



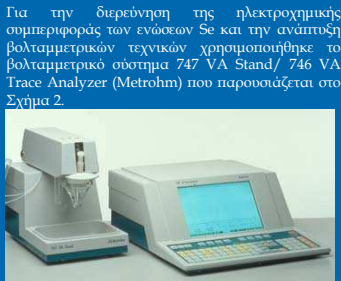
# ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΣΥΝΔΥΑΣΜΕΝΗΣ ΑΝΑΛΥΤΙΚΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΙΔΟΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΕΝΩΣΕΩΝ ΣΕΛΗΝΙΟΥ ΣΕ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ

Μαρία Οξενκιουν-Πετροπούλου, Φώτης Τσόπελας, Λαμπρινή-Αρετή Τσακανίκα, Κλάους Οξενκιουν  
Εργαστήριο Ανόργανης και Αναλυτικής Χημείας, Τομέας Χημικών Επιστημών, Σχολή Χημικών Μηχανικών Ε.Μ.Π.

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Αντικείμενο του έργου είναι η ανάπτυξη συνδυασμένης αναλυτικής μεθόδου για την ειδοποίηση, δηλαδή τον ποιοτικό και ποσοτικό προσδιορισμό ενώσεων σεληνίου και την εφαρμογή της σε περιβαλλοντικά δείγματα. Οι πιο συνηθισμένες μορφές σεληνίου (Se) που απαντούν σε περιβαλλοντικά δείγματα περιλαμβάνουν τα ανόργανα είδη Se(IV) και Se(VI) και τα οργανομεταλλικά είδη διμεθυλοδιοσεληνίδιο ((CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Se<sub>2</sub>), διμεθυλοσεληνίδιο ((CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Se), σεληνομεθιονίνη (Se-Met), σεληνοκυστίνη (Se-Cyst), σεληνουρία (Se-U) και σεληνοσαταμίνη (Se-CM), η δομή των οποίων παρουσιάζεται στο Σχήμα 1 και εμφανίζουν διαφορετική τοξικότητα και τάση βιοσυσσωρευσης σε ζώντες οργανισμούς. Ο προσδιορισμός τους σύμφωνα με την διεθνή βιβλιογραφία επιτυγχάνεται με συνδυασμένες τεχνικές, κυρίως με υγρή χρωματογραφία συνδεδεμένη σε σειρά με φασματομετρία μάζας με διεγερση πλάσματος (ICP-MS). Ωστόσο ο απαιτούμενος εξοπλισμός είναι ιδιαίτερα ακριβός χωρίς να στερείται παρεμβολών από διάφορα άλλα χημικά είδη που συνυπάρχουν στο δείγμα, ενώ αντίθετα η δυνατότητα βολταμετρικού προσδιορισμού των ενώσεων Se δεν έχει συστηματικά διερευνηθεί, όπως επίσης και η δυνατότητα χρήσης φασματομετρίας υπεριώδους (UV), παρά το γεγονός πως αποτελεί τον πλέον εύκολο προσβάσιμο ανιχνευτή σε συστήματα υγρής χρωματογραφίας. Στα πλαίσια της εργασίας αυτής αναπτύχθηκαν για πρώτη φορά βολταμετρικές τεχνικές για τον προσδιορισμό 6 ενώσεων σεληνίου, εκ των οποίων οι 5 ενώσεις σεληνίου (Se(IV), (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Se<sub>2</sub>, Se-Cyst, Se-CM και Se-U) προσδιορίζονται άμεσα, ενώ το Se(VI) άμεσα, μετά από αναγωγή του σε Se(IV). Επιπλέον αναπτύχθηκαν χρωματογραφικοί διαχωρισμοί των παραπάνω ενώσεων Se με χρωματογραφία ιονεναλλαγής και με αντιστροφή φάσεως υγρή χρωματογραφία. Η τελευταία συνδέθηκε σε σειρά (on-line) με φασματομετρία εκπομπής πλάσματος (ICP-AES), αλλά και με φασματομετρία υπεριώδους UV, μετά από βελτιστοποίηση του μήκους κύματος απορρόφησης των ενώσεων Se. Οι αναπτυχθείσες τεχνικές εφαρμόστηκαν σε διάφορα περιβαλλοντικά δείγματα, όπως ιζήματα θερμομεταλλικών πηγών, υπάμενες πέτρες και φίλτρα κλασματικής δειγματοληψίας αερωμένων σωματιδίων της ατμόσφαιρας. Από τα αποτελέσματα του έργου προέκυψαν 2 δημοσιεύσεις σε διεθνή περιοδικά, 2 ανακοινώσεις σε διεθνή συνέδρια και 1 ανακοίνωση σε ελληνικό συνέδριο.

## ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΒΟΛΤΑΜΕΤΡΙΚΩΝ ΤΕΧΝΙΚΩΝ ΓΙΑ ΤΟΝ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ ΕΙΔΩΝ ΣΕΛΗΝΙΟΥ



Σχήμα 2: Το πολυρογραφικό σύστημα 747 VA Stand / 746 VA Trace Analyzer

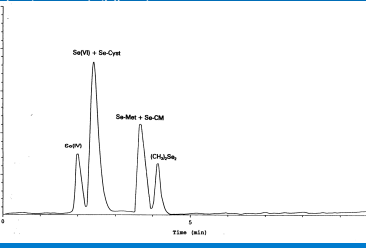
Από τα 8 είδη σεληνίου στα οποία διερευνήθηκε η ηλεκτροχημική τους συμπεριφορά, τα 3 (Se(VI), Se-Met και (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Se) είναι ηλεκτροχημικά ανενεργά, ενώ για τις άλλες 5 ενώσεις σεληνίου (Se(IV), Se-Cyst, Se-CM, Se-U και (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Se<sub>2</sub>) αναπτύχθηκαν βολταμετρικές τεχνικές προσδιορισμού τους μετά από την βελτιστοποίηση διαφόρων ηλεκτροχημικών παραμέτρων (είδος και συγκέντρωση ηλεκτρολύτη, χρόνος και δυναμικό απόθεσης). Τα δυναμικά ημικύκλους, ευσταθείσες όρια ανίχνευσης και επαναληψιμότητες των βολταμετρικών τεχνικών για τα είδη αυτά σεληνίου παρουσιάζονται στον Πίνακα 1. Είναι σημαντικό πως η παρουσία διαφόρων ενώσεων με παρόμοια δομή με αυτή των οργανικών ενώσεων σεληνίου (π.χ. ουρία και θεορίνη στην περίπτωση της σεληνοουρίας) ακόμα και σε 100 φορές μεγαλύτερη συγκέντρωση, ουδένως επηρεάζει τον βολταμετρικό τους προσδιορισμό (Σχήμα 3).

Για τον χρωματογραφικό διαχωρισμό των ειδών Se χρησιμοποιήθηκε σύστημα HPLC (Knauer). Για τον ποσοτικό προσδιορισμό των ειδών Se, το σύστημα HPLC συνδέθηκε σε σειρά με φασματομετρητή UV, αλλά και ICP-AES (Jobin-Yvon) (Σχήμα 4).



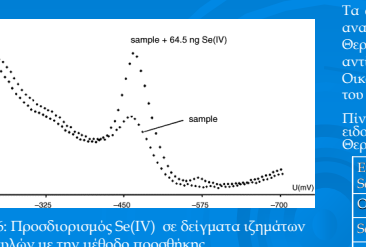
Σχήμα 4: Σύνδεση χρωματογραφικού συστήματος HPLC με ICP-AES

Ο καλύτερος διαχωρισμός των ειδών Se επιτυγχάνεται με διαλυτή έκλυση 0.01 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> σε pH 7 με διάλυμα 1 M NaOH και προσθήκη 0.007 M οκτανοσουλφονικού νατρίου ως αντιδραστήριο σχηματισμού ζεύγους ιόντων (Σχήμα 5).



Σχήμα 5: Χρωματογραφικός διαχωρισμός ειδών σεληνίου

Οι αναπτυχθείσες τεχνικές εφαρμόστηκαν με επιτυχία σε διάφορα περιβαλλοντικά δείγματα, όπως ιζήματα θερμομεταλλικών πηγών, υπάμενες πέτρες, θαλασσινό νερό, φίλτρα κλασματικής δειγματοληψίας αερωμένων σωματιδίων και θαλάσσιους οργανισμούς. Στην περίπτωση ιζήματος από την πηγή των Θερμοπλών, εφαρμόστηκαν οι αναπτυχθείσες βολταμετρικές τεχνικές μετά από κατεργασία του ιζήματος με 0.1 M HCl. Η αξιολόγηση των πολυρογραφικών μεθόδων έγινε με την μέθοδο προσθήκης, όπως φαίνεται και στο Σχήμα 6.



Σχήμα 6: Προσδιορισμός Se(IV) σε δείγματα ιζημάτων Θερμοπλών με την μέθοδο προσθήκης

## ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ ΣΕ ΔΙΕΘΝΗ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΑ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ

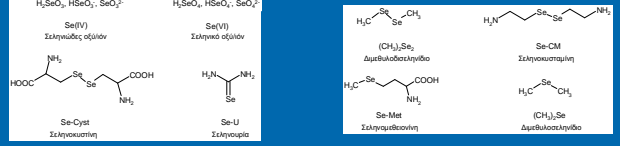
1. M. Ochsenkühn-Petropoulou, F. Tsopeas, "Separation of organoselenium compounds and their electrochemical detection", Anal. Bioanal. Chem 379 (2004) 770-776.
2. F. Tsopeas, M. Ochsenkühn-Petropoulou, I. Mergias, L. Tsakanika, "Comparison of ultraviolet and inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry for the quantification of selenium species after their separation by reversed-phase chromatography", Anal. Chim. Acta (in press).

## ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ ΣΕ ΔΙΕΘΝΗ ΣΥΝΕΔΡΙΑ

1. M. Ochsenkühn-Petropoulou, F. Tsopeas, "Separation of organoselenium compounds and their electrochemical detection", Proceedings of the 3<sup>rd</sup> International Conference on Instrumental Methods of Analysis-Modern Trends and Applications, IMA'03, 23-27 September 2003, Thessaloniki pp. 182-185.
2. K. M. Ochsenkühn, M. Ochsenkühn-Petropoulou, "Anodic stripping voltammetry a tool for the analysis of Se and some heavy metals in airborne particulate matter", Proceedings of the 2<sup>nd</sup> Asian International Conference on Ecotoxicology and Environmental Safety", 26-29 September 2004, Songkla, Thailand., p. O-2

## ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ ΣΕ ΕΛΛΗΝΙΚΑ ΣΥΝΕΔΡΙΑ

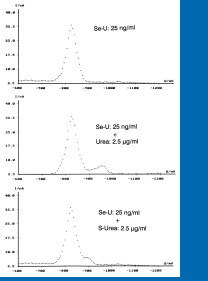
1. M. Οξενκιουν-Πετροπούλου, Φ. Τσόπελας, Ι. Μεργιάς, Λ. Τσακανίκα, «Ειδοποίηση σεληνίου με συνδυασμένες αναλυτικές τεχνικές», 5ο Πανελλήνιο Επιστημονικό Συνέδριο Χημικής Μηχανικής, 26-28 Μαΐου 2005, Θεσσαλονίκη (Έγινε δεκτή για παρουσίαση).



Σχήμα 1: Δομή ανόργανων και οργανομεταλλικών ενώσεων σεληνίου που μελετήθηκαν

Πίνακας 1: Δυναμικά ημικύκλους, ευσταθείσες όρια ανίχνευσης και επαναληψιμότητες ενώσεων σεληνίου κατά την μέτρηση τους με βολταμετρικές τεχνικές

Είδος Se	Δυναμικό Ημικύκλου (V)	Ευσταθεία (mA ng <sup>-1</sup> Se <sup>-1</sup> ml)	Όριο ανίχνευσης (ng Se <sup>-1</sup> ml <sup>-1</sup> )	RSD
Se(IV)	-0.46 ± 0.05	7 ± 2	0.12	4%
Se-Cyst	-0.33 ± 0.05	0.7 ± 0.3	3	7%
Se-CM	-0.26 ± 0.03	5 ± 0.7	0.3	4%
Υδατική Φάση, Ηλεκτρολύτης Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> 0,5M				
Προ-ηλεκτροδότηση -600 mV/180 s				
Se-U	-0.85 ± 0.03	1 ± 0.15	2	3%
Οργανική Φάση, CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> : 0.2 M LiClO <sub>4</sub> /EtOH 1:1 + 0.03 M HCl				
Προ-ηλεκτροδότηση -50 mV/180 s				
(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> Se <sub>2</sub>	-0.22 ± 0.03	2.2 ± 0.3	0.23	3%



Σχήμα 3: Επίδραση ουρίας και θεορίνης στον βολταμετρικό προσδιορισμό της σεληνοουρίας

## ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΚΟΣ ΔΙΑΧΩΡΙΣΜΟΣ ΕΙΔΩΝ ΣΕΛΗΝΙΟΥ

Για τον χρωματογραφικό διαχωρισμό των ειδών Se χρησιμοποιήθηκε σύστημα HPLC (Knauer). Για τον ποσοτικό προσδιορισμό των ειδών Se, το σύστημα HPLC συνδέθηκε σε σειρά με φασματομετρητή UV, αλλά και ICP-AES (Jobin-Yvon) (Σχήμα 4).

Ο καλύτερος διαχωρισμός των ειδών Se επιτυγχάνεται με διαλυτή έκλυση 0.01 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> σε pH 7 με διάλυμα 1 M NaOH και προσθήκη 0.007 M οκτανοσουλφονικού νατρίου ως αντιδραστήριο σχηματισμού ζεύγους ιόντων (Σχήμα 5).

Οι ευσταθείσες, τα όρια ανίχνευσης και οι επαναληψιμότητες που προέκυψαν για τα είδη Se μετά τον διαχωρισμό τους με χρωματογραφία αντιστροφή φάσεως και ανίχνευση με φασματομετρία UV και ICP-AES, παρουσιάζονται στον Πίνακα 2:

Πίνακας 2: Προσδιορισμός ειδών σεληνίου με HPLC-UV και HPLC-ICP-AES

Μέθοδος ανίχνευσης / Ένωση Se	Φασματομετρία ICP-AES (196.090nm)		Φασματομετρία UV (192 nm)	
	Ευσταθεία (counts/ (μg Se/ml))	Όριο ανίχνευσης (ng Se/ ml)	RSD	Όριο ανίχνευσης (ng Se/ ml)
Se(IV)	36.0	30	3.0	7.4
Se(VI)	35.5	32	3.1	7.0
Se-Met	34.7	34	3.3	7.2
Se-Cyst	39.8	27	3.0	10.9
Se-CM	34.2	39	3.7	4.2
(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> Se <sub>2</sub>	29.3	49	4.0	3.1

Σχήμα 4: Σύνδεση χρωματογραφικού συστήματος HPLC με ICP-AES

Σχήμα 5: Χρωματογραφικός διαχωρισμός ειδών σεληνίου

## ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΣΕ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ

Οι αναπτυχθείσες τεχνικές εφαρμόστηκαν με επιτυχία σε διάφορα περιβαλλοντικά δείγματα, όπως ιζήματα θερμομεταλλικών πηγών, υπάμενες πέτρες, θαλασσινό νερό, φίλτρα κλασματικής δειγματοληψίας αερωμένων σωματιδίων και θαλάσσιους οργανισμούς. Στην περίπτωση ιζήματος από την πηγή των Θερμοπλών, εφαρμόστηκαν οι αναπτυχθείσες βολταμετρικές τεχνικές μετά από κατεργασία του ιζήματος με 0.1 M HCl. Η αξιολόγηση των πολυρογραφικών μεθόδων έγινε με την μέθοδο προσθήκης, όπως φαίνεται και στο Σχήμα 6.

Τα αποτελέσματα που προέκυψαν από την χρήση της αναπτυχθείσας μεθόδου στα δείγματα εδάφους των Θερμοπλών βρίσκονται σε καλή συμφωνία με τις αντίστοιχες τιμές που μετρήθηκαν στο Ινστιτούτο Οικολογικής Χημείας του Ερευνητικού Κέντρου GSF του Μονάχου, όπως προκύπτει από τον Πίνακα 3.

Πίνακας 3: Σύγκριση αποτελεσμάτων ειδοποίησης σεληνίου σε δείγματα ιζημάτων Θερμοπλών με HPLC-ICP-MS

Είδος Se (μg Se/g)	Παρούσα Εργασία	GSF (HPLC-ICP-MS)
Ολικό Se	1.90 ± 0.05	1.82 ± 0.05
Se(IV)	0.050 ± 0.008	0.030 ± 0.005
SeU	0.15 ± 0.02	0.12 ± 0.02
Se-Cyst	< 0.1	-
(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> Se <sub>2</sub>	< 0.003	-

## ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ-ΠΡΟΟΠΤΙΚΕΣ

- Οι βολταμετρικές τεχνικές είναι ιδιαίτερα κατάλληλες για την ειδοποίηση σεληνίου σε περιβαλλοντικά δείγματα. Είναι ιδιαίτερα χαμηλό κόστος με πολύ χαμηλά όρια ανίχνευσης και μεγάλη ευσταθεία.
- Η αντιστροφή φάσεως υγρή χρωματογραφία διαχωρίζει αποτελεσματικά 6 ενώσεις σεληνίου. Ο ποσοτικός προσδιορισμός τους επιτυγχάνεται με φασματομετρία UV ή ICP-AES. Η τελευταία σε σχέση με την φασματομετρία UV εμφανίζει υψηλότερη ευσταθεία και χαμηλότερα όρια ανίχνευσης.
- Οι κόπτες μορφές με τις οποίες απαντάται το σελήνιο σε περιβαλλοντικά δείγματα είναι οι μορφές Se(IV) και Se(VI).
- Οι αναπτυχθείσες τεχνικές είναι δυνατόν να καλύψουν τροποποιήσεις ή προσθήκες ορυκτών σταθίων (π.χ. εκχύλιση, ιονεναλλαγή) να χρησιμοποιηθούν για την ειδοποίηση σεληνίου σε διατροφικά και κλινικά δείγματα.