

ΤΕΙ ΚΡΗΤΗΣ

ΣΧΟΛΗ ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

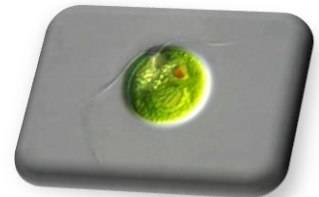
ΤΜΗΜΑ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΦΥΣΙΚΩΝ ΠΟΡΩΝ ΚΑΙ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ ΚΑΙ ΒΙΟΧΗΜΙΚΩΝ

ΔΙΕΡΓΑΣΙΩΝ



ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ  
ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ  
ΙΔΡΥΜΑ ΚΡΗΤΗΣ



### ΤΙΤΛΟΣ ΠΤΥΧΙΑΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ:

**“ΣΥΣΣΩΡΕΥΣΗ ΒΑΡΕΩΝ ΜΕΤΑΛΛΩΝ ΣΕ ΑΝΩΤΕΡΑ ΦΥΤΑ  
ΚΑΙ ΜΟΝΟΚΥΤΤΑΡΟΥΣ ΦΩΤΟΣΥΝΘΕΤΙΚΟΥΣ  
ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΥΣ , ΕΚΤΕΘΕΙΜΕΝΟΥΣ ΣΕ ΡΥΠΑΣΜΕΝΟ  
ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ”**

ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ: ΜΑΡΙΑ ΜΠΟΛΑΝΑΚΗ

A.M.: 1737

ΧΑΝΙΑ, 2017

**ΥΠΕΥΘΥΝΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ:**

ΛΥΔΑΚΗΣ – ΣΗΜΑΝΤΗΡΗΣ ΝΙΚΟΛΑΟΣ

**ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ:**

- 1.ΚΩΤΤΗ ΜΕΛΙΝΑ- ΣΠΥΡΙΔΟΥΛΑ
- 2.ΚΑΛΔΕΡΗΣ ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ
- 3.ΛΥΔΑΚΗΣ- ΣΗΜΑΝΤΗΡΗΣ ΝΙΚΟΛΑΟΣ

## **ΕΥΧΑΡΙΣΤΗΡΙΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ:**

Ευχαριστώ πάρα πολύ τον επιβλέποντα καθηγητή μου Νικόλαο Λυδάκη- Σημαντήρη, για την πολύτιμη καθοδήγησή του όλους αυτούς τους μήνες, αλλά και την ευκαιρία που μου έδωσε να ασχοληθώ και να μάθω για τους μονοκύτταρους φωτοσυνθετικούς οργανισμούς, τα ανώτερα φυτά και τα βαρέα μέταλλα. Επίσης, ευχαριστώ τους υπόλοιπους καθηγητές που ήταν μέσα στο εργαστήριο και με στήριζαν σε όλη αυτή τη προσπάθεια.

Επιπλέον, ευχαριστώ την Δρ. Δέσποινα Πεντάρη, Επίκουρη Καθηγήτρια του τμήματος Μηχανικών Ορυκτών Πόρων (ΜΗΧΟΠ) του Πολυτεχνείου Κρήτης, στο εργαστήριο Ανόργανης και Οργανικής Γεωχημείας και Οργανικής Πετρογραφίας, για την πολύτιμη βοήθειά της και την άδεια χρήσης του φασματόμετρου ατομικής απορρόφησης, για την διεξαγωγή των μετρήσεων.

Ακόμα, ευχαριστώ την ερευνήτρια και πολύτιμη συνεργάτιδα του Ε.Θ.Ι.Α.Γ.Ε (Ινστιτούτο Υποτροπικών φυτών & Ελιάς), Δρ. Νίνα Παπαφιλιππάκη καθώς και τον Δρ. Γιάννη Κασαπάκη για την άψογη συνεργασία που είχαμε καθ' όλη τη διάρκεια του ερευνητικού/ πειραματικού μου έργου.

Τέλος, οφείλω να ευχαριστήσω πολύ την οικογένειά μου για την στήριξη και την υπομονή που μου έδειξαν σε όλη τη διάρκεια των σπουδών μου και στην πτυχιακή μου.

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ :

Τα βαρέα μέταλλα αποτελούν ένα σημαντικό κίνδυνο για το περιβάλλον, τους φυτικούς και ζωικούς οργανισμούς. Βρίσκονται παντού και μπορούν να προκαλέσουν ρύπανση σε όλα τα οικοσυστήματα.

Η αλληλεπίδραση των βαρέων μετάλλων με τα ανώτερα φυτά και τα μονοκύτταρα φωτοσυνθετικά άλγη, αποτελεί ένα πολύ ενδιαφέρον κομμάτι μελέτης τόσο σε σχέση με την επίδραση που έχουν σε αυτά, όσο και την ικανότητα συσσώρευσής τους στους φυτικούς ιστούς και τα κύτταρα.

Στη εργασία αυτή εξετάσαμε τη μελέτη της επίδρασης / συσσώρευσης Καδμίου, Νικελίου και Μολύβδου στην αρμπαρόριζα και στον μονοκύτταρο φωτοσυνθετικό οργανισμό *Chlamydomonas Reinhardtii*. Οι δύο αυτοί οργανισμοί εκτέθηκαν σε διάφορα επίπεδα ρύπανσης με τα τρία υπό μελέτη βαρέα μέταλλα.

Η ανάλυση των δειγμάτων έγινε με Φασματομετρία Ατομικής Απορρόφησης, η οποία έδειξε υψηλή ικανότητα συσσώρευσης βαρέων μετάλλων και στα ανώτερα φυτά, κυρίως στις ρίζες τους, αλλά και στον *Chlamydomonas reinhardtii*.

**ΛΕΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ:** Βιοσυσσώρευση, Βαρέα μέταλλα, Ανώτερα φυτά, Μονοκύτταροι φωτοσυνθετικοί οργανισμοί- άλγη

## **ABSTRACT:**

Heavy metals are a major risk to the environment, plant and animal organisms. They are everywhere and can cause pollution in all ecosystems.

Interactions of heavy metals with higher plants and unicellular photosynthetic algae , is a very interesting bit of study regarding the effects of the metals on the plants and algae, and also the accumulation capacity in plant tissues and cells.

In this work we consider the study of the effect/ accumulation of Cadmium, Nickel and Lead in *Pelargonium graveolens* and the unicellular photosynthetic alga *Chlamydomonas Reinhardtii*. These two organisms were exposed to various pollution levels of the three heavy metals under examination.

The analysis of the samples was carried out by Atomic Absorption Spectrometry, which showed high accumulation capacity of heavy metals in higher plants, mainly in their roots, but also in *Chlamydomonas reinhardtii*.

**KEY WORDS:** Bioaccumulation, Heavy metals, Higher plants, Unicellular photosynthetic organisms- algae.

## **ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ:**

### **Κεφάλαιο 1° : Βαρέα Μέταλλα**

1.1- Βαρέα μέταλλα, γενικές πληροφορίες.....	8
1.2- Πληροφορίες για κάποια συγκεκριμένα βαρέα μέταλλα (Μόλυβδος, Κάδμιο, Υδράργυρος, Χρώμιο, Χαλκός, Νικέλιο, Αρσενικό).....	9-12
1.3- Ρύπανση περιβάλλοντος από τα βαρέα μέταλλα, μέσω ανθρωπογενών δραστηριοτήτων.....	13-14
1.4- Επιπτώσεις βαρέων μετάλλων στα οικοσυστήματα.....	15
1.5- Επιπτώσεις βαρέων μετάλλων στον άνθρωπο γενικές πληροφορίες.....	16
1.6- Επιπτώσεις βαρέων μετάλλων στην υγεία του ανθρώπου.....	17-18

### **Κεφάλαιο 2°: Έδαφος και φυτά**

2.1-Έδαφος, γενικές πληροφορίες.....	19
Οι λόγοι στους οποίους οφείλεται η ρύπανσή του στα Βαρέα μέταλλα	
2.2- Τρόποι εισαγωγής των βαρέων μετάλλων στο έδαφος.....	20
Χαρακτηρισμός φυτών, λόγω των συγκεντρώσεων των βαρέων μετάλλων στο έδαφος	
2.3- Ριζόσφαιρα.....	20
2.4- Μετακίνηση των μετάλλων από το έδαφος στις ρίζες.....	21
2.5- Μηχανισμοί Ανοχής των φυτών.....	21-22
2.6- Παράγοντες που επηρεάζουν την ποσότητα των βαρέων μετάλλων που θα απορροφήσουν τα φυτά.....	22
2.7- Φυτοεξυγίανση, γενικές πληροφορίες.....	22-24
Τεχνικές φυτοεξυγίανσης	
Μηχανισμοί φυτοεξυγίανσης.....	24-25
2.8- Φυτά συσσωρευτές.....	26

### **Κεφάλαιο 3<sup>ο</sup>: Chlamydomonas reinhardtii**

3.1- <i>Chlamydomonas reinhardtii</i> , γενικές πληροφορίες.....	27
3.2- Ο κύκλος ζωής του <i>Chlamydomonas reinhardtii</i> .....	28-29
3.3- Τύπος ζευγαρώματος.....	29
3.4- Δομή γονιδιώματος του χλωροπλάστη και γονιδιακό περιεχόμενο.....	30
3.5- Μέσα καλλιέργειας.....	30
θερμοκρασία και φωτισμός.....	31
Αερισμός.....	31
3.6- Συλλογή κυττάρων.....	32
Μελέτη κυττάρων μέσω μικροσκοπίου	

### **Κεφάλαιο 4<sup>ο</sup>: Αρμπαρόριζα**

4.1- Αρμπαρόριζα, γενικές πληροφορίες.....	33
4.2- Καλλιέργεια αρμπαρόριζας.....	33-34
4.3- Θεραπευτικές ιδιότητες.....	34
4.4- Χρήσεις στην κουζίνα και άλλες χρήσεις.....	34

### **Κεφάλαιο 5<sup>ο</sup>**

Όργανα και σκεύη που χρησιμοποιήθηκαν στο πειραματικό μέρος.....	35-38
--	-------

### **Κεφάλαιο 6<sup>ο</sup>: Φασματομετρία Ατομικής Απορρόφησης**

6.1.a.- Ατομοποίηση με φλόγα.....	39-40
Δομή της φλόγας.....	41
Ατομοποιητές φλόγας.....	41-42
Ρυθμιστές καυσίμου και οξειδωτικού.....	42
6.1.b.- Ηλεκτροθερμική ατομοποίηση.....	42-44
6.1.c.- Ειδικές τεχνικές ατομοποίησης.....	44-45
6.1.d.- Οργανολογία ατομικής απορρόφησης.....	45-47
db- Φασματοφωτόμετρα.....	48-50

## **Κεφάλαιο 7<sup>ο</sup>: Πειραματικό μέρος**

7.1.(A)- <i>Chlamydomonas reinhardtii</i> .....	51-53
Αντιδραστήρια/ διαλύματα που χρησιμοποιήθηκαν	
Η μεθοδολογία του πειράματος	
Σκοπός πειράματος.....	53
Σχηματικά η πειραματική διαδικασία.....	54
7.1.b.- Αποτελέσματα-Συσώρευση βαρέων μετάλλων.....	55-57
7.1.c.- Ανάλυση αποτελεσμάτων- Συμπεράσματα.....	58
7.2.a.(B)- Αρμπαρόριζα.....	59
Εισαγωγικά	
Μεθοδολογία και ύλη	
7.2.b.- Βασικά Χαρακτηριστικά του εδάφους.....	60-61
Θρεπτικά στοιχεία εδάφους	
7.2.c.Πειραματική διαδικασία.....	61
7.2.d.- Αποτελέσματα.....	62-64
7.2.e.- Ανάλυση αποτελεσμάτων – Συμπεράσματα.....	65
<b><u>BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ</u></b>	
Βιβλιογραφία.....	66-67
Ηλεκτρονική βιβλιογραφία.....	68



## ΕΙΣΑΓΩΓΗ:

### ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1<sup>ο</sup> :

#### 1.1 ΒΑΡΕΑ ΜΕΤΑΛΛΑ

Η σύγχρονη βιομηχανική ανάπτυξη, στις μέρες μας, οδήγησε στο σχηματισμό επικίνδυνων χημικών ουσιών που απελευθερώθηκαν στο περιβάλλον. Οι ουσίες αυτές ονομάζονται χημικοί επιμολυντές. Αποτελούν αντικείμενο πολλών επιστημονικών ερευνών, αφού μέσω του εδάφους και του αέρα περνάνε στα φυτά και στα ζώα και τελικά στην τροφική αλυσίδα. Ένας χημικός επιμολυντής είναι και τα **βαρέα μέταλλα**.

Γενικά, δεν υπάρχει συγκεκριμένος ορισμός, γι' αυτό έχουν προταθεί πολλοί διαφορετικοί με βάση την πυκνότητα, τον ατομικό αριθμό ή ατομικό βάρος, τις χημικές ιδιότητες ή και την τοξικότητά τους. Αντιπροσωπεύουν το υποσύνολο των στοιχείων που παρουσιάζουν μεταλλικές ιδιότητες και αναφέρονται σε ιχνοστοιχεία, τα οποία έχουν πυκνότητα από 3,5 g/cm<sup>3</sup> έως 7 g/cm<sup>3</sup> περίπου, όπου οι ατομικοί τους αριθμοί δίνονται γενικά ως μεγαλύτεροι του 20 και ενίοτε του 92 (ουρανίου), (Passow, H. Rothstein, A and Clarteson, T.W. 1961., Antonovics J, Bradshaw A D, and Turner R G. 1971). Συνήθως απαντώνται στους οργανισμούς ως δομικοί λίθοι περίπλοκων συμπλόκων.

Η κατηγορία των βαρέων μετάλλων περιλαμβάνει κυρίως ορισμένα μεταλλοειδή, λανθανίδες και ακτινίδες. Επίσης, στα βαρέα μέταλλα ανήκουν τα βλαβερά ιχνοστοιχεία κάδμιο (Cd), μόλυβδος (Pb), υδράργυρος (Hg) και τα απαραίτητα σε μικροποσότητες ιχνοστοιχεία για την καλή υγεία και λειτουργία των οργανισμών όπως σίδηρος (Fe), μαγγάνιο (Mn), ψευδάργυρος (Zn), χαλκός (Cu), κοβάλτιο (Co), μολυβδαίνιο (Mo) και βανάδιο (V). Επίσης, στην κατηγορία των βαρέων μετάλλων ανήκουν το Νικέλιο (Ni), και το Χρώμιο (Cr).

#### 1.2 Ας δούμε παρακάτω κάποιες πληροφορίες για αυτά:

**Μόλυβδος:** Χημικό στοιχείο, με χημικό σύμβολο **Pb**. Είναι μέταλλο με ατομικό αριθμό 82 και ατομικό βάρος 207,2. Η θερμοκρασία τήξης του είναι 327,5 °C και η θερμοκρασία βρασμού του 1740°C. Όταν κόβεται έχει κυανόλευκο χρώμα, αλλά εξασθενεί σε γκρι όταν βρίσκεται στον αέρα, και σε γυαλιστερό ασημί όταν βρίσκεται σε υγρό.



Εξάγεται από το ορυκτό Γαληνίτη (PbS) . Είναι διαδεδομένη η χρήση του στις μονώσεις, στις μπαταρίες των αυτοκινήτων, στον ηλεκτρικό και ηλεκτρονικό εξοπλισμό και σε διάφορα κράματα. Θεωρείται αξιόλογο προστατευτικό εναντίον της ραδιενέργειας. Είναι ανθεκτικός στην διάβρωση, γι' αυτό το λόγο χρησιμοποιείται εκτενώς στην οικοδόμηση κτιρίων. Ο μόλυβδος ήταν γνωστός από την αρχαιότητα.

**Κάδμιο:** Χημικό στοιχείο με σύμβολο **Cd**. Έχει ατομικό αριθμό 48, Ατομικό βάρος 112,41, και σημείο τήξης 320°C περίπου. Είναι σπάνιο σχετικά, μαλακό (με σκληρότητα 2), ελαφρώς γαλάζιο στο χρώμα και σαν μέταλλο θεωρείται τοξικό. Ανακαλύφθηκε από τον Στρόμαγιερ το 1817 σε σκόνη ψευδαργύρου. Συναντάται σαν θειούχο κάδμιο στην Γροιλανδία, τη Σκωτία και την Πενσυλβανία.



Συνηθέστερα όμως απαντάται στα ορυκτά του ψευδαργύρου και σε αναλογία 1 προς 400 μέρη ψευδαργύρου, από τα οποία λαμβάνεται με κλασματική απόσταξη, και μάλιστα ως πτητικό του ψευδαργύρου στα πρώτα κλάσματα της απόσταξης. Στη συνέχεια μέσω χημικής κατεργασίας και τελικής αναγωγής, σχηματίζεται το οξείδιο του καδμίου (CdO). Κυριότερη παραγωγός χώρα καδμίου είναι οι ΗΠΑ. Το κάδμιο χρησιμοποιείται ευρύτατα σε κράματα (επικαδμίωση μετάλλων), στις μπαταρίες, κ.ά.

**Υδράργυρος:** Χημικό στοιχείο με σύμβολο **Hg**. Έχει ατομικό αριθμό 80 και ατομικό βάρος 200,59. Η θερμοκρασία τήξης του είναι -38,87°C και η θερμοκρασία βρασμού του 356,58°C. Είναι βαρύ, αργυρόλευκο μέταλλο που ανήκει στον τομέα d του περιοδικού πίνακα και είναι το μοναδικό μέταλλο που σε θερμοκρασία δωματίου και κανονικές συνθήκες πίεσης και θερμοκρασίας απαντάται σε υγρή κατάσταση. Σε σχέση με άλλα μέταλλα είναι αρκετά καλός αγωγός του ηλεκτρισμού και σχετικά καλός αγωγός της θερμότητας.



Απαντάται στον κόσμο σε κοιτάσματα κινναβαρίτη (θειούχος υδράργυρος). Από τον κινναβαρίτη προέρχεται μια κόκκινη χρωστική ουσία, καθαρής μορφής θειούχου υδραργύρου, η οποία λαμβάνεται επί των πλείστων από την αντίδραση του υδραργύρου με το θείο. Ο κινναβαρίτης είναι ιδιαίτερα τοξικός εάν καταποθεί ή εισπνευσθεί η σκόνη του.

Ο υδράργυρος χρησιμοποιείται ευρέως στα θερμόμετρα, μανόμετρα, βαρόμετρα, στους διακόπτες, στους επιβραδυντές, στους λαμπτήρες φθορισμού και σε άλλες συσκευές.

Λόγω της τοξικότητάς του τα θερμόμετρα υδραργύρου και σφυγμομανόμετρα τείνουν να καταργηθούν σταδιακά σε μεγάλο βαθμό, με άλλα θερμόμετρα με αλκοόλ και με galinstan (κράμα γαλλίου), θερμίστορ ή ηλεκτρονικά μέσα που βασίζονται στην υπέρυθη ακτινοβολία. Ομοίως, τα σφυγμομανόμετρα υδραργύρου έχουν αντικατασταθεί από μηχανικά μανόμετρα και από ηλεκτρονικούς αισθητήρες. Παραμένει σε χρήση για εφαρμογές επιστημονικής έρευνας και ως υλικό αμαλγάματος για την οδοντιατρική αποκατάσταση.



**Χρώμιο:** Χημικό στοιχείο με σύμβολο **Cr**, ατομικό αριθμό 24 και είναι το πρώτο στοιχείο της ομάδας 6B (VI<sub>B</sub>) του περιοδικού πίνακα. Το καθαρά χημικό χρώμιο, σε συνηθισμένες συνθήκες είναι χαλυβί, γυαλιστερό, σκληρό και εύθραυστο μέταλλο, με υψηλή θερμοκρασία τήξης. Έχει αξιοσημείωτες μαγνητικές ιδιότητες, λόγω του ότι είναι το μόνο στερεό στοιχείο που μπορεί όταν βρίσκεται στη φύση σαν στοιχείο και όχι σε ενώσεις, να μην έλκεται μαγνητικά σε θερμοκρασία δωματίου ή και χαμηλότερη. Πάνω από τους 38°C έρχεται σε παραμαγνητική κατάσταση.

Το όνομά του προέρχεται από την ελληνική λέξη «χρῶμα», επειδή έχει πολλές έγχρωμες ενώσεις. Σαν στοιχείο ανακαλύφθηκε το 1761 στο Δυτικό κόσμο, όταν κέρδισε επιστημονικό ενδιαφέρον το κόκκινο κρυσταλλικό ορυκτό που ονομάζεται κροκοΐτης (κυρίως χρωμικός μόλυβδος) και χρησιμοποιήθηκε αρχικά σαν χρωστική ουσία. Σχεδόν όλο το χρώμιο που αξιοποιείται εμπορικά, εξορύσσεται από το μοναδικό βιώσιμο ορυκτό του χρωμίου, που είναι ο χρωμίτης. Το μεταλλικό χρώμιο εμφανίζει υψηλή αντίσταση στη διάβρωση. Αν προστεθεί το μεταλλικό χρώμιο στον χάλυβα τότε σχηματίζεται ο ανοξειδωτος χάλυβας. Το χρώμιο χρησιμοποιείται κυρίως στα οδοντοτεχνικά κράματα, στην επιχρωμίωση μετάλλων αλλά και στην κατασκευή κλειδιών.

**Χαλκός:** Συμβολίζεται με **Cu**. Είναι μέταλλο με ατομικό αριθμό 29 και ατομικό βάρος: 63,546. Η θερμοκρασία τήξης του είναι 1084,6°C και η θερμοκρασία βρασμού του 256°C. Ανήκει στην ομάδα της πρώτης κύριας σειράς των στοιχείων μετάπτωσης. Το χρώμα του είναι χαρακτηριστικό κόκκινο (ερυθρό του χαλκού) και έχει χαρακτηριστική μεταλλική λάμψη. Χαρακτηρίζεται ως μαλακό μέταλλο, (με σκληρότητα 2,5-3 στην κλίμακα Mohs), τήκεται με δυσκολία, ελατός και όλκιμος. Επίσης, είναι πολύ καλός αγωγός της θερμότητας αλλά και του ηλεκτρισμού.



Δεν μπορούν να κατασκευασθούν χυτά αντικείμενα από χαλκό, λόγω του ότι έχει την ιδιότητα να απορροφά ατμοσφαιρικό αέρα όταν είναι τηγμένος, τον οποίο αποβάλλει ψυχόμενος. Γενικά, δεν εμφανίζει σχιστότητα, ενώ η θραύση του είναι ανώμαλη. Ακόμη και σε λεπτά ελάσματα, είναι τελείως αδιαφανής. Δεν εμφανίζει μαγνητικές ιδιότητες. Όταν έρθει σε επαφή με άλλα μέταλλα εμφανίζει διαφορά δυναμικού (φαινόμενο Galvani).

Βρίσκεται στην φύση αυτοφύης και η εμφάνισή του στο φλοιό της Γης είναι περισσότερο συνηθισμένη, ως θειούχο ορυκτό. Υπάρχουν τυπικά μεταλλεύματα χαλκού τα οποία περιέχουν από 0,5% Cu, στα ανοικτά ορυχεία, έως 1-2% Cu, στα υπόγεια ορυχεία. Ο μεταλλικός χαλκός παράγεται από τα παραπάνω μεταλλεύματα με πυρομεταλλουργία: φρύξη, σύντηξη και εξευγενισμό. Στην Ελλάδα δεν παράγεται ο πρωτογενής χαλκός από 'ίδια' κοιτάσματα. Τόσο στα ζώα όσο και στα φυτά, είναι απαραίτητο ιχνοστοιχείο.

**Νικέλιο:** Χημικό στοιχείο με σύμβολο **Ni**, που χαρακτηρίζεται ως μέταλλο. Έχει ατομικό αριθμό 28, ατομικό βάρος 58,71, ειδικό βάρος: 8,9, θερμοκρασία τήξης: 1453°C και θερμοκρασία βρασμού: 2732°C. Το συγκεκριμένο χημικό στοιχείο ανήκει στην κατηγορία των στοιχείων μετάπτωσης, στην 10<sup>η</sup> ομάδα (VIIIβ) του περιοδικού πίνακα. Το νικέλιο που συναντάται συχνά είναι ένα μίγμα 5 ισοτόπων: 58 (κατά 66,4%), 60 (κατά 26,7%), 61 (κατά 1,6%), 62 (κατά 3,7%), και 64 (κατά 1,6%).

Σαν στοιχείο έχει χρώμα αργυρόλευκο και κάτω από τους 385°C θεωρείται ελαφρώς μαγνητικό μέταλλο. Χαρακτηρίζεται σκληρό ή και σκληρότερο από το σίδηρο, ανθεκτικότερο του σιδήρου, ελατό και αμετάβλητο στον αέρα ως συμπαγές. Όταν είναι στιλβωμένο αποκτά ισχυρή λάμψη. Στο νιτρικό οξύ διαλύεται εύκολα, ενώ στο υδροχλωρικό οξύ διαλύεται αργά και " εν βρασμό".



Χρησιμοποιείται ευρέως ως καταλύτης υδρογόνωσης των ελαίων κατά την παρασκευή λιπών.

Το νικέλιο εκτός από το ότι χρησιμοποιείται σε μικρές ποσότητες ως καταλύτης, σε μεγαλύτερες ποσότητες χρησιμοποιείται κυρίως σε κράματα χάλυβα (νικελιοχάλυβας), ώστε να αυξηθεί η σκληρότητα και η ανθεκτικότητά του. Από αυτό παρασκευάζονται πυροσωλήνες (πυροβόλων όπλων), και θωρακίζονται άρματα μάχης. Επίσης, σε διάφορα σκεύη οικιακής χρήσης γίνεται επινικέλωση, για την προστασία τους από τη διάβρωση. Ακόμα, χρησιμοποιείται στην κατασκευή χημικών οργάνων, εξαρτημάτων ραδιοφώνων και ηλεκτρονικών συσκευών, κατασκευή διαφόρων εργαλείων και αντικειμένων

πολυτελείας, στη χημεία σαν καταλύτης και στην παραγωγή ειδικών κραμάτων νικελίου. Τέλος, χρησιμοποιείται στην ασφαλή μεταφορά υδρογόνου, ιδιαίτερα σε οχήματα που χρησιμοποιούν το υδρογόνο σαν καύσιμο.

**Αρσενικό:** Χημικό στοιχείο με ατομικό αριθμό 33 και σύμβολο **As**. Στην ελεύθερη κατάστασή του είναι στερεό χρώματος γκρίζου (χαλυβδόφαιο), εύθραυστο με χαμηλή θερμική και χημική αγωγιμότητα. Στους 613°C εξαχνώνεται.

Υπάρχει μέσα σε πολλά ορυκτά, κυρίως σε συνδυασμό με το θείο και άλλα μέταλλα, αλλά επίσης και σε καθαρή στοιχειακή κρυσταλλική μορφή. Σε καθαρή φυσική κατάσταση (αυτοφύες),



βρίσκεται ένα πολύ μικρό ποσοστό του. Αντίθετα, το μεγαλύτερο μέρος του είναι ενωμένο με διάφορα ορυκτά (πάνω από 150).

Το στοιχείο αυτό, ανήκει στα μεταλλοειδή. Αν και μόνο η γκρι μορφή του έχει σημαντική εφαρμογή στη βιομηχανία, υπάρχουν και άλλες διαφορετικές μορφές του. Χρησιμοποιείται κυρίως στην ενίσχυση κραμάτων του χαλκού και ιδιαίτερα του μολύβδου (στις μπαταρίες των αυτοκινήτων), με τη μορφή του μεταλλικού, δηλαδή στοιχειακού, αρσενικού.

Στον ξηρό αέρα παραμένει σταθερό, ενώ στον υγρό αέρα καλύπτεται από ένα μαύρο οξείδιο. Όταν βρίσκεται σε ελεύθερη κατάσταση δεν επηρεάζεται από το νερό ή τις βάσεις, εκτός του ότι μπορεί να οξειδωθεί απ' το νιτρικό οξύ. Το αρσενικό έχει την ικανότητα να επιδρά με τα αλογόνα, όπως το θείο, και να ενώνεται με πολλά άλλα μέταλλα σχηματίζοντας αρσενικούχες ενώσεις.

### **1.3 ΡΥΠΑΝΣΗ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ ΑΠΟ ΤΑ ΒΑΡΕΑ ΜΕΤΑΛΛΑ ΜΕΣΩ ΑΝΘΡΩΠΟΓΕΝΩΝ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΩΝ**

Το περιβάλλον μπορεί να οριστεί σαν ένα σύνολο κλιματικών, βιοτικών, κοινωνικών, και εδαφικών παραγόντων που δρουν σε έναν οργανισμό και καθορίζουν την ανάπτυξη και την επιβίωσή του. Περιλαμβάνει οτιδήποτε μπορεί να επηρεάσει άμεσα το μεταβολισμό ή την συμπεριφορά των ζωντανών οργανισμών ή ειδών, όπως το φως, ο αέρας, το νερό, το έδαφος και άλλοι παράγοντες.

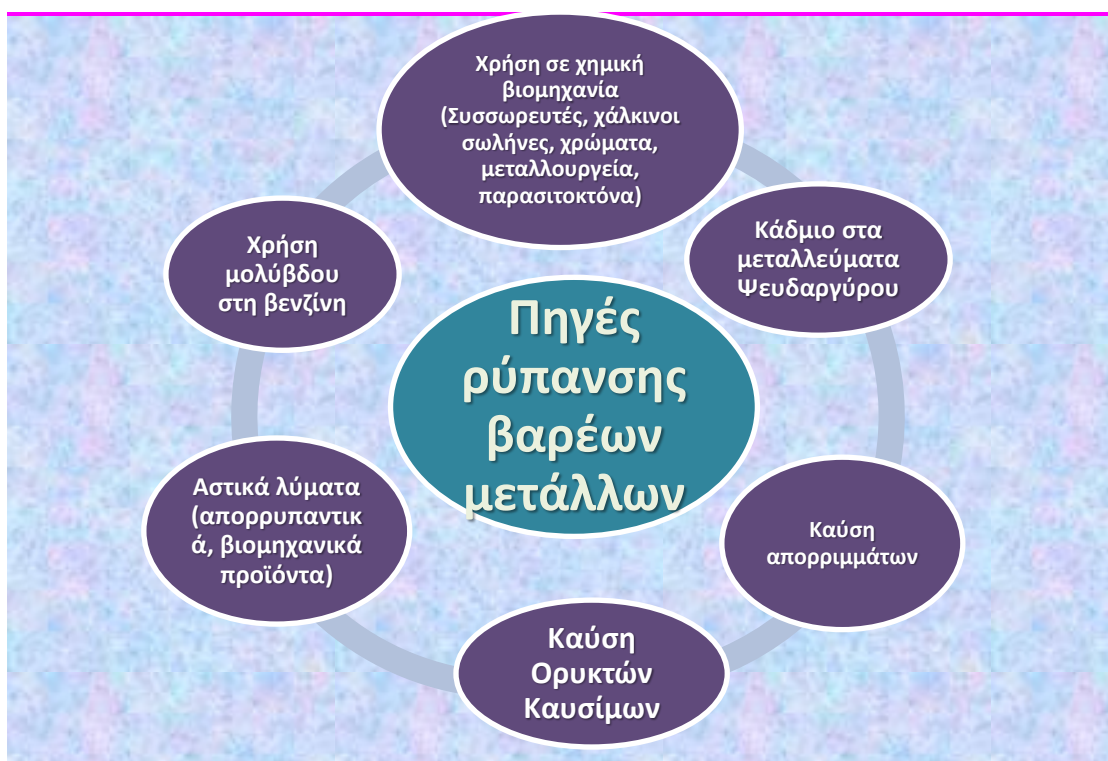
Η ρύπανση μπορεί να υπάρχει στην ξηρά, τον αέρα ή το νερό, να είναι ορατή ή μη. Μπορεί να περιγραφτεί ως η εισαγωγή επικίνδυνων, βλαβερών ή και τοξικών ουσιών και υλικών από τον άνθρωπο, που μειώνουν την ποιότητα του περιβάλλοντος ( π.χ. αλλαγές σε φυσικοχημικές και βιολογικές παραμέτρους). Η ρύπανση μπορεί να είναι βιολογική, αισθητική, ηχητική, γενετική ( με την εισαγωγή γενετικά μεταλλαγμένων ειδών), αλλά και ενεργειακή (θερμική, ραδιενεργή).

Τα βαρέα μέταλλα μπορούμε να τα βρούμε στη φύση διαλυμένα ως ιόντα στο νερό, ως μεταλλεύματα στους βράχους, είτε ακόμα προσκολλημένα στα μόρια του αέρα. Τα βαρέα μέταλλα είναι μια πολύ σημαντική μορφή ρύπανσης για το θαλάσσιο περιβάλλον, εξαιτίας της τοξικότητάς τους, η οποία τις περισσότερες φορές δεν είναι ορατή. Σχετίζονται με πλήθος ανθρωπίνων δραστηριοτήτων, μερικά χαρακτηριστικά παραδείγματα των οποίων παρουσιάζονται παρακάτω (σχήμα 1.1):

- Η χρήση τους στην χημική βιομηχανία είναι ο κανόνας- βιομηχανίες παραγωγής χρωμάτων, φωτογραφικών υλικών, ηλεκτρονικού υλικού, παρασιτοκτόνων, συσσωρευτών, πυρομαχικών, μεταλλουργεία κτλ., χρησιμοποιούν σε διάφορες ποσότητες ενώσεις που περιέχουν βαρέα μέταλλα, είτε σαν πρώτη ύλη, είτε σαν καταλύτες.
- Πολλές βιομηχανίες χρησιμοποιούν χάλκινους σωλήνες για την ψύξη των μηχανημάτων τους και λόγω της διάβρωσης, σημαντικές ποσότητες χαλκού οδηγούνται στη θάλασσα κατά την έξοδο του νερού από το σύστημα ψύξης.
- Η χρήση μολύβδου στην βενζίνη σαν αντικροτικό, είχε σαν αποτέλεσμα την απελευθέρωση σημαντικών ποσοτήτων ενώσεων μολύβδου στην ατμόσφαιρα, που εν συνεχεία μέσω των νερών της βροχής οδηγούνται στα ποτάμια ή και

κατευθείαν στη θάλασσα. Γι' αυτό το λόγο, στις περισσότερες χώρες η χρήση του μολύβδου στη βενζίνη έχει απαγορευτεί.

- Μεγάλες ποσότητες βαρέων μετάλλων καταλήγουν στα αστικά λύματα, μέσω της κατανάλωσης διαφόρων βιομηχανικών προϊόντων που περιέχουν ενώσεις βαρέων μετάλλων, μέσω της χρήσης ορισμένων τύπων απορρυπαντικών και άλλα πολλά.
- Η καύση των απορριμμάτων είναι υπεύθυνη για τον εμπλουτισμό της ατμόσφαιρας σε σωματίδια που περιέχουν ενώσεις βαρέων μετάλλων, και στη συνέχεια καταλήγουν με τα νερά της βροχής στη θάλασσα. Ένα μέρος των συγκεντρώσεων των βαρέων μετάλλων που βρίσκονται στη θάλασσα, οφείλεται και σε φυσικές πηγές, κυρίως στη διάβρωση των πετρωμάτων που είναι πλούσια σε ορυκτά που περιέχουν βαρέα μέταλλα.
- Τέλος, το κάδμιο ως δεύτερο συστατικό στα περισσότερα μεταλλεύματα ψευδαργύρου και ως εκ τούτου ένα υποπροϊόν ψευδαργύρου, μπορεί να εισέλθει στη θάλασσα μέσω του αποχετευτικού συστήματος αλλά και από τις απορροές των εργοστασίων επιμετάλλωσης και παραγωγής μπαταριών. Ακόμα, χρησιμοποιήθηκε για μεγάλο χρονικό διάστημα σαν χρωστική ουσία, λόγω του ότι είναι ανθεκτικό στη διάβρωση, και στα ελάσματα του χάλυβα.



Σχήμα 1.1: Πηγές ρύπανσης βαρέων μετάλλων

## **1.4 ΕΠΙΠΤΩΣΕΙΣ ΒΑΡΕΩΝ ΜΕΤΑΛΛΩΝ ΣΤΑ ΟΙΚΟΣΥΣΤΗΜΑΤΑ**

Η ρύπανση του περιβάλλοντος μέσω των βαρέων μετάλλων, οφείλεται σε ανθρωπογενείς δραστηριότητες. Τα βαρέα μέταλλα δεδομένου ότι δεν αποικοδομούνται, συσσωρεύονται στο έδαφος και εισχωρούν στον υδροφόρο ορίζοντα. Αυτό συμβαίνει μέσω των ανεπεξέργαστων αποβλήτων που απελευθερώνονται μέσω των βιομηχανιών, την ανεξέλεγκτη διάθεση και καύση στερεών απορριμμάτων, αλλά και μέσω της εξόρυξης κοντά σε περιοχές εξόρυξης μεταλλευμάτων, μολύνοντας έτσι τα καλλιεργούμενα φυτά, τα ζώα που τρέφονται με μολυσμένο χορτάρι, τα παράκτια οικοσυστήματα αλλά και τα ιδιαίτερος ευάλωτα κοραλλιογενή συστήματα. Με αυτόν τον τρόπο περνούν μέσα στην τροφική αλυσίδα και εισέρχονται στον οργανισμό μας μέσω της διατροφής (Σχήμα 1.2).

Εδώ στην Ελλάδα υπάρχουν αρκετές περιοχές, όπου λόγω ανίχνευσης βαρέων μετάλλων στο νερό, τα τρόφιμα είναι επιμολυσμένα. Σε κάποιες περιοχές έχει βρεθεί νερό με εξασθενές χρώμιο ( $\text{Cr}^{6+}$ ) και έχουν αλιευθεί ψάρια επιμολυσμένα με υδράργυρο. Επίσης, σε κάποιες περιπτώσεις έχει ανιχνευθεί Νικέλιο στα καρότα με συγκέντρωση 1600  $\mu\text{g}/\text{kg}$  με ανώτατη επιτρεπόμενη τιμή 160 $\mu\text{g}/\text{kg}$  (<http://www.greenmed.gr/arthra/toxika-varea-metalla-ke-i-epiptosi-tous-stin-ygeia.html>).

Η ρύπανση από βαρέα μέταλλα στα ελληνικά υδάτινα οικοσυστήματα είναι σχετικά χαμηλή σε σχέση με τα αντίστοιχα επίπεδα που δίνονται διεθνώς, για περιοχές με σχετικά μικρή ρύπανση (Κελεπέρτζης Α.)

Η τοξικότητά τους εξαρτάται από το είδος του βαρέως μετάλλου, τη συγκέντρωσή του, την συνύπαρξή του με άλλα βαρέα μέταλλα και το είδος του οργανισμού. Για τα υδάτινα οικοσυστήματα τοξικές χημικές ουσίες είναι τα βαρέα μέταλλα, δηλαδή ο σίδηρος (Fe) , το χρώμιο (Cr) , ο μόλυβδος (Pb) , ο υδράργυρος (Hg), το κάδμιο(Cd) , ο ψευδάργυρος (Zn) , το μαγγάνιο (Mn), ο χαλκός (Cu), το νικέλιο (Ni), το αρσενικό (As), κ.ά.

Είναι λοιπόν πολύ δύσκολο στην σημερινή εποχή να αποφύγει κανείς την επαφή/ έκθεση σε οποιαδήποτε από τα πολλά επιβλαβή βαρέα μέταλλα που έχουν επικρατήσει σε μεγάλες ποσότητες στο περιβάλλον.



## **1.5 ΕΠΙΠΤΩΣΕΙΣ ΒΑΡΕΩΝ ΜΕΤΑΛΛΩΝ ΣΤΟΝ ΑΝΘΡΩΠΟ**

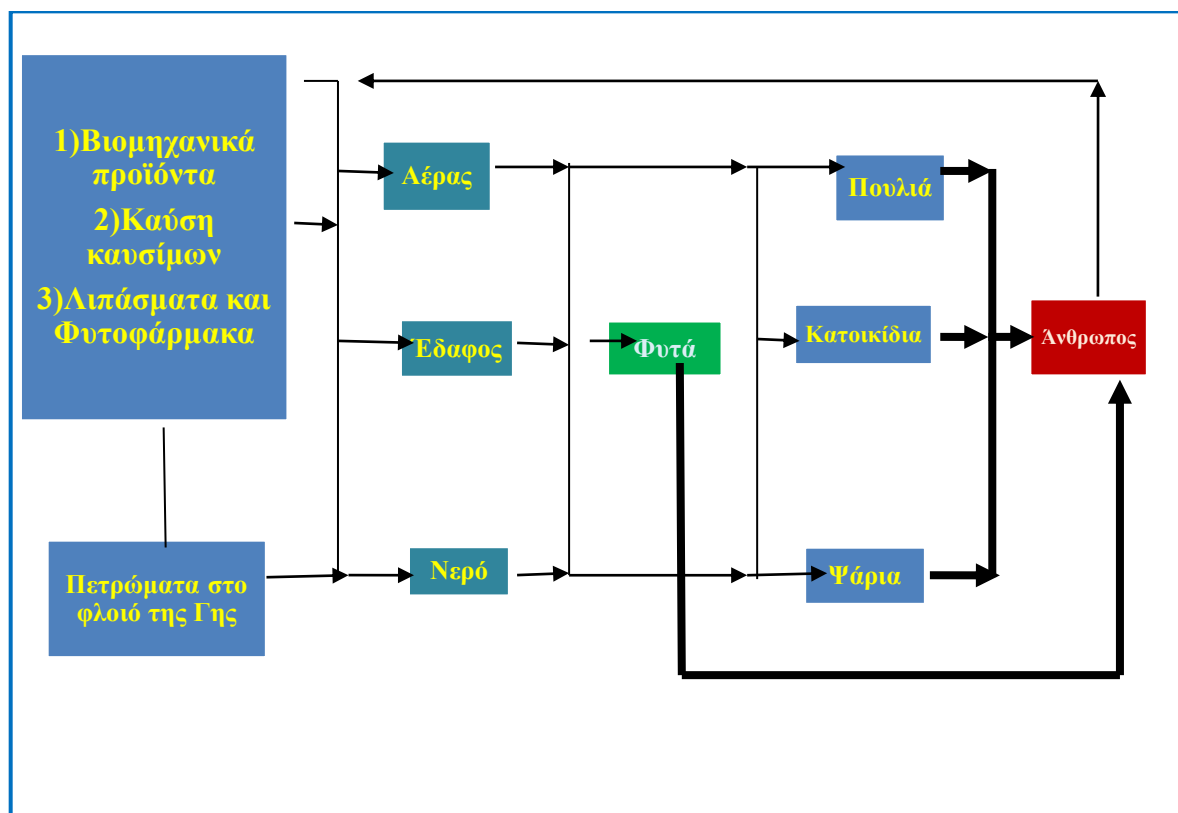
Αν και φυσικά συστατικά του φλοιού της Γης, τα βαρέα μέταλλα, η συσσώρευσή τους σε μεγάλες συγκεντρώσεις από ανθρώπινες δραστηριότητες (βιομηχανία, φυτοφάρμακα) δημιουργούν κίνδυνο στην γενική υγεία των έμβιων όντων. Λόγω του ότι δημιουργούν σοβαρά προβλήματα στην υγεία μας πρέπει να αποφεύγονται. Αποτελούν ένα πολύ μεγάλο πρόβλημα για τη δημόσια υγεία στις βιομηχανικές χώρες και όχι μόνο. Παρακάτω, δίνονται μερικά χαρακτηριστικά παραδείγματα επιπτώσεων του υδραργύρου στην ανθρώπινη υγεία:

- Το 1932-1955 εμφανίστηκε στην Ιαπωνία το σύνδρομο Μινιμάτα (minimata disease). Από το 1932 στον κόλπο Μινιμάτα στην Ιαπωνία απελευθερώνονταν λύματα από εργασίες χημικών ουσιών της εταιρείας Chisso, τα οποία περιείχαν υδράργυρο. Ο υδράργυρος έχει την ικανότητα να συσσωρεύεται στα πλάσματα της θάλασσας και έτσι οδηγεί σε δηλητηρίαση του πληθυσμού. Το 1952, εμφανίστηκαν τα πρώτα κρούσματα δηλητηρίασης από τον υδράργυρο στον πληθυσμό του κόλπου Μινιμάτα, εξαιτίας της κατανάλωσης μολυσμένων ψαριών από υδράργυρο. Συνολικά 500 μοιραία περιστατικά καταγράφηκαν τη δεκαετία του '50. Έκτοτε, η Ιαπωνία εφαρμόζει τους πιο αυστηρούς περιβαλλοντικούς νόμους στο βιομηχανοποιημένο κόσμο ([http://www.med.or.jp/english/pdf/2006\\_03/112\\_118.pdf](http://www.med.or.jp/english/pdf/2006_03/112_118.pdf))
- Μια μελέτη του Ερευνητικού Ινστιτούτου Δημόσιας Υγείας στη Φινλανδία, έδειξε αυξημένη συσχέτιση των καρδιακών παθήσεων στους άνδρες και των υψηλών επιπέδων υδραργύρου.
- Η θαλάσσια τροφή είναι η κύρια 3<sup>η</sup> πηγή υδραργύρου στον άνθρωπο, λόγω της συσσωρευμένης ρύπανσης των θαλασσών. Έτσι, οι άνθρωποι είναι εκτεθειμένοι σε μεγάλο κίνδυνο για καρδιακό επεισόδιο και πρόωρο θάνατο. Η κατανάλωση ψαριών και μυδιών είναι η κύρια πηγή έκθεσης στον μεθυλιδράργυρο, ιδίως σε πληθυσμούς που υπερκαταναλώνουν αντίστοιχα τρόφιμα. Το μαγείρεμα δεν εξαλείφει τον υδράργυρο από τα ψάρια. (Υπουργείο Υγείας & κοινωνικής Αλληλεγγύης, 2008).

Τα βαρέα μέταλλα συσσωρεύονται σε πρωτεϊνικούς ιστούς και στα οστά. Έτσι οι καταναλωτές θα πρέπει να αποφεύγουν την κατανάλωση ζώων και ύδατος από

ρυπασμένες περιοχές, καθώς και την κατανάλωση συκωτιού και νεφρών από μεγάλης ηλικίας ζώα, όπως επίσης και τρόφιμα/ βολβούς (πατάτες, κρεμμύδια, καρότα) που παρήχθησαν σε επιβαρυνμένες με βαρέα μέταλλα περιοχές.

Στο σχήμα 1.2 παρουσιάζονται σχηματικά οι κύκλοι των βαρέων μετάλλων στα οργανικά οικοσυστήματα νερού, εδάφους και αέρα.



Σχήμα 1.2: Πηγές Βαρέων μετάλλων και οι κύκλοι τους στα οργανικά οικοσυστήματα νερού, εδάφους και αέρα (Πηγή:Brady 1994).

### 1.6 Παρακάτω φαίνονται οι επιπτώσεις των βαρέων μετάλλων στην υγεία του ανθρώπου:

**Μόλυβδος:** Ο μόλυβδος ενώνεται μη αντιστρεπτά με τις σουλφυδρυλ-ομάδες (-SH) πρωτεϊνών, μετουσιώνοντάς τες. Είναι πολύ τοξικός στους ζωικούς οργανισμούς, προκαλώντας βλάβες στο νευρικό σύστημα (και κυρίως στον παιδικό πληθυσμό σχετίζεται με προβλήματα πνευματικής καθυστέρησης), ηπατικές και νεφρικές βλάβες, και ευνοεί την ανάπτυξη καρδιαγγειακών παθήσεων, όπως επίσης και καρκινογένεση.

**Κάδμιο:** Το κάδμιο σε τοξικές συγκεντρώσεις και χρόνια έκθεση, είναι δυνατόν να προκαλέσει νεφρικές και ηπατικές βλάβες, υπογονιμότητα στους άνδρες, αλλά και καρκινογένεση.

**Υδράργυρος:** Ο υδράργυρος ανιχνεύεται κατά κύριο λόγο στα αλιεύματα που προέρχονται από ρυπασμένες περιοχές, και συγκεντρώνεται στο ήπαρ και τους νεφρούς, προκαλώντας αντιστοίχως βλάβες, προσβάλλοντας το κεντρικό σύστημα και προκαλώντας προβλήματα που σχετίζονται με την πνευματική ανάπτυξη των παιδιών όπως και καρκινογένεση.

**Χρώμιο:** Το εξασθενές χρώμιο προκαλεί καρκινογένεση, ηπατικές και νεφρικές διαταραχές, δερματίτιδες, και όταν εισέρχονται από την αναπνευστική οδό είναι δυνατόν να προκαλέσει εκτός από καρκίνο των πνευμόνων και χρόνια βρογχίτιδα.

**Χαλκός:** Ο χαλκός είναι ένα μέταλλο, το οποίο είναι απαραίτητο στον ανθρώπινο οργανισμό αφού συμμετέχει στην ανάπτυξη του αγγειακού και σκελετικού συστήματος, βοηθά στην απορρόφηση του σιδήρου και στη λειτουργία του νευρικού συστήματος. Αν όμως υπερβούμε την ημερήσια διαιτητική πρόσληψη σε χαλκό είναι δυνατόν να εμφανιστούν νεφρικές και ηπατικές διαταραχές, όπως επίσης και δερματικές παθήσεις. Αν γίνει υπερβολική απόθεση χαλκού στους ιστούς, προκαλείται η νόσος του Wilson. Η χρόνια έλλειψή του προκαλεί δυσλειτουργία στη σύνθεση ντοπαμίνης, με αποτέλεσμα την εμφάνιση κατάθλιψης, στη σύνθεση μελανίνης προκαλώντας δερματικές παθήσεις, αλλά και δυσλειτουργίες στον μεταβολισμό των λιπών.

**Αρσενικό:** Το ανόργανο αρσενικό συγκεντρώνεται στου μύες, τον εγκέφαλο, τον σπλήνα, τους νεφρούς, την καρδιά, τα μαλλιά και τα νύχια. Η δηλητηρίαση από το αρσενικό προκαλεί παράλυση του νευρικού συστήματος, κώμα και θάνατο, ενώ η χρόνια έκθεση σε αυτό προκαλεί μυϊκή ατονία, απώλεια όρεξης, απώλεια βάρους, τριχόπτωση και καρκινογένεση.

**Νικέλιο:** Η έκθεση σε μεγάλες ποσότητες νικελίου μπορεί να οδηγήσουν σε υψηλές πιθανότητες ανάπτυξης καρκίνου των πνευμόνων, του προστάτη, της μήτης, και του λάρυγγα, εμβολισμό πνευμόνων, αναπνευστική ανεπάρκεια, ανωμαλίες κατά τη γέννηση, άσθμα και χρόνια βρογχίτιδα, αλλά και καρδιακές ανωμαλίες. Επίσης, μπορεί να προκαλέσει αλλεργικές αντιδράσεις όπως κνησμός, κυρίως από τα κοσμήματα.

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2<sup>ο</sup>:**

### **2.1 ΕΦΑΦΟΣ**

Το έδαφος αποτελεί το ανώτατο στρώμα του φλοιού της Γης, δηλαδή το επιφανειακό στρώμα σε πάχος 35 έως 50 εκατοστά, το οποίο είναι καλλιεργήσιμο. Κάτω από το στρώμα του εδάφους υπάρχει το υπέδαφος, το οποίο φτάνει τα 1,5 έως 2 μέτρα όπου μέχρι εκεί προχωρούν οι ρίζες των φυτών και μπορεί να γίνει η γεωργική του εκμετάλλευση.

Ο όρος ‘ρύπανση’ του εδάφους αναφέρεται στη μείωση της ικανότητας του εδαφικού οικοσυστήματος να επιτελέσει τις βασικές του λειτουργίες, ως αποτέλεσμα της εναπόθεσης οργανικών ή ανόργανων ουσιών. Ένας πολύ σημαντικός παράγοντας ρύπανσης των εδαφών είναι τα βαρέα μέταλλα. ([www.lifesos.eu](http://www.lifesos.eu))

Ρύπανση του εδάφους ονομάζουμε τη συγκέντρωση σ’ αυτό ρυπογόνων ουσιών σε τέτοιες ποσότητες που αλλοιώνουν τη σύσταση του, προκαλούν βλάβες στους οργανισμούς και διαταραχές στα φυσικά οικοσυστήματα. Ένας ρύπος μπορεί να καταλήξει απ’ ευθείας στο έδαφος μετά την παραγωγή του ή να καταλήξει εκεί μέσω του αέρα (αφού η επιφάνεια του εδάφους είναι διαρκώς εκτεθειμένη στους ρύπους που περιέχει η ατμόσφαιρα) ή του νερού (με τη ροή των επιφανειακών νερών ή τη βροχή). (National geographic, εγκυκλοπαίδεια περιβάλλοντος, 2013).

#### **Η ρύπανση του εδάφους από τα βαρέα μέταλλα οφείλεται:**

- Στα πρωτογενή ορυκτά όπου υπάρχουν βαρέα μέταλλα και εναποτίθενται στα εδάφη.
- Καύση στερεών και υγρών ορυκτών καυσίμων, αλλά και άλλες διεργασίες εμπλουτισμού ή καθαρισμού μεταλλευμάτων.
- Βιομηχανική, τεχνολογική και γεωργική τους χρήση.

## **2.2 Τρόποι εισαγωγής των βαρέων μετάλλων και των μεταλλοειδών στο έδαφος:**

- Λιπάσματα, παρασιτοκτόνα, μυκητοκτόνα και εντομοκτόνα
- Εφαρμογή της ιλύος αστικών αποβλήτων στο έδαφος
- Μέσω του αέρα, ιδίως σε ακτίνα μερικών χιλιομέτρων γύρω από περιοχές με έντονη βιομηχανική δραστηριότητα.
- Η γεωχημεία του φλοιού της γης
- Η αποσάθρωση των μητρικών πετρωμάτων
- Η τέλεια και ατελής καύση των ορυκτών και συνθετικών καυσίμων
- Η λειτουργία βιομηχανιών χημικών, επιμετάλλωσης και χρωμάτων
- Η μη ελεγχόμενη απόθεση αστικών και βιομηχανικών αποβλήτων (π.χ. η καύση ελαστικών αφήνει υπολείμματα Cu και Zn)

### **Οι συγκεντρώσεις των βαρέων μετάλλων στο έδαφος μπορεί να αποτελέσουν παράγοντα καταπόνησης των φυτών και έτσι μπορούν να χαρακτηριστούν σε:**

- ❖ *Εναιίσθητα*, εκείνα που επηρεάζεται η ανάπτυξή τους και εν τέλει πεθαίνουν
- ❖ *Ανθεκτικά*, εκείνα τα οποία επιβιώνουν και αναπαράγονται.

Η ανθεκτικότητα διαφέρει από είδος σε είδος φυτού, από στοιχείο σε στοιχείο, ακόμα και από οικοσύστημα σε οικοσύστημα.

## **2.3 ΡΙΖΟΣΦΑΙΡΑ:**

Η ριζόσφαιρα αποτελεί μία σχετικά μικρή ζώνη 1-2 mm μεταξύ του εδάφους και των ριζών. Μέσα στην ριζόσφαιρα αναπτύσσεται έντονη μικροβιακή δραστηριότητα. Επίσης, μέσα σε αυτήν παρουσιάζεται οργανική ουσία που δημιουργεί σύμπλοκα με τα βαρέα μέταλλα, όπως είναι τα οξείδια του σιδήρου και του μαγγανίου. Σε αυτές τις περιπτώσεις η απορρόφηση των μετάλλων είναι περιορισμένη (Walton, Guthrie, Hoylman, 1994).

## **2.4 Μετακίνηση των μετάλλων από το έδαφος στις ρίζες**

Η μετακίνηση των μετάλλων από το έδαφος στις ρίζες των φυτών μπορεί να γίνει παθητικά ή ενεργητικά, ανάλογα με την κατανάλωση ενέργειας ή μη.

1. Η **παθητική μετακίνηση** δεν απαιτεί ενέργεια και γίνεται με διάχυση των μεταλλικών ιόντων στην ενδοδερμίδα της ρίζας.
2. Από την άλλη, **ενεργητική πρόσληψη** (διαπνοή) απαιτεί κατανάλωση ενέργειας όπου υπάρχει περίπτωση από την παρουσία τοξινών των βαρέων μετάλλων να υπάρχει αναστολή της διαδικασίας.

Για παράδειγμα, ο μόλυβδος απορροφάται με παθητικό τρόπο, ενώ ο χαλκός, το μολυβδαίνιο και ο ψευδάργυρος απορροφούνται είτε με ενεργητικό είτε και με τους δύο τρόπους.

Στα φυτά υπάρχουν μεταλλοτοξικότητες, οι οποίες είναι αποτέλεσμα σύνθετων αντιδράσεων που συμβαίνουν στο έδαφος και στο φυτό. Έτσι, υπάρχουν σχέσεις μεταξύ των ιόντων ή ακόμα και διαφορετική σχέση μετάλλων με φυτικούς γενότυπους. Η ερμηνεία των σχέσεων αυτών είναι πιθανοί βιοχημικοί μηχανισμοί των φυτών και έτσι εκφράζονται το πόσο ανθεκτικά ή ευαίσθητα είναι τα φυτά στα βαρέα μέταλλα.

### **Τα φυτά έχουν δύο μηχανισμούς επιβίωσης, την ανοχή και την αποφυγή της καταπόνησης.**

Η ανοχή των φυτών σε βαρέα μέταλλα, σημαίνει ότι τα φυτά μπορούν να αναπτύξουν ιδιαίτερους φυσιολογικούς μηχανισμούς ανθεκτικότητας, οι οποίοι μπορούν να περάσουν και να εκφραστούν στην επόμενη γενιά των φυτών αυτών (ανθεκτικοί γενότυποι).

## **2.5 ΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΑΝΟΧΗΣ ΕΙΝΑΙ ΔΥΟ**

- Ο αποκλεισμός συσσώρευσης των βαρέων μετάλλων, που γίνεται με την βοήθεια μυκοριζών ή εξειδικευμένων ριζικών συστημάτων. Ένας μηχανισμός αποφυγής συσσώρευσης είναι η απέκκριση παραγόντων χηλιοποίησης από τα κύτταρα της ρίζας προς τη ριζόσφαιρα

- Η συσσώρευση και η μετατροπή σε αποτοξινωμένες μορφές, όπου ορισμένα φυτά δεσμεύουν τα βαρέα μέταλλα υπό τη μορφή συμπλόκων με οργανικά μόρια χαμηλού μοριακού βάρους όπως τα οργανικά οξέα, αμινοξέα ή φαινολικά συστατικά. Τα σύμπλοκα αυτά απομονώνονται στο χυμοτόπιο. Ακόμα, σε άλλα φυτά λειτουργεί ενεργός μεταφορά των ιόντων από το κυτταρόπλασμα προς τον αποπλαστικό χώρο.

## **2.6 Υπάρχουν κάποιοι παράγοντες που επηρεάζουν την ποσότητα των βαρέων μετάλλων που θα απορροφήσουν τα φυτά. Αυτοί οι παράγοντες είναι:**

- Το pH του εδάφους
- Η ποσότητα του μετάλλου στο έδαφος
- Η παρουσία ιόντων στο έδαφος
- Η μορφή και το είδος του μετάλλου μέσα στο έδαφος
- Οι συνθήκες θερμοκρασίας και αερισμού που υπάρχουν στο έδαφος
- Το είδος του φυτού, η ικανότητα πρόσληψης μετάλλων και το στάδιο ανάπτυξης του φυτού.
- Η κινητικότητα του μεταλλικού ιόντος στο έδαφος προς την ρίζα του φυτικού οργανισμού

## **2.7 ΦΥΤΟΕΞΥΓΙΑΝΣΗ**

Αναφέρεται σε κάθε σύστημα ή διαδικασία στην οποία χρησιμοποιούνται φυτά, για την in situ ή ex situ εξυγίανση ρυπασμένων εδαφών, υλικών καθιζήσεως και υδάτων (επιφανειακών ή υπόγειων), μέσω της απομάκρυνσης διάσπασης και σταθεροποίησης των ρυπαντών (Cunningham et al., 1996, Schnoor et al, 1995).

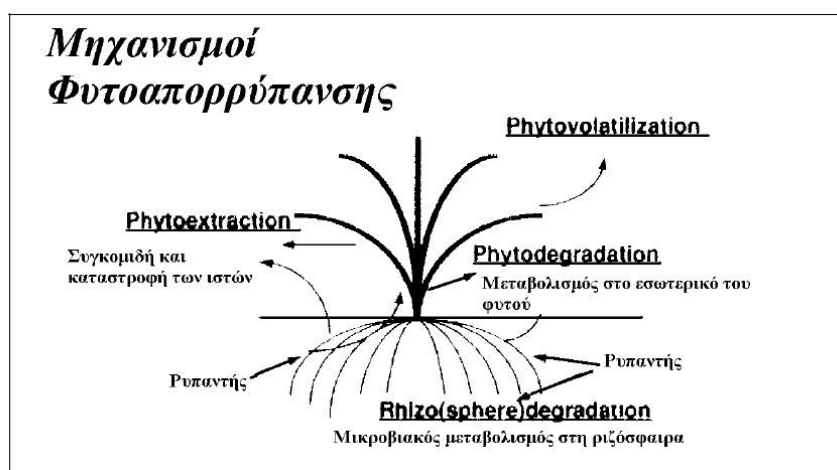
Η υπηρεσία προστασίας του περιβάλλοντος των Η.Π.Α. κατατάσσει τη φυτοεξυγίανση στις λεγόμενες καινοτόμες τεχνολογίες επεξεργασίας (Innovative treatment technologies). Πρόκειται για τεχνολογίες οι οποίες χρησιμοποιούνται για την επεξεργασία επικίνδυνων αποβλήτων και άλλων μολυσματικών παραγόντων με ελλιπείς πληροφορίες για το κόστος και την απόδοσή τους σε διαφορετικές συνθήκες επεξεργασίας (U.S.E.P.A., 1996).

Η τεχνολογία της φυτοεξυγίανσης έχει αποδειχθεί, κυρίως μέσω εργαστηριακών πειραμάτων ότι μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την αντιμετώπιση τόσο οργανικών (υδρογονάνθρακες πετρελαίου, διαλύτες, εντομοκτόνα), όσο και ανόργανων ρυπαντών (Βαρέα μέταλλα), (Miller, 1996, Raskin, Salt, Kramer, Schulman, 1998).

### Τεχνικές φυτοεξυγίανσης

Υπάρχουν δύο μεγάλες κατηγορίες τεχνικών στην τεχνολογία της φυτοεξυγίανσης: η Φυτοαπορρύπανση (Phytodecontamination) και η Φυτοσταθεροποίηση (Phytostabilization). (Cunningham , Anderson, Schwab, Hsu, 1996).

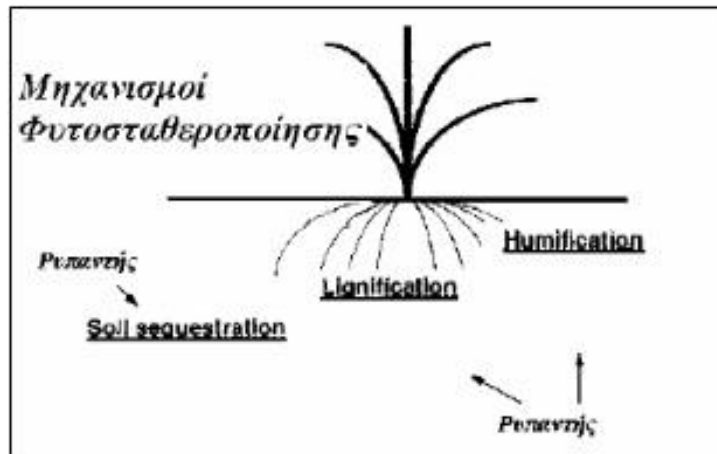
- 1) Στην φυτοαπορρύπανση υπάρχουν μηχανισμοί που βοηθούν στη μείωση της συγκέντρωσης του ρυπαντή στο έδαφος σε αποδεκτά επίπεδα.



Εικόνα 2.1. Μηχανισμοί φυτοαπορρύπανσης (Ζαμπετάκης Α.Λ., Μανιός Β.Θ., Καρατζας Γ., 2005).

- 2) Στην φυτοσταθεροποίηση περιλαμβάνονται μηχανισμοί οι οποίοι στοχεύουν στην αδρανοποίηση και απομόνωση του ρυπαντή ούτως ώστε να μην μεταδοθεί από το έδαφος στην ατμόσφαιρα ή στα υπόγεια ύδατα. Βασίζεται κυρίως στην ικανότητα των ριζών να εκκρίνουν ουσίες που ευνοούν μηχανισμούς, όπως η χουμοποίηση-δέσμευση του ρυπαντή στα χουμικά συστατικά του εδάφους, η λιγνιτοποίηση-δέσμευση στα κυτταρικά τοιχώματα των ριζών και δέσμευση στα εδαφικά σωματίδια (Flatham, Lanza, 1998).





Εικόνα 2.2. Μηχανισμοί φυτοσταθεροποίησης (Ζαμπετάκης Α.Α., Μανιός Β.Θ., Καρατζας Γ., 2005.)

Σύμφωνα με την υπηρεσία προστασίας του περιβάλλοντος των Η.Π.Α., οι ορισμοί για τους διάφορους μηχανισμούς της φυτοεξυγίανσης έχουν ως εξής:

- ❖ Φυτοεξαγωγή (Phytoextraction), αναφέρεται στην πρόσληψη μετάλλων και τη μεταφορά τους στα υπέργεια τμήματα του φυτού. Η τεχνική αυτή εφαρμόζεται σε περιπτώσεις ρυπασμένων εδαφών με βαρέα μέταλλα. Στηρίζεται στη χρησιμοποίηση φυτών τα οποία έχουν την ικανότητα να συσσωρεύουν υψηλές συγκεντρώσεις μετάλλων στη βιομάζα τους, ως και 100 φορές περισσότερο σε σχέση με άλλα φυτά (McCraith, 1998).
- ❖ Φυτοδιάσπαση (Phytodegradation), περιλαμβάνει διαδικασίες οι οποίες οδηγούν στη διάσπαση/ αποδόμηση του ρυπαντή. Η διάσπαση του ρυπαντή είναι δυνατόν να πραγματοποιείται είτε εντός του φυτού, μέσω μεταβολικών διεργασιών, είτε εξωτερικά στην περιοχή της ρίζας μέσω της παραγωγής ενζύμων. Μετά τη διάσπαση του ρυπαντή, πραγματοποιείται η ενσωμάτωσή του στους φυτικούς ιστούς. Σε μερικές περιπτώσεις τα τελικά προϊόντα της διάσπασης, ελευθερώνονται στο περιβάλλον γεγονός που εξαρτάται από το είδος του φυτού και τον ρυπαντή. Ο μηχανισμός της φυτοδιάσπασης χρησιμοποιείται σε ρυπασμένα εδάφη, επιφανειακά και υπόγεια ύδατα. Στην περίπτωση των υπόγειων υδάτων, θα πρέπει το ριζικό σύστημα του φυτού να βρίσκεται σε επαφή με τον υδροφορέα, διαφορετικά είναι δυνατόν να πραγματοποιηθεί άντληση και τοποθέτηση του νερού σε δεξαμενές στις οποίες υπάρχουν κατάλληλα φυτικά είδη.

- ❖ Φυτοεξαέρωση (Phytovolatilization), κατά τη διάρκεια αυτής της διαδικασίας μέταλλα και οργανικές ουσίες οι οποίες προσλαμβάνονται από τα φυτά, μετατρέπονται σε πτητικές μορφές και ελευθερώνονται στην ατμόσφαιρα. Μέσω αυτού του μηχανισμού επιτυγχάνεται η εξυγίανση ρυπασμένων εδαφών και υπόγειων υδάτων χωρίς να είναι απαραίτητη η συγκομιδή του φυτικού υλικού.
- ❖ Ριζοδιάσπαση (Rhizodegradation), είναι η διάσπαση οργανικών ρυπαντών στο έδαφος μέσω μικροβιακών πληθυσμών που αναπτύσσονται στην περιοχή του ριζικού συστήματος (ριζόσφαιρα). Οι μικροοργανισμοί (μύκητες, βακτήρια), διασπούν ή μετασχηματίζουν οργανικές ουσίες και τις χρησιμοποιούν ως θρεπτικό υπόστρωμα για την ανάπτυξή τους. Η παρουσία των φυτών ευνοεί τη διαδικασία της εξυγίανσης δεδομένου ότι μέσω των ριζών εκκρίνονται ουσίες και μεταφέρεται οξυγόνο και νερό, στοιχεία απαραίτητα για τη μικροβιακή ανάπτυξη.
- ❖ Ριζοδιήθηση (Rhizofiltration), περιλαμβάνει τη ρόφηση στις φυτικές ρίζες ρυπαντών, οι οποίοι βρίσκονται σε υδατικά διαλύματα. Τα φυτά αναπτύσσονται σε θερμοκήπια με τη μέθοδο της υδροπονίας, δηλαδή οι ρίζες τους βρίσκονται εντός υδατικού διαλύματος αντί του εδάφους.

## **2.8 ΦΥΤΑ ΣΥΣΣΩΡΕΥΤΕΣ**

Η φυτοεξυγίανση βαρέων μετάλλων στηρίζεται στη χρησιμοποίηση φυτών, τα οποία έχουν την ικανότητα να συσσωρεύουν υψηλές συγκεντρώσεις μετάλλων στη βιομάζα τους, ως και 100 φορές περισσότερο σε σχέση με άλλα φυτά ( Brooks, 1998). Τα φυτά αυτά ονομάζονται υπερσυσσωρευτές (hyperaccumulators).

Μέχρι σήμερα έχουν προσδιοριστεί περισσότερα από 400 φυτικά είδη, που ανήκουν σε τουλάχιστον 45 οικογένειες φυτών, με ικανότητες συσσώρευσης βαρέων μετάλλων (έως και 5% του ξηρού τους βάρους) εκ των οποίων κάποια χρησιμοποιούνται ήδη σε προγράμματα φυτοεξυγίανσης .

Για παράδειγμα, οι Mukhtar et al., (2010) βρήκαν ότι ο ηλίανθος είναι ανθεκτικός σε εδάφη ρυπασμένα με Ni. Οι Wuana and Okiesmen (2010), αναφέρουν ότι το καλαμπόκι έχει τη δυνατότητα να προσαρμοστεί σε ρυπασμένα εδάφη.

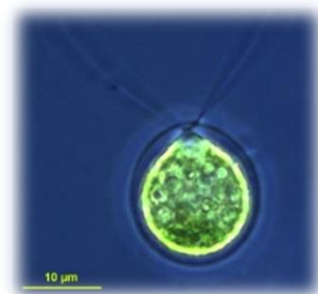
Ο *Baker (1981)* όρισε τον λόγο συγκέντρωσης μετάλλου στο φυτό προς την συγκέντρωση του στο έδαφος ως συντελεστή συγκέντρωσης. Με βάση αυτόν τον όρο χώρισε τα φυτά σε τρεις κατηγορίες:

1. **Συσσωρευτές:** τα φυτά όπου τα στοιχεία συσσωρεύονται στα φυτικά μέρη του φυτού. Στην περίπτωση αυτή η συγκέντρωση των μετάλλων στους φυτικούς ιστούς είναι μεγαλύτερη από τη συγκέντρωσή τους στο έδαφος και ο λόγος είναι μεγαλύτερος της μονάδας. Η συγκέντρωση των μετάλλων αυξάνει απότομα ως το σημείο που θα κορεστούν όλοι οι ιστοί και σταματήσει η ανάπτυξη του φυτού.
2. **Δείκτες:** τα φυτά, τα οποία η συγκέντρωση των στοιχείων στα φυτά με το έδαφος είναι ανάλογη και ο λόγος είναι κοντά στη μονάδα.
3. **Μη συσσωρευτές:** τα φυτά που παρεμποδίζουν τη συσσώρευση βαρέων μετάλλων ως ένα σημείο στο φυτό και έτσι ο λόγος σε αυτήν την περίπτωση είναι μικρότερος της μονάδας. Πέρα αυτού του σημείου, του κρίσιμου σημείου, η συσσώρευση γίνεται με γρήγορους ρυθμούς και οδηγούμαστε στον θάνατο του φυτού.

### 3<sup>ο</sup> ΚΕΦΑΛΑΙΟ:

#### Chlamydomonas reinhardtii:

Ο *Chlamydomonas reinhardtii* (εικόνα 1), είναι ένα μονοκύτταρο φωτοσυνθετικό άλγος με διάμετρο περίπου 10 μm (μικρομέτρων). Όπως ένα φυτικό κύτταρο έτσι κι αυτό περιβάλλεται από ένα κυτταρικό τοίχωμα το οποίο αποτελείται από γλυκοπρωτεΐνες πλούσιες σε υδροξυπρολίνη, ένα μεγάλο κυπελλοειδή χλωροπλάστη, ένα μεγάλο πυρηνοειδές σωματίο και ένα στίγμα με το οποίο ανιχνεύει το φως.



Εικόνα 3. *Chlamydomonas reinhardtii*

Κινείται με τη βοήθεια δύο μαστιγίων που του επιτρέπουν να κινείται προς ή μακριά από το φως για να μεγιστοποιεί την αντίληψη του φωτός για τη φωτοσύνθεση και για να ελαχιστοποιεί την φωτογήρανση.

Είναι ένα απλοειδές, το οποίο έχει έναν ελεγχόμενο σεξουαλικό κύκλο με τη δυνατότητα ανάλυσης τετράδας. Ο φωτοσυνθετικός μηχανισμός του συνδέεται στενά με εκείνο των αγγειοφόρων φυτών, και είναι επίσης ένα ευκαρυωτικό κύτταρο με φωτοσυνθετικά γονίδια που κωδικοποιείται τόσο από τα πυρηνικά όσο και από τα γονιδιώματα των χλωροπλαστών.

Τα μικροφύκη αυτά κατοικούν μέσα στο χώμα και σε υδροβιότοπους γλυκού νερού.

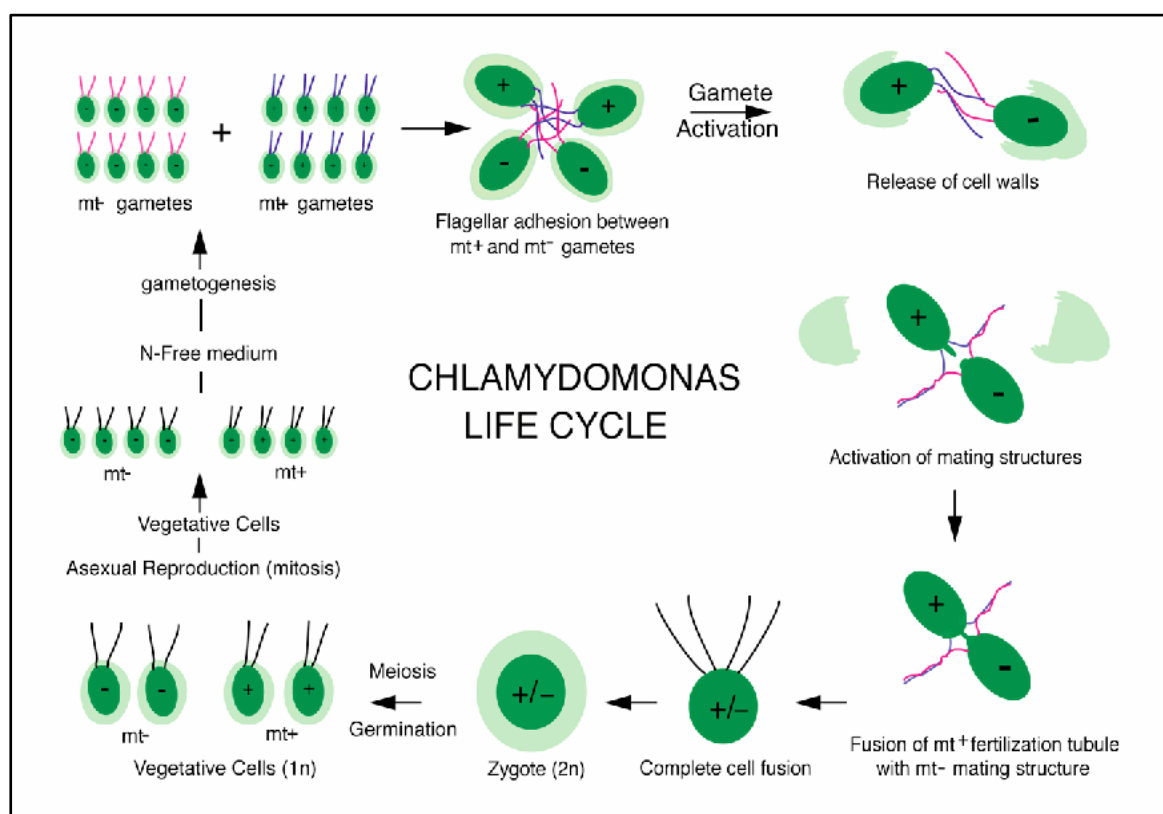
Είναι ένα ιδιαίτερα καλά μελετημένο μοντέλο βιολογικού οργανισμού, λόγω της ευκολίας στην καλλιέργειά του και στην ικανότητα να χειριστούν την γενετική του. Όταν φωτίζεται, ο *chlamydomonas reinhardtii* μπορεί να αναπτυχθεί φωτοαυτοτροφικά, αλλά μπορεί επίσης να αναπτυχθεί μέσα στο σκοτάδι, εάν του παρέχεται οργανικός άνθρακας.

Είναι ένας ενδιαφέρον οργανισμός για την παραγωγή βιοφαρμάκων και βιοκαυσίμων, καθώς και ένα πολύτιμο εργαλείο για την έρευνα στην παραγωγή υδρογόνου λόγω του ότι μπορεί να υιοθετήσει έναν αναερόβιο μεταβολισμό, για την παραγωγή υδρογόνου και κάποιων μεταβολιτών όπως την αιθανόλη και το μεθάνιο.

Σε μερικές απόψεις, ο *Chlamydomonas* είναι ότι πιο κοντινό στα μοντέλα των φυτικών κυττάρων και σε άλλα ζωικά κύτταρα, τα οποία το καθιστούν ένα ισχυρό και ευέλικτο

σύστημα για τη μελέτη μιας ποικιλίας μοριακών και κυτταρικών διαδικασιών, μέσω του γονιδιώματός του (εικόνα 5) και του κύκλου ζωής του (εικόνα 4).

### 3.2 Ο ΚΥΚΛΟΣ ΖΩΗΣ ΤΟΥ CHLAMYDOMONAS REINHARDTII



Εικόνα 4. Κύκλος ζωής *Chlamydomona Reinhardtii*

Ο κύκλος ζωής του μονοκύτταρου φωτοσυνθετικού οργανισμού *chlamydomonas Reinhardtii*, αποτελείται από οκτώ διαφορετικά και διαδοχικά στάδια, τα οποία περιγράφονται παρακάτω και φαίνονται σχηματικά στην εικόνα 4.

- ❖ **Βλαστικά Κύτταρα:** Απλοειδή κύτταρα παράγονται αγενώς από σχάση- ο πρωτοπλάστης διαιρείται για να σχηματίσει 4-8 ζωοσπόρους παρόμοιους με τον μητρικό.

- ❖ **Γαμετογένεση:** Κάτω από τις συνθήκες έλλειψης αζώτου τα απλοειδή κύτταρα εξελίσσονται σε δύο τύπους ζευγαρώματος: (mt+) και (mt-).
- ❖ **Προσκόλληση:** Οι γαμέτες διαφορετικού τύπου ζευγαρώματος έλκονται μεταξύ τους και δίνουν τη μορφή αδρανούς συνόλου.
- ❖ **Ενεργοποίηση Γαμετών:** Απελευθέρωση των κυτταρικών τοιχωμάτων και σχηματισμός δομών ζευγαρώματος.
- ❖ **Σύντηξη:** Σύντηξη των mt+ γονιμοποιημένων κυττάρων με την mt- δομή ζευγαρώματος.
- ❖ **Ζυγωτό:** Πλήρης σύντηξη κυττάρων, το ζυγωτό δεν έχει μαστίγια και χρησιμεύει ως αδρανή μορφή των ειδών στο έδαφος.
- ❖ **Μείωση:** Το ζυγωτό υφίσταται τη μείωση για να σχηματίσει 4 απλοειδείς ζωοσπόρους.

### **3.3 ΤΥΠΟΣ ΖΕΥΓΑΡΩΜΑΤΟΣ:**

Το ζευγάριωμα μπορεί να γίνει μόνο ανάμεσα σε αντίθετους τύπους ζευγαρώματος εξαιτίας της αλληλεπίδρασης των συστατικών της κυτταρικής επιφάνειας. Το ισοδύναμο στους κατώτερους οργανισμούς των φύλων στους ανώτερους οργανισμούς, οι τύποι ζευγαρώματος τυπικά διαφέρουν μόνο φυσιολογικά και όχι στην φυσική τους μορφή.

**MT+ :** Ενεργοποίηση των κυττάρων του τύπου ζευγαρώματος mt+ έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή μιας μακράς μεμβράνης που περικλείεται από γονιμοποιημένα σωληνάρια τα οποία καλύπτονται από γλυκοπρωτεΐνη, και περιέχει πολυμερισμένα νήματα ακτίνης.

**MT- :** Τα κύτταρα του τύπου ζευγαρώματος mt- με μεμβρανοειδής πρωτεΐνες στη συγκεκριμένη περιοχή της μεμβράνης πλάσματος και παράγει ένα βραχύβιο σωληνάριο χωρίς μικρονήματα.

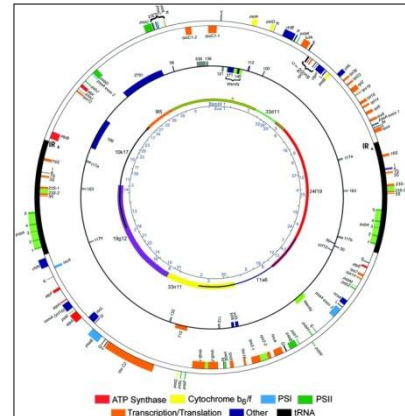
### 3.4 ΔΟΜΗ ΓΟΝΙΔΙΩΜΑΤΟΣ ΤΟΥ ΧΛΩΡΟΠΛΑΣΤΗ ΚΑΙ ΓΟΝΙΔΙΑΚΟ

#### ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΟ

Το 203-Kb γονιδίωμα του χλωροπλάστη του *Chlamydomonas reinhardtii* είναι ουσιαστικά μεγαλύτερο από τα γονιδιώματα του χλωροπλάστη των τυπικών φυτών (εικόνα 5). Όπως και στα περισσότερα ανώτερα φυτά, δύο περιοχές μονού αντιγράφου, διαχωρίζονται από ανεστραμμένες αλληλουχίες επανάληψης που περιέχουν τα γονίδια του ριβοσωμικού RNA, αλλά οι σχετικές θέσεις των περισσότερων γονιδίων που εμπλέκονται στις φωτοσυνθετικές λειτουργίες είναι αρκετά διαφορετικές και υπάρχουν κάποιες διαφορές ως προς το γονιδιακό περιεχόμενο.

Στα είδη του *Chlamydomonas* οι περιοχές μονού αντιγράφου είναι περίπου ισοδύναμες.

Οι γονιδιακές περιοχές περιέχουν πολλές μικρές διασκορπισμένες αλληλουχίες. Ορισμένες από αυτές τις μικρές ακολουθίες, μπορούν να σχηματίσουν δομές βήμα- βρόχου στο 3' άκρο του mRNA, και μπορούν επίσης να λειτουργήσουν στην επισκευή των δίκλωνων θραυσμάτων στο DNA.



**Εικόνα 5. Γονιδίωμα *Chlamydomonas Reinhardtii*,  
Πηγή: [www.plantcell.org/content/14/11/2659/F1.expansion](http://www.plantcell.org/content/14/11/2659/F1.expansion)**

### 3.5 ΜΕΣΑ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ:

Τρεις δυνατές συνθήκες ανάπτυξης ορίζονται συνήθως για τα φύκια, όπου χρησιμοποιούν σαν πηγή οργανικό άνθρακα. Φωτότροφη ή φωτοαυτότροφη ανάπτυξη συνεπάγεται την καλλιέργεια με φωτοσυνθετική αφομοίωση CO<sub>2</sub> ως μοναδική πηγή άνθρακα, ετεροτροφική (οργανοτροφική) ανάπτυξη σημαίνει καλλιέργεια στο σκοτάδι με μια οργανική πηγή άνθρακα (συνήθως οξικό οξύ στην περίπτωση του *Chlamydomonas*) και φωτοετεροτροφική ανάπτυξη σημαίνει καλλιέργεια υπό το φως με προσθήκη οξικού οξέος.

Στη φύση ο *Chlamydomonas* είναι ένας οργανισμός του εδάφους αλλά μπορεί να αναπτυχθεί και μέσα στο εργαστήριο είτε σε υγρή καλλιέργεια είτε και σε στερεή καλλιέργεια με άγαρ με απλά μεταλλικά άλατα. Το πιο συχνά χρησιμοποιούμενο είναι το TAP Medium (Tris- acetate- phosphate, Gorman, D.S. & Levine, R.P. (1965):

Cytochrome f and plastocyanin: their sequence in the photosynthetic electron transport chain of *Chlamydomonas reinhardtii*) το οποίο είναι καλά αποστειρωμένο και ρυθμισμένο, με  $7.00 < pH < 7.2$ .

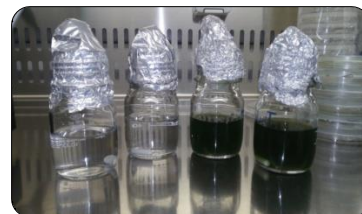
### **ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ ΚΑΙ ΦΩΤΙΣΜΟΣ:**

Τα συνήθη εργαστηριακά είδη του *Chlamydomonas* αναπτύσσονται καλά στην περιοχή των 20-25 οC. Τα φυσικά μη τροποποιημένα είδη του και τα μεταλλαγμένα στελέχη του μπορούν να ανεχτούν θερμοκρασίες τόσο χαμηλές όσο τους 15 οC και τόσο υψηλές όσο τους 32,5 οC.

Οι εντάσεις του φωτός του, μπορούν να μετρηθούν καλύτερα από την άποψη της Φωτοσυνθετικά Ενεργούς Ακτινοβολίας (PAR). Πιο συχνά χρησιμοποιούνται λαμπτήρες φθορισμού λευκού χρώματος. Δύο λάμπες 40 Watt των 20 εκατοστών πάνω από ένα ράφι καλυμμένο με αλουμινόχαρτο, παρέχουν περίπου 100 $\mu$ mol/m<sup>2</sup>s PAR.

### **ΑΕΡΙΣΜΟΣ:**

Οι καλλιέργειες θα πρέπει να ανακινούνται ή να αναδεύονται για την καλύτερη δυνατή ανάπτυξη. Αυτό πραγματοποιείται με τη βοήθεια μιας μαγνητικής ράβδου, η οποία αποστειρώνεται μαζί με το μέσο και κεντράρεται με ένα μαγνήτη πριν την τοποθέτησή του στον αναδευτήρα.



**Εικόνα 6. Αερισμός καλλιεργειών**

Για τον καλύτερο δυνατό αερισμό των καλλιεργειών (εικόνα 6), τα μπουκάλια Pyrex που χρησιμοποιούνται για τις καλλιέργειες κλείνονται με βαμβάκι τυλιγμένο σε γάζα και αποστειρώνονται όλα μαζί, ενώ κλείνονται με αλουμινόχαρτο.

### **3.6 ΣΥΛΛΟΓΗ ΤΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ**

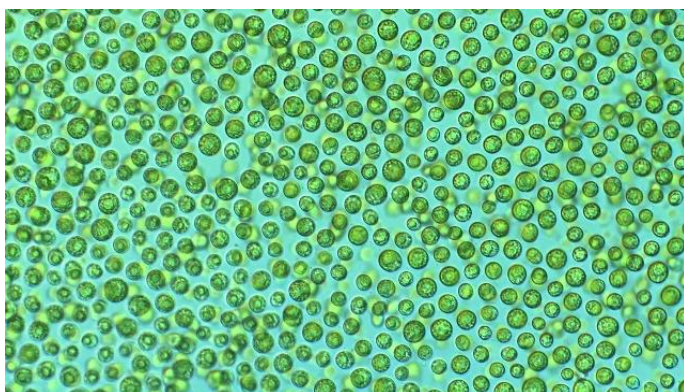
Η συλλογή των κυττάρων πραγματοποιείται με φυγοκέντριση. Οι καλλιέργειές μας έχουν όγκο 3L και για την συλλογή των κυττάρων απαιτείται μια σειρά φυγοκεντρίσεων για 15 min, στα 4.000g. Σε κάθε μία φυγοκέντριση πετάμε το υπερκείμενο υγρό στα ανόργανα απόβλητα και αναδιασπείρουμε τα κύτταρα με τη βοήθεια του washing buffer. Στην τελευταία φυγοκέντριση, αναδιασπείρουμε το ίζημα με τα κύτταρα με τη βοήθεια διαλύματος Breaking Buffer (αντιδραστήριο που αποτελείται από 0,8 M Sucrose και 50



mM Trisma base, με pH= 7.00-7.20), στο οποίο έχει προστεθεί PMSF σε τελική συγκέντρωση 1 mM, για 20min, στα 4.000 g. Τα κύτταρα που συλλέγουμε τα αποθηκεύουμε στον υπερκαταψύκτη, στους -80oC.

### **ΜΕΛΕΤΗ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΜΕΣΩ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΟΥ:**

Οι καλλιέργειες πρέπει να είναι υψηλής ποιότητας. Αυτό σημαίνει ότι οι συνθήκες παραγωγής των καλλιεργειών ήταν αποστειρωμένες και προσεγμένες με αποτέλεσμα να είναι καθαρές, χωρίς καμία επιμόλυνση από άλλους μικροοργανισμούς. Αυτό μπορούμε να το παρατηρήσουμε και να το ελέγξουμε μέσω του μικροσκοπίου. Αν οι καλλιέργειες είναι καθαρές (εικόνα 5, 6) τότε τα κύτταρα είναι δραστήρια, μετακινούνται γρήγορα αριστερά-δεξιά και μπορούμε να παρατηρήσουμε ξεκάθαρα την κίνηση των μαστιγίων.



**Εικόνα 7. κύτταρα μέσα από το μικροσκόπιο**



**Εικόνα 8. κύτταρα μέσα από το μικροσκόπιο**

## **4<sup>ο</sup> ΚΕΦΑΛΑΙΟ:**

### **4.1 ΑΡΜΠΑΡΟΡΙΖΑ**

Το Πελαργόνιο το βαρύοσμο (λατινικά: *Pelargonium graveolens*), είναι ένα ποώδες παχύφυλλο φυτό που ανήκει στο γένος Πελαργόνιο της οικογένειας των Γερανιοειδών (*Geraniaceae*). Το κοινό του όνομα είναι αλμπαρόριζα ή αρμπαρόριζα, ενώ πολλές φορές αναφέρεται και ως γεράνιο, γεράνι, πελαργόνιο, μπαρμπαρούσα, στη Λέσβο χρυσαχί, στην Κύπρο κιούλι και στη Δυτική Μακεδονία μοσχόφυλλο.



**Εικόνα 9. Αρμπαρόριζα, το φυτό**

Το όνομα της αρμπαρόριζας προέρχεται από το *erba + roza*, που σημαίνει στα ιταλικά χόρτο ρόδινου χρώματος.

Πρόκειται για ένα πολυετές ποώδες φυτό με τρυφερούς βλαστούς, οι οποίοι δεν ξυλοποιούνται. Μπορεί να χαρακτηριστεί σκληρός θάμνος, με ύψος 0,30-0,70 εκ., προερχόμενος από τη νότια Αφρική (καλλιεργείται σε Αλγερία, Αίγυπτο, Κένυα, Μαρόκο). Μπορεί να χρησιμοποιηθεί στον κήπο σαν εδαφοβελτιωτικό ή κρεμοκλαδές.

Τα φύλλα έχουν γκριζοπράσινο χρώμα με οδοντωτές απολήξεις, είναι χνουδωτά και με πολύ μεγάλες εγκολπώσεις. Αναδύουν έντονη αρωματική ευωδιά όταν τριβούν. Τα άνθη του φέρονται σε ταξιάνθια, τύπου σκιαδίου και φέρουν 5 πέταλα. Τα χρώματα που συναντάμε στα άνθη του, είναι στις αποχρώσεις του ροζ και του μωβ. Η ανθοφορία ξεκινά την άνοιξη και διαρκεί όλο το καλοκαίρι.

### **4.2 ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ:**

Είναι ένα φυτό με ταχύτατη ανάπτυξη, το οποίο προτιμάει τις ηλιόλουστες ή και ημισκιαζόμενες θέσεις. Το έδαφος θα πρέπει να είναι ελαφρύ (πλούσιο σε άμμο), ώστε να αποστραγγίζει πολύ καλά. Οι ρίζες του δεν ανέχονται την υπερβολική υγρασία. Όταν αναπτύσσεται στο έδαφος ενός κήπου, κατάλληλα είναι τα αραιά και πολύ πλούσια ποτίσματα (πότισμα ανά 5-20 μέρες ανάλογα με την εποχή και τις τοπικές συνθήκες θερμοκρασίας, σκίασης, κλπ). Όταν αναπτύσσεται σε γλάστρες, τότε τα ποτίσματά του θα πρέπει να είναι πιο συχνά ( ανά 1-7 ημέρες).

Δεν είναι ιδιαίτερα απαιτητικό σε θρεπτικά στοιχεία και μπορεί να αναπτυχθεί ικανοποιητικά ακόμα και σε πολύ άγονα εδάφη. Σε εντατικές καλλιέργειές του για την παραγωγή αιθέριων ελαίων απαιτεί 3-4 μονάδες φωσφόρου και καλίου ανά στρέμμα και 7-8 μονάδες αζώτου ανά στρέμμα. Είναι ευαίσθητο στο ψύχος, γι' αυτό στην Ελλάδα το συναντάμε κυρίως σε παράκτιες περιοχές όπου οι χειμώνες είναι ήπιοι. Σε πιο ορεινές περιοχές καλλιεργείται ως ετήσιο και το χειμώνα προστατεύεται.

Είναι επιδεκτικό στα κλαδέματα, ακόμα και σε πολύ αυστηρά κλαδέματα τα οποία είναι απαραίτητα εάν θέλουμε να διατηρήσουμε μία μαζεμένη και συμπαγή όψη του φυτού.

### **4.3 ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ:**

- ❖ Τονώνει το νευρικό σύστημα.
- ❖ Είναι επουλωτικό, διουρητικό και αντιδιαβητικό.
- ❖ Ενδείκνυται σε όσους υποφέρουν από κατάθλιψη, υπερένταση, πέτρα στα νεφρά και διαβήτη.
- ❖ Βοηθάει στην ανακούφιση από τη ναυτία και τις ημικρανίες, λόγω των χαλαρωτικών ιδιοτήτων που έχει.
- ❖ Ανακουφίζει από τους πόνους της αρθρίτιδας
- ❖ Μειώνει τη χοληστερόλη.
- ❖ Βοηθά στην αντιμετώπιση της ακμής, λόγω της αντιβακτηριακής του δράσης.

Σαν φυτό η αρμπαρόριζα είναι ανθεκτικό και θεωρείται εντομοαπωθητικό.

### **4.4 ΧΡΗΣΕΙΣ ΣΤΗΝ ΚΟΥΖΙΝΑ:**

Τα φύλλα της αρμπαρόριζας, λόγω του αρώματος που αναδύουν, χρησιμοποιούνται σε διάφορα γλυκά του κουταλιού (όπως κυδώνι, σταφύλι), στα λουκούμια και στα παγωτά. Επίσης, χρησιμοποιούνται αρκετά συχνά στην οινοποιεία.

### **ΑΛΛΕΣ ΧΡΗΣΕΙΣ:**

Τα αιθέρια έλαια της αρμπαρόριζας χρησιμοποιούνται ευρέως στην αρωματοποιία και στην αρωματοθεραπεία.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5<sup>ο</sup>:

### ΟΡΓΑΝΑ ΚΑΙ ΣΚΕΥΗ ΠΟΥ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΘΗΚΑΝ ΣΤΟ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ:



Εικόνα 10. Φούρνος ξήρασης



Εικόνα 11. Θερμαντική πλάκα και ειδικά κατασκευασμένες οβίδες από TEFLON



**Εικόνα 12. Πορσελάνινο γουδί**



**Εικόνα 13. Falcons 50mL**



**Εικόνα 14. Όργανο Φασματοσκοπίας Ατομικής Απορρόφησης**



**Εικόνα 15. Αναλυτικός Ζυγός**



Εικόνα 16. Φυγόκεντρος

**Ακόμη, χρησιμοποιήθηκαν:**

- Σιφόνια Μέτρησης
- Πιπέτες Pasteur
- Ογκομετρικοί Κύλινδροι 25mL
- Ογκομετρικές Φιάλες 10mL & 25mL
- Χωνάκια
- HNO<sub>3</sub> πυκνό (65%)

## **6<sup>ο</sup> ΚΕΦΑΛΑΙΟ:**

### **ΦΑΣΜΑΤΟΜΕΤΡΙΑ ΑΤΟΜΙΚΗΣ ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗΣ**

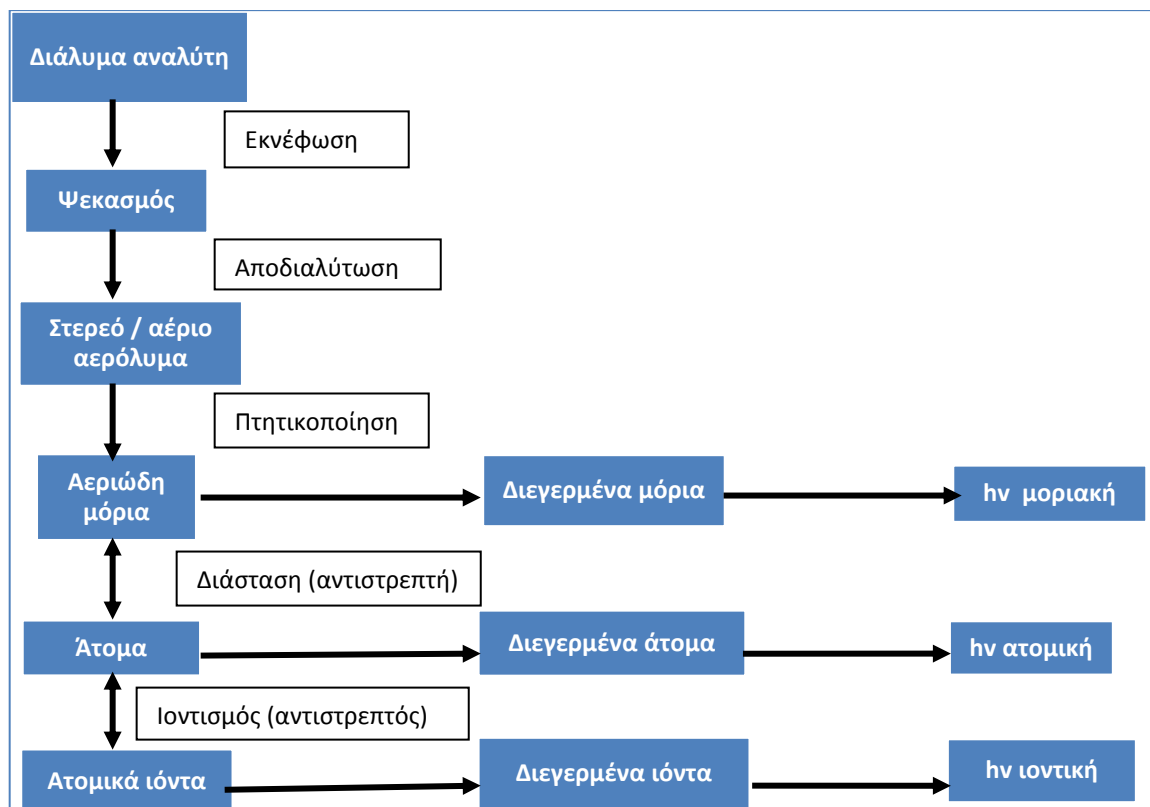
Η φασματομετρία ατομικής απορρόφησης (atomic absorption spectrometry, AAS), αποτελεί για μισό περίπου αιώνα την πλέον χρησιμοποιούμενη τεχνική για τον προσδιορισμό στοιχείων σε αναλυτικά δείγματα. Υπάρχουν δύο πολύ διαδεδομένες μέθοδοι ατομοποίησης του δείγματος που συναντώνται στην φασματομετρία ατομικής απορρόφησης. Αυτές είναι η ατομοποίηση με φλόγα και η ηλεκτροθερμική ατομοποίηση.

#### **6.1. α. Ατομοποίηση με φλόγα**

Στους ατομοποιητές φλόγας, ένα διάλυμα του δείγματος εκνεφώνεται σε μια ροή οξειδωτικού αερίου, το οποίο αναμιγνύεται με ένα καύσιμο αέριο και μεταφέρεται στη φλόγα, όπου συμβαίνει η ατομοποίηση. Στο σχήμα 6.1, φαίνεται μια πολύπλοκη σειρά αλληλοσυνδεόμενων διαδικασιών που πραγματοποιούνται στη φλόγα.

Στην αρχή προκύπτει ένα μοριακό αερόλυμα από λεπτά σωματίδια του στερεού, μέσω της απομάκρυνσης του διαλύτη. Η διάσπαση των περισσότερων από τα μόρια αυτά οδηγεί στο ατομικό αέριο. Σχηματίζονται άτομα, μερικά από αυτά ιοντίζονται και δίνουν κατιόντα και ηλεκτρόνια. Επίσης, παράγονται και άλλα μόρια και άτομα στη φλόγα, λόγω των αλληλεπιδράσεων του καυσίμου με το οξειδωτικό αέριο και με άλλα διάφορα σωματίδια που υπάρχουν στο δείγμα. Όπως φαίνεται και στο σχήμα 6.1, ένα κλάσμα μορίων, ατόμων και ιόντων διεγείρονται από τη θερμότητα της φλόγας και παρέχουν ατομικά, μοριακά και ιοντικά φάσματα εκπομπής. Η ατομοποίηση, είναι το κρίσιμότερο στάδιο στη φασματοσκοπία φλόγας και το στάδιο εκείνο που καθορίζει την επαναληψιμότητα αυτών των μεθόδων, εξαιτίας των πολλών και πολύπλοκων φαινομένων που πραγματοποιούνται στη φλόγα. Γι' αυτό, είναι σημαντικό να κατανοηθούν τα χαρακτηριστικά των φλογών, αλλά και οι μεταβλητές που επηρεάζουν τα χαρακτηριστικά αυτά.





**Σχήμα 6. 1: Μεταβολές καταστάσεων που πραγματοποιούνται κατά τη διάρκεια της ατομοποίησης ενός δείγματος.**

Στον πίνακα 6.2 συμπεριλαμβάνονται τα πιο συνηθισμένα καύσιμα και οξειδωτικά αέρια, που χρησιμοποιούνται στη φασματοσκοπία φλόγας και η κατά προσέγγιση περιοχή των θερμοκρασιών που επιτυγχάνεται με καθένα από τα μίγματα αυτά.

Για δείγματα που είναι ανθεκτικά σε υψηλότερες θερμοκρασίες, χρησιμοποιείται ως οξειδωτικό το οξυγόνο ή το υποξείδιο του αζώτου ( $N_2O$ ). Με τα συνηθισμένα καύσιμα τα οξειδωτικά αυτά αέρια παράγουν θερμοκρασίες 1700-3100 °C.

Καύσιμο	Οξειδωτικό	Θερμοκρασίες °C	Μέγιστη ταχύτητα καύσης ( $cm\ s^{-1}$ )
Φυσικό Αέριο	Αέρας	1700-1900	39-43
Φυσικό Αέριο	Οξυγόνο	2700-2800	370-390
Υδρογόνο	Αέρας	2000-2100	300-440
Υδρογόνο	Οξυγόνο	2550-2700	900-1400
Ακετυλένιο	Αέρας	2100-2400	158-266
Ακετυλένιο	Οξυγόνο	3050-3150	1100-2480
Ακετυλένιο	Υποξείδιο του Αζώτου	2600-2800	285

**Πίνακας 6.2: Ιδιότητες των φλογών**

Η τελευταία στήλη του πίνακα 6.2, αναφέρονται οι ταχύτητες καύσης, όπου έχουν ιδιαίτερη σημασία, επειδή οι φλόγες είναι σταθερές μόνο σε ορισμένες περιοχές ταχυτήτων των ροών των αερίων. Όταν η ταχύτητα ροής δεν υπερβαίνει την ταχύτητα καύσης, η φλόγα επιστρέφει στον καυστήρα, φαινόμενο γνωστό ως οπισθοδρόμηση φλόγας (Flashback). Καθώς αυξάνει η ταχύτητα ροής, η φλόγα υψώνεται μέχρις ότου φτάσει σε ένα σημείο επάνω στον καυστήρα όπου η ταχύτητα ροής και η ταχύτητα καύσης είναι ίσες. Αυτή είναι η περιοχή σταθερότητας της φλόγας.

### Δομή της φλόγας

Σημαντικές περιοχές της φλόγας είναι η ζώνη πρωταρχικής καύσης, η διαζωνική περιοχή και η δευτερεύουσα ζώνη καύσης.

Η **ζώνη πρωταρχικής καύσης** σε φλόγα υδρογονάνθρακα αναγνωρίζεται από την κυανή φωταύγεια, η οποία προέρχεται από τις φασματικές ζώνες του  $C_2$ ,  $CH$  και άλλων ριζών.

Σπάνια χρησιμοποιείται στη φασματοσκοπία φλόγας.

Η **διαζωνική περιοχή** μπορεί να φτάσει πολλά εκατοστά σε ύψος στις πλούσιες σε καύσιμο πηγές, στις οποίες χρησιμοποιείται ακετυλένιο/ οξυγόνο ή ακετυλένιο/ υποξειδίου του αζώτου. Η ζώνη είναι συχνά πλούσια σε ελεύθερα άτομα και είναι το περισσότερο χρησιμοποιούμενο τμήμα φλόγας στη φασματοσκοπία.

Στη **δευτερεύουσα ζώνη αντιδράσεων** τα προϊόντα του εσωτερικού πυρήνα της, μετατρέπονται σε σταθερά μοριακά οξειδία, τα οποία στη συνέχεια διασκορπίζονται στον περιβάλλοντα χώρο.

### Ατομοποιητές φλόγας

Οι ατομοποιητές φλόγας (flame atomizers) χρησιμοποιούνται στην ατομική απορρόφηση, στην ατομική εκπομπή και στη φασματοσκοπία ατομικού φθορισμού.

Το σχηματιζόμενο αερόλυμα από τη ροή του οξειδωτικού, αναμιγνύεται με το καύσιμο και διέρχεται από μια σειρά διαφραγμάτων ελέγχου ροής, τα οποία αφήνουν να περάσουν μόνο οι πολύ μικρές σταγόνες του διαλύματος. Ως αποτέλεσμα αυτής της παρεμπόδισης, το μεγαλύτερο μέρος του δείγματος συλλέγεται στο κάτω μέρος του θαλάμου ανάμιξης, απ' όπου απορρέει προς το δοχείο αποβλήτων. Το αερόλυμα, το οξειδωτικό και το καύσιμο στη συνέχεια καίγονται σε έναν καυστήρα σχισμής, ο οποίος παρέχει φλόγα μήκους συνήθως 5 ή 10 cm.

Καυστήρες νηματικής (στρωτής) ροής (laminar flow), παρέχουν φλόγες σχετικά ήρεμες και μεγάλης οπτικής διαδρομής. Οι ιδιότητες αυτές βελτιώνουν την ευαισθησία και την αναπαραγωγιμότητα των μετρήσεων.

### **Ρυθμιστές καυσίμου και οξειδωτικού**

Είναι μία πολύ σημαντική μεταβλητή, η οποία απαιτεί πολύ προσεκτικό έλεγχο στη φασματοσκοπία φλόγας, είναι η ταχύτητα ροής τόσο του οξειδωτικού όσο και του καυσίμου. Η δυνατότητα ρύθμισης της ροής καθενός απ' τα δύο αέρια σε ευρεία περιοχή είναι επιθυμητή, ώστε να μπορούν να βρεθούν πειραματικά οι βέλτιστες συνθήκες ατομοποίησης.

Ένας ατομοποιητής φλόγας παρέχει χαμηλή απόδοση, κι αυτό φαίνεται στους δύο λόγους που παρουσιάζονται παρακάτω. Πρώτον, ένα μεγάλο μέρος του δείγματος οδηγείται προς την αποχέτευση. Δεύτερον, ο χρόνος παραμονής κάθε ατόμου στο σημείο που συναντά η οπτική διαδρομή τη φλόγα είναι πάρα πολύ μικρός ( $\sim 10^{-4}$ s).

### **6.1.b Ηλεκτροθερμική ατομοποίηση**

Οι ηλεκτροθερμικοί ατομοποιητές, γενικά παρέχουν αυξημένη ευαισθησία, επειδή ολόκληρο το δείγμα ατομοποιείται σε σύντομο χρονικό διάστημα και ο μέσος χρόνος παραμονής των ατόμων στην οπτική διαδρομή είναι μεγαλύτερος από 1s.

Στους ηλεκτροθερμικούς ατομοποιητές εισάγεται δείγμα μερικών mL. Αρχικά, εξατμίζεται ο διαλύτης σε σχετικά χαμηλή θερμοκρασία και ακολουθεί αποτέφρωση σε κάπως υψηλότερη θερμοκρασία. Μετά την αποτέφρωση, το ρεύμα αυξάνει απότομα και προκαλεί απότομο άλμα της θερμοκρασίας στους 2000 ή και 3000 °C. Η ατομοποίηση του δείγματος πραγματοποιείται σε χρονικό διάστημα μερικών χιλιοστών του δευτερολέπτου έως και δευτερολέπτων. Η απορρόφηση ή ο φθορισμός των ατομοποιηθέντων σωματιδίων μετρείται στην περιοχή, η οποία βρίσκεται αμέσως επάνω από την περιοχή της θερμανθείσας επιφάνειας.

## Ηλεκτροθερμικοί ατομοποιητές

Σε αυτή τη συσκευή πραγματοποιείται η ατομοποίηση, μέσω ενός κυλινδρικού σωλήνα γραφίτη, ο οποίος είναι ανοιχτός και στα δύο άκρα και με μία οπή στο κέντρο για την εισαγωγή του δείγματος, με μικροσύριγγα. Ο σωλήνας γραφίτη, ο οποίος μπορεί να αντικαθίσταται μετά από κάποια χρήση, εφαρμόζει ακριβώς σε ζεύγος ηλεκτρικών επαφών κυλινδρικού σχήματος, που βρίσκονται στα δύο άκρα του σωλήνα. Οι επαφές αυτές συγκρατούνται σε ένα υδρόψυκτο μεταλλικό πλαίσιο. Στο χώρο του ατομοποιητή διαβιβάζονται δύο ρεύματα αδρανών αερίων, το εξωτερικό ρεύμα και το εσωτερικό.

- Το εξωτερικό ρεύμα εμποδίζει την είσοδο αέρα και αποτρέπει την οξειδωτική καύση του σωλήνα.
- Το εσωτερικό ρεύμα ρέει εισερχόμενο από τα δύο άκρα του σωλήνα και εξερχόμενο από την κεντρική οπή εισαγωγής του δείγματος. Αυτό το ρεύμα, όχι μόνο αποκλείει τον αέρα, αλλά εξυπηρετεί και στην απομάκρυνση των αερίων που παράγονται από το μητρικό υλικό του δείγματος κατά τα δύο πρώτα στάδια θέρμανσης.

Έχει διαπιστωθεί πειραματικά, ότι ορισμένες παρεμποδίσεις από το μητρικό υλικό των δειγμάτων και η περιορισμένη αναπαραγωγιμότητα, που συνδέονται με την ατομοποίηση σε φούρνο γραφίτη, μπορούν να εξαλειφθούν με μείωση του φυσικού πορώδους του γραφίτη. Κατά τη διάρκεια της ατομοποίησης, μέρος του αναλύτη και του μητρικού υλικού του δείγματος διαχέεται στο υλικό του σωλήνα με αποτέλεσμα να επιβραδύνεται η διαδικασία ατομοποίησης. Για να αποφύγουμε τη δυσκολία αυτή, οι περισσότεροι από τους φούρνους γραφίτη καλύπτονται με λεπτό στρώμα πυρολυτικού άνθρακα, που δρα ως καλυπτικό των πόρων του γραφίτη. Ο πυρολυτικός γραφίτης είναι ένας τύπος γραφίτη που αποτίθεται στρώμα με στρώμα από ένα ομοιογενές περιβάλλον. Σχηματίζεται με διοχέτευση μίγματος ενός αδρανούς αερίου και ενός υδρογονάνθρακα, όπως το μεθάνιο, μέσα από το σωλήνα, ενώ αυτός βρίσκεται σε υψηλή θερμοκρασία.

## **Χαρακτηριστικά απόδοσης ηλεκτροθερμικών ατομοποιητών**

Οι ηλεκτροθερμικοί ατομοποιητές προσφέρουν το πλεονέκτημα μιας ασυνήθιστα υψηλής ευαισθησίας για μικρούς όγκους δείγματος. Οι τυπικές τιμές των χρησιμοποιούμενων όγκων είναι 0,5 και 10  $\mu\text{L}$ . Στις περιπτώσεις αυτές, οι απόλυτες τιμές των ορίων ανίχνευσης βρίσκονται στην περιοχή  $10^{-10}$  έως  $10^{-13}$  g αναλύτη.

Οι άφλογες τεχνικές έχουν σχετική επαναληψιμότητα κοντά στην περιοχή του 5% έως 10% σε σύγκριση με αυτήν του 1% ή και καλύτερη, που μπορεί να περιμένει κανείς σε περιπτώσεις χρήσης της φλόγας ή του πλάσματος για ατομοποίηση. Επιπλέον, οι τεχνικές φούρνου είναι αργές με τυπικούς χρόνους μερικών λεπτών για κάθε στοιχείο. Τέλος, μειονέκτημά τους είναι και η στενή αναλυτική περιοχή, που συνήθως είναι μικρότερη από δύο τάξεις μεγέθους συγκέντρωσης. Συμπερασματικά, μπορούμε να πούμε ότι η ηλεκτροθερμική ατομοποίηση συνήθως χρησιμοποιείται μόνο τότε, όταν η ατομοποίηση με φλόγα ή πλάσμα δεν παρέχει ικανοποιητικά όρια ανίχνευσης.

### **6.1. c ΕΙΔΙΚΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΑΤΟΜΟΠΟΙΗΣΗΣ**

#### 1) Ατομοποίηση με εκκένωση λάμπης:

Μια συσκευή εκκένωσης λάμπης παράγει αέρια άτομα τα οποία στη συνέχεια παρασύρονται προς την κυψελίδα μέτρησης απορρόφησης. Μια κυψελίδα εκκένωσης λάμπης, αποτελείται από κυλινδρικό σωλήνα μήκους περίπου 17cm με μια κυκλική οπή 2cm, κοντά στο μέσο του κυλίνδρου, η οποία περιβάλλεται από κυλινδρική φλάντζα. Το δείγμα συμπιέζεται προς την οπή με ειδικό κλειδί στρέψης και ο σωλήνας στεγανοποιείται στο μέρος αυτό. Έξι λεπτά ακροφύσια σε εξαγωνική διάταξη κατευθύνουν λεπτά ρεύματα αερίου αργού προς την επιφάνεια του δείγματος. Το αργό ιοντίζεται με ηλεκτρικό ρεύμα μεταξύ του δείγματος, το οποίο δρα ως κάθοδος, και των ακροφυσίων που δρουν ως άνοδος.

Με την “εκτίναξη” αυτή, δημιουργούνται έξι κρατήρες. Τα εκτινασσόμενα άτομα απομακρύνονται με κενό, το οποίο δημιουργείται κατά τον άξονα της κυψελίδας, όπου πραγματοποιείται και η απορρόφηση της ακτινοβολίας της πηγής του φασματοφωτόμετρου.

#### 2) Ατομοποίηση με σχηματισμό υδριδίων:

Απαιτείται μόνο θέρμανση των υδριδίων σε σωλήνα χαλαζία.

3) Ατομοποίηση ψυχρού ατμού:

Η τεχνική ατομοποίησης ψυχρού ατμού (cold- vapor atomization), εφαρμόζεται μόνο στον προσδιορισμό του υδραργύρου, επειδή αυτός είναι το μόνο μέταλλο το οποίο έχει μια υπολογίσιμη τάση ατμών στη θερμοκρασία δωματίου.

### **6.1.d- ΟΡΓΑΝΟΛΟΓΙΑ ΑΤΟΜΙΚΗΣ ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗΣ**

Τα όργανα φασματομετρίας ατομικής απορρόφησης (AAS), αποτελούνται από μια πηγή ακτινοβολίας, ένα χώρο τοποθέτησης του δείγματος, έναν επιλογέα μήκους κύματος, έναν ανιχνευτή και έναν επεξεργαστή σήματος με μονάδα ανάγνωσης.

Το τμήμα τοποθέτησης δείγματος στα όργανα ατομικής απορρόφησης είναι η κυψελίδα του ατομοποιητή, η οποία παρέχει το ατομοποιημένο αέριο δείγμα.

### **da- ΠΗΓΕΣ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑΣ**

Οι αναλυτικές μέθοδοι που βασίζονται στην ατομική απορρόφηση, μπορεί να είναι πολύ εκλεκτικές, επειδή οι γραμμές ατομικής απορρόφησης είναι εξαιρετικά στενές (0,002 έως 0,005 nm) και επειδή οι ενέργειες των ηλεκτρονιακών μεταπτώσεων είναι χαρακτηριστικές για κάθε στοιχείο. Ωστόσο, οι εξαιρετικά στενές ζώνες των γραμμών δημιουργούν ένα πρόβλημα, που δεν συναντάται στη φασματοσκοπία μοριακής απορρόφησης.

Ακόμα και οι πολύ καλής ποιότητας μονοχρωμάτορες έχουν πραγματικά εύρη ζωνών πολύ μεγαλύτερα από τα εύρη των γραμμών ατομικής απορρόφησης. Συνεπώς, όταν για τη μέτρηση της ατομικής απορρόφησης χρησιμοποιούνται κοινά φασματοφωτόμετρα τα οποία διαθέτουν συνεχείς πηγές ακτινοβολίας, είναι αδύνατη η λήψη γραμμικών καμπυλών αναφοράς. Επιπλέον, οι κλίσεις των καμπυλών βαθμονόμησης, που λαμβάνονται με τέτοια όργανα, είναι μικρές, επειδή μόνο μικρό κλάσμα της ακτινοβολίας που εξέρχεται από τον μονοχρωμάτορα απορροφάται από το δείγμα, με συνέπεια να έχουμε μικρές ευαισθησίες.

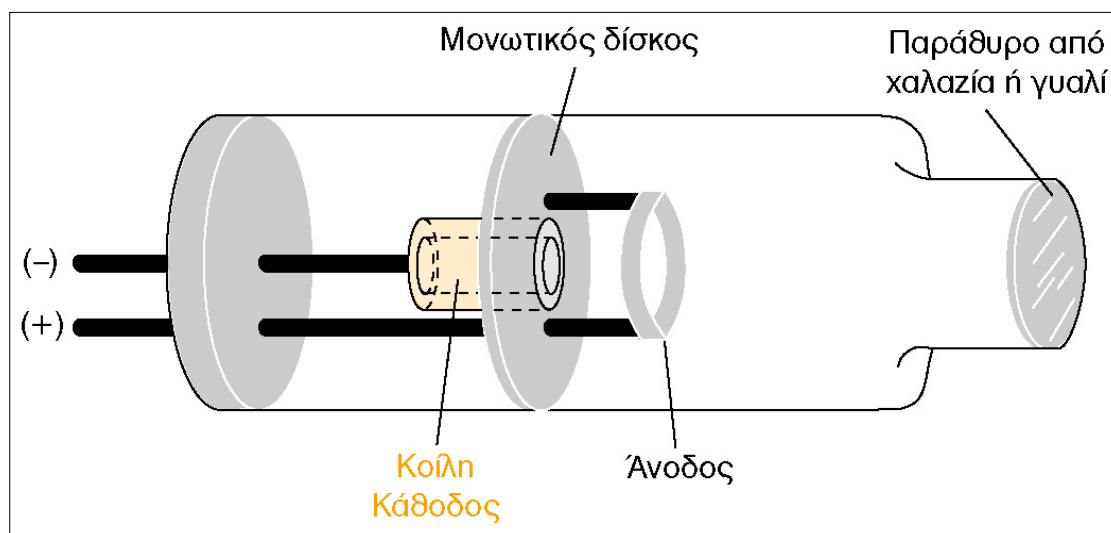
Το πρόβλημα που δημιουργείται από τα μικρά εύρη των κορυφών ατομικής απορρόφησης λύθηκε με χρήση πηγών, οι οποίες εκπέμπουν γραμμές στενότερες από τις κορυφές απορρόφησης. Για παράδειγμα, εάν επιλεγεί η γραμμή απορρόφησης 589,6 nm του νατρίου για τον προσδιορισμό του, πρέπει να απομονωθεί και να χρησιμοποιηθεί η κορυφή εκπομπής του ίδιου μήκους κύματος του στοιχείου. Οι συνθήκες λειτουργίας της

πηγής επιλέγονται έτσι, ώστε η διεύρυνση Doppler των εκπεμπόμενων γραμμών να είναι μικρότερη από τη διεύρυνση της γραμμής απορρόφησης, που συμβαίνει στη φλόγα ή άλλο ατομοποιητή.

Ένα σημαντικό μειονέκτημα της διαδικασίας αυτής, είναι η ανάγκη χρησιμοποίησης διαφορετικής λυχνίας για κάθε προσδιοριζόμενο στοιχείο (ή πολλές φορές ομάδας στοιχείων).

### Λυχνίες κοίλης καθόδου

Η συνηθέστερη πηγή ακτινοβολίας για μετρήσεις ατομικής απορρόφησης είναι η λυχνία κοίλης καθόδου (hollow cathode lamp, HCL), όπως φαίνεται στην εικόνα 17.



Εικόνα 17. Σχηματική τομή μιας λυχνίας κοίλης καθόδου

Η λυχνία αυτή αποτελείται από μια άνοδο βολφραμίου και μια κυλινδρική κάθοδο, οι οποίες σφραγίζονται σε υάλινο σωλήνα, που περιέχει νέον ή αργό σε πίεση 1 έως 5 torr. Η κάθοδος κατασκευάζεται από το μέταλλο του οποίου το φάσμα επιθυμούμε ή επιστρώνεται με ένα στρώμα αυτού του μετάλλου.

Όταν η εφαρμοζόμενη στα ηλεκτρόδια τάση φθάσει τα 300 V, συμβαίνει ιοντισμός του εσωτερικού αερίου και δημιουργείται ρεύμα 5 έως 15 mA από τα ιόντα και ηλεκτρόνια που μετακινούνται μεταξύ των ηλεκτροδίων. Αν το δυναμικό αυξηθεί αρκετά, τα κατιόντα του αερίου αποκτούν αρκετή κινητική ενέργεια, ώστε να εκτοπίσουν μερικά μεταλλικά άτομα από την επιφάνεια και να παράγουν ένα ατομικό νέφος με μια διαδικασία γνωστή ως sputtering (ψεκασμός, εκτίναξη). Ένα κλάσμα των

απομακρυνόμενων ατόμων του μετάλλου από την κάθοδο βρίσκονται σε διεγερμένες καταστάσεις και εκπέμπουν τη χαρακτηριστική ακτινοβολία τους κατά την αποδιέγερση στη βασική κατάσταση. Τελικά, τα μεταλλικά άτομα διαχέονται και επαναποτίθενται επάνω στην επιφάνεια της καθόδου ή στα υάλινα τοιχώματα του σωλήνα.

Το κυλινδρικό σχήμα της καθόδου βοηθά τη συγκέντρωση της ακτινοβολίας σε μια περιορισμένη περιοχή του μεταλλικού κοιλώματος και εξασφαλίζει την επαναπόθεση των ατόμων επάνω στην επιφάνεια της καθόδου παρά τα υάλινα τοιχώματα.

Η απόδοση των λυχνιών κοίλης καθόδου εξαρτάται από τη γεωμετρία και το δυναμικό λειτουργίας τους. Υψηλές τιμές δυναμικού και επομένως ρεύματος, οδηγούν σε μεγαλύτερες εντάσεις της εκπεμπόμενης ακτινοβολίας.

### **Λυχνίες εκκένωσης χωρίς ηλεκτρόδια**

Λυχνίες εκκένωσης χωρίς ηλεκτρόδια (electrodeless discharge lamps, EDLs), ονομάζονται οι χρήσιμες πηγές φασμάτων ατομικών γραμμών και παρέχουν εντάσεις ακτινοβολίας που είναι συνήθως μεγαλύτερες από αυτές των λυχνιών κοίλης καθόδου κατά δύο τάξεις μεγέθους.

Στο εμπόριο διατίθενται λυχνίες εκκένωσης χωρίς ηλεκτρόδια για περισσότερα από 15 στοιχεία. Η απόδοσή τους δεν φαίνεται να είναι τόσο αξιόπιστη, όσο των λυχνιών κοίλης καθόδου.

### **Διαμόρφωση της πηγής**

Σε ένα όργανο απορρόφησης είναι αναγκαία η απαλλαγή από παρεμποδίσεις, που οφείλονται στην εκπομπή ακτινοβολίας της φλόγας. Αναπόφευκτα στη φλόγα υπάρχει και ακτινοβολία, που συμπίπτει με την επιλεγμένη περιοχή μηκών κύματος του μονοχρωμάτορα, λόγω διέγερσης και εκπομπής των ατόμων του αναλύτη. Για να απαλλαγούμε από τις επιδράσεις της εκπομπής της φλόγας είναι απαραίτητο να διαμορφώσουμε το σήμα εξόδου της πηγής έτσι, ώστε η έντασή της να μεταβάλλεται χρονικά με σταθερή συχνότητα. Τότε ο ανιχνευτής δέχεται δύο τύπους οπτικών σημάτων, ένα εναλλασσόμενο από την πηγή και ένα συνεχές από τη φλόγα. Τα σήματα αυτά μετατρέπονται σε ηλεκτρικά σήματα με αντίστοιχα χαρακτηριστικά.

Ένας απλός και απόλυτα ικανοποιητικός τρόπος διαμόρφωσης της εκπομπής της πηγής είναι η παρεμβολή ενός κυκλικού μεταλλικού δίσκου ή τεμαχιστή (chopper) στην πορεία της δέσμης μεταξύ πηγής και φλόγας. Από τον δίσκο αυτό αποκόπτονται δύο αντικριστά τεταρτημόρια, ώστε να επιτρέπεται η πλήρης διέλευση του φωτός. Έτσι, όταν



περιστρέφεται ο δίσκος με σταθερή και γνωστή κυκλική ταχύτητα, η δέσμη “τεμαχίζεται” στην επιθυμητή συχνότητα.

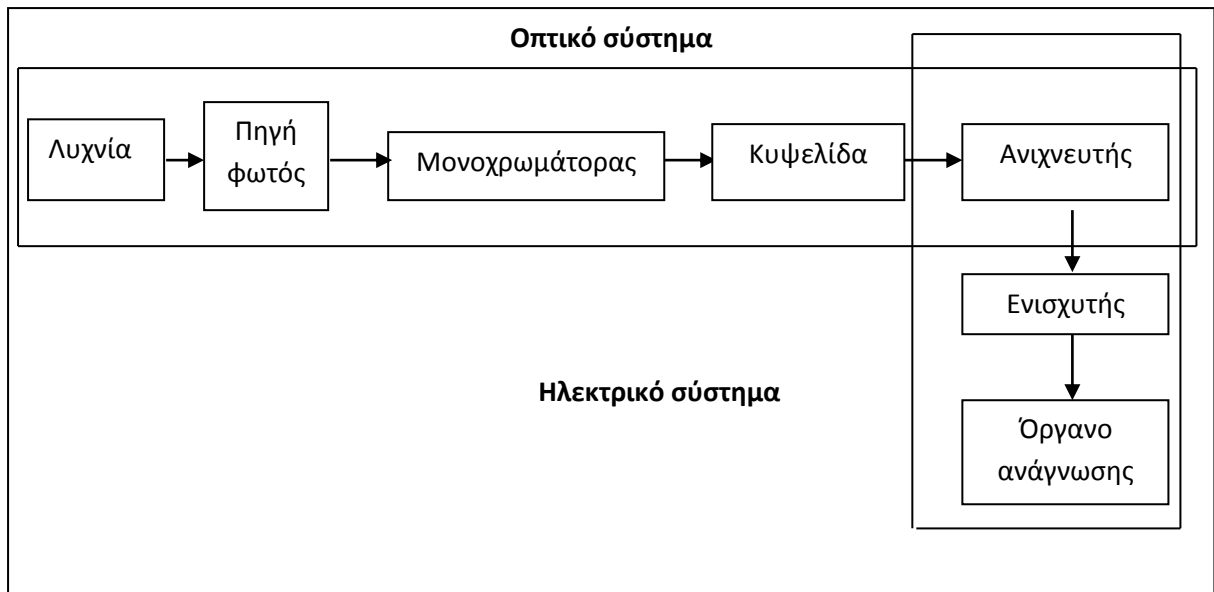
### **db-ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΑ**

Τα όργανα ατομικής απορρόφησης μπορεί να είναι μονής και διπλής δέσμης. Το όργανο πρέπει να είναι σε θέση να παρέχει αρκετά στενά εύρη ζωνών, ώστε να απομονώνει την επιλεγμένη γραμμή, η οποία χρησιμοποιείται για τη μέτρηση, από τις άλλες γραμμές που μπορεί να παρεμποδίζουν ή ακόμα να μειώνουν την ευαισθησία του προσδιορισμού. Για μερικά αλκαλιμέταλλα, που το φάσμα τους αποτελείται μόνο από μερικές αραιές γραμμές συντονισμού στην ορατή περιοχή, ένα φίλτρο υάλου είναι αρκετό για τον σκοπό αυτό. Για κάθε στοιχείο χρησιμοποιείται διαφορετική πηγή φωτός και φίλτρο. Οι κατασκευαστές υποστηρίζουν ότι το όργανο αυτό μπορεί να δώσει ικανοποιητικά αποτελέσματα για 22 μέταλλα. Ωστόσο, τα περισσότερα όργανα έχουν ενσωματωμένους μονοχρωμάτορες καλής ποιότητας για το υπεριώδες και ορατό, πολλοί από τους οποίους είναι ικανοί να δώσουν εύρος ζώνης της τάξης του 1 Å.

Τα περισσότερα όργανα ατομικής απορρόφησης χρησιμοποιούν ως μεταλλάκτες φωτοπολλαπλασιαστές. Τα περισσότερα εμπορικά όργανα, είναι σήμερα εφοδιασμένα με συστήματα μικροϋπολογιστών για τον έλεγχο των παραμέτρων του οργάνου καθώς και την επεξεργασία των αναλυτικών δεδομένων.

#### **Όργανα απλής (μονής) δέσμης**

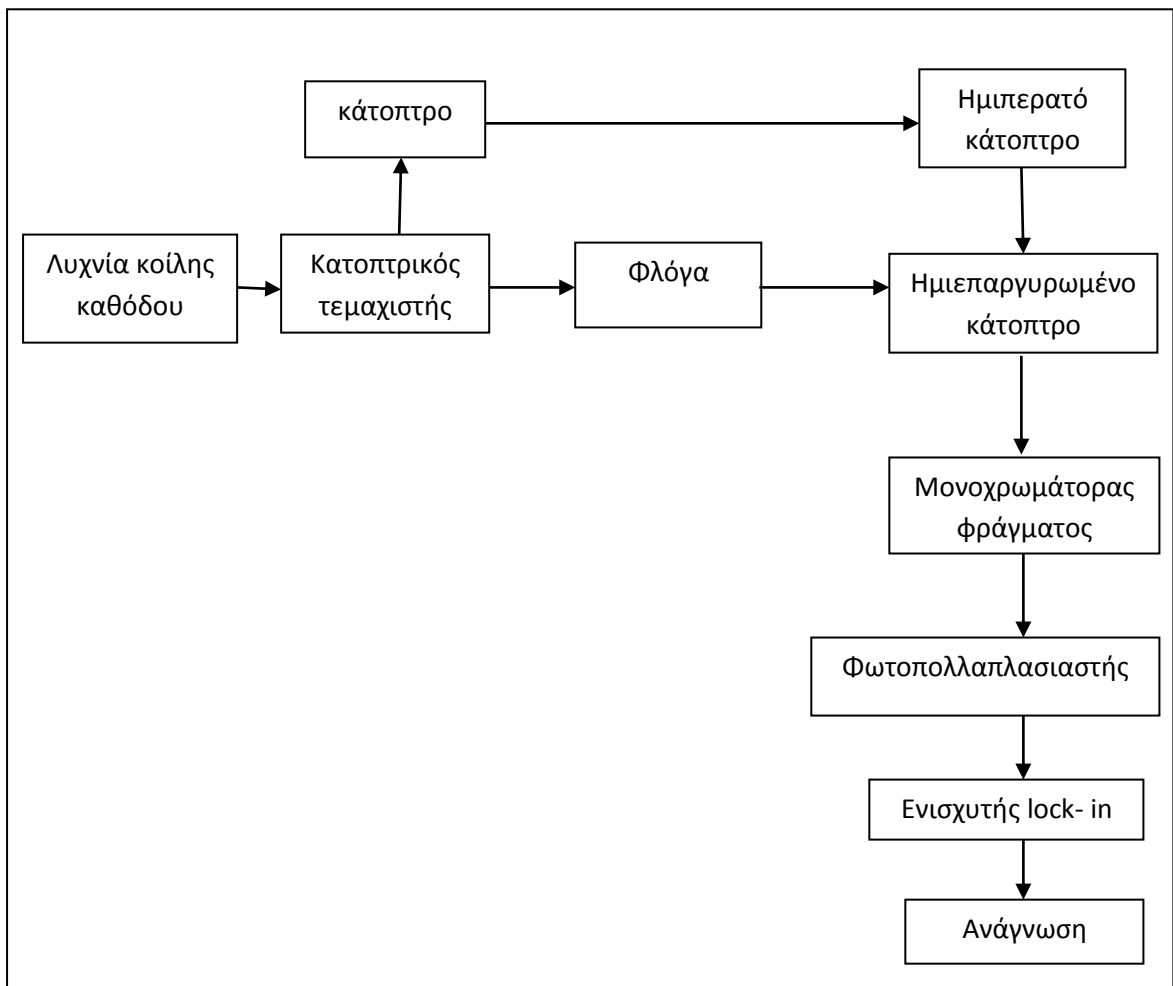
Ένα τυπικό όργανο απλής δέσμης όπως στο σχήμα 6.3, αποτελείται από μερικές λυχνίες κοίλης καθόδου, έναν ατομοποιητή και έναν απλό μονοχρωμάτορα φράγματος με μεταλλάκτη φωτοπολλαπλασιαστή. Έτσι, το σκοτεινό ρεύμα μηδενίζεται με ένα πέτασμα που παρεμβάλλεται εμπρός στον μεταλλάκτη. Η ρύθμιση της διαπερατότητας 100%  $T$  γίνεται με διαβίβαση του τυφλού δείγματος στη φλόγα ή με την πυράκτωσή του μέσα σε άφλογο ατομοποιητή. Τελικά μετρείται η διαπερατότητα με το δείγμα στη θέση του τυφλού.



Σχήμα 6.3: Σχηματικό διάγραμμα Φασματοφωτόμετρου απλής (μονής) δέσμης

### Όργανα διπλής δέσμης

Σχηματικά παρουσιάζεται στο σχήμα 6.4 ένα τυπικό όργανο διπλής δέσμης. Η δέσμη από τη λυχνία κοίλης καθόδου σχάζεται με έναν κατοπτρικό τεμαχιστή, οπότε το ένα μισό της περνάει από τη φλόγα, ενώ το άλλο μισό την παρακάμπτει. Οι δύο δέσμες μετά ανασυνδέονται με ημιεπαργυρωμένο κάτοπτρο και διέρχονται μέσω ενός μονοχρωμάτορα φράγματος τύπου Czerny-Turner. Ως μεταλλάκτης χρησιμοποιείται φωτοπολλαπλασιαστής. Το σήμα εξόδου από τον μεταλλάκτη οδηγείται σε έναν ενισχυτή lock-in συγχρονισμένο με τον τεμαχιστή. Ο λόγος του σήματος αναφοράς προς το σήμα του δείγματος ενισχύεται και οδηγείται στο σύστημα ανάγνωσης, το οποίο μπορεί να είναι ένα ψηφιακό όργανο ή ένας ποτενσιομετρικός καταγραφέας.



Σχήμα 6.4: Σχηματικό διάγραμμα φασματοφωτόμετρου διπλής δέσμης

#### **ΦΑΣΜΑΤΙΚΕΣ ΠΑΡΕΜΠΟΔΙΣΕΙΣ:**

- Μέθοδος διόρθωσης δύο γραμμών
- Μέθοδος διόρθωσης με συνεχή πηγή
- Διόρθωση υποβάθρου βασισμένη στο φαινόμενο Zeeman
- Διόρθωση υποβάθρου βασισμένη στην αυτοαναστροφή της πηγής

#### **ΧΗΜΙΚΕΣ ΠΑΡΕΜΠΟΔΙΣΕΙΣ:**

- Σχηματισμός ουσιών χαμηλής πτητικότητας
- Ισορροπίες διάστασης
- Ισορροπίες ιοντισμού

## 7<sup>ο</sup> ΚΕΦΑΛΑΙΟ:

### ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

#### 7.1.a (A) Chlamydomonas Reinhardtii

##### ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ/ ΔΙΑΛΥΜΜΑΤΑ ΠΟΥ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΘΗΚΑΝ:

1. **TAP Medium (Tris Acetate Phosphate):** Trisma Base (7,26 gr), Phosphate Buffer (3 mL), Hutners Buffer (3 mL), Solution A (30 mL), Acetic Acid (3 mL), H<sub>2</sub>O απιονισμένο (2961 mL), pH= 7.00-7.20.
2. **Solution A:** NH<sub>4</sub>Cl (0.7478 M), MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O (0.0406 M), CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O (0.034 M), pH= 4.9 περίπου.
3. **Phosphate Buffer:** K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> Άνυδρο (0,5993 M), KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (0,4027 M), pH= 5.8-8.0)
4. **Washing Buffer:** NaCl (150 mM), Trisma Base (20 mM), pH=7.00-7.20.
5. **Breaking Buffer:** Sucrose (0.8 M), Trisma Base (50 mM), pH=7.00-7.20.
6. **Chelating Buffer (EDTA):** Trisma Base (50 mM) , EDTA (1 mM), pH=7.0.

##### ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ:

Ο Chlamydomonas Reinhardtii (το είδος cc1690), αναπτύχθηκε μέσα σε TAP Medium (Tris Acetate Phosphate) με pH= 7,00-7,20, μέσα στο οποίο υπήρχαν συγκεκριμένες συγκεντρώσεις Cd, Ni και Pb (όπως φαίνονται στον πίνακα 7.1), τα οποία προστέθηκαν σαν νιτρικά άλατα, σε σταθερές συνθήκες (T=23°C, συνεχές φως, 100 rpm) για 5 ημέρες.

Control	Ni (Nickel)	Pb (Lead)	Cd (Cadmium)
	0 ppm	0 ppm	0 ppm
	2 ppm	0.63 ppm	0.36 ppm
	4 ppm	6.26 ppm	3.63 ppm
	6 ppm	12.51 ppm	7.29 ppm
		25.02 ppm	

Πίνακας 7.1. Συγκεντρώσεις βαρέων μετάλλων μέσα στο TAP Medium που αναπτύχθηκε ο chlamydomonas reinhardtii

Μετά τις 5 ημέρες που χρειάζεται για να αναπτυχθεί ο *Chlamydomonas reinhardtii*, κάναμε φυγοκεντρίσεις στα 3990 g για 15 min στους 4 °C. Το ίζημα που έμενε κάθε φορά στα falcons μετά τη φυγοκέντριση το αναδιασπείραμε με washing buffer.

Το τελικό προϊόν που δημιουργήθηκε, του κάναμε φυγοκέντριση στα 3990 g για 20 min στους 4 °C. Στη συνέχεια, αναδιασπείραμε το ίζημα με breaking buffer + PMSF, και φυλάξαμε τα δείγματα σε ειδικά μπουκαλάκια μέσα στον υπερκαταψύκτη. Όλες οι διαδικασίες πραγματοποιούνταν μέσα σε πάγο για να διατηρούνται οι 4 °C.

Για την πειραματική μας διαδικασία (σχήμα 7.3) χρειάστηκε να χρησιμοποιήσουμε παγωμένα κύτταρα από τον υπερκαταψύκτη σε κατάσταση τήξης, τα οποία είναι σε Breaking Buffer + PMSF. Κάναμε φυγοκέντριση στα 6000g για 10min στους 4°C.

Από αυτή τη διαδικασία λάβαμε υπερκείμενο υγρό και κύτταρα σε μορφή ιζήματος. Το υπερκείμενο υγρό το πετάξαμε, ενώ τα κύτταρα σε μορφή ιζήματος τα αναδιασπείραμε με Chelating Buffer (EDTA) ή Tris- HCl Buffer, με ποσότητα 10 φορές τη μάζα τους. Αυτό το κάναμε γιατί το Chelating Buffer (EDTA) ή Tris- HCl Buffer , λειτουργεί σαν αναστολέας πρωτεάσης, μειώνοντας το επίπεδο της πρωτεάσης ή της δραστηριότητας του DNA και έτσι εμποδίζεται η σωστή λειτουργία των κυττάρων.

Τα επώασαμε μέσα σε πάγο για 10min στους 4°C. Κάναμε ξανά φυγοκέντριση στα 6000g για 10min στους 4°C.

Από αυτό λάβαμε ξανά υπερκείμενο υγρό και κύτταρα με τη μορφή ιζήματος.

- Το υπερκείμενο υγρό αυτή τη φορά το κρατάμε και το υποβάλλουμε σε φασματομετρία ατομικής απορρόφησης.
- Τα κύτταρα σε μορφή ιζήματος, τα τοποθετούμε στον φούρνο ξήρανσης, για όλη τη νύχτα στους 50°C. Την επόμενη μέρα, τοποθετούμε τη ξηρή μάζα των κυττάρων (πίνακας 7.2) μέσα σε ειδικά κατασκευασμένες οβίδες από Teflon μαζί με 10ml πυκνό HNO<sub>3</sub>, και τα αφήνουμε πάνω σε θερμομαντική πλάκα για όλη τη νύχτα, ώστε τα δείγματα να χωνευθούν.

Την επόμενη μέρα συλλέγουμε την χωνευμένη ποσότητα των κυττάρων, και την αραιώνουμε στα 25 ml με απιονισμένο νερό. Τέλος, τα υποβάλλουμε στη διαδικασία της φασματομετρίας ατομικής απορρόφησης.

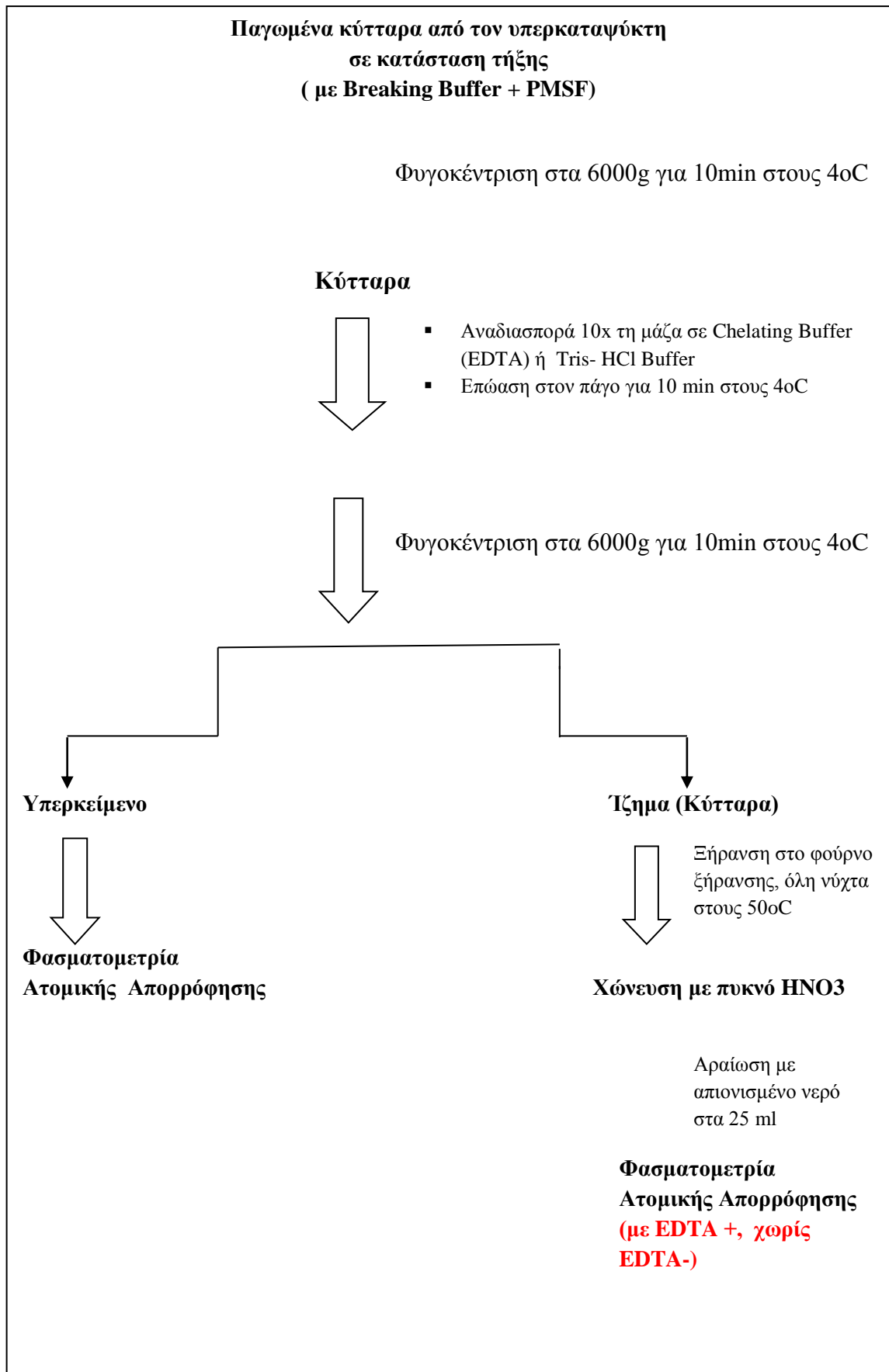
Τα δείγματα που είχαν Chelating Buffer (EDTA) συμβολίστηκαν με (+), ενώ τα δείγματα που είχαν Tris- HCl Buffer συμβολίστηκαν με (-).

Συγκέντρωση βαρέος μετάλλου	Βάρος ξηρής μάζας για χώνευση (gr)
Pb 6.26+	0.202
Pb 6.26 -	0.260
Cd 0.36+	0.281
Cd 0.36-	0.358
Cd 3.63+	0.102
Cd 3.63-	0.152
Cd 7.29 +	0.273
Cd 7.29-	0.629
Cr <sup>3+</sup> 0.15+	0.153
Cr <sup>3+</sup> 0.15-	0.029
Cr <sup>3+</sup> 2.6+	0.216
Cr <sup>3+</sup> 2.6-	0.140

Πίνακας 7.2: Ποσότητα ξηρής μάζας κυττάρων που χρησιμοποιήθηκαν για χώνευση

### Σκοπός του πειράματος:

Το πείραμα αυτό έχει σκοπό να μελετήσει την επίδραση που θα έχουν οι διάφορες συγκεντρώσεις των Βαρέων μετάλλων που αναφέρθηκαν παραπάνω στο φωτοσυνθετικό άλγος *Chlamydomonas Reinhardtii*. Επίσης, έχει σκοπό να μας δείξει σε ποιο από τα Βαρέα μέταλλα εμφανίζει το άλγος αυτό υψηλή ικανότητα συσσώρευσης/ τοξικότητα, και αν η ποσότητα του βαρέως μετάλλου που εισχωρεί στον πυρήνα του κυττάρου είναι λιγότερη ή μεγαλύτερη σε σχέση με την συνολική ποσότητα που υπάρχει σε όλο το κύτταρο.

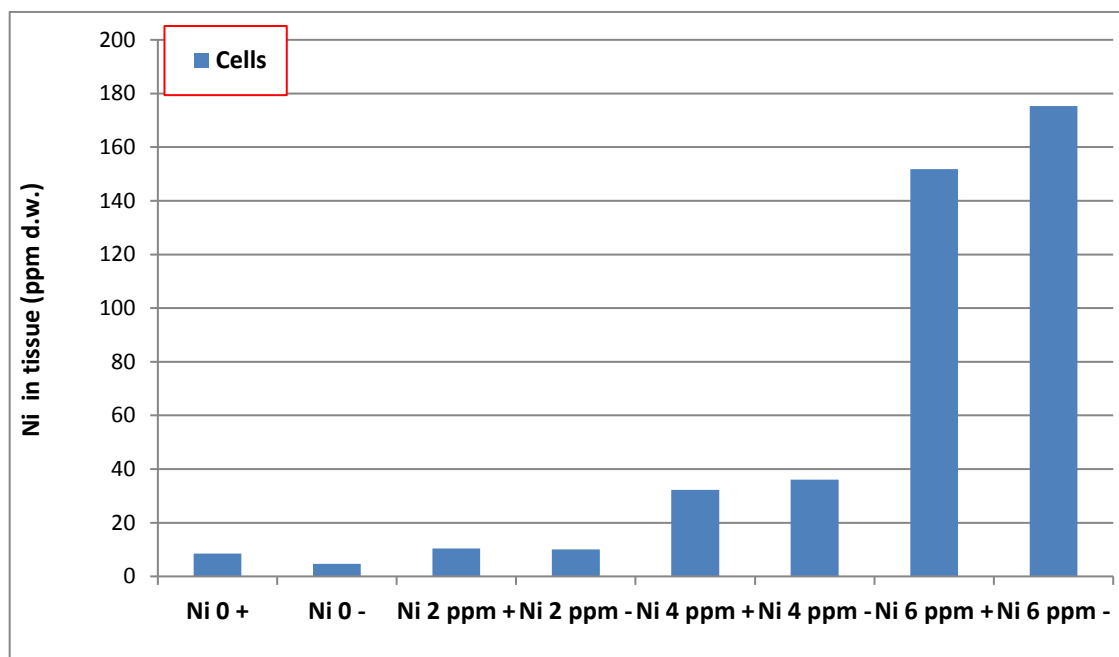


Σχήμα 7.3: Σχηματικά η πειραματική διαδικασία για τον *chlamydomonas reinhardtii*

## **7.1.b: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ - ΣΥΣΣΩΡΕΥΣΗ ΒΑΡΕΩΝ ΜΕΤΑΛΛΩΝ :**

Τα δείγματα κυττάρων που χρησιμοποιήθηκαν για την ανάλυση του Νικελίου είναι:

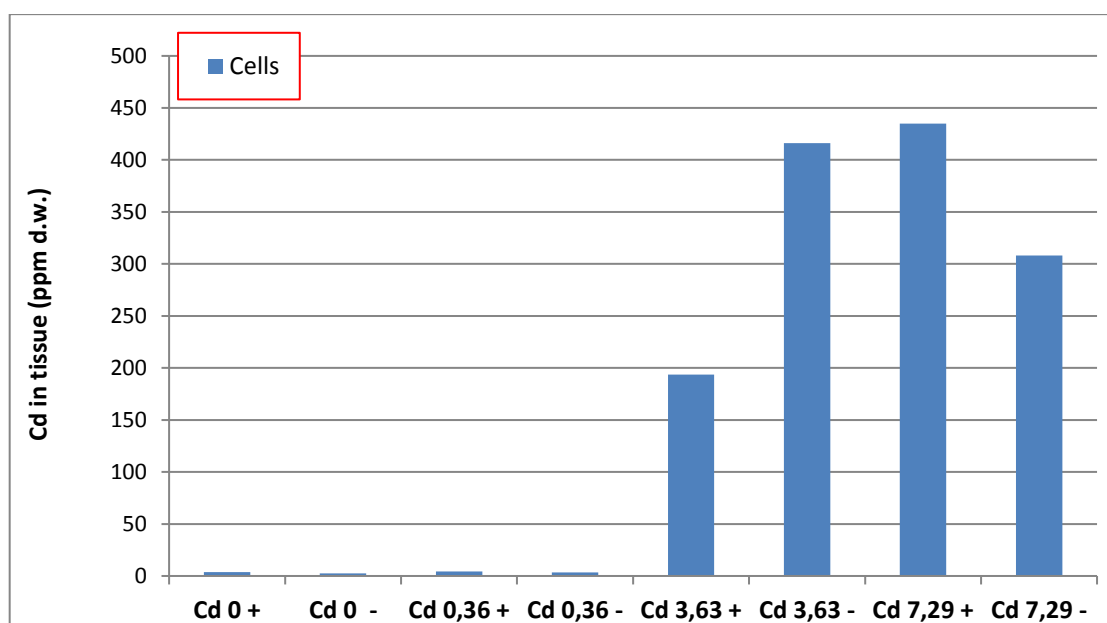
- Ni 0 ppm+
- Ni 0 ppm-
- Ni 2 ppm+
- Ni 2 ppm-
- Ni 4 ppm+
- Ni 4 ppm-
- Ni 6 ppm+
- Ni 6 ppm-





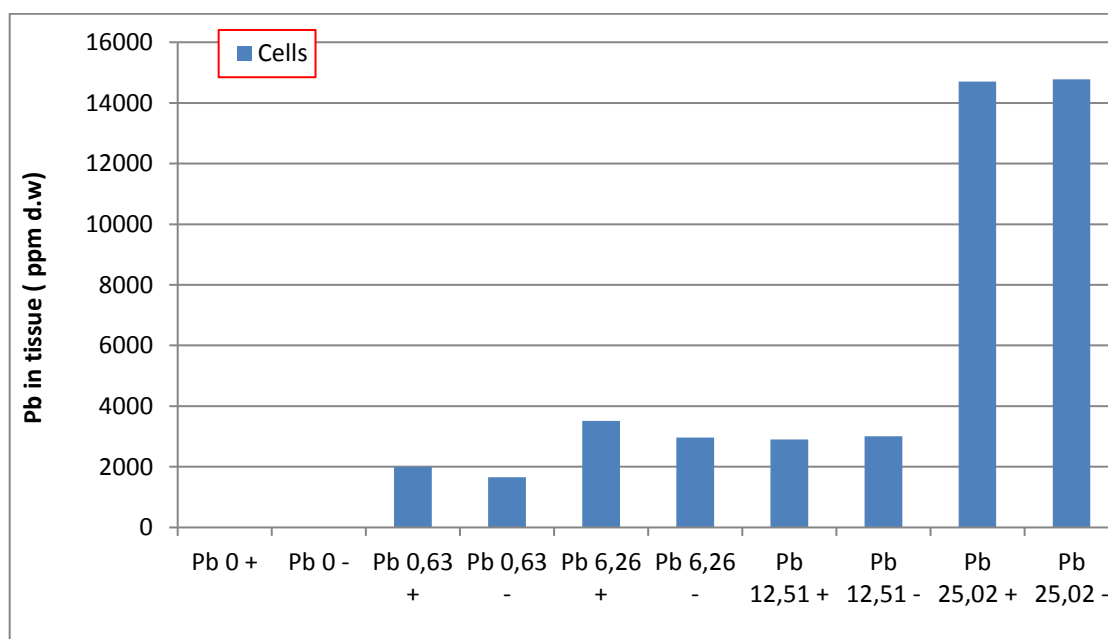
Τα δείγματα κυττάρων που χρησιμοποιήθηκαν για την ανάλυση του Καδμίου είναι:

- Cd 0 +
- Cd 0 -
- Cd 0.36+
- Cd 0.36-
- Cd 3.63+
- Cd 3.63-
- Cd 7.29+
- Cd 7.29



Τα δείγματα κυττάρων που χρησιμοποιήθηκαν για την ανάλυση του Μολύβδου είναι:

- Pb 0+
- Pb 0-
- Pb 0.63+
- Pb 0.63-
- Pb 6.26+
- Pb 6.26-
- Pb 12.51+
- Pb 12.51-
- Pb 25.02+
- Pb 25.02-



### **7.1.c. ΑΝΑΛΥΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ- ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ**

- Ο *Chlamydomonas Reinhardtii* που ήταν εμπλουτισμένος με Βαρέα μέταλλα, δεν εμφάνισε κάποια αλλαγή ή καθυστέρηση στην ανάπτυξή του. Κράτησε 5 ημέρες, όπως συμβαίνει και κανονικά στον *chlamydomonas reinhardtii* που χαρακτηρίζεται ως control.
- Το χρώμα των καλλιιεργειών που ήταν εμπλουτισμένες με Βαρέα μέταλλα, δεν εμφάνισαν κάποια διαφορά σε σχέση με το χρώμα της κανονικής καλλιέργειας του control.
- Τα κύτταρα του *Chlamydomonas reinhardtii* που ήταν εμπλουτισμένα με Βαρέα μέταλλα, κατά την μελέτη και παρατήρησή τους μέσω του μικροσκοπίου, εμφάνισαν μία πολύ μικρή αλλαγή ως προς το μέγεθος και το χρώμα τους σε σχέση με το control. Τα κύτταρα με τα Βαρέα μέταλλα, μέσα στο μικροσκόπιο είχαν ελάχιστα πιο ανοικτό χρώμα και το μέγεθός τους φαινόταν λιγάκι πιο μικρό.
- Ο *Chlamydomonas reinhardtii* έδειξε υψηλή ικανότητα συσσώρευσης στο Cd, Ni και Pb. Η σειρά συσσώρευσης των βαρέων μετάλλων στη μοριακή βάση είναι  $Ni < Cd < Pb$ .
- Τα κύτταρα του *Chlamydomonas reinhardtii* εμφανίζουν μικρή ανοχή στη ρύπανση του Νικελίου, σε σχέση με τη ρύπανση του καδμίου και του μολύβδου.
- Αν κοιτάξουμε το γράφημα Καδμίου στη συγκέντρωση Cd 3,63+ και Cd 3,63- τότε παρατηρούμε ότι η ράβδος στο Cd 3,63+ είναι μικρότερη σε σχέση με το Cd 3,63-. Γνωρίζουμε ότι με + συμβολίζονται τα δείγματα που έγινε αναδιασπορά με EDTA και με - αυτά χωρίς EDTA, που σημαίνει ότι μέσα στο κύτταρο έχει εισχωρήσει στον πυρήνα λιγότερη ποσότητα βαρέως μετάλλου σε σχέση με την ποσότητα του Καδμίου που υπάρχει συνολικά σε όλο το κύτταρο.
- Τα δείγματα με (-) παρουσιάζουν τη συνολική περιεκτικότητα σε βαρέα μέταλλα (απορροφημένη και εισαχθείσα), ενώ τα δείγματα με (+) παρουσιάζουν μόνο την εισαχθείσα περιεκτικότητα σε βαρέα μέταλλα.

## **7.2.a. (B) ΑΡΜΠΑΡΟΡΙΖΑ**

### **ΕΙΣΑΓΩΓΙΚΑ:**

Τα φυτά του *Pelargonium Graveolens* δημιουργήθηκαν από τις περικοπές ώριμων φυτών που καλλιεργήθηκαν στον χώρο του Ε.Θ.Ι.Α.Γ.Ε. (Ινστιτούτο Υποτροπικών Φυτών & Ελιάς), σε συνεργασία με δύο ερευνητές του ινστιτούτου. Μεταφέρθηκαν μέσα σε γλάστρες χωρητικότητας εδάφους 1 λίτρου, όπου διαφορετικές ποσότητες Ni,Cd και Pb (πίνακας 6.2) προστέθηκαν μέσω ποτίσματος με τη μορφή νιτρικών αλάτων και ομογενοποιήθηκαν με το έδαφος. Κάθε πειραματική συνθήκη επαναλήφθηκε τρεις φορές, δηλαδή η κάθε συνθήκη υπήρχε σε τρεις γλάστρες. Το πείραμα κράτησε από τον Ιούνιο μέχρι τον Αύγουστο 2016.

Τα επίπεδα των βαρέων μετάλλων που χρησιμοποιήθηκαν σε αυτήν τη μελέτη, δεν ήταν θανατηφόρα για τα φυτά (εκτός από την υψηλή συγκέντρωση του Νικελίου 1000ppm, το οποίο αποδείχθηκε), και οι επιπτώσεις στην ανάπτυξη καθώς και για τις άλλες παραμέτρους ποιότητας που εξετάστηκαν, ήταν ασήμαντες. Η περιεκτικότητα βαρέων μετάλλων στους διαφορετικούς ιστούς των τριών φυτών, κυμαίνεται από πολύ χαμηλά επίπεδα σε επίπεδα αρκετά υψηλότερα από τις μέγιστες αποδεκτές συγκεντρώσεις.

### **ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΥΛΙΚΑ**

Δείγματα συλλέχθηκαν δύο φορές μετά τη φύτευση σε μολυσμένο έδαφος, 3 εβδομάδες και 6 εβδομάδες αντίστοιχα. Τρία μέρη από τα φυτά εξετάστηκαν για περιεχόμενο βαρέων μετάλλων: φύλλα 3 εβδομάδων, φύλλα 6 εβδομάδων, ρίζες 6 εβδομάδων και βλαστοί 6 εβδομάδων.

Μετά την προσεκτική συλλογή τα δείγματα μπήκαν στο φούρνο ξήρανσης για 24 ώρες στους 50°C, ώστε να απομακρυνθεί κάθε ίχνος υγρασίας. Το ξηρό βάρος μετρήθηκε και στη συνέχεια φυλάχθηκαν σε θερμοκρασία δωματίου μέσα σε αεροστεγή δοχεία μέχρι την ανάλυση.

Control	Cd	Ni	Pb
	0 ppm	0 ppm	0 ppm
	3 ppm	50 ppm	200 ppm
	20 ppm	500 ppm	1000 ppm
	50 ppm	1000 ppm	2500 ppm

Πίνακας 7.4: Συγκεντρώσεις βαρέων μετάλλων που χρησιμοποιήθηκαν στο πείραμα

### 7.2.b. ΒΑΣΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΕΛΔΑΦΟΥΣ:

- pH : 7.00
- Πάστα: 1:2
- Ολικό CaCO<sub>3</sub>: 0,2 %
- Οργανική ουσία: % 2,71 Μέθοδος: Walkey-Black
- Ηλεκτρική Αγωγιμότητα : 0,180 dS/m
- Πάστα: 1:1

#### Μηχανική Σύσταση Εδάφους:

- Άμμος % 55,6
- Ιλύς % 29,6
- Άργιλλος % 14,8

Το έδαφός μας χαρακτηρίζεται: *Αμμοπηλώδες Μέσης σύστασης*

### ΘΡΕΠΤΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΕΛΔΑΦΟΥΣ:

- ❑ Νιτρικό Άζωτο: 10,96 mg/kg
  - ❑ Φόσφορος: 14,29 mg/kg Μέθοδος: Olsen
  - ❑ Κάλιο: 164 mg/kg
  - ❑ Ασβέστιο: 1392 mg/kg
  - ❑ Μαγνήσιο : 103 mg/kg
- } Εκχύλιση με οξικό Αμμώνιο

- ❑ **Σίδηρος:** 698 mg/kg
  - ❑ **Ψευδάργυρος:** 81,0 mg/kg
  - ❑ **Μαγγάνιο:** 32,4 mg/kg
  - ❑ **Χαλκός:** 39,3 mg/kg
- Εκχύλιση με DTPA

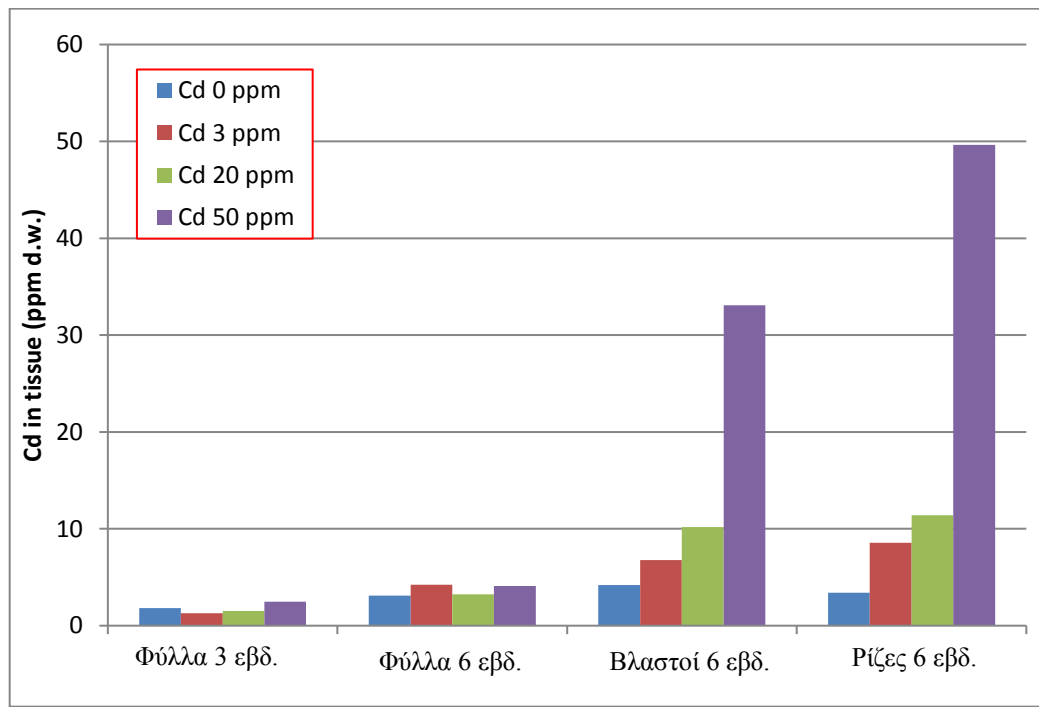
### **7.2.c. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ:**

- Τα δείγματα αυτά (φύλλα, ρίζες, βλαστοί), που είχαν υποστεί ξήρανση, κονιοροτοποιήθηκαν με τη βοήθεια πορσελάνινου γουδιού έως ότου να γίνουν σκόνη.
- Στη συνέχεια, τα δείγματα σκόνης τοποθετήθηκαν πάνω σε θερμαντικές πλάκες μέσα σε ειδικά κατασκευασμένες οβίδες από Teflon μαζί με 8mL πυκνό HNO<sub>3</sub>, για 24 ώρες στους 80° C, για να υποβληθούν στην διαδικασία της υγρής χώνευσης.
- Την επόμενη μέρα έγινε συλλογή των χωνευμένων δειγμάτων, τα οποία αραιώθηκαν στα 25 mL με απιονισμένο νερό και φιλτραρίστηκαν.
- Τέλος, εφαρμόστηκε φασματομετρία ατομικής απορρόφησης ώστε να προσδιοριστεί η περιεκτικότητά τους σε βαρέα μέταλλα.

## 7.2.d. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

### Για το Κάδμιο:

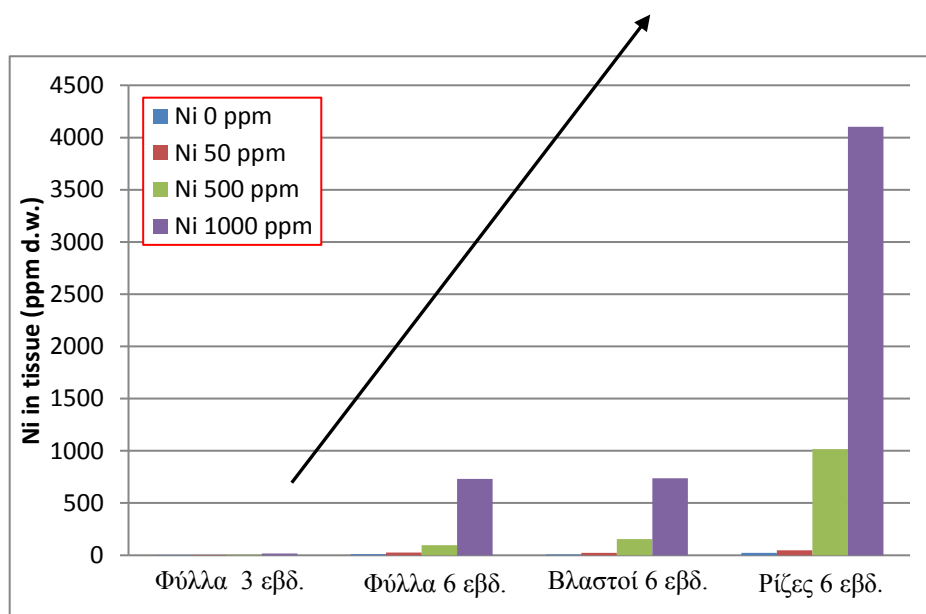
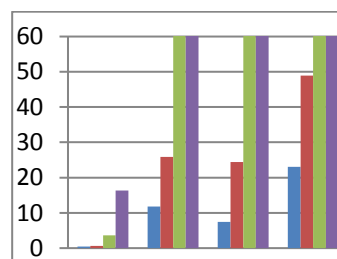
Cd				
Control	Φύλλα 3εβδ.	Φύλλα 6εβδ.	Βλαστοί 6εβδ.	Ρίζες 6εβδ.
Cd 0 ppm	1,8	3,1	4,2	3,4
Cd 3 ppm	1,3	4,2	6,8	8,6
Cd 20 ppm	1,5	3,2	10,1	11,4
Cd 50 ppm	2,5	4,1	33,1	49,6



Γράφημα 7.5: Η επίδραση των 4 διαφορετικών συγκεντρώσεων καδμίου στους διάφορους ιστούς της αρμπαρόριζας στις 3 και 6 εβδομάδες

**Για το Νικέλιο:**

Ni				
<b>Control</b>	<b>Φύλλα 3εβδ.</b>	<b>Φύλλα 6εβδ.</b>	<b>Βλαστοί 6εβδ.</b>	<b>Ρίζες 6εβδ.</b>
<b>Ni 0 ppm</b>	0,5	11,8	7,4	23,1
<b>Ni 50 ppm</b>	0,6	25,8	24,4	48,9
<b>Ni 500 ppm</b>	3,6	96,8	154,9	1015,9
<b>Ni 1000 ppm</b>	16,3	732,4	736,0	4103,4

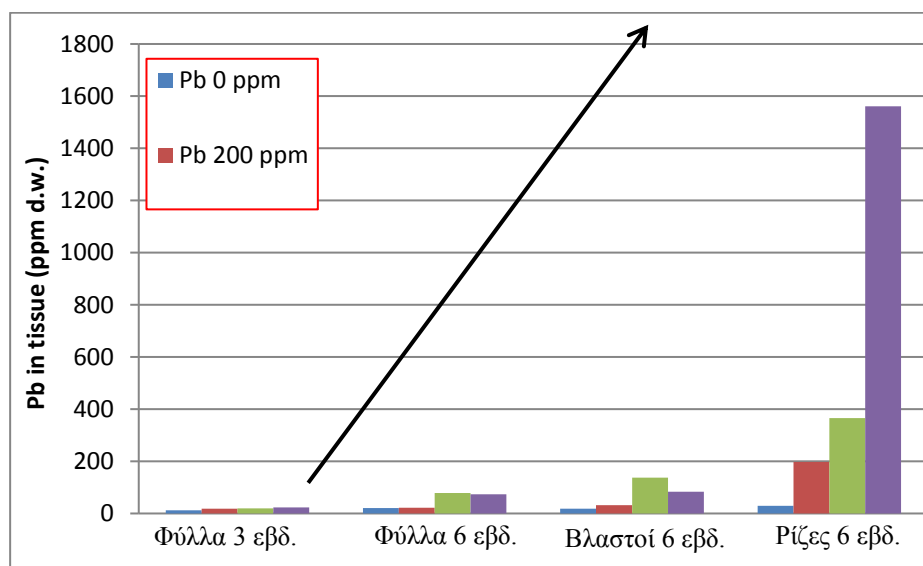
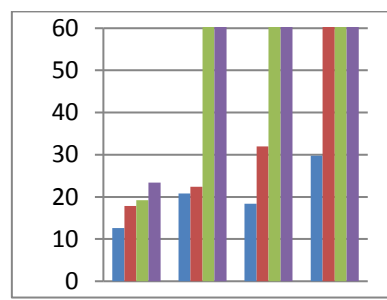


**Γράφημα 7.6:** Η επίδραση των 4 διαφορετικών συγκεντρώσεων νικελίου στους διάφορους ιστούς της αρπαρόριζας στις 3 και 6 εβδομάδες



**Για το Μόλυβδο:**

Pb				
Control	Φύλλα 3εβδ.	Φύλλα 6εβδ.	Βλαστοί 6εβδ.	Ρίζες 6εβδ.
Pb 0 ppm	12,6	20,8	18,4	29,7
Pb 200 ppm	17,8	22,4	32,0	198,0
Pb 1000 ppm	19,2	79,0	136,8	366,1
Pb 2500 ppm	23,4	73,0	83,1	1560,8



**Γράφημα 7.7:** Η επίδραση των 4 διαφορετικών συγκεντρώσεων μολύβδου στους διάφορους ιστούς της αρπαρόριζας στις 3 και 6 εβδομάδες

### **7.2.e. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ:**

- Όπως παρατηρούμε οι ρίζες της αρμπαρόριζας είναι ικανές να συσσωρεύουν βαρέα μέταλλα σε πολύ υψηλές συγκεντρώσεις συγκριτικά με τα φύλλα και τους βλαστούς.
- Η ανάπτυξη και άλλα μακροσκοπικά χαρακτηριστικά παρέμειναν ανεπηρέαστα από τη μόλυνση του εδάφους, (εκτός από την συγκέντρωση 1000 ppm Ni στο έδαφος που έκαψε το φυτό).
- Γενικά, ανάμεσα στο Cd, Pb και Ni η αρμπαρόριζα εμφανίζει μεγαλύτερη χωρητικότητα συσσώρευσης για το Ni.
- Τα φύλλα συσσωρεύουν τη μικρότερη ποσότητα βαρέων μετάλλων σε σχέση με τους βλαστούς και τις ρίζες.
- Σε αυτό το πείραμα, και τα τρία βαρέα μέταλλα συσσωρεύονται κυρίως στις ρίζες.
- Στο Ni τα φύλλα και οι ρίζες εμφανίζουν μεγαλύτερη συσσώρευση στην συγκέντρωση Ni 1000 σε σχέση με τις υπόλοιπες συγκεντρώσεις Νικελίου.

## **ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ:**

- Ποσοτική Χημική Ανάλυση, Daniel C.Harris, Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης
- Χημεία Περιβάλλοντος, Θ. Κουϊμτζή, Κ. Φυτιάνου, Κ. Σαμαρά- Κωνσταντίνου, University Studio Press
- Κελεπέρτζης Α. Εισαγωγή στην Γεωλογία Περιβάλλοντος. Τμήμα Γεωλογίας και Γεωπεριβάλλοντος. Πανεπιστήμιο Αθηνών.
- The Chlamydomonas Sourcebook Second Edition, Introduction to Chlamydomonas and Its Laboratory Use Volume 1, Elizabeth H. Harris, Academic Press.
- Αρχές Ενόργανης Ανάλυσης, Douglas A. Skoog, F.James Holler, Timothy A. Nieman, Εκδόσεις Κωσταράκης.
- Handbook on the Toxicology of metals, Third Edition, Gunnar F. Nordberg, Bruce A. Fowler, Monica Nordberg, Lars T. Friberg, Academic Press.
- Flatham , P. E., and Lanza, G. R. (1998). «Phytoremediation: Current reviews on an emerging technology». Journal of Soil Contamination.
- Cunningham, S. D., Anderson, T. A., Schwab, A. P., and Hsu, F. C. (1996). "Phytoremediation of soil contaminated with organic pollutants". Advances in Agronomy , Vol. 56, pp. 55-114.
- Schnoor, J. L., Licht, L. A., McCutcheon, S. C., Wolfe, N. L., and Carreira, L. H. (1995). "Phytoremediation of organic and nutrient contaminants". Environ. Sci. & Technol., Vol. 29, pp. 318A-323A.
- McCrath, S. P. (1998). Phytoextraction for soil remediation. In Plants that Hyperaccumulate Heavy Metals: their role in Phytoremediation, Microbiology, Archaeology, Mineral Exploration and Phytomining, R. R. Brooks, ed. (New York: CAB International), pp. 261-287.
- Ζαμπετάκης Α.Λ., Μανιός Β.Θ., Καρατζας Γ. (2005), Καινοτόμες μέθοδοι εξυγίανσης ρυπασμένων εδαφών και υπόγειων υδάτων. Η τεχνολογία της φυτοεξυγίανσης.
- Walton, B. T., Guthrie, E. A., and Hoyleman, A. M. (1994). "Toxicant degradation in the rizosphere". In Bioremediation through rhizosphere technology, T. A. Anderson and J. R. Coats, eds.: (ACS Symposium Series), pp. 11-26.
- Miller, P. G. (1996). "Phytoremediation", Ground Water Remediation Technologies Analysis Center.

- Passow, H. Rothstein, A and Clarteson, T.W. 1961. The general pharmacology and heavy metals, *Pharmac. Rev.*, 13: 185-224
- Antonovics, J, Bradshaw, A D, and Turner, R G. 1971. Heavy metal tolerance in plants. *Adv Ecol Res*, 7, 1–85.
- Raskin, I., Salt, D., Kramer, U., and Schulman, R. (1998). "Phytoremediation: Green and Clean". *Acta Horticulture*, Vol. 457, pp. 329-331.
- Cunningham, S. D., Anderson, T. A., Schwab, A. P., and Hsu, F. C. (1996). "Phytoremediation of soil contaminated with organic pollutants". *Advances in Agronomy* , Vol. 56, pp. 55-114.
- Brooks, R. R. (1998). Plants that hyperaccumulate heavy metals. Their role in Phytoremediation Microbiology, Archaeology and Phytomining, CAB International).

## ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ/ ΣΥΝΔΕΣΕΙΣ:

- <http://www.iatronet.gr/ygeia/perivallon-ygeia/article/16752/kindynos-apo-varea-metalla.html> (σύνδεση στις 20/10/16)
- [http://14gym-laris.lar.sch.gr/drupal/sites/default/files/ergasies\\_mathiton/Barea%20metalla%20kai%20rypansh%20periballontos.pdf](http://14gym-laris.lar.sch.gr/drupal/sites/default/files/ergasies_mathiton/Barea%20metalla%20kai%20rypansh%20periballontos.pdf) (σύνδεση στις 20/10/16)
- [http://www.med.or.jp/english/pdf/2006\\_03/112\\_118.pdf](http://www.med.or.jp/english/pdf/2006_03/112_118.pdf) (σύνδεση στις 22/10/16)
- <http://www.rodiaiki.gr/article/47161/barea-metalla-kai-thalassio-periballon> (σύνδεση στις 22/10/16)
- <http://www.greenmed.gr/arthra/toxika-varea-metalla-ke-i-epiptosi-tous-stin-ygeia.html> (σύνδεση στις 28/11/16)
- <http://science.agrigate.gr/futoeksigiansi-phytoremediation-ti-einai-ti-prosferei-pws-efarmozetai/> (σύνδεση 20/02/2017)
- [file:///C:/Users/user/Downloads/PERIBALLON\\_TELIKO\\_LOW.pdf](file:///C:/Users/user/Downloads/PERIBALLON_TELIKO_LOW.pdf) (σύνδεση στις 25/02/2017)
- <https://www.inedivim.gr/images/ng-egkykpolaideia/ng-egkykpolaideia-perivalon-5-ripansi.pdf> (σύνδεση 25/02/2017)
- <http://www.lifesos.eu/index.php/pollution> (σύνδεση 06/03/2017)
- <http://www.greenmed.gr/arthra/toxika-varea-metalla-ke-i-epiptosi-tous-stin-ygeia.html>
- <http://www.metamicrobe.com/chlamy/> (σύνδεση 20/12/2016)
- [https://el.wikipedia.org/wiki/%CE%A0%CE%B5%CE%BB%CE%B1%CF%81%CE%B3%CF%8C%CE%BD%CE%B9%CE%BF\\_%CF%84%CE%BF\\_%CE%B2%CE%B1%CF%81%CF%8D%CE%BF%CF%83%CE%BC%CE%BF](https://el.wikipedia.org/wiki/%CE%A0%CE%B5%CE%BB%CE%B1%CF%81%CE%B3%CF%8C%CE%BD%CE%B9%CE%BF_%CF%84%CE%BF_%CE%B2%CE%B1%CF%81%CF%8D%CE%BF%CF%83%CE%BC%CE%BF) (σύνδεση 15/10/16)
- [http://meletw.blogspot.gr/2013/05/blog-post\\_29.html](http://meletw.blogspot.gr/2013/05/blog-post_29.html) (σύνδεση 20/10/16)
- [https://master-lista.blogspot.gr/2015/04/blog-post\\_753.html](https://master-lista.blogspot.gr/2015/04/blog-post_753.html) (σύνδεση 5/09/2016)
- [http://www.ftiaxno.gr/2013/01/blog-post\\_6224.html](http://www.ftiaxno.gr/2013/01/blog-post_6224.html) (σύνδεση 16/09/2016)
- <http://www.slideshare.net/GymnasioAssirou/ss-43592685> (σύνδεση 20/09/2016)
- [http://www.trikalanews.gr/arthra\\_apoceis\\_epistoles/barea\\_metalla\\_kai\\_rupansi\\_tou\\_edafous.html](http://www.trikalanews.gr/arthra_apoceis_epistoles/barea_metalla_kai_rupansi_tou_edafous.html) (σύνδεση 20/09/2016)
- [http://library.tee.gr/digital/m2045/m2045\\_zabetakis1.pdf](http://library.tee.gr/digital/m2045/m2045_zabetakis1.pdf) (σύνδεση 10/11/2016)
- <https://www.pemptousia.gr/2011/06/edafos-varia-metalla-fita/> (σύνδεση 15/11/2016)