγράφονται τα ολοκληρώματα των κορυφών.

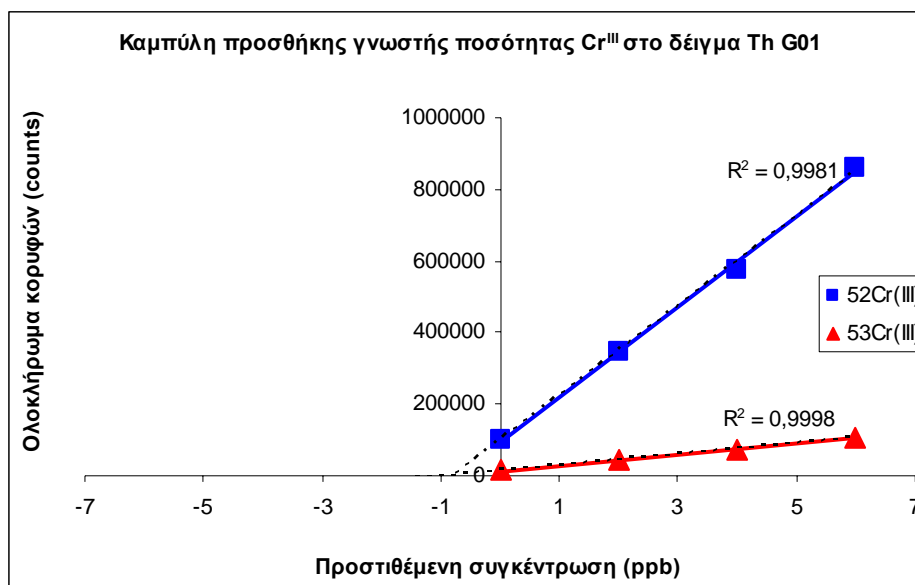
Πίνακας 5.34. Ολοκληρώματα κορυφών δείγματος Th G01 και εμβολιασμένων δειγμάτων

	Δείγμα Th G01	Δείγμα εμβολιασμένο με $[Cr^{III}] = 2$ ppb και $[Cr^{VI}] = 10$ ppb	Δείγμα εμβολιασμένο με $[Cr^{III}] = 4$ ppb και $[Cr^{VI}] = 20$ ppb	Δείγμα εμβολιασμένο με $[Cr^{III}] = 6$ ppb και $[Cr^{VI}] = 30$ ppb
$^{52}Cr^{III}$	103061	346513	577520	859827
$^{53}Cr^{III}$	14261	44533	74568	106588
$^{52}Cr^{VI}$	3962819	5193067	6227123	7552110
$^{53}Cr^{VI}$	460270	615081	756675	881891

Κατασκευάστηκαν οι καμπύλες των ολοκληρωμάτων των κορυφών συναρτήσει της προστιθέμενης ποσότητας του χρωμίου. Το δείγμα μεταχειρίστηκε ως «τυφλό», αφού δεν είχε γίνει καμία προσθήκη χρωμίου, γι' αυτό και στα Γραφήματα 5.17 και 5.18 το σημείο που το απεικονίζει ταυτίζεται με τον άξονα Υ. Τα υπόλοιπα σημεία αφορούν στα εμβολιασμένα, κατά περίπτωση, δείγματα.



Γράφημα 5.17. Καμπύλες προσθήκης γνωστής ποσότητας Cr^{VI} στο δείγμα Th G01. $^{52}Cr^{VI}$ (μπλε χρώμα) και $^{53}Cr^{VI}$ (κόκκινο χρώμα).



Γράφημα 5.18. Καμπύλες προσθήκης γνωστής ποσότητας Cr^{III} στο δείγμα Th G01. ⁵²Cr^{III} (μπλε χρώμα) και ⁵³Cr^{III} (κόκκινο χρώμα).

Από τις Εξισώσεις 4.3 και 4.4 υπολογίζονται οι συντελεστές που περιγράφουν τις ευθείες παλινδρόμησης b και a [Πίνακας 5.35].

Πίνακας 5.35. Συντελεστές εξισώσεων ευθειών παλινδρόμησης μεθόδου προσθήκης γνωστής συγκέντρωσης

	Ρυθμός μεταβολής (b)	Τεταγμένη επί τη αρχή (a)
⁵² Cr ^{III}	125065,3	96534,6
⁵³ Cr ^{III}	15350,7	13935,4
⁵² Cr ^{VI}	118019,3	3963490,5
⁵³ Cr ^{VI}	14064,6	467510,8

Άρα οι ευθείες παλινδρόμησης περιγράφονται από τις κάτωθι εξισώσεις:

i)	για το ⁵² Cr ^{III} :	$y = 125065,3 x + 96534,6$
ii)	για το ⁵³ Cr ^{III} :	$y = 15350,7 x + 13935,4$
iii)	για το ⁵² Cr ^{VI} :	$y = 118019,3 x + 3963490,5$
iv)	για το ⁵³ Cr ^{VI} :	$y = 14064,6 x + 467510,8$

Όπως και πριν, το σημείο τομής της στικτής γραμμής με τον οριζόντιο άξονα X ταυτίζεται με την άγνωστη συγκέντρωση του χρωμίου x_E . Προηγήθηκε ο υπολογισμός του στατιστικού μεγέθους ($s_{y/x}$) από την Εξίσωση 4.5, και η τιμή της τυπικής απόκλισης (s_{x_E}) από την Εξίσωση 5.3 για να προσδιοριστεί έπειτα κατ' αναλογία και το τυπικό σφάλμα της άγνωστης συγκέντρωσης του δείγματος. Τα αποτελέσματα καταχωρούνται στον Πίνακα 5.36. Για τους υπολογισμούς $n=4$ και για τις δύο οξειδωτικές καταστάσεις του χρωμίου.

Πίνακας 5.36. Τιμές στατιστικού μεγέθους $s_{y/x}$ και 1 τυπικής απόκλισης S_{x_E} , μεθόδου προσθήκης γνωστής ποσότητας

	$s_{y/x}$	S_{x_E}
$^{52}\text{Cr}^{\text{III}}$	17038,0	0,1
$^{53}\text{Cr}^{\text{III}}$	710,9	0,0
$^{52}\text{Cr}^{\text{VI}}$	83988,6	1,6
$^{53}\text{Cr}^{\text{VI}}$	10475,4	1,6

Η ζητούμενη άγνωστη συγκέντρωση x_E ισούται με την απόλυτη τιμή του x που προκύπτει μηδενίζοντας το συντελεστή y στις εξισώσεις των ευθειών παλινδρόμησης [Πίνακας 5.35]. Τα αποτελέσματα φαίνονται στον Πίνακα 5.37.

Πίνακας 5.37. Εκτιμώμενες συγκεντρώσεις δείγματος Th G01 με τη μέθοδο προσθήκης γνωστής ποσότητας

	Συγκέντρωση x_E (ppb)
$^{52}\text{Cr}^{\text{III}}$	0,8
$^{53}\text{Cr}^{\text{III}}$	0,9
$^{52}\text{Cr}^{\text{VI}}$	33,6
$^{53}\text{Cr}^{\text{VI}}$	33,2

Τέλος, από την Εξίσωση 5.4 υπολογίστηκε το τυπικό σφάλμα, εντός ορίων εμπιστοσύνης 95%, της ζητούμενης άγνωστης συγκέντρωσης x_E [Πίνακας 5.38]. Για την επίλυση των Εξισώσεων και $n=4$ και $t_{(n-2)}=4,3$ για το Cr^{III} και Cr^{VI} .

Πίνακας 5.38. Εκτιμώμενες συγκεντρώσεις δείγματος Th G01 με τυπικό σφάλμα εντός ορίων εμπιστοσύνης 95%

	Συγκέντρωση (ppb)	
$^{52}\text{Cr}^{\text{III}}$	$0,8 \pm 0,6$	} $[\text{Cr}^{\text{III}}] = 0,8 \text{ ppb} \pm 0,4 \text{ ppb}$
$^{53}\text{Cr}^{\text{III}}$	$0,9 \pm 0,2$	
$^{52}\text{Cr}^{\text{VI}}$	$33,6 \pm 6,8$	} $[\text{Cr}^{\text{VI}}] = 33,4 \text{ ppb} \pm 6,9 \text{ ppb}$
$^{53}\text{Cr}^{\text{VI}}$	$33,2 \pm 7,1$	

Συζήτηση

Οι παράμετροι της ανάκτησης και της γραμμικότητας, που αφορούν στο χαρακτηρισμό της μεθόδου, διερευνήθηκαν σε εύρος συγκεντρώσεων τέτοιο ώστε να καλύπτουν την οριακή συγκέντρωση των 50ppb χρωμίου σε πόσιμα νερά, που θέτει η Ευρωπαϊκή Ένωση¹³⁰.

Η ανάκτηση του χρωμίου ήταν η πρώτη παράμετρος που εξετάστηκε. Σχετικά με την ανάκτηση του Cr^{III}, και τα δύο ισότοπα ⁵²Cr^{III} και ⁵³Cr^{III} βρέθηκαν να έχουν ικανοποιητική ανάκτηση, περίπου 100%, και διακύμανση χαμηλότερη του 4%. Για την πλήρη ανάκτηση του Cr^{III} αναφέρθηκε ότι χρησιμοποιήθηκε NH₄⁺ για την εκρόφηση των Cr³⁺. Σε προηγούμενη μελέτη¹⁰³ εφαρμόζοντας μέθοδο ιοντικής χρωματογραφίας έχει χρησιμοποιηθεί διάλυμα έκλουσης θεικού αμμωνίου και νιτρικού αμμωνίου για την ανάκτηση Cr^{III} και Cr^{VI} σε pH=3,5. Σε αυτό το pH επικρατούν τα ιόντα Cr³⁺ τα οποία και ανταλλάχθηκαν με τα NH₄⁺, ενώ τα οξοανιόντα του Cr^{VI} με τα θειικά και νιτρικά. Αυτό ενισχύει την παρούσα υπόθεση ότι το NH₄OH προκάλεσε την εκρόφηση των Cr³⁺ και το HNO₃ των υδρολυομένων συμπλόκων των Cr^{III}.

Παρόμοια «ανάκτηση» με ελαφρώς μικρότερη διακύμανση παρουσίασαν τα ίδια ισότοπα και για το εξασθενές χρώμιο. Παρότι το ισότοπο ⁵⁰Cr είχε ικανοποιητική ανάκτηση, η μεγάλη διακύμανση των τιμών του συνετέλεσε στον αποκλεισμό του από τις υπόλοιπες μετρήσεις. Η ανάκτηση του χρωμίου θα έπρεπε κανονικά να περιλαμβάνει την σύγκριση με κάποιο πρότυπο αναφοράς (reference material), όμως δεν κατέστη δυνατή η προμήθεια πιστοποιημένου υδατικού προτύπου λόγω έλλειψης στην αγορά.

Η πλήρης προσρόφηση του Cr^{III} και η μηδενική του Cr^{VI} αποτέλεσε ουσιαστικά και τον έλεγχο της αρχής στην οποία βασίστηκε η μέθοδος και αφορούσε στην ικανότητα προσρόφησης του Cr^{III} από τα MWCNTs-COOH και την έλλειψη αλληλεπίδρασης με το Cr^{VI}. Η παρατήρηση αυτή βρίσκεται σε πλήρη αντίθεση με προηγούμενη έρευνα¹³¹ βάσει της οποίας και οι δύο μορφές του χρωμίου θα πρέπει να προσροφώνται.

Το όριο ανίχνευσης μιας μεθόδου, ορίζεται ως η ελάχιστη εκείνη συγκέντρωση που η ένταση του σήματός της διαφέρει «αισθητά» από την ένταση σήματος του υποβάθρου. Γι' αυτό και η ανάλυση για τον προσδιορισμό των ορίων

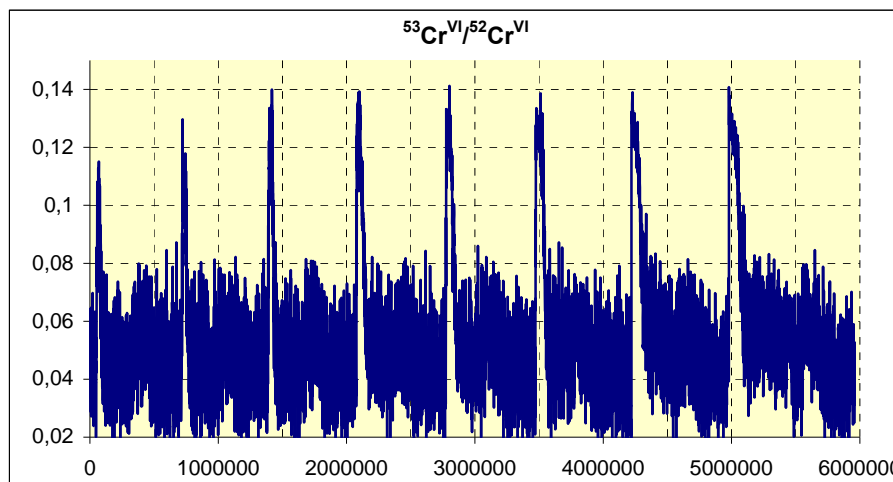
ανίχνευσης, πραγματοποιήθηκε αναλύοντας την ένταση των κορυφών και όχι τα ολοκληρώματά τους. Φαίνεται ότι και για τις δύο οξειδωτικές καταστάσεις του χρωμίου ισχύει ότι το βαρύτερο ισότοπο ^{53}Cr παρουσιάζει χαμηλότερα όρια ανίχνευσης από το ελαφρύτερο ^{52}Cr . Τα όρια ανίχνευσης βρέθηκαν ικανοποιητικά και κυμαίνονταν στην τάξη των sub-ppb, με το $^{53}\text{Cr}^{\text{VI}}$ να διαθέτει το χαμηλότερο απ' όλα τα ισότοπα $0,07\text{ng/mL}$, και το $^{52}\text{Cr}^{\text{III}}$ το ψηλότερο $0,27\text{ng/mL}$ [Πίνακας 4.11]. Με εξαίρεση τις περιπτώσεις των βιβλιογραφικών αναφορών 101 και 113 που έχουν προσδιορίσει Cr σε χαμηλότερα όρια ανίχνευσης, αρκετές από τις υπόλοιπες^{102,105,108} αναφέρουν παρόμοια όρια ανίχνευσης ενώ αναφέρονται και περιπτώσεις^{106,103,107} με υψηλότερα όρια ανίχνευσης.

Από την μελέτη της γραμμικότητας της μεθόδου τα δύο αφθονότερα ισότοπα και των δύο οξειδωτικών καταστάσεων παρουσιάζουν εξαιρετική γραμμικότητα έχοντας το συντελεστή συσχέτισης R^2 να προσεγγίζει ικανοποιητικά τη μονάδα, σε εύρος συγκεντρώσεων από 0,5 έως 100 ppb. Συγκρίνοντας τη κλίση των ευθειών παλινδρόμησης του ισότοπου ^{52}Cr για τα Cr^{III} και Cr^{VI} και ομοίως για το ισότοπο ^{53}Cr , παρατηρείται σχετική διαφοροποίηση των τιμών. Ο κλίση του $^{52}\text{Cr}^{\text{III}}$ ($b=197904,7$) είναι υψηλότερη από την αντίστοιχη του $^{52}\text{Cr}^{\text{VI}}$ ($b=159937,6$) και ομοίως του $^{53}\text{Cr}^{\text{III}}$ ($b=24938,1$) είναι επίσης υψηλότερη από αυτή του $^{53}\text{Cr}^{\text{VI}}$ ($b=19982,3$). Από την σύγκριση αυτών των τιμών θα έπρεπε να προκύπτει μεταξύ τους σύγκλιση, διότι οι αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν συναρτήσει των ολοκληρωμάτων των κορυφών (που πρέπει να είναι ίδια όταν οι συγκεντρώσεις είναι όμοιες ανεξαρτήτως οξειδωτικής κατάστασης) και όχι συναρτήσει των εντάσεων των κορυφών, που αντικειμενικά διαφοροποιούνται (οι κορυφές του Cr^{III} παρουσιάζουν πλατύτερη βάση ή μεγαλύτερη διάρκεια ανάκτησης και χαμηλότερο ύψος ή μικρότερη καταγραφόμενη ένταση εν αντιθέσει με τις κορυφές του Cr^{VI}).

Η εμφανής διαφορά των κλίσεων των ευθειών παλινδρόμησης μπορεί κατ' αρχάς να οφείλεται σε λανθασμένη παρασκευή των προτύπων του Cr^{III} , με τέτοιο τρόπο που τελικά να ήταν πυκνότερα από τα αντίστοιχα του Cr^{VI} γι' αυτό και τα ολοκληρώματά τους βρέθηκαν να είναι μεγαλύτερα από τα αναμενόμενα όταν συγκρίθηκαν με αυτά του Cr^{VI} . Ακολούθως, και η κλίση της ευθείας παλινδρόμησης για το Cr^{III} διαφοροποιείται από αυτή του Cr^{VI} . Κατά δεύτερον, ενδέχεται τα πρότυπα του Cr^{III} να περιλαμβάνουν παρεμποδισμούς έτσι ώστε να προκαλείται ενίσχυση στα ολοκληρώματα των κορυφών του. Τα προς ανάλυση πρότυπα του Cr^{III} παρασκευάζονταν με διαδοχικές αραιώσεις του πυκνού stock solution (350 ppm σε

2% HCl) σε απιονισμένο νερό. Οπότε όντως το Cl θα μπορούσε να αποτελέσει τον εν δυνάμει φασματοσκοπικό παρεμποδισμό για τα δύο ισότοπα $^{52}\text{Cr}^{\text{III}}$ και $^{53}\text{Cr}^{\text{III}}$ λόγω της δημιουργίας των πολυατομικών ιόντων $^{16}\text{OH}^{35}\text{Cl}^+$ και $^{16}\text{O}^{37}\text{Cl}^+$, αντιστοίχως. Υπογραμμίζεται ότι το ενδεχόμενο αυτό ίσχυε μονάχα στην περίπτωση του Cr^{III} διότι τα πρότυπα του Cr^{VI} δεν περιείχαν καθόλου χλώριο. Σε αυτή την περίπτωση ο λόγος της ισοτοπικής αφθονίας των $^{53}\text{Cr}/^{52}\text{Cr}$ του Cr^{III} αναμένεται να διαφέρει αισθητά από αυτόν του Cr^{VI} . Ο λόγος αυτός υπολογίστηκε ως ο λόγος των κλίσεων των ευθειών παλινδρόμησης των δύο ισωτόπων.

Για το Cr^{III} είναι $^{53}\text{Cr}^{\text{III}}/^{52}\text{Cr}^{\text{III}}=24938,1/197904,7=0,126$ και για το Cr^{VI} είναι $^{53}\text{Cr}^{\text{VI}}/^{52}\text{Cr}^{\text{VI}}=19982,3/159937,6=0,125$. Διαφέροντας οι λόγοι αυτοί κατά μία μονάδα στο τρίτο δεκαδικό ψηφίο (σχεδόν ταυτίζονται) δύσκολα υποθέτει κανείς ότι στο σήμα καταγραφής του Cr^{III} επηρεαζόταν από τον παρεμποδισμό του Cl. Αυτό δεν σημαίνει βέβαια ότι δεν υπήρχε Cl στα πρότυπα του Cr^{III} αλλά προφανώς από τις διαδοχικές αραιώσεις για την παρασκευή των προτύπων σε ppb συγκεντρώσεις, αραιώθηκε τόσο πολύ το Cl που πλέον καθίσταται αμελητέα η παρουσία του για να επηρεάσει την μέτρηση του Cr^{III} . Για το λόγο αυτό ως πιθανότερη αιτία για την παρατηρούμενη διαφορά είναι η λανθασμένη παρασκευή των προτύπων εκείνης της μέτρησης, γεγονός όμως που δεν αντιπαρέχεται της εξαιρετικής γραμμικότητας διότι το σφάλμα επηρέασε αναλογικά όλη τη σειρά των προτύπων του Cr. Επιπλέον, η γραμμικότητα ελέγχονταν κάθε φορά κατά την κατασκευή των καμπύλων αναφοράς [Πίνακες 5.3 και 5.18] για τις αναλύσεις των δειγμάτων και πάντοτε ο συντελεστής συσχέτισης παρέμενε το ίδιο ικανοποιητικός.



Γράφημα Σ1. Λόγος $^{53}\text{Cr}^{\text{VI}}/^{52}\text{Cr}^{\text{VI}}$. Οι κορυφές από αριστερά προς τα δεξιά αφορούν σε συγκεντρώσεις 0,5, 1, 2, 5, 10, 20 50 και 100 ppb.

Επειδή η φυσική αφθονία κάθε ισοτόπου θεωρείται σταθερή, η μεταβολή του λόγου δύο ισοτόπων μπορεί να αποτελέσει ένδειξη για την παρουσία παρεμποδισμών. Στο Γράφημα Σ1 υπολογίστηκε ο λόγος των ισοτόπων του εξασθενούς χρωμίου για συγκεντρώσεις προτύπων διαλυμάτων 0,5, 1, 2, 5, 10, 20, 50 και 100 ppb. Παρατηρείται ότι οι κορυφές των λόγων δεν παρουσιάζουν τέτοια σταθερότητα ώστε να επιτραπεί η επίκλησή τους ως ελεγκτικό μέτρο για την παρουσία παρεμποδισμών. Κατά μέσο όρο οι τιμές των λόγων για συγκεντρώσεις μεγαλύτερες των 2 ppb προσεγγίζουν την τιμή 0,125 ενώ για μικρότερες η τιμή του λόγου φθίνει. Προκειμένου ο ισοτοπικός λόγος να αποτελέσει αποδεκτό κριτήριο θα έπρεπε τα διαλύματα να είναι είτε μεγαλύτερου όγκου είτε υψηλότερης συγκέντρωσης, κάτι που θα ανέτρεπε τη μεθοδολογία που αναπτύχθηκε, γι' αυτό και δεν λήφθηκε υπόψη. Τελευταία, αναφέρονται τεχνικές^{132,133} που εξετάζουν τις μεταβολές των ισοτοπικών λόγων του χρωμίου ως τεκμήριο για την προέλευση (ανθρωπογενούς ή φυσικής) και την ηλικία ρύπων που περιέχουν Cr^{VI}, κάτι όμως που δεν απασχόλησε την παρούσα. Σε αυτές τις περιπτώσεις οι μεταβολές του λόγου καταγράφονται στο τρίτο ή και τέταρτο δεκαδικό ψηφίο. Επιπλέον, απαιτείται άλλου τύπου οργανολογία όπως χρήση δύο ανιχνευτών στο ICP-MS.

Η επαναληψιμότητα της μεθόδου ήταν επίσης αποδεκτή με τις διακυμάνσεις να περιορίζονται κάτω από 3% σε όλες τις περιπτώσεις. Με μία προσεκτικότερη παρατήρηση στα Γραφήματα 4.12 και 4.14, το σήμα καταγραφής των επτά διαδοχικών επαναλήψεων για το Cr^{III} και το Cr^{VI} αντίστοιχα, φαίνεται ότι το Cr^{III} παρουσιάζει μεγαλύτερη διακύμανση στην ένταση απ' ότι το Cr^{VI}. Όμως, επισημαίνεται ότι η διακύμανση μεταξύ του Cr^{III} και του Cr^{VI} δεν διαφέρει ιδιαίτερα [Πίνακες 4.20 και 4.22 αντίστοιχα] διότι είναι προϊόν ανάλυσης των ολοκληρωμάτων των κορυφών και δεν θα πρέπει να συγχέεται με την προφανή διακύμανση της έντασης του σήματος του Cr^{III}. Η αβεβαιότητα στην ένταση του σήματος οφείλεται στις «ουρές» των κορυφών του Cr^{III} που παρουσιάζουν ελαφρά ανομοιογένεια ακόμη και μεταξύ ίδιων συγκεντρώσεων. Έτσι, στην περίπτωση του Cr^{III}, τα ολοκληρώματα των κορυφών παραμένουν σε αποδεκτά όρια διακύμανσης ενώ οι εντάσεις μπορεί να παρουσιάζουν μεγαλύτερη διακύμανση. Αυτός ήταν και ο κυριότερος λόγος που επιλέχτηκε οι αναλύσεις στην παρούσα μελέτη να αφορούν στα ολοκληρώματα των κορυφών και όχι στις εντάσεις όπως συνηθίζεται.

Τα Γραφήματα 4.13 και 4.15 αποτυπώνουν τη τυχαιότητα καταγραφής των επτά επαναλήψεων περί της τιμής της μέσης τιμής. Η απουσία συγκεκριμένου

μοτίβου πιστοποιεί το γεγονός ότι η διακύμανση προέρχεται από τυχαία και απρόβλεπτα πειραματικά σφάλματα (errors). Εάν απεικονιζόταν προφανές μοτίβο στη διασπορά των σημείων θα σήμαινε ότι οι μετρήσεις υπόκειται σε ελεγχόμενο σφάλμα που επιδέχεται διόρθωσης.

Εν συγκρίσει με άλλες μεθόδους ειδοταυτοποίησης χρωμίου η παρούσα προσφέρει κάποια πλεονεκτήματα αν και επιδέχεται βελτιώσεων κυρίως όσον αφορά την απομάκρυνση των εν δυνάμει παρεμποδιστικών ουσιών από τα δείγματα. Τα δείγματα που εξετάστηκαν με τη προτεινόμενη μεθοδολογία, αναλύθηκαν και ερμηνεύτηκαν σύμφωνα με τη μέθοδο προσθήκης γνωστής ποσότητας χρωμίου. Με αυτό τον τρόπο ανάλυσης προσφέρεται μεν εκτίμηση της άγνωστης συγκέντρωσης αλλά δεν παύει η εκτίμηση αυτή να χαρακτηρίζεται έμμεση. Στην πραγματικότητα, ο προσδιορισμός της άγνωστης συγκέντρωσης στηρίζεται στην παρεκταμένη ερμηνεία (extrapolation) των αποτελεσμάτων της στατιστικής ανάλυσης με τη μέθοδο προσθήκης γνωστής ποσότητας. Θα ήταν ορθότερο να διασφαλιστεί η απομάκρυνση των παρεμποδισμών πριν την εισαγωγή του δείγματος στο ICP-MS (π.χ. απομακρύνοντάς τους με προστήλη) παρά να υπολογίζεται αναλογικά ο βαθμός επιρροής τους σε εμβολιασμένα δείγματα και από την επεξεργασία αυτών εμμέσως και η άγνωστη συγκέντρωση.

Αναφέρθηκε ότι συχνά απαιτείται ρύθμιση του pH του δείγματος για σταθεροποίηση των ιόντων του χρωμίου σε μία συγκεκριμένη μορφή. Αυτό το στάδιο καθιστά την ανάλυση του δείγματος πιο ευαίσθητη διαδικασία και μικρές αποκλίσεις στις επιθυμητές ισορροπίες που βασίζεται το σύστημα μπορεί να λειτουργήσουν ανασταλτικά στην αξιοπιστία της μεθόδου,¹⁰² προκαλώντας μεταβολή ακόμη και στις οξειδωτικές καταστάσεις του χρωμίου. Στην παρούσα μεθοδολογία η τιμή του pH του δείγματος δεν αποτελεί προτεραιότητα διότι η χρήση διαλύματος έκλουσης HNO_3 - NH_4OH εξασφαλίζει την πλήρη ανάκτηση του Cr^{III} ανεξαρτήτως της μορφής των ειδών του (species) ενώ δεν τίθεται θέμα για το Cr^{VI} . Επιπλέον, απλουστεύεται περισσότερο η διαδικασία μέτρησης του χρωμίου, επειδή δεν προαπαιτείται καμία προετοιμασία πριν την ανάλυση του δείγματος που απλώς συλλέγεται και αμέσως μπορεί να αναλυθεί. Ωστόσο, η αποφυγή ρύθμισης του pH του δείγματος επιβάλλει την τάχιστα ανάλυσή του μετά τη συλλογή του για να μην αναχθεί το Cr^{VI} σε Cr^{III} κυρίως από την ανάπτυξη μικροοργανισμών στο νερό που δρουν ως αναγωγικοί παράγοντες¹³⁴ γι' αυτό προτείνεται¹⁰⁷ η άμεση μέτρηση των δειγμάτων αμέσως μετά την συλλογή τους. Χρησιμοποιώντας MWCNTs-COOH στήλη είναι πιθανό ο

διαχωρισμός των οξειδωτικών καταστάσεων να πραγματοποιηθεί κατά τη συλλογή του δείγματος. Αντικαθιστώντας την περισταλτική αντλία με έμβολο πίεσης, θα μπορούσε το δείγμα να διέλθει μέσα από το προσροφητικό υλικό της στήλης. Το Cr^{VI} θα εκλούονταν αμέσως, αφού δεν αλληλεπιδρά με τα MWCNTs-COOH και θα συλλέγονταν σε δοχείο, σε αντίθεση με το Cr^{III} που θα προσροφόνταν. Μετά, εκλούοντας τη στήλη με 80mM HNO₃ - 0,004% NH₄OH, σε άλλο δοχείο θα συλλέγονταν μόνο το Cr^{III}. Η ανάλυση με ICP-MS θα μπορούσε να πραγματοποιηθεί οποιαδήποτε στιγμή αργότερα με την μέτρηση του Cr^{VI} και του Cr^{III} ως ολικό χρώμιο στο πρώτο και δεύτερο δοχείο αντίστοιχα. Έτσι, αναδεικνύεται και η δυνητική προοπτική χρήσης στήλης πληρωμένης με MWCNTs-COOH, στην πραγματοποίηση διαχωρισμού του Cr^{III} από το Cr^{VI} στο πεδίο της μέτρησης.

Χρησιμοποιώντας κατά το δυνατό μικρότερους όγκους δειγμάτων μειώνεται ο χρόνος που απαιτείται για την ανάλυση του δείγματος. Σε άλλες περιπτώσεις^{101,106} η διάρκεια της μέτρησης είναι της τάξεως των ωρών ενώ μόνο σε μία¹⁰² αναφέρεται ότι η διαδικασία μέτρησης διήρκεσε 8 min, χωρίς όμως να διευκρινίζεται η χρονική διάρκεια που χρειαζόταν κάθε φορά για τον καθαρισμό της στήλης, ενώ αξιοσημείωτο είναι και το γεγονός ότι αφορούσε συγκεντρώσεις μέχρι 5 ppb. Στην παρούσα η συνολική διάρκεια για μία μέτρηση δείγματος συγκέντρωσης 100ppb Cr^{VI} και 100ppb Cr^{III} κυμαίνεται στα 31 min ενώ για διαδοχικές μετρήσεις απαιτούνται επιπλέον 20 min ανά κύκλο μέτρησης αφού περιλαμβάνεται και ο χρόνος καθαρισμού της στήλης.

Τα 200 μL δείγματος αποτέλεσαν αποτρεπτικό παράγοντα για επίτευξη προσυγκέντρωσης. Θα έπρεπε το διάλυμα έκλουσης να είχε όγκο μικρότερο των 200 μL, τουλάχιστον για την περίπτωση του Cr^{III}, ενώ για την περίπτωση του Cr^{VI} θα ήταν αδύνατο αφού όπως έχει ήδη αναφερθεί απλώς διασχίζει τη στήλη χωρίς αλληλεπίδραση με το προσροφητικό υλικό.

Πάραυτα, πραγματοποιήθηκαν δοκιμές, στοχεύοντας στον προσδιορισμό χαμηλών συγκεντρώσεων χρωμίου, με τη μέθοδο της προσυγκέντρωσης δημιουργώντας σύμπλοκα (τα στοιχεία δεν παραθέτονται στην παρούσα διατριβή) με χρήση APDC (Ammonium Pyrrolidine Dithiocarbamate) που συμπλοκοποιεί και τις δύο οξειδωτικές καταστάσεις του χρωμίου.^{115,116} Η προσέγγιση αυτή παρουσίασε προβλήματα που δεν μπόρεσαν να υπερκεραστούν και απορρίφθηκε. Ενδεικτικά, ήταν απαραίτητη η παρουσία οργανικού διαλύτη στο διάλυμα έκλουσης για την ανάκτηση του χρωμίου.¹⁰⁶ Έτσι όμως, θα ήταν αδύνατη η σύζευξη της στήλης με το

ICP-MS διότι το έκλουσμα θα μετέφερε οργανικό διαλύτη και αντί για χρώμιο σε m/z 52 θα καταγράφονταν ο παρεμποδισμός $^{40}\text{Ar}^{12}\text{C}$. Επίσης, θα έπρεπε να αντιμετωπιστεί το πρόβλημα που αφορούσε στον διαχωρισμό των συμπλόκων, αφού το Cr^{VI} εκτός από τα σύμπλοκα της μορφής $\text{CrO}-(\text{PDC})_3$ δημιουργεί και σύμπλοκα $\text{Cr}-(\text{PDC})_3$ που είναι ίδιας δομής με αυτά που προέρχονται από το Cr^{III} ¹¹⁵, παρότι εκάζεται¹³⁵ ότι ο μηχανισμός βάσει του οποίου δημιουργείται αυτό το κοινό σύμπλοκο διαφοροποιείται για τα Cr^{III} και Cr^{VI} .

Όσον αφορά στην ανάλυση των δειγμάτων, αυτή πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας δύο διαφορετικές προσεγγίσεις για την εκτίμηση της άγνωστης συγκέντρωσης. Η πρώτη αφορούσε στον υπολογισμό της χρησιμοποιώντας καμπύλη αναφοράς προτύπων διαλυμάτων χρωμίου (εξωτερική βαθμονόμηση) και η δεύτερη την μέθοδο προσθήκης γνωστής ποσότητας χρωμίου¹²⁸. Στην παρούσα μελέτη ως αποδεκτή εκτίμηση της άγνωστης συγκέντρωσης λαμβάνεται αυτή που προκύπτει με τη μέθοδο προσθήκης γνωστής ποσότητας χρωμίου, ενώ η μέτρηση με εξωτερική βαθμονόμηση χρησιμοποιήθηκε αφενός μεν για να προσδώσει μία πρώτη γενική εκτίμηση του εύρους που αναμενόταν να κυμανθεί η άγνωστη συγκέντρωση του δείγματος, αφετέρου δε για να χρησιμεύσει στον έλεγχο παρουσίας παρεμποδισμών,^{118,119} χωρίς όμως να γίνεται και ταυτοποίηση του παρεμποδισμού.

Ως γενική παρατήρηση προκύπτει ότι, με την μέθοδο προσθήκης γνωστής ποσότητας υπάρχει μεγαλύτερη σύγκλιση στις εκτιμώμενες συγκεντρώσεις μεταξύ των δύο ισοτόπων ^{52}Cr και ^{53}Cr σε σχέση με τις εκτιμήσεις των συγκεντρώσεων με τη χρήση καμπύλης αναφοράς προτύπων. Για παράδειγμα στον Πίνακα 5.31 οι εκτιμώμενες συγκεντρώσεις που είναι $[\text{Cr}^{\text{VI}}]_{52}=28,3$ ppb και $[\text{Cr}^{\text{VI}}]_{53}=26,3$ ppb, διαφέρουν κατά 2 ppb μεταξύ τους, ενώ ύστερα από επεξεργασία με την μέθοδο γνωστής προσθήκης στο ίδιο δείγμα οι εκτιμώμενες συγκεντρώσεις ήταν $[\text{Cr}^{\text{VI}}]_{52}=33,6$ ppb και $[\text{Cr}^{\text{VI}}]_{53}=33,2$ ppb [Πίνακας 5.37] με διαφορά 0,4 ppb, αρκετά μικρότερη από πριν. Αυτό ήταν απολύτως λογικό διότι η δεύτερη μέθοδος συνεκτιμά χωριστά για κάθε ισότοπο τις αλλοιώσεις των ολοκληρωμάτων που προέρχονται από τους παρεμποδισμούς του δείγματος. Κάτι που δεν ισχύει στην πρώτη περίπτωση που πραγματοποιείται μέσω της σύγκρισης του δείγματος, που περιλαμβάνει τις παρεμποδιστικές ουσίες, και των καθαρών πρότυπων διαλυμάτων. Τονίζεται ότι με τη μέθοδο γνωστής προσθήκης η σύγκλιση θα πρέπει κανονικά να είναι απόλυτη και οι τιμές να ταυτίζονται πλήρως, δεδομένου ότι αυτό είναι το σκεπτικό για την ανάπτυξη της. Εξάλλου, δεν υπάρχει φυσικό νόημα σε ένα δείγμα που αναλύεται

συνεκτιμώντας τους παρεμποδισμούς, ο προσδιορισμός των συγκεντρώσεων να διαφέρει ανά ισότοπο. Πάραυτα, η μέθοδος υπόκειται στην παρουσία τυχαίων πειραματικών σφαλμάτων που μπορεί να δικαιολογήσουν μικρές αποκλίσεις.

Το τυπικό σφάλμα που συνοδεύει την εκτιμώμενη τιμή της άγνωστης συγκέντρωσης λαμβάνει μεγαλύτερες τιμές με την μέθοδο προσθήκης γνωστής ποσότητας. Οφείλεται στο πλήθος των μετρήσεων βάσει του οποίου υπολογίζεται το τυπικό σφάλμα. Ο υπολογισμός του τυπικού σφάλματος εντός ορίων εμπιστοσύνης 95% δίνεται σε όλες τις περιπτώσεις που εξετάστηκαν από τον τύπο:

$$95\%Conf.Limits_{x_o} = x_o \pm t_{(n-2)}s_{x_o}$$

Ο όρος x_o αφορά στη τιμή του μετρούμενου μεγέθους, ο όρος s_{x_o} στη τυπική απόκλιση και ο όρος $t_{(n-2)}$ προβλέπεται από πίνακες και η τιμή του είναι αντιστρόφως ανάλογη του πλήθους των μετρήσεων. Για παράδειγμα, στην ανάλυση του δείγματος Th G01 η τυπική απόκλιση για την περίπτωση του $^{52}\text{Cr}^{\text{VI}}$ είναι $s_x=1,6$ [Πίνακας 5.36]. Το πλήθος των μετρήσεων ήταν $n=4$ και αντιστοιχεί σε $t_{(n-2)}=4,3$. Από την προηγούμενη σχέση το τυπικό σφάλμα είναι το γινόμενο $t_{(n-2)} \cdot s_x$ και έχει τιμή 6,9 ppb [Πίνακας 5.38]. Εάν το n ήταν 7, τότε, ο όρος $t_{(n-2)}$ θα ισούταν με 2,57 και το τυπικό σφάλμα θα ήταν 4,1 ppb. Εάν το n ήταν ακόμη μεγαλύτερο τότε το τυπικό σφάλμα θα ήταν και αυτό με τη σειρά του ακόμη μικρότερο. Θα ήταν ίσως προτιμότερο να είχαν πραγματοποιηθεί αναλύσεις σε περισσότερα εμβολιασμένα δείγματα για την επίτευξη μικρότερης διακύμανσης του τυπικού σφάλματος.

Τα δείγματα που αναλύθηκαν είχαν τιμές pH πολύ υψηλότερες από τις αναμενόμενες των πόσιμων νερών που κυμαίνονται συνήθως κοντά στο 6. Στα δείγματα το pH κυμαίνονταν μεταξύ 7,2 και 7,9. Στο Διάγραμμα 3.1 φαίνεται ότι σε τιμές pH μεγαλύτερες από 8,5 αρχίζει να εμφανίζεται το Cr^{III} ως $\text{Cr}(\text{OH})_3$. Σε αυτή τη μορφή το τρισθενές χρώμιο καθιζάνει γι' αυτό πριν τις αναλύσεις προσθέτονταν στα δείγματα μικρή ποσότητα (1μL) αραιού HCl για να μειωθεί το pH σε τιμή περίπου 6. Ο στόχος δεν ήταν η ρύθμιση του pH σε συγκεκριμένη τιμή αλλά να αποφευχθεί το ενδεχόμενο καθίζησης του Cr^{III} και να λειτουργήσει έτσι ανασταλτικά για τον μηχανισμό ιονανταλλαγής.

Από την ανάλυση του δείγματος Th D01, που αφορούσε τη δειγματοληψία από τη γεώτρηση νερού της περιοχής των Θηβών, με τη μέθοδο προσθήκης γνωστής ποσότητας προέκυψε ότι η συγκέντρωση του Cr^{VI} ήταν 42,9 ppb \pm 7,3 ppb και του Cr^{III} 1,9 ppb \pm 0,9 ppb [Πίνακας 5.16]. Με την μέθοδο προσδιορισμού βάσει της εξωτερικής καμπύλης βαθμονόμησης το δείγμα υπολογίστηκε να έχει συγκέντρωση

$[Cr^{VI}] = 43,7 \text{ ppb} \pm 0,7 \text{ ppb}$ και $[Cr^{III}] = 1,9 \text{ ppb} \pm 0,4 \text{ ppb}$ [Πίνακας 5.9]. Η σύγκριση των αποτελεσμάτων των δύο διαφορετικών προσεγγίσεων αποδεικνύει ότι οι παρεμποδισμοί ήταν σχεδόν ανύπαρκτοι και διαφοροποιούνταν σε ελάχιστο βαθμό μονάχα η μέτρηση του Cr^{VI} , σε αντίθεση με το Cr^{III} που είχε ίδια συγκέντρωση και στις δύο περιπτώσεις.

Η ανάλυση του Th P01 αφορούσε δείγμα πόσιμου νερού που συλλέχτηκε από οικία της περιοχής των Θηβών. Η συγκέντρωση που εκτιμήθηκε για το Cr^{VI} ήταν $C = 12,4 \text{ ppb} \pm 2,5 \text{ ppb}$ και για το Cr^{III} , $C = 0,5 \text{ ppb} \pm 0,3 \text{ ppb}$ [Πίνακας 5.28]. Ομοίως με το δείγμα Th D01, και σε αυτή την περίπτωση δεν φαίνεται να επιδρά κάποιος παρεμποδισμός στην καταγραφή του σήματος του Cr^{III} αφού σε σύγκριση με την μέθοδο εξωτερικής βαθμονόμησης η συγκέντρωσή του ήταν $C = 0,7 \text{ ppb} \pm 0,7 \text{ ppb}$ και για το Cr^{VI} $C = 12,3 \text{ ppb} \pm 0,9 \text{ ppb}$ [Πίνακας 5.23].

Το δείγμα Th G01 ήταν πόσιμο νερό και συλλέχτηκε από οικία της περιοχής των Θηβών. Το Cr^{VI} βρέθηκε να έχει συγκέντρωση $C = 33,4 \text{ ppb} \pm 6,9 \text{ ppb}$ και το Cr^{III} $C = 0,8 \text{ ppb} \pm 0,4 \text{ ppb}$ [Πίνακας 5.38]. Προκύπτει μεγάλη διαφορά στην εκτιμώμενη συγκέντρωση του Cr^{VI} σε σύγκριση με αυτή που υπολογίστηκε από τη μέθοδο εξωτερικής βαθμονόμησης, όπου βρέθηκε να είναι $[Cr^{VI}] = 27,3 \text{ ppb} \pm 0,9 \text{ ppb}$ και $[Cr^{III}] = 0,9 \text{ ppb} \pm 0,7 \text{ ppb}$ [Πίνακας 5.33]. Εκ πρώτης όψεως, η διαφορά των εκτιμώμενων συγκεντρώσεων στην περίπτωση του Cr^{VI} παραπέμπει στην παρουσία έντονου παρεμποδισμού σε αντίθεση με το Cr^{III} που δεν παρουσιάζει ιδιαίτερη διαφοροποίηση. Όμως, το εκτιμώμενο εύρος του σφάλματος στη συγκέντρωση του $[Cr^{VI}] = 33,4 \text{ ppb} \pm 6,9 \text{ ppb}$ περιλαμβάνει την τιμή $27,3 \text{ ppb}$ η οποία εκτιμήθηκε με τη μέθοδο εξωτερικής βαθμονόμησης, και γεννούνται ερωτηματικά για την κατηγορηματική επίκληση συνεισφοράς στο σήμα από κάποιο παρεμποδισμό.

Για την διεξαγωγή συμπερασμάτων βασιζόμενα σε μία πληρέστερη εικόνα κατασκευάστηκε ο Πίνακας Σ1, ο οποίος περιλαμβάνει τις κλίσεις των ευθειών παλινδρόμησης των δύο μεθόδων για τα δύο ισότοπα των Cr^{III} και Cr^{VI} , και την ποσοστιαία διαφορά τους. Σε περίπτωση ύπαρξης παρεμποδισμού θα πρέπει οι κλίσεις να διαφέρουν αισθητά μεταξύ τους (περισσότερο από 10%) διότι οι κλίσεις που προσδιορίζονται με τη μέθοδο εξωτερικής βαθμονόμησης δεν εμπεριέχουν παρεμποδισμούς σε αντίθεση με τις κλίσεις των ευθειών από τη μέθοδο προσθήκης γνωστής ποσότητας όπου οι μη φασματομετρικοί παρεμποδισμοί συμπεριλαμβάνονται στη διαμόρφωσή τους. Όταν η ποσοστιαία διαφορά μεταξύ των κλίσεων είναι χαμηλότερη από 10% είναι αποδεκτό ότι αυτή οφείλεται σε τυχαία

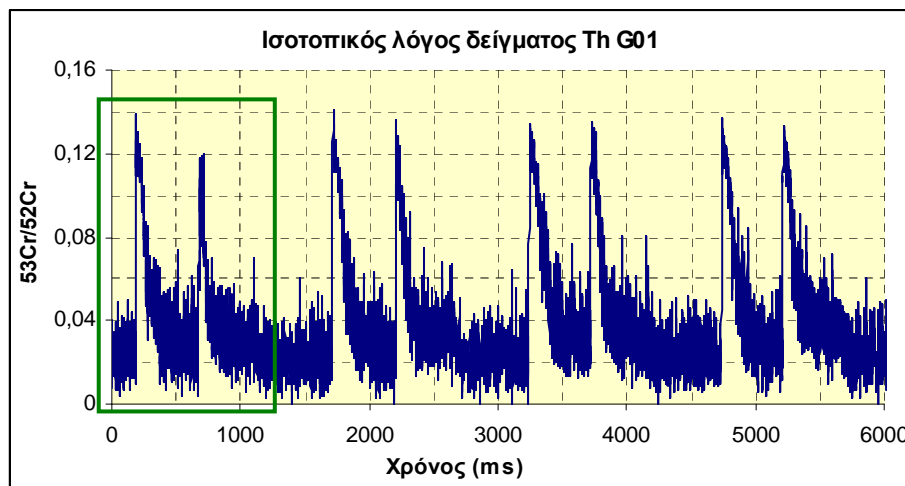
πειραματικά σφάλματα και όχι στην παρουσία παρεμποδισμών όπου η διαφορά των κλίσεων θα άλλαζε δραματικά σε τιμές αρκετά μεγαλύτερες του 10%. Η οριακή τιμή 10% είναι εμπειρική τιμή και δεν προκύπτει από στατιστικές ή μαθηματικές αναλύσεις.

Πίνακας Σ1. Σύγκριση κλίσεων γραμμών παλινδρόμησης των δύο μεθόδων για τα ισότοπα ^{52}Cr και ^{53}Cr των Cr^{III} και Cr^{VI} των δειγμάτων

	Th D01			Th P01			Th G01		
	$b_{\text{εξ.βαθμ.}}$	$b_{\text{γν.προσθ.}}$	$ \% \Delta b $	$b_{\text{εξ.βαθμ.}}$	$b_{\text{γν.προσθ.}}$	$ \% \Delta b $	$b_{\text{εξ.βαθμ.}}$	$b_{\text{γν.προσθ.}}$	$ \% \Delta b $
$^{52}\text{Cr}^{\text{III}}$	144053,0	141847,4	1,5	138453,1	114321,0	17,4	138453,1	125065,3	9,7
$^{53}\text{Cr}^{\text{III}}$	18093,1	17438,1	3,6	17328,1	14397,1	16,9	17328,1	15350,7	11,4
$^{52}\text{Cr}^{\text{VI}}$	147098,1	149587,7	1,7	138527,0	150291,5	8,5	138527,0	118019,3	14,8
$^{53}\text{Cr}^{\text{VI}}$	18223,1	18587,3	2,0	17255,4	16418,9	4,8	17255,4	14064,6	18,5

$b_{\text{εξ.βαθμ.}}$: κλίση ευθείας με μέθοδο εξωτερικής βαθμονόμησης, $b_{\text{γν.προσθ.}}$: κλίση ευθείας με μέθοδο προσθήκης γνωστής ποσότητας. $|\% \Delta b|$: απόλυτη τιμή της ποσοστιαίας διαφοράς μεταξύ των κλίσεων των δύο μεθόδων από τη σχέση $|(b_{\text{γν.προσθ.}} - b_{\text{εξ.βαθμ.}})/b_{\text{εξ.βαθμ.}}| \times 100\%$

Στην περίπτωση του δείγματος Th P01 για το Cr^{III} οι κλίσεις των ευθειών διαφέρουν κατά $\sim 17,2\%$ οπότε ίσως είναι πιθανό κάποιος παρεμποδισμός να προκάλεσε την απόκλιση στις κλίσεις, όχι όμως και βέβαιο διότι ο ισοτοπικός λόγος $^{53}\text{Cr}^{\text{III}}/^{52}\text{Cr}^{\text{III}}$ δεν παρουσίασε καμία μεταβολή στην τιμή του. Ομοίως και στην περίπτωση του δείγματος Th G01 για το Cr^{VI} όπου οι κλίσεις διαφέρουν κατά μέσο όρο $\sim 16,6\%$.



Γράφημα Σ2. Ισοτοπικός λόγος $^{53}\text{Cr}/^{52}\text{Cr}$ για την ανάλυση του δείγματος Th G01. Το πρώτο ζεύγος κορυφών (πράσινο κάδρο) αφορά στο δείγμα και τα υπόλοιπα τρία στα εμβολιασμένα δείγματα. Η πρώτη κορυφή ανά ζεύγος αφορά στο Cr^{VI} και η δεύτερη στο Cr^{III} . Τα δεδομένα προέρχονται από το Γράφημα 5.16.

Στο Γράφημα Σ2, που κατασκευάστηκε από τα δεδομένα του Γραφήματος 5.16, έχει υπολογιστεί ο ισοτοπικός λόγος $^{53}\text{Cr}^{\text{VI}}/^{52}\text{Cr}^{\text{VI}}$ (1^η κορυφή στο πράσινο κάδρο) ο οποίος δεν φαίνεται να διαφέρει από αυτόν των προτύπων διαλυμάτων Cr^{VI} που φαίνεται στο Γράφημα Σ1. Οπότε, αν και παρατηρείται διαφορά στις

κλίσεις των ευθειών παλινδρόμησης μεγαλύτερη του 10%, δεν υπάρχουν περισσότερα στοιχεία που να συνηγορούν στην ύπαρξη παρεμποδιστικών ουσιών. Επιπλέον όπως αναφέρθηκε η οριακή τιμή 10% είναι μια εμπειρική τιμή. Στις υπόλοιπες περιπτώσεις οι διαφορές των κλίσεων είναι σχετικά περιορισμένες οπότε δεν πρέπει να υπήρξαν παρεμποδισμοί.

Οι συγκεντρώσεις του Cr^{VI} που υπολογίστηκαν κυμαίνονται σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις από το όριο των 50 ppb που θέτει η Ευρωπαϊκή Ένωση¹³⁰ με εξαίρεση το δείγμα Th D01 της γεώτρησης νερού, που προσεγγίζει οριακά το θεσμικά επιτρεπόμενο όριο. Παράβλεψη αποτελεί το γεγονός ότι το θεσμοθετημένο όριο αναφέρεται στην παρουσία ολικού χρωμίου χωρίς να γίνεται διάκριση του τριοθενούς από το εξασθενές, δεδομένης της τοξικότητας που παρουσιάζει το δεύτερο.

Η ευρύτερη περιοχή του Νομού Βοιωτίας έχει αποτελέσει επίκεντρο δημοσιευμάτων¹²⁹ που αναδεικνύουν την έντονη παρουσία του επικίνδυνου Cr^{VI} . Προεκτείνοντας, με κάθε επιφύλαξη, τα αποτελέσματα των μετρήσεων των τριών δειγμάτων πόσιμου νερού επιβεβαιώνεται, και από τις τρεις αναλύσεις της παρούσας μελέτης, ότι το Cr^{VI} είναι η επικρατούσα μορφή του χρωμίου στην περιοχή των Θηβών. Το Cr^{III} κυμαίνεται σε κανονικές συγκεντρώσεις.

Η έντονη παρουσία εξασθενούς χρωμίου μπορεί να είναι απόρροια της εντατικής και ανεξέλεγκτης βιομηχανικής δραστηριότητας της περιοχής, που χαρακτηρίζεται και ως βιομηχανική ζώνη. Ενδεχομένως, να οφείλεται είτε στη συστηματική και ανεξέλεγκτη διάθεση βιομηχανικών αποβλήτων στους υδατικούς αποδέκτες είτε όμως και στη σποραδική απόθεση η οποία σε συνδυασμό με την αδυναμία των περιβαλλοντικών παραγόντων να το ανάγουν σε τριοθενές, συντελούν στην συντήρηση της μόνιμης παρουσίας του Cr^{VI} στα νερά της περιοχής. Το πρώτο ενδεχόμενο είναι ευνόητο και δεν θα γίνει περαιτέρω αναφορά. Το δεύτερο ενδεχόμενο σχετίζεται με την τιμή του pH των φυσικών νερών της περιοχής. Η τιμή του pH που είναι υψηλότερη από 7 (βασικά pH) ευνοεί την διατήρηση του Cr^{VI} σε ύδατα γι' αυτό και προτείνεται από την EPA (Environmental Protection Agency) ως τρόπος για την διατήρηση του Cr^{VI} στα δείγματα¹³⁶. Και τα τρία δείγματα που αναλύθηκαν είχαν $7,2 < \text{pH} < 7,9$ που σημαίνει ότι η παρουσία του Cr^{VI} , που προέρχεται από τη σποραδική απόθεση αποβλήτων, είναι πιθανό να οφείλεται στις αλκαλικές συνθήκες του νερού που δεν επιτρέπουν την αναγωγή του σε τριοθενές, που είναι και η επικρατέστερη φυσική μεταβολή που υπόκειται το χρώμιο στο

περιβάλλον. Νεότερη μελέτη¹³⁷ έδειξε ότι στα νερά με αλκαλικά pH όχι απλώς συντηρείται το εξασθενές χρώμιο, αλλά αν περιέχεται και τρισθενές τότε αυτό τείνει να οξειδωθεί προς εξασθενές. Από αυτή την παρατήρηση προκύπτει και τρίτος λόγος που μπορεί να αιτιολογήσει την παρουσία του Cr^{VI} στα πόσιμα νερά της περιοχής και σχετίζεται με το ενδεχόμενο τα απόβλητα ή το φυσικό νερό να περιέχουν τρισθενές χρώμιο και λόγω του αλκαλικού pH της περιοχής αυτό να οξειδώνεται σε εξασθενές. Επίσης, πάλι ως ενδεχόμενο, το Cr^{VI} μπορεί να οφείλεται και στη φυσική παρουσία τρισθενούς χρωμίου το οποίο οξειδώνεται προς εξασθενές, επειδή η βιομηχανική δραστηριότητα προκάλεσε την αλκαλικοποίηση του pH των νερών της περιοχής και εμμέσως συνεισέφερε στην οξείδωση του Cr^{III}, χωρίς απαραίτητα να υπάρχει συνεισφορά σε Cr^{VI}.

Οι παραπάνω πιθανές αιτίες παρουσίας Cr^{VI} στην περιοχή των Θηβών εμπλέκουν άμεσα ή έμμεσα την βιομηχανική δραστηριότητα, εφόσον όντως υπάρχει ανεξέλεγκτη απόρριψη αποβλήτων στα υδατικά συστήματα της ευρύτερης περιοχής. Για να ειπωθεί κατηγορηματικά, απαιτείται ενδελεχής έλεγχος όλων των ενδεχομένων που προαναφέρθηκαν και επίσης σύγκριση με δεδομένα μετρήσεων χρωμίου παλαιότερων ετών, πριν την εκβιομηχάνιση της περιοχής.

Τέλος, αν και σπανιότερο ως φαινόμενο, έχουν παρατηρηθεί περιπτώσεις φυσικής παρουσίας εξασθενούς χρωμίου στο περιβάλλον σε περιοχές αποκλεισμένες από κάθε βιομηχανική και ανθρωπογενή δραστηριότητα^{36,37,41}. Λαμβάνοντας αυτό υπόψη, μπορεί το Cr^{VI} στην περιοχή των Θηβών να μην οφείλεται στις επιπτώσεις από την ανάπτυξη της βιομηχανίας αλλά να προϋπήρχε ούτως ή άλλως ως ορυκτό στους γεωλογικούς σχηματισμούς της περιοχής (π.χ ως κροκοΐτης) ή ακόμη και να είναι προϊόν οξειδοαναγωγικής διεργασίας μεταξύ του Cr^{III} και του MnO₂, το οποίο επίσης υπάρχει με φυσικό τρόπο στο περιβάλλον αφού συμμετέχει στη λιθολογική σύσταση πετρωμάτων. Όμως αυτό το ενδεχόμενο μάλλον αποκλείεται επειδή το pH των νερών της περιοχής έχει τιμή μεγαλύτερη από 5. Σε pH>5 το Mn²⁺ οξειδώνεται, επαναστεροποιείται και καθιζάνει ως MnO₂ οπότε σταματάει η παραγωγή του Cr^{VI}, αφού πλέον η οξείδωση του Cr^{III} δεν πραγματοποιείται¹⁷.

Συμπεράσματα

Η παρούσα εργασία πραγματοποιήθηκε την ανάπτυξη μιας νέας μεθόδου για τον διαχωρισμό και προσδιορισμό του Cr^{VI} και του Cr^{III}, χρησιμοποιώντας σύγχρονα προσροφητικά νανοϋλικά όπως οι νανοσωλήνες άνθρακα σε συνδυασμό με φασματομετρία μάζας επαγωγικά συζευγμένου πλάσματος. Το εγχείρημα επικεντρώθηκε στην αναγκαιότητα που προκύπτει για ανάπτυξη μιας νέας μεθόδου τέτοιας ώστε να χαρακτηρίζεται από την αμεσότητα της εφαρμογής της σε αντίθεση με την πλειονότητα των ήδη υπαρχόντων περίπλοκων μεθοδολογιών, ταυτοχρόνως όμως χωρίς να τίθεται υπό αμφισβήτηση η αξιοπιστία της. Αφορμή αποτέλεσε το δεδομένο πλέον πρόβλημα που αντιμετωπίζει η ευρύτερη περιοχή των Θηβών λόγω της έντονης παρουσίας εξασθενούς χρωμίου στα φυσικά ύδατα. Τα συμπεράσματα που προέκυψαν συνοψίζονται στις κάτωθι παραγράφους.

- Ανάπτυξη μιας νέας μεθόδου ειδοαυτοποίησης των δύο σταθερών οξειδωτικών καταστάσεων του χρωμίου, Cr^{VI} και Cr^{III}, σε δείγματα πόσιμου νερού, χρησιμοποιώντας στήλη πληρωμένη με MWCNTs-COOH διατεταγμένη σε σειρά με φασματομετρία μάζας επαγωγικά συζευγμένου πλάσματος. Η αρχή στην οποία βασίστηκε απορρέει από την ικανότητα προσρόφησης του τρισθενούς χρωμίου που παρουσιάζει κατιοντικό χαρακτήρα στην επιφάνεια των MWCNTs-COOH, εν αντιθέσει με το εξασθενές χρώμιο που υφίσταται ως οξοανιόν και δεν παρατηρήθηκε αλληλεπίδραση με το προσροφητικό υλικό. Κατά τη διέλευση του διαλύματος από τη στήλη, το τρισθενές χρώμιο δεσμεύεται πλήρως, ενώ το εξασθενές καταγράφεται άμεσα. Ακολουθεί ποσοτική ανάκτηση του τρισθενούς χρωμίου με διάλυμα έκλουσης 80 mM HNO₃ - 0,004% NH₄OH. Ως πιθανότερος μηχανισμός ανάκτησης του τρισθενούς χρωμίου προτείνεται η ιονανταλλαγή των προσροφημένων κατιόντων του Cr^{III} με τα κατιόντα H⁺ και NH₄⁺.
- Για πρώτη φορά χρησιμοποιήθηκε στήλη πληρωμένη με καρβοξυλιομένους νανοσωλήνες άνθρακα πολλών τοιχωμάτων (MWCNTs-COOH) ως μέσο διαχωρισμού του Cr^{VI} από το Cr^{III}, σε δείγματα πόσιμου νερού. Ως καθοριστικός παράγοντας αναδείχτηκε το υψηλό ποσοστό καρβοξυλομάδων

που διέθεταν οι νανοσωλήνες άνθρακα έτσι ώστε να συμβάλει στη μείωση του ισοηλεκτρικού σημείου του προσροφητικού υλικού με αποτέλεσμα να καθίσταται περιττή η ρύθμιση του pH των δειγμάτων πόσιμου νερού. Έτσι, όταν το IEP ήταν ψηλότερο από το pH του υδατικού διαλύματος πραγματοποιούνταν προσρόφηση των κατιόντων Cr^{III} , ενώ όταν έπαιρνε τιμή μικρότερη του pH, λόγω της παρουσίας του διαλύματος έκλυσης με $\text{pH} \sim 1,5$, τότε ίσχυαν οι συνθήκες για την εκρόφησή του. Το Cr^{VI} δεν παρουσίασε καμία αλληλεπίδραση με τα MWCNTs – COOH.

- Από τον χαρακτηρισμό της μεθόδου κρίνονται ικανοποιητικά τα αποτελέσματα των παραμέτρων που διερευνήθηκαν. Η γραμμικότητα και η ανάκτηση μελετήθηκαν σε εύρος συγκεντρώσεων τέτοιο ώστε να καλύπτονται τα θεσμοθετημένα, από την Ευρωπαϊκή Ένωση, ανώτερα επιτρεπτά όρια, παρουσιάζοντας, η μεν πρώτη εξαιρετική προσαρμογή των ευθειών παλινδρόμησης στα πειραματικά δεδομένα των μετρούμενων συγκεντρώσεων, η δε δεύτερη ποσοτική ανάκτηση των δύο ισοτόπων του Cr^{III} . Η επαναληψιμότητα των δύο ισοτόπων και για τις δύο οξειδωτικές καταστάσεις του χρωμίου ήταν επίσης αποδεκτή με διακύμανση μικρότερη του 3%, ενώ τα όρια ανίχνευσης κυμαίνονται σε επίπεδα μικρότερα από 0,3 ng/mL.
- Η αποφυγή χρήσης οργανικών διαλυτών ήταν ειδοποιών παράγοντας για τη σύζευξη της στήλης με το ICP-MS. Η απουσία οιασδήποτε προετοιμασίας του δείγματος, όπως η ρύθμιση του pH, συντελεί πέραν της αποφυγής επιβάρυνσης της μήτρας του διαλύματος από ρυθμιστικά διαλύματα, και στην μείωση του συνολικού χρόνου προεργασίας και μέτρησης των διαλυμάτων, ενώ ο απαιτούμενος χρόνος για την διενέργεια μίας μέτρησης, ακόμη και σε υψηλές συγκεντρώσεις χρωμίου, είναι αρκετά περιορισμένος εν συγκρίσει με άλλες μεθόδους που αφορούν στην ειδοταυτοποίηση του χρωμίου. Όλα τα παραπάνω συνιστούν στο χαρακτηρισμό της μεθόδου ως απεριττή λόγω της ευκολίας και της απλότητας κατά την εφαρμογή της.
- Η ανάλυση των δειγμάτων επιβεβαίωσε την παρουσία Cr^{VI} στην περιοχή των Θηβών. Η περιοχή επιλέχτηκε διότι εκ των προτέρων ήταν γνωστό, από άλλες μελέτες, ότι τα νερά είναι εμπλουτισμένα με Cr^{VI} , ενδεχομένως προερχόμενο από την εντατικοποίηση της βιομηχανικής δραστηριότητας, και αποτέλεσε ευκαιρία για έλεγχο της μεθόδου με πραγματικά δείγματα πόσιμου νερού. Οι

εκτιμώμενες συγκεντρώσεις για το Cr^{VI} ήταν αρκετά υψηλές και για το Cr^{III} φυσιολογικές. Τόσο οι συγκεντρώσεις του εξασθενούς όσο και του τρισθενούς αναμενόταν να κυμανθούν σε αυτά τα επίπεδα.

Η προτεινόμενη μέθοδος εστίασε στην ειδοαυτοποίηση του χρωμίου σε δείγματα πόσιμου νερού, καθιστώντας εφικτή την άμεση καταγραφή των οξειδωτικών καταστάσεων του χρωμίου κατά τρόπο απλό, χωρίς να απολεσθεί η αξιοπιστία της. Πέραν τούτου, η αρχή στην οποία βασίστηκε η παρούσα μπορεί να λειτουργήσει ως έναυσμα για την ανάπτυξη νέων μεθόδων ειδοαυτοποίησης και άλλων μετάλλων ή ουσιών, διευρύνοντας έτσι την αναδυόμενη δυναμική των προοπτικών της.

Βιβλιογραφία

- [1] Zayed A. M. & Terry N., Chromium in the environment: factors affecting biological remediation, *Plant and Soil*, 249: 139-156, **2003**
- [2] Böhlke J. K. et al, Atomic weights of the elements, *Pure and Applied Chemistry*, 75(6):683-800, **2003**
- [3] International Programme on Chemical Safety, Chromium, Environmental Health Criteria 61 (**1988**), <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc61.htm>
- [4] Chernousov I. P., et al, Analysis of the movement of chromium in natural and anthropogenic media, *Metallurgist*, 47(5-6): 226-231, **2003**
- [5] Papp J. F., Chromium life cycle study, Information Circular 9411, U.S. Department of Interior, Bureau of Mines, σελ. 37-39, **1994**
- [6] Lin X. et al, Storage and Release of Soluble Hexavalent Chromium from Chromate Conversion Coatings Equilibrium Aspects of Cr^{VI} Concentration, *Journal of the Electrochemical Society*, 147(7): 2556-2562, **2000**
- [7] Sun X. et al, Surface effects in chromate conversion coatings on 2024-T3 aluminum alloy, *Journal of Materials Science* 36: 3215 – 3220, **2001**
- [8] Frankel G. & McCreery R., Inhibition of Al alloy corrosion by chromates, *The Electrochemical Society Interface*, 34-38, winter **2001**
- [9] http://www.chem.uoa.gr/chemicals/chem_cr6.htm
- [10] http://en.wikipedia.org/wiki/Category:Chromium_minerals
- [11] Hovey K. J. & Hepler G.L., Apparent and partial molar heat capacities and volumes of CrO²⁻(aq), HCrO⁻(aq) and Cr₂O₇²⁻(aq) at 25 °C: Chemical relaxation and calculation of equilibrium constants for high temperatures, *Journal of Physical Chemistry*, 94: 7821-7830, **1990**
- [12] Palmer D. C. & Puls W. R., Natural Attenuation of Hexavalent Chromium in groundwater and soils, U.S. EPA Ground Water Issue, Office of Research and Development, **1994**
- [13] Rai D., et al, Chromium(III) hydrolysis constants and solubility of chromium(III) hydroxide, *Inorganic Chemistry*, 26(3): 345-349, **1987**
- [14] Masscheleyn H. P. et al, Chromium redox chemistry in a lower Mississippi valley bottomland hardwood wetland, *Environmental Science & Technology*, 26: 1217-1226, **1992**
- [15] Panichev N., et al, The oxidation of Cr(III) to Cr(VI) in the environment by atmospheric oxygen during the bush fires, *Journal of Hazardous Materials*, 153: 937-941, **2008**
- [16] Fendorf E. S. & Zasoski J. R., Chromium(III) oxidation by δ-MnO₂, *Environmental Science & Technology*, 26(1): 79-85, **1992**
- [17] Bose P., et al, Extent of oxidation of Cr(III) to Cr(VI) under various conditions pertaining to natural environment, *Journal of Hazardous Materials*, B128: 164-174, **2006**
- [18] Eary E. L. & Rai D., Kinetics of chromium(III) oxidation to chromium(VI) by reaction with manganese dioxide, *Environmental Science & Technology*, 21(12): 1187-1183, **1987**
- [19] Ross D.S. & Bartlett R.J., Evidence for nonmicrobial oxidation of manganese in soil, *Soil Science*, 132(2): 153-160, **1981**
- [20] Dixon B. J., et al, Oxidation of chromium(III) to (VI) by manganese oxide, *Soil Science Society of America Journal*, 66(1): 306-315, **2002**
- [21] Sedlak L. D. & Chan G.P., Reduction of hexavalent chromium by ferrous iron, *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 61(11): 2185-2192, **1997**
- [22] Hug J. S. & Buerge J. I., Kinetics and pH dependence of chromium(VI) reduction by iron(II), *Environmental Science and Technology*, 31:1426-1432, **1997**
- [23] Eary E. L. & Rai D., Chromate removal from aqueous wastes by reduction with ferrous iron, *Environmental Science and Technology*, 22: 972-977, **1988**

- [24] Fendorf S., et al, Reduction of hexavalent chromium by amorphous iron sulfide, *Environmental Science and Technology*, 31: 2039-2044, **1997**
- [25] Deng B., et al, Influence of soil minerals on chromium(VI) reduction by sulfide under anoxic conditions, *Geochemical Transactions*, 8:4, **2007**
- [26] Deng B., et al, Chromium(VI) reduction by hydrogen sulfide in aqueous media: stoichiometry and kinetics, *Environmental Science and Technology*, 35: 2219-2225, **2001**
- [27] Palmer D.C. & Wittbrodt R. P., Effect of temperature, ionic strength, background electrolytes, and Fe(III) on the reduction of hexavalent chromium by soil humic substances, *Environmental Science and Technology*, 30: 2470-2477, **1996**
- [28] Palmer D.C. & Wittbrodt R. P., Reduction of chromium(VI) by soil humic acids, *European Journal of Soil Science*, 47: 151-162, **1996**
- [29] Palmer D.C. & Wittbrodt R. P., Reduction of chromium(VI) in the presence of excess soil fulvic acid, *Environmental Science and Technology*, 29: 255-263, **1995**
- [30] Κουϊμτζής Θ., Φυτιάνου Κ. και Σαμαρά-Κωνσταντίνου Κ., Χημεία Περιβάλλοντος, University Studio Press, 1^η έκδοση, Θεσσαλονίκη **1998**, σελ. 326-328
- [31] Wang Y. T. & Shen Hai, Simultaneous chromium reduction and phenol degradation in a coculture of *Escherichia coli* ATCC 33456 and *Pseudomonas putida* DMP-1, *Applied and Environmental Microbiology*, 61(7): 2754-2758, **1995**
- [32] Hug J. S., et al, Iron(III) catalyzed photochemical reduction of chromium(VI) by oxalate and citrate in aqueous solutions, *Environmental Science and Technology*, 31: 160-170, **1997**
- [33] Yang W. J., et al, Interaction between Cr(VI) and a Fe-rich soil in the presence of oxalic and tartaric acids, *Environmental Geology*, 53: 1529-1533, **2008**
- [34] Hug J. S. & Buerge J. L., Influence of organic ligands on Chromium(VI) reduction by iron(II), *Environmental Science and Technology*, 32: 2092-2099, **1998**
- [35] Stone T. A. & Beng B., Surface-catalyzed chromium(VI) reduction: The TiO₂-Cr^{VI}-Mandelic acid system, *Environmental Science and Technology*, 30: 463-472, **1996**
- [36] Becquer T., et al, Chromium availability in ultramafic soils from New Caledonia, *The Science of the Total Environment*, 301: 251-261, **2003**
- [37] Oze C., et al, Genesis of Hexavalent chromium from natural sources in soil and groundwater, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(16): 6544-6549, **2007**
- [38] Lu A., et al, Removal of Cr(III) and Cr(VI) from aqueous solutions and industrial wastewaters by natural clino-pyrrhotite, *Environmental Science and Technology*, 40: 3064-3069, **2006**
- [39] He T. Y. & Traiana J. S., Cr(VI) reduction and immobilization by magnetite under alkaline pH conditions: The role of passivation, *Environmental Science and Technology*, 39: 4499-4504, **2005**
- [40] Tokunaga K. T., et al, Chromium diffusion and reduction in soil aggregates, *Environmental Science and Technology*, 35: 3169-3174, **2001**
- [41] Gonzales R. A., et al, Natural occurrence of hexavalent chromium in the Aromas Red Sands aquifer, California, *Environmental Science and Technology*, 39(15): 5505-5511, **2005**
- [42] Kožuh N., et al, Reduction and oxidation processes of chromium in soils, *Environmental Science and Technology*, 34(15): 112-119, **2000**
- [43] Stepniewska Z., et al, The effects of MnO₂ on sorption and oxidation of Cr(III) by soils, *Geoderma*, 122: 291-296, **2004**
- [44] Anderson R. A. & Bryden N. A., Concentration, insulin potentiation, and absorption of chromium in beer, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 31(2): 308-311, **1983**
- [45] Expert Group on Vitamins and Minerals, Review of Chromium, EVM/99/26, Revised **2002**
- [46] Kumpulainen J. et al, Determination of chromium in human milk, serum and urine by electrothermal atomic absorption spectrometry without preliminary ashing, *The Science of the Total Environment*, 31(1): 71-80, **1983**

- [47] Kumpulainen J. & Vuori E., Longitudinal study of chromium in human milk, *The American Journal of Critical Nutrition*, 33(11): 2299-2302, **1980**
- [48] Ένωση Ελλήνων Χημικών, Θέσεις για την επικινδυνότητα παρουσίας Cr(VI) στα υπόγεια νερά, Επιστημονικό Τμήμα Περιβάλλοντος, Υγείας και Ασφάλειας της Εργασίας, Οκτώβριος **2007**
- [49] World Health Organization, Chromium in Drinking Water – Background Document for Development of WHO Guidelines Drinking-water Quality, WHO/SDE/WSH/03.04/04, **2003**
- [50] Hepburn Dion D.D. & Vincent J. B., Tissue and subcellular distribution of chromium picolinate with time after entering the bloodstream, *Journal of Inorganic Biochemistry*, 94(1-2): 86-93, **2003**
- [51] Uusitupa Matti I. J. et al, Effect of inorganic chromium supplementation on glucose tolerance, insulin response, and serum lipids in noninsulin-dependent diabetics, *The American Journal of Clinical Nutrition*, 38: 404-410, **1983**
- [52] Anderson R. A. Nutritional factors influencing the glucose/insulin system: chromium, *Journal of the American College of Nutrition*, 16(5): 404-410, **1997**
- [53] Cefalu W. T. & Hu F. B., Role of chromium in human health and in diabetes, *Diabetes Care*, 27(11): 2741-2751, **2004**
- [54] Vincent J.B., Elucidating a biological role for chromium at a molecular level, *Accounts of Chemical Research*, 33(7): 503-510, **2000**
- [55] Clodfelder B. J. et al, The trail of chromium(III) in vivo from the blood to the urine: the roles of transferrin and chromodulin, *Journal of Biological Inorganic Chemistry*, 6(5-6): 608-617, **2001**
- [56] Vincent J. B. The biochemistry of chromium, *The Journal of Nutrition*, 130(4): 715-718, **2000**
- [57] O' Conell B. S., Select vitamins and minerals in the management of diabetes, *Diabetes Spectrum*, 14(3): 133-148, **2001**
- [58] Mooradian A. D. et al, Selected vitamins and minerals in diabetes, *Diabetes Care*, 17(5): 464-479, **1994**
- [59] Evans J. W. & Pouchnik D. J., Composition and biological activity of chromium-pyridine carboxylate complexes, *Journal of Inorganic Biochemistry*, 49(3): 177-187, **1993**
- [60] Pellerin C. & Booker S.M., Reflections on hexavalent chromium - Health hazards of an industrial heavyweight, *Environmental Health Perspectives*, 108(9): A402-A407, **2000**
- [61] Hamilton J. W. & Wetterhahn K. E., Molecular basis of hexavalent chromium carcinogenicity: effect on gene expression, *Science of the Total Environment*, 86(1-2): 113-129, **1989**
- [62] Parierno S. R. et al, Chromium(VI) treatment of normal human lung cells results in guanine-specific DNA polymerase arrest, DNA-DNA cross-links and S-phase blockade of cell cycle, *Carcinogenesis*, 17(7): 1511-1517, **1996**
- [63] Hodges N. J. et al, Induction of DNA-strand breaks in human peripheral blood lymphocytes and A549 lung cells by sodium dichromate: association with 8-oxo-2-deoxyguanosine formation and inter-individual variability, *Mutagenesis*, 16(6): 467-474, **2001**
- [64] Flora S. D. et al, Estimates of the chromium(VI) reducing capacity in human body compartments as a mechanism for attenuating its potential toxicity and carcinogenicity, *Carcinogenesis*, 18(3): 531-537, **1997**
- [65] Yang J. L. et al, Introduction of 8-hydroxydeoxyguanosine in DNA by chromium(III) plus hydrogen peroxide and its prevention by scavengers, *Carcinogenesis*, 17(1): 103-108, **1996**
- [66] Yang J-L. & Tsou T-C., Formation of reactive oxygen species and DNA strand breakage during interaction of chromium(III) and hydrogen peroxide in vitro: evidence for a chromium(III)-mediated Fenton-like reaction, *Chemico-Biological Interactions* 102: 133- 153, **1996**

- [67] Shi X. et al, Reduction of chromium(VI) and its relationship to carcinogenesis, *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B*, 2: 87-104, **1999**
- [68] Reiter R. J. et al, Chromium(III)-induced 8-hydroxydeoxyguanosine in DNA and its reduction by antioxidants: Comparative effects of melatonin, ascorbate and vitamin E, *Environmental Health Perspectives*, 108(5): 399-402, **2000**
- [69] Zhitkovich A. et al, Ascorbate acts as a highly potent inducer of chromate mutagenesis and clastogenesis: linkage to DNA breaks in G₂ phase by mismatch repair, *Nucleic Acids Research*, 35(2): 465-476, **2007**
- [70] Costa M. Toxicity and Carcinogenicity of Cr(VI) in Animal Models and Humans, *Critical Reviews in Toxicology*, 27(5): 431-442, **1997**
- [71] Ding M. & Shi X., Molecular mechanisms of Cr(VI)-induced carcinogenesis, *Molecular and Cellular Biochemistry*, 234-235(1): 293-300, **2002**
- [72] U. S. Environmental Protection Agency, Toxicological review of hexavalent chromium, CAS No. 18540-29-9, **1998**
- [73] U.S. Department of Health and Human Services, National Toxicology Program, TOX 72 NTP Report on Sodium Dichromate Dihydrate (CAS No. 7789-12-0) Administered in Drinking Water to Male and Female F344/N Rats and B6C3F₁ Mice and Male BALB/c and am3-C57BL/6 Mice, **2007**,
- [74] U. S. National Institute of Environmental Health Sciences – National Institutes of Health, Hexavalent Chromium in Drinking Water Causes Cancer in Lab Animals, **2007**, <http://www.niehs.nih.gov/news/releases/2007/hexavalent.cfm>
- [75] Schiestl R. H. et al, Carcinogenic Cr(VI) and the nutritional supplement Cr(III) induce DNA deletions in yeast and mice, *Cancer Research*, 66(7): 3480-3484, **2006**
- [76] Iijima S., Helical microtubules of graphitic carbon, *Nature*, 354: 56-58, 1991
- [77] Ajayan P.M. & Ebbesen T.W., Nanometre-size tubes of carbon, *Reports on Progress in Physics*, 60:1025-1062, **1997**
- [78] Thostenson E. T. et al., Advances in the science and technology of carbon Nanotubes and their composites: A review, *Composites Science and Technology*, 61: 1899-1912, **2001**
- [79] Kalamkarov A. L. et al., Analytical and numerical techniques to predict carbon nanotubes properties, *International Journal of Solids and Structures*, 43: 6832-6854, **2006**
- [80] Di Ventra M. et al., Introduction to nanoscale science and technology, Kluwer Academic Publishers, σελ 137-182, **2004**
- [81] Lam C-W. et al, A review of carbon nanotube toxicity and assessment of potential occupational and environmental health risks, *Critical Reviews in Toxicology*, 36: 189-217, **2006**
- [82] Mondragon I. et al, Carboxylation treatment of multiwalled carbon nanotubes monitored by infrared and ultraviolet spectroscopies and scanning probe microscopy, *Diamond and Related Materials*, 16: 412-417, **2007**
- [83] Li W-Y. et al, Lead adsorption on carbon nanotubes, *Chemical Physics Letters*, 357(34) : 263-266, **2002**
- [84] Shim J-W. et al, Effect of modification with HNO₃ and NaOH on metal adsorption by pitch-based activated carbon fibers, *Carbon*, 39(11): 1635-1642, **2001**
- [85] Li Y-H. et al, Adsorption of cadmium(II) from aqueous solution by surface oxidized carbon nanotubes, *Carbon*, 41: 1057-1062, **2003**
- [86] Pyrzynska K., Application of carbon sorbents for the concentration and separation of metal ions, *Analytical Sciences*, 23: 631-637, **2007**
- [87] Liang P. et al, Determination of trace rare elements by inductively coupled plasma mass spectrometry after preconcentration with multiwalled carbon nanotubes, *Spectrochimica Acta Part B*, 60: 125-129, **2005**
- [88] Tarley C. R. T. et al, Solid-phase extraction system for Pb(II) ions enrichment based on multiwall carbon nanotubes coupled on-line to flame atomic absorption spectrometry, *Talanta*, 71: 1512-1519, **2007**
- [89] Li Y-H. et al, Removal of Cu²⁺ ions from aqueous solutions by carbon nanotubes, *Adsorption Science and Technology*, 21(5): 475-485, **2003**

- [90] Liang P. et al, Application of multiwalled carbon nanotubes as solid phase extraction sorbent for preconcentration of trace copper in water samples, *Journal of Separation Science*, 28: 2339-2343, **2005**
- [91] Liang H-D. & Han D-M., Multi-walled carbon nanotubes as sorbent for flow injection on-line microcolumn preconcentration coupled with flame atomic absorption spectrometry for determination of cadmium and copper, *Analytical Letters*, 39: 2285-2295, **2006**
- [92] Tarley C. R. T. et al, Highly improved sensitivity of TS-FF-AAS for Cd(II) determination at ng L⁻¹ levels using a simple flow injection minicolumn preconcentration system with multiwall carbon nanotubes, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 21: 1305-1313, **2006**
- [93] Liang P. et al, Multiwalled carbon nanotubes as solid-phase extraction adsorbent for the preconcentration of trace metal ions and their determination by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 19: 1489-1492, **2004**
- [94] Wang X. & Chen C., Adsorption of Ni(II) from aqueous solution using oxidized multiwall carbon nanotubes, *Industrial and Engineering Chemical Research*, 45(96): 9144-9149, **2006**
- [95] Ding Q. et al, Separation and preconcentration of silver ion using multiwalled carbon nanotubes as solid phase extraction sorbent, *Separation Science and Technology*, 41: 2723-2732, **2006**
- [96] Gallego M. et al, Speciation of organometallic compounds in environmental samples by gas chromatography after flow preconcentration on fullerenes and nanotubes, *Analytical Chemistry*, 77(16): 5389-5395, **2005**
- [97] Zhou Q. et al, Using multi-walled carbon nanotubes as solid phase extraction adsorbents to determine dichlorodiphenyltrichloroethane and its metabolites at trace level in water samples by high performance liquid chromatography with UV detection, *Journal of Chromatography A*, 1125: 152-158, **2006**
- [98] Ammann A. A., Inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS): a versatile tool, *Journal of Mass Spectrometry*, 42: 419-427, **2007**
- [99] Robert T., Practical guide to ICP-MS. A tutorial for beginners, CRC Press, Taylor & Francis Group, 2nd edition, **2008**
- [100] Chen J., Perkin Elmer, <http://hvic.hk.edu.tw/cpsub/data/ICPMS.pdf>
- [101] Gürleyük H. & Wallschläger D., Determination of chromium(III) and chromium(VI) using suppressed ion chromatography inductively coupled plasma mass spectrometry, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 16: 926-930, **2001**
- [102] Chen Z. et al., Speciation of chromium in waste water using ion chromatography inductively coupled plasma mass spectrometry, *Talanta*, 72: 394-400, **2007**
- [103] Hagendorfer H. & Goessler W., Separation of chromium(III) and chromium(VI) by ion chromatography and an inductively coupled plasma mass spectrometer as element-selective detector, *Talanta*, 76: 656-661, **2008**
- [104] Chang Y. L. & Jiang S. J., Determination of chromium in water and urine by reaction cell inductively coupled plasma mass spectrometry, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 16: 1434-1438, **2001**
- [105] Séby F. et al., Chromium speciation by hyphenation of high-performance liquid chromatography to inductively coupled plasma-mass spectrometry – study of the influence of interfering ions, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 18: 1386-1390, **2003**
- [106] Tuzen M. & Soylak M., Multiwalled carbon nanotubes for speciation of chromium in environmental samples, *Journal of Hazardous Materials*, 147: 219-225, **2007**
- [107] Salin E. D. & Lafleur J. P., Speciation of chromium by high-performance thin-layer chromatography with direct determination by laser ablation inductively plasma mass spectrometry, *Analytical Chemistry*, 80(17): 6821-6823, **2008**
- [108] Motomizu S. et al., On-line preconcentration using dual mini-columns for the speciation of chromium(III) and chromium(VI) and its application to water samples

- as studied by inductively coupled plasma – atomic emission spectrometry, *Talanta*, 68: 388-393, **2005**
- [109] Demirata B., Speciation of Cr(III) and Cr(VI) by means of melamine-urea-formaldehyde resin and FAAS, *Microchimica Acta*, 136: 143-146, **2001**
- [110] Karayannis M. I. et al, An optimised single-reagent method for the speciation of chromium by flame atomic absorption spectrometry based on surfactant micelle-mediated methodology, *The Analyst*, 126: 389-393, **2001**
- [111] Shemirani F. et al, Preconcentration and speciation of chromium in water samples by atomic absorption spectrometry after cloud-point extraction, *Analytical Sciences*, 19: 1453-1456, **2003**
- [112] Soylak M. et al, Speciation of Cr(III) and Cr(VI) in tannery wastewater and sediment samples on Ambersorb 563 resin, *Analytical Letters*, 35(8): 1437-1452, **2002**
- [113] Martinez L. D. et al, Preconcentration and speciation of chromium in drinking water samples by coupling of on-line sorption on activated carbon to ETAAS determination, *Talanta*, 68: 1065-1070, **2006**
- [114] Cathum S. et al, Determination of Cr^{3+} , CrO_4^{2-} , and $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ in environmental matrixes by high-performance liquid chromatography with diode-array detection (HPLC-DAD), *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 373: 103-110, **2002**
- [115] Chiu K. H. & Wang J. S., Simultaneous extraction of Cr(III) and Cr(VI) with a dithiocarbamate reagent followed by HPLC separation for chromium speciation, *Analytical Sciences*, 20: 841-846, **2004**
- [116] Broekaert J. A. C. & Andrieu C. M., Speciation of Cr(III) and Cr(VI) by reversed phase high-performance liquid chromatography using UV-detection, *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*, 346: 653-658, **1993**
- [117] Orescanin V. et al, Determination of Cr(III) and Cr(VI) in industrial and environmental liquid samples by EDXRF method, *Analytica Chimica Acta*, 527: 125-129, **2004**
- [118] Gardner M. & Comber S., Determination of trace concentrations of hexavalent chromium, *The Analyst*, 127: 153-156, **2002**
- [119] Matsuoka S. et al., Flow analysis of micro amounts of chromium(III) and (VI) in natural water by solid phase spectrophotometry using diphenylcarbazide, *The Analyst*, 124: 787-791, **1999**
- [120] Tong S-Y. & Li K-A., The distribution of chromium(VI) species in solution as a function of pH and concentration, *Talanta*, 33(9): 775-777, **1986**
- [121] El-Sheikh A. H. et al., Effect of dimensions of multi-walled carbon nanotubes on its enrichment efficiency of metal ions from environmental samples, *Analytica Chimica Acta*, 604: 119-126, **2007**
- [122] Arunachalam J. et al, Speciation of Cr(III) and Cr(VI) in waters using immobilized moss and determination by ICP-MS and FAAS, *Talanta*, 65: 135-143, **2005**
- [123] Ramos R. L. et al, Adsorption of trivalent chromium onto activated carbon, *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 62: 64-67, **1995**
- [124] Wang X. et al, Sorption of $^{243}\text{Am}(\text{III})$ to multiwall carbon nanotubes, *Environmental Science and Technology*, 39: 2856-2860, **2005**
- [125] Dubbin W. E., Influence of organic ligands on Cr desorption from hydroxy-Cr intercalated montmorillonite, *Chemosphere*, 54: 1071-1077, **2004**
- [126] Cerente C. et al, Adsorption of several metal ions onto a low-cost biosorbent: Kinetic and equilibrium studies, *Environmental Science and Technology*, 36: 2067-2073, **2002**
- [127] Anirudhan T. S. & Radhakrishnan P.G., Chromium(III) removal from water and wastewater using a carboxylate-functionalized cation exchanger prepared from a lignocellulosic residue, *Journal of Colloid and Interface Science*, 316: 268-276, **2007**
- [128] Miller J. & Miller J., *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry*, Publications: Prentice Hall, 4th edition, **2000**
- [129] α) Εργαστήριο Φυσικών και Χημικών Δοκιμών, Πιστ. Αv. 0803607, β) εφημερίδα «Ελευθεροτοπία» 17/09/2007, β) εφημερίδα «ΤΑ ΝΕΑ on-line» 18/09/2008, γ) εφημερίδα «ΗΜΕΡΗΣΙΑ ON-LINE» 20/09/2008, δ) εφημερίδα «Ελεύθερος Τύπος» 24/11/2007, δ) εφημερίδα «Καθημερινή» 04/09/2007.

- [130] Οδηγία 98/83/EK του Συμβουλίου της Ευρωπαϊκής Κοινότητας σχετικά με την ποιότητα του νερού ανθρώπινης κατανάλωσης.
- [131] Di Z- C. et al., Adsorption of chromium(VI) ions from water by carbon nanotubes, *Adsorption Science and Technology*, 22(6): 467-474, **2004**
- [132] Blowes D., Tracking hexavalent Cr in groundwater, *Science*, v:295, n:5562, **2002**
- [133] Ellis A. S. et al, using chromium stable isotope ratios to quantify Cr(VI) reduction: lack of sorption effects, *Environmental Science and Technology*, 38: 3604:3607, **2004**
- [134] Tebo B. M. & Arias Y. M., Cr(VI) reduction by sulfidogenic and nonsulfidogenic Microbial Consortia, *Applied and Environmental Microbiology*, 69(3): 1847-1853, **2003**
- [135] Homma Y., Formation of two chromium(III) dithiocarbamates from Cr(VI) in solvent extraction system and origin of oxygen atom in bis(1pyrrolidinecarbodithioato)[1-pyrrolidinecarbothio(thioperoxato)]chromium(III), *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, 75: 2415:2421, **2002**
- [136] EPA Method 7199, Determination of hexavalent chromium in drinking water, groundwater and industrial wastewater effluents by ion chromatography, **1996**
- [137] Kingston H. M. et al, Determination and corrections of analytical biases and study on chemical mechanisms in the analysis of Cr(VI) in soil samples using EPA protocols, *Environmental Sciences and Technology*, 32: 3418-3423, **1998**

Παράρτημα

Πίνακας Π1. Συντελεστές κατανομής t συναρτήσει του διαστήματος εμπιστοσύνης και των βαθμών ελευθερίας.

Value of t for a confidence interval of Critical value of $ t $ for P values of number of degrees of freedom	90% 0.10	95% 0.05	98% 0.02	99% 0.01
1	6.31	12.71	31.82	63.66
2	2.92	4.30	6.96	9.92
3	2.35	3.18	4.54	5.84
4	2.13	2.78	3.75	4.60
5	2.02	2.57	3.36	4.03
6	1.94	2.45	3.14	3.71
7	1.89	2.36	3.00	3.50
8	1.86	2.31	2.90	3.36
9	1.83	2.26	2.82	3.25
10	1.81	2.23	2.76	3.17
12	1.78	2.18	2.68	3.05
14	1.76	2.14	2.62	2.98
16	1.75	2.12	2.58	2.92
18	1.73	2.10	2.55	2.88
20	1.72	2.09	2.53	2.85
30	1.70	2.04	2.46	2.75
50	1.68	2.01	2.40	2.68
∞	1.64	1.96	2.33	2.58

Πηγή: Miller J. & Miller J., Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry,
Publications: Prentice Hall, 5th edition, 2005