

ΜΕΡΟΣ Ι

**ΘΕΩΡΗΤΙΚΕΣ
ΓΝΩΣΕΙΣ**

1.1. ΠΟΙΟΤΙΚΗ και ΠΟΣΟΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΤΙΚΗ ΧΗΜΕΙΑ

Η Αναλυτική Χημεία, από το ξεκίνημα της ανάπτυξής της σαν χωριστός κλάδος της Χημείας, διαχωρίστηκε σε δύο τομείς, την **Ποιοτική** και την **Ποσοτική Αναλυτική Χημεία**.

(i) Η **ποιοτική αναλυτική χημεία** ασχολείται με την ανίχνευση και ταυτοποίηση των συστατικών (συνήθως κατιόντων και ανιόντων) τα οποία περιέχονται στο εξεταζόμενο δείγμα.

Η ανίχνευση των κατιόντων στηρίζεται στο διαχωρισμό τους σε ομάδες με βάση ένα κοινό αντιδραστήριο με το οποίο αντιδρούν όλα τα κατιόντα της ομάδας (καταβυθίζονται υπό μορφή ιζήματος).

Τα ανιόντα δεν διαχωρίζονται σε ομάδες, αλλά ανιχνεύονται με ειδικές αντιδράσεις, κάθε μία από τις οποίες είναι χαρακτηριστική για το αντίστοιχο ανιόν.

(ii) Η **ποσοτική αναλυτική χημεία** ασχολείται με τον ακριβή καθορισμό της περιεκτικότητας των διαφόρων συστατικών που περιέχονται στο εξεταζόμενο δείγμα. Είναι η κύρια αποστολή της Αναλυτικής Χημείας με την οποία θα ασχοληθούμε διεξοδικά στα επόμενα.

Ιστορικά, η ποσοτική χημική ανάλυση αρχίζει με τη χρήση του ζυγού και κατ' επέκταση με την ανάπτυξη της σταθμικής ανάλυσης. Στη συνέχεια εμφανίζονται τα βαθμολογημένα γυάλινα σκεύη, τα οποία οδήγησαν στην ογκομετρική ανάλυση.

Σήμερα, με την τρομακτική ανάπτυξη της τεχνολογίας και της ηλεκτρονικής, τα όρια διαχωρισμού των δύο αυτών τομέων είναι σχετικά ασαφή, δεδομένου ότι πολύ συχνά η ανίχνευση μίας ουσίας γίνεται σχεδόν ταυτόχρονα με τον προσδιορισμό της περιεχόμενης ποσότητας αυτής στο εξεταζόμενο δείγμα.

1.2. ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ των ΑΝΑΛΥΤΙΚΩΝ ΜΕΘΟΔΩΝ

Οι ποσοτικές αναλυτικές μέθοδοι διακρίνονται σε κατηγορίες σύμφωνα με τα παρακάτω κριτήρια:

- α) Με βάση την ποσότητα του προς ανάλυση εξεταζόμενου δείγματος έχουμε:
- (i) μικρομέθοδοι, για δείγματα με ποσότητα από 1–10 mg ή όγκου < 50 mL
 - (ii) ημιμικρομέθοδοι, για ποσότητα δείγματος 10–100 mg ή όγκου 50–100 mL
 - (iii) μακρομέθοδοι, για ποσότητα δείγματος >100 mg ή όγκου > 100 mL.
- β) Ανάλογα με την εφαρμοζόμενη διαδικασία και την τεχνική της μεθόδου διακρίνουμε:

(i) **Ογκομετρικές μέθοδοι ή Ογκομετρική ανάλυση**, στην οποία ο προσδιορισμός της διαλυμένης ουσίας στο άγνωστο διάλυμα, γίνεται με τη διεξαγωγή της ογκομέτρησης (titration), δηλαδή με την ακριβή μέτρηση του όγκου ενός διαλύματος γνωστής συγκέντρωσης, που απαιτείται για να αντιδράσει ποσοτικά με την προσδιοριζόμενη ουσία.

Η προσθήκη του **πρότυπου** (γνωστού) διαλύματος γίνεται από ειδικό γυάλινο σκεύος, την **προχοίδα**, που είναι βαθμολογημένη για εύκολη ανάγνωση του όγκου. Το τέλος της ογκομέτρησης (τελικό σημείο αυτής) καθορίζεται είτε από μία ορατή αλλαγή του κατάλληλου **χημικού δείκτη** που προστίθεται για το σκοπό αυτό, είτε από τη μέτρηση μίας φυσικής ιδιότητας του άγνωστου διαλύματος, όπως το pH, η αγωγιμότητα, κ.ά.

Ανάλογα με το είδος της χημικής αντίδρασης, που λαμβάνει χώρα κατά την ογκομέτρηση, διακρίνονται τα παρακάτω είδη ογκομετρήσεων:

- 1) ογκομετρήσεις εξουδετέρωσης
- 2) » καθίζησης ή σχηματισμού ιζήματος
- 3) » οξειδοαναγωγής
- 4) συμπλοκομετρικές ογκομετρήσεις

(ii) **Ενόργανες μέθοδοι ή Ενόργανη ανάλυση**, στην οποία ο προσδιορισμός ολοκληρώνεται με τη χρήση **ειδικού οργάνου**, με το οποίο μετριέται η μεταβολή μίας φυσικής ιδιότητας του υπό ανάλυση διαλύματος. Η μετρούμενη ιδιότητα πρέπει να μεταβάλλεται αναλογικά με τη συγκέντρωση της προσδιοριζόμενης ουσίας στο εξεταζόμενο διάλυμα.

Με την αλματώδη εξέλιξη της τεχνολογίας και της επιστήμης των ηλεκτρονικών τις τελευταίες δεκαετίες η ενόργανη ανάλυση έχει εκτοπίσει σε μεγάλο βαθμό τις άλλες δύο κατηγορίες ανάλυσης, λόγω των πολλών πλεονεκτημάτων της, με μοναδικό ίσως μειονέκτημα το υψηλό σχετικά κόστος των περισσότερων ειδικών οργάνων. Τα τελευταία χρόνια η Ενόργανη ανάλυση εξετάζεται από πολλούς ως **ανεξάρτητος κλάδος** της Αναλυτικής Χημείας λόγω της πληθώρας των εφαρμογών της.

Τα πιο σημαντικά όργανα που εφαρμόζονται στα τρόφιμα και τη διατροφή είναι το διαθλασίμετρο, το φασματοφωτόμετρο, το πολωσίμετρο, το φθορισμόμετρο, το φλογοφωτόμετρο, η ατομική απορρόφηση, τα εκλεκτικά ηλεκτρόδια, κ.ά.

(iii) **Σταθμικές μέθοδοι ή Σταθμική ανάλυση**, στην οποία ο προσδιορισμός της ουσίας γίνεται με τη **βοήθεια του ζυγού** (των σταθμών), αφού προηγηθεί με κατάλληλη διαδικασία ο **διαχωρισμός** της σε μία χημικά καθαρή μορφή.

Η σταθμική ανάλυση, ανάλογα με τη **διαδικασία** που εφαρμόζεται για το **διαχωρισμό** της προσδιοριζόμενης ουσίας σε χημικά καθαρή μορφή, διακρίνεται στις κατηγορίες (βλ. Κεφ.11):

(α) χημικής καθίζησης, (β) ηλεκτρολυτικής απόθεσης, (γ) έκλυσης αερίου.

Τα τελευταία χρόνια οι σταθμικές μέθοδοι έχουν εκτοπισθεί σε μεγάλο βαθμό από τις δύο άλλες κατηγορίες, κυρίως λόγω του μειονεκτήματος που έχουν, να απαιτούν **σχετικά μεγάλο χρόνο** για την ολοκλήρωσή τους.

1.3. ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΚΑΙ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΑ ΣΦΑΛΜΑΤΑ

Σε κάθε περίπτωση επιστημονικής μέτρησης, επομένως και στην τιμή που λαμβάνεται από μία χημική ανάλυση, καταβάλλεται προσπάθεια να είναι όσο το δυνατόν πιο αξιόπιστη, δηλαδή πιο κοντά στην αληθινή τιμή του μετρούμενου μεγέθους. Για την ακρίβεια των μετρήσεων χρησιμοποιούνται συνήθως οι όροι:

(i) **Απόλυτο σφάλμα** ενός προσδιορισμού είναι η διαφορά μεταξύ της μετρηθείσας τιμής και της αληθινής ή πιο πιθανής τιμής της μετρούμενης ποσότητας.

(ii) **Σχετικό σφάλμα** μίας μέτρησης είναι το ηλίκο του απόλυτου σφάλματος διά της αληθινής ή πιο πιθανής τιμής του μετρούμενου μεγέθους και εκφράζεται συνήθως επί % ή επί ‰.

Η ακρίβεια (accuracy) μίας χημικής ανάλυσης αναφέρεται στη συμφωνία μεταξύ του αποτελέσματος και της αληθινής ή πιο πιθανής τιμής. Μέτρο της ακρίβειας αποτελεί το σχετικό σφάλμα μέτρησης και στις συνηθισμένες χημικές αναλύσεις κυμαίνεται από 1,0 έως 2,0‰

Επαναληψιμότητα (precision) είναι η ικανότητα της μεθόδου να δίνει ίδια αποτελέσματα κατά την επανάληψη της ανάλυσης με ίδια ή διαφορετική ποσότητα δείγματος και έχει ως μέτρο την **τυπική απόκλιση** (standard deviation).

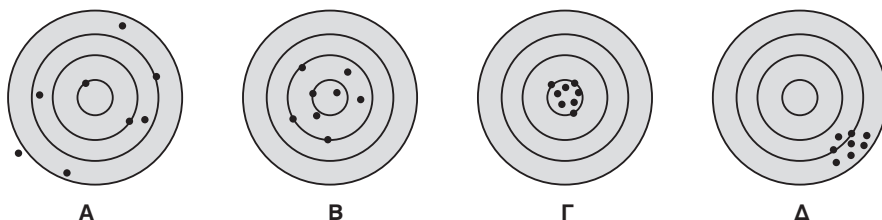
Η ακρίβεια και η επαναληψιμότητα χρησιμοποιούνται από κοινού σαν κριτήριο της αξιοπιστίας μιας μεθόδου. Αν, π.χ. οι στόχοι της Εικόνας 1.1 αντιστοιχούν σε 4 διαφορετικές αναλυτικές μεθόδους, μόνον η Γ μέθοδος είναι αξιόπιστη.

Τα σφάλματα μιας αναλυτικής μεθόδου διακρίνονται στα:

α) καθορισμένα ή συστηματικά σφάλματα που επιδρούν θετικά ή αρνητικά και συνήθως προσδιορίζονται και εξαλείφονται. Περιλαμβάνουν τα:

(i) **σφάλματα μεθόδου**: υπάρχουν στη μέθοδο και συνήθως δεν μπορούν να εξαλειφθούν, π.χ. ατελής αντίδραση, συγκαθίζηση προσμίξεων, μη σύμπτωση αλλαγής χρώματος με το ισοδύναμο σημείο της ογκομέτρησης.

(ii) **σφάλματα οργάνου**: χρήση οργάνου με λάθος βαθμολόγηση (ζυγός, προχοΐδα, κλπ.) ή ογκομετρικά όργανα με μόνιμες παραμορφώσεις.



Μέθοδος Α: Κακή ακρίβεια - Κακή επαναληψιμότητα

Μέθοδος Β: Άριστη ακρίβεια - Κακή επαναληψιμότητα

Μέθοδος Γ: Άριστη ακρίβεια - Άριστη επαναληψιμότητα

Μέθοδος Δ: Κακή ακρίβεια - Άριστη επαναληψιμότητα

Εικόνα 1.1. Εξήγηση της αξιοπιστίας μιας αναλυτικής μεθόδου

(iii) **προσωπικά σφάλματα:** αδυναμίες του αναλυτή, κακή εκτέλεση του πειράματος (κακή δειγματοληψία, διαφορές θερμοκρασίας, κ.ά.), κακή ανάγνωση του μηνίσκου σε προχοΐδα, επιμόλυνση του δείγματος από μολυσμένα αντιδραστήρια ή σκεύη.

β) **τυχαία σφάλματα**, τα οποία δεν προέρχονται από μόνιμες αιτίες. Οι διακυμάνσεις των πειραματικών συνθηκών (π.χ. θερμοκρασία) και διάφοροι άλλοι παράγοντες επιδρούν ακανόνιστα θετικά ή αρνητικά στο αποτέλεσμα. Τα τυχαία σφάλματα εξουδετερώνονται με αύξηση του αριθμού των μετρήσεων, αλλά είναι αδύνατη η πλήρης εξάλειψή τους.

1.4. ΠΡΟΚΑΤΕΡΓΑΣΙΑ ΥΛΙΚΟΥ ΓΙΑ ΧΗΜΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Τα υλικά που χρησιμοποιούνται για χημική ανάλυση στον τομέα των τροφίμων και της διατροφής ανήκουν συνήθως σε μία από τις παρακάτω κατηγορίες:

- (i) τρόφιμα και παρασκευάσματα αυτών ή ζωοτροφές
- (ii) βιολογικά υγρά (αίμα, ορός, ούρα, κλπ).
- (iii) φαρμακευτικά ή βιταμινούχα παρασκευάσματα (χάπια, αμπούλες, κλπ).

Πριν από την εφαρμογή της κατάλληλης αναλυτικής μεθόδου, το υλικό υφίσταται ορισμένες απαραίτητες προκατεργασίες, όπως:

- (i) **προκαταρκτική εξέταση** (χρώμα, οσμή, κλπ)
- (ii) **ομογενοποίηση** του δείγματος, με σκοπό τη σωστή δειγματοληψία.
- (iii) **ποιοτική χημική ανάλυση** (εφαρμόζεται σπάνια στα τρόφιμα)
- (iv) **ξήρανση** του δείγματος (απομάκρυνση υγρασίας), εκτός αν η προσδιοριζόμενη ουσία είναι ευαίσθητη στη θέρμανση (π.χ. βιταμίνες).
- (v) **ζύγιση και διαλυτοποίηση** ή **πέψη** του δείγματος

Τονίζεται ότι οι παραπάνω προκατεργασίες **δεν εφαρμόζονται** υποχρεωτικά σε

όλα τα είδη των δειγμάτων, αλλά ορισμένες από αυτές μπορεί να μη γίνουν, ανάλογα με το είδος του δείγματος και το προσδιοριζόμενο συστατικό ή ακόμη να αλλάξει η σειρά διεξαγωγής τους.

1.5. ΔΙΑΛΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥ ΑΓΝΩΣΤΟΥ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ

Η επιτυχία και η αξιοπιστία μιας χημικής ανάλυσης εξαρτάται σε πολύ μεγάλο βαθμό από τη σωστή **δειγματοληψία**. Αυτή έχει σα βασικό σκοπό να ληφθεί από το προς εξέταση μεγαλοδείγμα το πιο αντιπροσωπευτικό, ως αναφορά τη σύσταση, δείγμα προς ανάλυση.

Η σωστή δειγματοληψία και ο τρόπος που θα γίνει, εξαρτάται από το αν το δείγμα είναι **ομογενές** (έχει την ίδια σύσταση και τις ίδιες ιδιότητες σε όλη του τη μάζα) ή **ετερογενές**. Συνήθως, ομογενή θεωρούνται τα υγρά δείγματα (γάλα, λάδια, ορός, κλπ), τα οποία χρειάζονται μόνο μία καλή ανάδευση πριν από τη δειγματοληψία.

Τα **ετερογενή** δείγματα, πριν από τη δειγματοληψία, υποβάλλονται σε κατάλληλη **διαδικασία ομογενοποίησής τους**, όπως:

- α) τα **στερεά δείγματα** (κοκκώδη υλικά, τρόφιμα, χάπια, κλπ) υφίστανται λεπτό άλεσμα σε μύλο ή κονιοποιούνται σε γουδί πορσελάνης.
- β) τα **ημιστερεά δείγματα** (βούτυρα, λίπη, κλπ) μετατρέπονται σε υγρή μορφή με ελαφρά θέρμανση και ακολουθεί καλή ανάδευση.
- γ) τα **φρούτα, λαχανικά, κρέατα, ιχθυρά**, αφού ληφθεί μία σχετικά μεγάλη ποσότητα, συνήθως, μετατρέπονται σε «πούλπα» με πολτοποιητή (blender) και ακολούθως υποβάλλονται στη διαδικασία της εκχύλισης ή της πέψης (βλ. παρακάτω).

Μετά τη δειγματοληψία και την **ξήρανση** του δείγματος (εφόσον μπορεί να γίνει), **ζυγίζεται** κατάλληλη ποσότητα αυτού για την **παρασκευή του άγνωστου διαλύματος**. Η διαδικασία διαλυτοποίησης εξαρτάται από το **είδος του προσδιοριζόμενου συστατικού**. Γενικά, διακρίνουμε **2 κατηγορίες**:

- α) Για τον προσδιορισμό των **βασικών διατροφικών παραμέτρων** στα τρόφιμα (λίπη, υδατάνθρακες, πρωτεΐνες, βιταμίνες, κλπ.), το ζυγισθέν δείγμα υποβάλλεται στη διαδικασία της **εκχύλισης**, δηλαδή το δείγμα κατεργάζεται με κατάλληλο διαλύτη (συνήθως οργανικό), που παραλαμβάνει (διαλυτοποιεί) την προσδιοριζόμενη ουσία και προκύπτει το **εκχύλισμα** (άγνωστο διάλυμα), ενώ το δείγμα που απομένει αποτελεί το **υπόλειμμα της εκχύλισης**.
- β) Για τον προσδιορισμό **μόνον ανόργανων συστατικών**, όπως μέταλλα και ιχνοστοιχεία, γίνεται η διαδικασία ξηρής ή υγρής πέψης του δείγματος.

Ξηρή πέψη: ζυγισμένη ποσότητα τροφίμου ή άλλου υλικού υποβάλλεται σε προσεκτική **αποτέφρωση** στους 500–600 °C μέχρι να ληφθεί λευκή ή ελαφρά γκρίζα τέφρα (καύση όλων των οργανικών ενώσεων). Η διαλυτοποίηση της τέφρας γίνεται με προσθήκη διαλύματος πυκνού οξέος (συνήθως HCl ή HNO₃ ή μίγμα αυτών) και κάποι-

ας οξειδωτικής ουσίας, όπως το υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2) ή το υπερχλωρικό οξύ (HClO_4).

Υγρή πέψη: στο ζυγισμένο δείγμα προστίθεται μικρή ποσότητα πυκνού οξέος (HNO_3 ή H_2SO_4) και θερμαίνεται προσεκτικά σε αμμόλουτρο με περιοδική προσθήκη οξειδωτικού (H_2O_2 ή HClO_4), μέχρι να ληφθεί διαυγές διάλυμα. Σήμερα, η υγρή πέψη μπορεί να γίνει με ασφάλεια (χωρίς κίνδυνο εκρήξεων) στους **χωνευτές μικροκυμάτων**, που είναι ειδικές συσκευές, στις οποίες το δείγμα και το οξύ τοποθετούνται σε αυτόκλειστες φιάλες από τεφλόν, οι οποίες θερμαίνονται υπό πίεση με τη βοήθεια **μικροκυμάτων**.

Σε κάθε περίπτωση, το διάλυμα του εξεταζόμενου δείγματος αραιώνεται με απεσταγμένο νερό σε ογκομετρική φιάλη κατάλληλου όγκου (ανάλογα με την αναμενόμενη περιεκτικότητά του) και μετατρέπεται στο **τελικό άγνωστο διάλυμα**. Σε αυτό θα **εφαρμόσουμε την κατάλληλη αναλυτική μέθοδο** για να προσδιορίσουμε τη συγκέντρωσή του (περιεκτικότητα) σε μία ή περισσότερες ουσίες.