



ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΟΡΓΑΝΩΝ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΥ

Προδρόμου Ι. Ιορδανίδη
ΕΝΤΕΤΑΛΜΕΝΟΥ ΥΦΗΓΗΤΟΥ Ε.Μ.Π.
Αθ. Γεροχρήστου - Ζορμπά
ΦΑΡΜΑΚΟΠΟΙΟΥ





1954

ΙΔΡΥΜΑ ΕΥΓΕΝΙΔΟΥ
ΧΡΥΣΟΥΝ ΜΕΤΑΛΛΙΟΝ ΑΚΑΔΗΜΙΑΣ ΑΘΗΝΩΝ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ ΙΔΡΥΜΑΤΟΣ ΕΥΓΕΝΙΔΟΥ

Ο Ευγένιος Ευγενίδης, ο ιδρυτής και χορηγός του «Ιδρύματος Ευγενίδου», πολύ νωρίς πρόβλεψε και σχημάτισε την πεποίθηση ότι η άρτια κατάρτιση των τεχνικών μας, σε συνδυασμό με την εθνική αγωγή, θα ήταν αναγκαίος και αποφασιστικός παράγοντας της προόδου του Έθνους μας.

Την πεποίθησή του αυτή ο Ευγενίδης εκδήλωσε με τη γενναιόφρονα πράξη ευεργεσίας, να κληροδοτήσει σεβαστό ποσό για τη σύσταση Ιδρύματος που θα είχε σκοπό να συμβάλλει στην τεχνική εκπαίδευση των νέων της Ελλάδας.

Έτσι, το Φεβρουάριο του 1956 συστήθηκε το «Ίδρυμα Ευγενίδου», του οποίου τη διοίκηση ανέλαβε η αδελφή του κυρία Μαρ. Σίμου, σύμφωνα με την επιθυμία του διαθέτη.

Από το 1956 μέχρι σήμερα η συμβολή του Ιδρύματος στην τεχνική εκπαίδευση πραγματοποιείται με διάφορες δραστηριότητες. Όμως απ' αυτές η σημαντικότερη, που κρίθηκε από την αρχή ως πρώτης ανάγκης, είναι η έκδοση βιβλίων για τους μαθητές των τεχνικών σχολών.

Μέχρι σήμερα εκδόθηκαν εκατοντάδες τόμοι βιβλίων, που έχουν διατεθεί σε πολλά εκατομμύρια τεύχη. Τα βιβλία αυτά κάλυπταν ή καλύπτουν ανάγκες των Κατωτέρων και Μέσων Τεχνικών Σχολών του Υπ. Παιδείας, των Σχολών του Οργανισμού Απασχολήσεως Εργατικού Δυναμικού (ΟΑΕΔ), των Τεχνικών και Επαγγελματικών Λυκείων, των Τεχνικών Επαγγελματικών Σχολών και των Δημοσίων Σχολών Εμπορικού Ναυτικού.

Μοναδική φροντίδα του Ιδρύματος σ' αυτή την εκδοτική του προσπάθεια ήταν και είναι η ποιότητα των βιβλίων, από άποψη όχι μόνον επιστημονική, παιδαγωγική και γλωσσική, αλλά και από άποψη εμφανίσεως, ώστε το βιβλίο να αγαπηθεί από τους νέους.

Για την επιστημονική και παιδαγωγική ποιότητα των βιβλίων τα κείμενα υποθάλλονται σε πολλές επεξεργασίες και βελτιώνονται πριν από κάθε έκδοση.

Ιδιαίτερη σημασία απέδωσε το Ίδρυμα από την αρχή στην ποιότητα των βιβλίων από γλωσσική άποψη, γιατί πιστεύει ότι και τα τεχνικά βιβλία, όταν είναι γραμμένα σε γλώσσα άρτια και ομοιόμορφη αλλά και κατάλληλη για τη στάθμη των μαθητών, μπορούν να συμβάλλουν στη γλωσσική διαπαιδαγώγηση των μαθητών.

Έτσι, με απόφαση που πάρθηκε ήδη από το 1956 όλα τα βιβλία της Βιβλιοθήκης του Τεχνίτη, δηλαδή τα βιβλία για τις Κατώτερες Τεχνικές Σχολές, όπως αργότερα και για τις Σχολές του ΟΑΕΔ, ήταν γραμμένα σε γλώσσα δημοτική με βάση τη γραμματική του Τριανταφυλλίδη, ενώ όλα τα άλλα βιβλία ήταν γραμμένα στην απλή καθαρεύουσα. Σήμερα ακολουθείται η γραμματική που διδάσκεται στα σχολεία της δευτεροβάθμιας εκπαίδευσεως. Η γλωσσική

επεξεργασία των βιθλίων γίνεται από φιλολόγους του Ιδρύματος και έτσι εξασφαλίζεται η ενιαία σύνταξη και ορολογία κάθε κατηγορίας βιθλίων.

Η ποιότητα του χαρτιού, το είδος των τυπογραφικών στοιχείων, τα σωστά σχήματα και η καλαίσθητη σελιδοποίηση, το εξώφυλλο και το μέγεθος του βιθλίου, περιλαμβάνονται και αυτά στις φροντίδες του Ιδρύματος.

Το Ίδρυμα θεώρησε ότι είναι υποχρέωσή του, σύμφωνα με το πνεύμα του ιδρυτή του, να θέσει στη διάθεση του Κράτους όλη αυτή την πείρα του των 20 ετών, αναλαμβάνοντας το 1978 και την έκδοση των βιθλίων για τις νέες Τεχνικές Επαγγελματικές Σχολές και τα νέα Τεχνικά και Επαγγελματικά Λύκεια, σύμφωνα με τα εγκεκριμένα Αναλυτικά Προγράμματα του Π.Ι.

ΕΠΙΤΡΟΠΗ ΕΚΔΟΣΕΩΝ ΙΔΡΥΜΑΤΟΣ ΕΥΓΕΝΙΔΟΥ

Μιχαήλ Αγγελόπουλος, ομ. καθηγητής ΕΜΠ, Πρόεδρος.

**Αλέξανδρος Σταυρόπουλος, ομ. Καθηγητής Πανεπιστημίου Πειραιώς, Αντιπρόεδρος.
Ιωάννης Τεγόπουλος, καθηγητής ΕΜΠ.**

Σταμάτης Παλαιοκρασάς, Ηλεκτρολόγος Μηχανικός, Σύμβουλος Παιδαγωγικού Ινστιτούτου.

Λογοθέτης Αντώνης, Δ/ντής Σπ. Δευτ. Εκπαιδεύσεως ΥΠΕΠΘ.

**Σύμβουλος εκδόσεων του Ιδρύματος Κ.Α. Μανάφης, καθηγ. Φιλ. Σχολής Παν/μίου Αθηνών.
Γραμματέας της Επιτροπής, Γεώργιος Ανδρεάκος.**

Διατελέσαντα μέλη ή σύμβουλοι της Επιτροπής

Γεώργιος Κακριδής (1955-1959) Καθηγητής ΕΜΠ, Άγγελος Καλογεράς (1957-1970) Καθηγητής ΕΜΠ, Δημήτριος Νιάνιας (1957-1965) Καθηγητής ΕΜΠ, Μιχαήλ Σπετσιέρης (1956-1959), Νικόλαος Βασιώτης (1960-1967), Θεόδωρος Κουζέλης (1968-1976) Μηχ. Ηλ. ΕΜΠ, Παναγιώτης Χατζηιωάννου (1977-1982) Μηχ. Ηλ. ΕΜΠ, Αλέξανδρος Ι. Παππάς (1955-1983) Καθηγητής ΕΜΠ, Χρυσόστομος Καρδουνίδης (1955-1984) Μηχ. Ηλ. ΕΜΠ, Γεώργιος Ρούσσος (1970-1987) Χημ.-Μηχ. ΕΜΠ, Δρ. Θεοδόσιος Παπαθεοδοσίου (1982-1984) Δ/ντής Σπουδών Δευτεροβάθμιας Εκπαιδεύσεως ΥΠΕΠΘ, Ιγνάτιος Χατζηευστρατίου (1985-1988) Μηχανολόγος, Δ/ντής Σπουδών Δευτεροβάθμιας Εκπαιδεύσεως ΥΠΕΠΘ, Γεώργιος Σταματίου (1988-1990) Ηλεκτρολόγος ΕΜΠ, Δ/ντής Σπουδών Δευτεροβάθμιας Εκπαιδεύσεως ΥΠΕΠΘ, Σωτ. Γκλαβάς (1989-1993) Φιλόλογος, Δ/ντής Σπουδών Δευτεροβάθμιας Εκπαιδεύσεως ΥΠΕΠΘ, Εμ. Τρανούδης (1993-1996) Δ/ντής Σπ. Δευτ. Εκπαιδεύσεως ΥΠΕΠΘ.



ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΟΡΓΑΝΩΝ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΥ

ΠΡΟΔΡΟΜΟΥ Ι. ΙΟΡΔΑΝΙΔΗ
ΕΝΤΕΤΑΛΜΕΝΟΥ ΥΦΗΓΗΤΟΥ Ε.Μ.Π.

ΑΘΑΝΑΣΙΑΣ ΓΕΡΟΧΡΗΣΤΟΥ - ΖΟΡΜΠΑ
ΦΑΡΜΑΚΟΠΟΙΩΝ
ΠΡΟΪΣΤΑΜΕΝΗΣ Γ' ΕΡΓΑΣΤ. ΑΝΑΛΥΣΕΩΝ Κ.Ε.Ε.Φ.

ΑΘΗΝΑ
2001





ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Το νοσογόνο φάσμα, δηλαδή το είδος, η ποικιλία και η έκταση των επικρατούντων νοσημάτων σ' ένα πληθυσμό, συνεχώς μεταβάλλεται με αποτέλεσμα ορισμένα νοσήματα πραγματικά ή πρακτικά να εξαφανίζονται και τη θέση τους να καταλαμβάνουν νοσήματα άγνωστα ή νοσήματα λιγότερο γνωστά σε προηγούμενα χρόνια.

Η μεταβολή αυτή του νοσογόνου φάσματος οφείλεται σε βασικούς παράγοντες, δηλαδή.

- στην ατέλειωτη και ασταμάτητη τεχνολογική πρόοδο και
- στά καταπληκτικά επιτεύγματα των ιατρικών και παραϊατρικών επιστημών.

Η ιατρική και ειδικότερα στο προγνωστικό και διαγνωστικό της σκέλος γίνεται από μέρα σε μέρα πιο πολύπλοκη και πιο εγκεφαλική. Ο κλινικός γιατρός, δηλαδή ο γιατρός που βρίσκεται στην πρώτη γραμμή του μετώπου «νόσος», έχει μπροστά του προβλήματα που πριν λίγα χρόνια εθεωρούντο ή και πραγματικά ήταν από δυσεπίλυτα έως και άλυτα.

Σήμερα, χάρη στην ουσιαστική βοήθεια των εργαστηριακών μέσων, το έργο του γιατρού διευκολύνεται σημαντικά γιατί η σύγχρονη τεχνολογία παρέχει στο γιατρό καινούργιες δυνατότητες τόσο ως προς την ποιότητα και ποσότητα εργασίας σύντομα και ως προς την πολυπλοκότητα των εξετάσεων.

Ο γιατρός, στην αγωνιώδη προσπάθειά του τόσο για την πρόληψη εμφανίσεως ή για τη πρώιμη διάγνωση μιας νόσου σύντομα και την καταπολέμηση μιας νόσου που έχει ήδη εκδηλωθεί, διαθέτει ουσιαστικό και αποφασιστικής αποτελεσματικότητας σπλαχνού, το Εργαστήριο, με τις συνεχώς αυξανόμενες και διευρυνόμενες επιδόσεις.

Η σωστή χρήση των εργαστηριακών δυνατοτήτων βοηθάει την αρθολογική αντιμετώπιση των διαφόρων ιατρικών προβλημάτων, των οποίων απόλυτος και κυρίαρχος κριτής μένει ο γιατρός. Το Εργαστήριο, απρόσωπο και συναισθηματικά ψυχρό, δεν μπορεί να υποκαταστήσει το γιατρό με τις θερμουργές διαπροσωπικές σχέσεις, αλλά έρχεται να βοηθήσει την κρίση και τις αποφάσεις του γιατρού στην τόσο δύσκολη αποστολή του.

Στα δέκα τρία κεφάλαια του βιβλίου καταβλήθηκε ιδιαίτερη προσπάθεια, ώστε να περιληφθούν τα όργανα που χρησιμοποιούνται σήμερα στα σύγχρονα ιατρικά εργαστήρια, όπως άλλωστε απαιτεί και το πρόγραμμα. Η παρουσίαση καθενός οργάνου στηρίχθηκε στη σύντομη περιγραφή του, στην αρχή λειτουργίας του, στα κριτήρια επιλογής του, στις οδηγίες χρήσεως, συντηρήσεως κλπ. Έτσι ο μαθητής, χωρίς να υποχρεώνεται να ασχοληθεί με τεχνικές λεπτομέρειες, τις οποίες άλλωστε βρίσκει εύκολα στα φυλλάδια που συνοδεύουν κάθε τύπο μηχανήματος, μαθαίνει τη σημασία κάθε μηχανήματος καθώς και τον τρόπο χρήσεως και συντηρήσεως του, χωρίς, ως προς το τελευταίο, να υποκαθιστά τον ειδικό τεχνικό.

Οι Συγγραφείς



ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΠΡΩΤΟ

ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΟ

Γενικά.

Τα πολύ παλιά χρόνια, οι αρρώστιες του ανθρώπου και των διαφόρων άλλων ζώων, αποδίδονταν σε υπερφυσικές δυνάμεις, όπως π.χ. κακά πνεύματα, οργή θεών κλπ.

Οι αρχαίοι Έλληνες είχαν τη γνώμη ότι τα περισσότερα νοσήματα προκαλούνταν από τις μετεωρολογικές συνθήκες, τις αναθυμιάσεις, τα μιάσματα κλπ. και ας σημειωθεί ότι οι απόψεις τους αυτές κυριάρχησαν για πολλούς αιώνες.

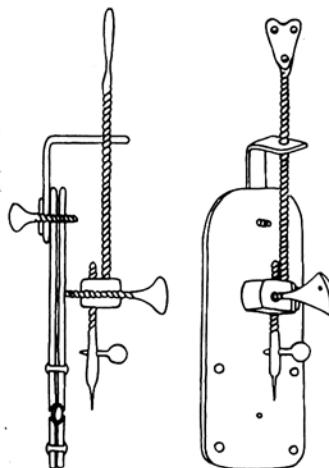
Κατά τη διάρκεια της Αναγεννήσεως οι φυσιοδίφες άρχισαν να διατυπώγουν την άποψη ότι τα λοιμώδη νοσήματα οφείλονται σε αόρατα για το μάτι ανθρώπου «έμβια όντα», τους μικροοργανισμούς.

Ο Ολλανδός έμπορος Leeuwenhoek (1632-1723), με τη βοήθεια του πρωτόγονου μικροσκοπίου που είχε κατασκεύασε μόνος του, πρωτοείδε τους «μικροοργανισμούς», χωρίς όμως να συνειδητοποιήσει τη σημασία τους (σχήματα 1.1α και 1.1β).



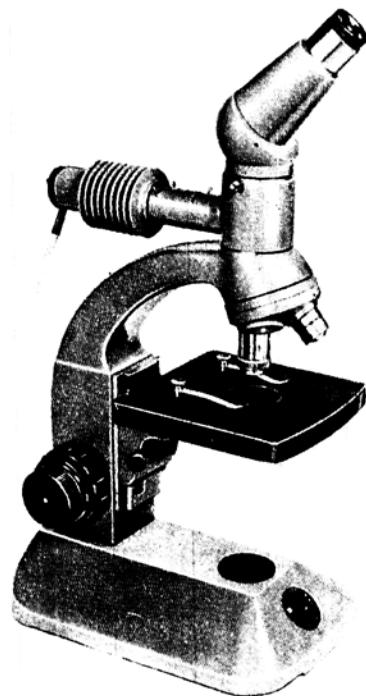
Σχ. 1.1α.

Ο εφευρέτης του πρωτόγονου μικροσκοπίου Leeuwenhoek.

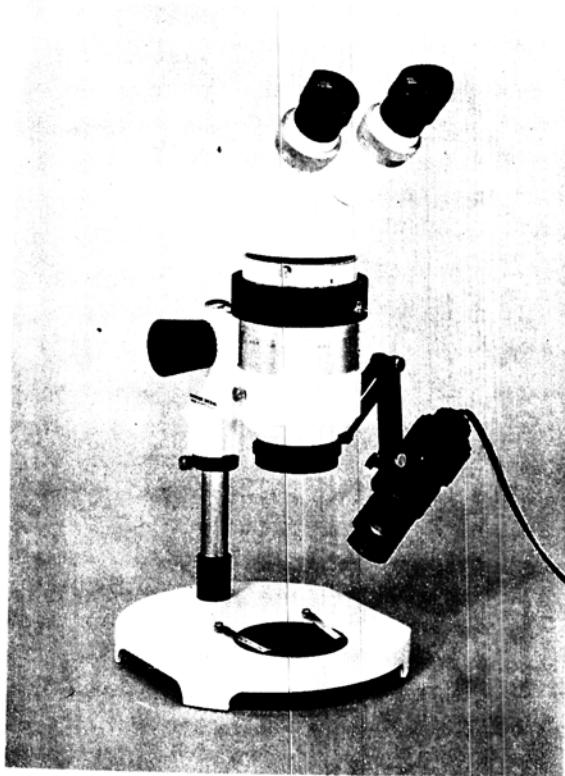


Σχ. 1.1β.

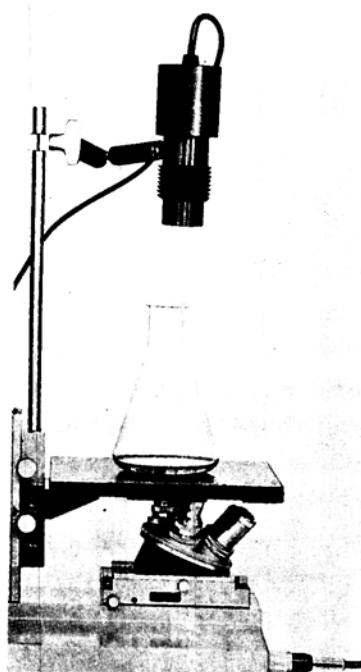
Σχεδίαση του μικροσκοπίου του Leeuwenhoek.



Σχ. 1.1γ.
Μεταλλουργικό μικροσκόπιο.



Σχ. 1.1δ.
Στερεομικροσκόπιο.



Σχ. 1.1ε.
Μικροσκόπιο χημικού εργαστηρίου.

Πολύ αργότερα ο Pasteur (1822-1895) ανακάλυψε, τη σχέση που υπήρχε μεταξύ ορισμένων νοσημάτων και των μικροοργανισμών.

Ο Άγγλος χειρουργός Lister (1827-1912) κατάλαβε πρώτος τη σημασία των ανακαλύψεων του Pasteur και τέλος ο Γερμανός Koch (1843-1910) με τις σημαντικές τελειοποιήσεις και ανακαλύψεις του θεωρείται πατέρας της σύγχρονης μικροβιολογίας. Η μελέτη των μικροβίων, που αποτελεί το αντικείμενο της μικροβιολογίας, γίνεται με διάφορους τρόπους και μεθόδους, όπως π.χ. μικροσκόπηση, καλλιέργεια, πειραματισμός κλπ. Το μικροσκόπιο εκτός από τις ιατρικές εφαρμογές έχει ανάλογες εφαρμογές και σε άλλους τομείς, όπως μεταλλουργία, ορυκτολογία, κοιτασματολογία, χημεία, βιοτανική, εντομολογία κλπ. (σχήματα 1.1γ, 1.1δ και 1.1ε).

1.2 Αρχή μικροσκοπίου.

Το μικροσκόπιο είναι οπτικό όργανο με το οποίο μπορούμε, μετά από κατάλληλη μεγέθυνση, να παρατηρήσουμε ή να μελετήσουμε αντικείμενα που είναι αόρατα με το γυμνό μάτι. Η ικανότητα αυτή προέρχεται από τον κατάλληλο συνδυασμό και επιλογή φακού ή συστήματος φακών με τους οποίους μεγεθύνεται το είδωλο των αντικειμένων που τοποθετούνται μπροστά από το φακό ή το σύστημα των φακών.

1.3 Είδη μικροσκοπίων.

Τα είδη και γενικότερα οι τύποι των μικροσκοπίων είναι πολλοί και συνέχεια πληθαίνουν χάρη στις δυνατότητες που προσφέρει η συνεχής έξέλιξη της τεχνολογίας.

Τα βασικά είδη των μικροσκοπίων, ανάλογα με την πηγή φωτός που χρησιμοποιούν, κατατάσσονται σε τρεις κατηγορίες:

- Οπτικά μικροσκόπια.
- Ηλεκτρονικά μικροσκόπια.
- Πρωτονικά μικροσκόπια.

1.3.1 Οπτικό μικροσκόπιο.

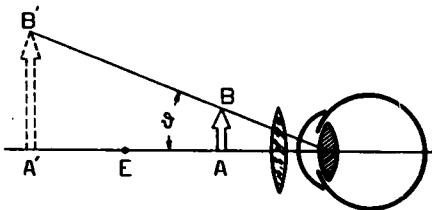
Το οπτικό μικροσκόπιο είναι το πιο συνηθισμένο από το διάφορα οπτικά όργανα που χρησιμοποιούνται στα μικροβιολογικά, βιολογικά κλπ. εργαστήρια. Διακρίνονται σε απλά και σύνθετα.

a/ Απλό μικροσκόπιο.

Ένα απλό και υποτυπώδες για μεγέθυνση όργανο είναι ο μεγεθυντικός φακός και γενικά κάθε συγκλίνων φακός που έχει μικρή εστιακή απόσταση.

Το αντικείμενο για παρατήρηση (ΑΒ) τοποθετείται μεταξύ εστίας και φακού, οπότε και σχηματίζεται φανταστικό είδωλο όρθιο και με μεγαλύτερες διαστάσεις (Α'Β') από το πραγματικό αντικείμενο (σχ. 1.3α).

Το απλό μικροσκόπιο, που αποτελείται συνήθως από δύο συγκλίνοντες φακούς, χρησιμοποιείται για μικρές μεγεθύνσεις (της τάξεως $\times 50$).



Σχ. 1.3α.
Μεγέθυντικός φακός.

Η μεγέθυνση που θα έχομε με το απλό μικροσκόπιο εξαρτάται από την εστιακή απόσταση του φακού και βρίσκεται από τη σχέση:

$$\text{Μεγέθυνση} = \frac{\text{Απόσταση ευκρινούς οράσεως}}{\text{Εστιακή απόσταση φακού}}$$

Έτσι, για απόσταση π.χ. ευκρινούς οράσεως 0,25 m (σχ. 1.3α) και για εστιακή απόσταση φακού 0,01 m, έχομε: $0,25 : 0,01 = 25$. Δηλαδή η μεγέθυνση του μικροσκοπίου είναι 25.

β) Σύνθετο μικροσκόπιο.

Το σύνθετο μικροσκόπιο (σχ. 1.3β) αποτελείται από τρία μέρη:

- Από το μηχανικό μέρος.
- Από το οπτικό μέρος.
- Από το φωτιστικό μέρος.

1. Το μηχανικό μέρος, που λέγεται και *στατός*, αποτελείται:

- Από τη σταθερή ή κινητή τράπεζα (σχ. 1.3β).

Η τράπεζα του μικροσκοπίου είναι επίπεδη και κατά κανόνα, με ειδικό μηχανισμό, περιστρέφεται ή επιτρέπει τη μετακίνηση του παρασκευάσματος προς όλες τις διευθύνσεις. Η τράπεζα στο κέντρο έχει ένα κυκλικό άνοιγμα μέσω του οποίου το φως του φωτιστικού συστήματος φωτίζει το μικροσκοπούμενο αντικείμενο, ενώ στα πλάγια έχει δύο πίεστρα (σχ. 1.3β) για τη συγκράτηση του παρασκευάσματος.

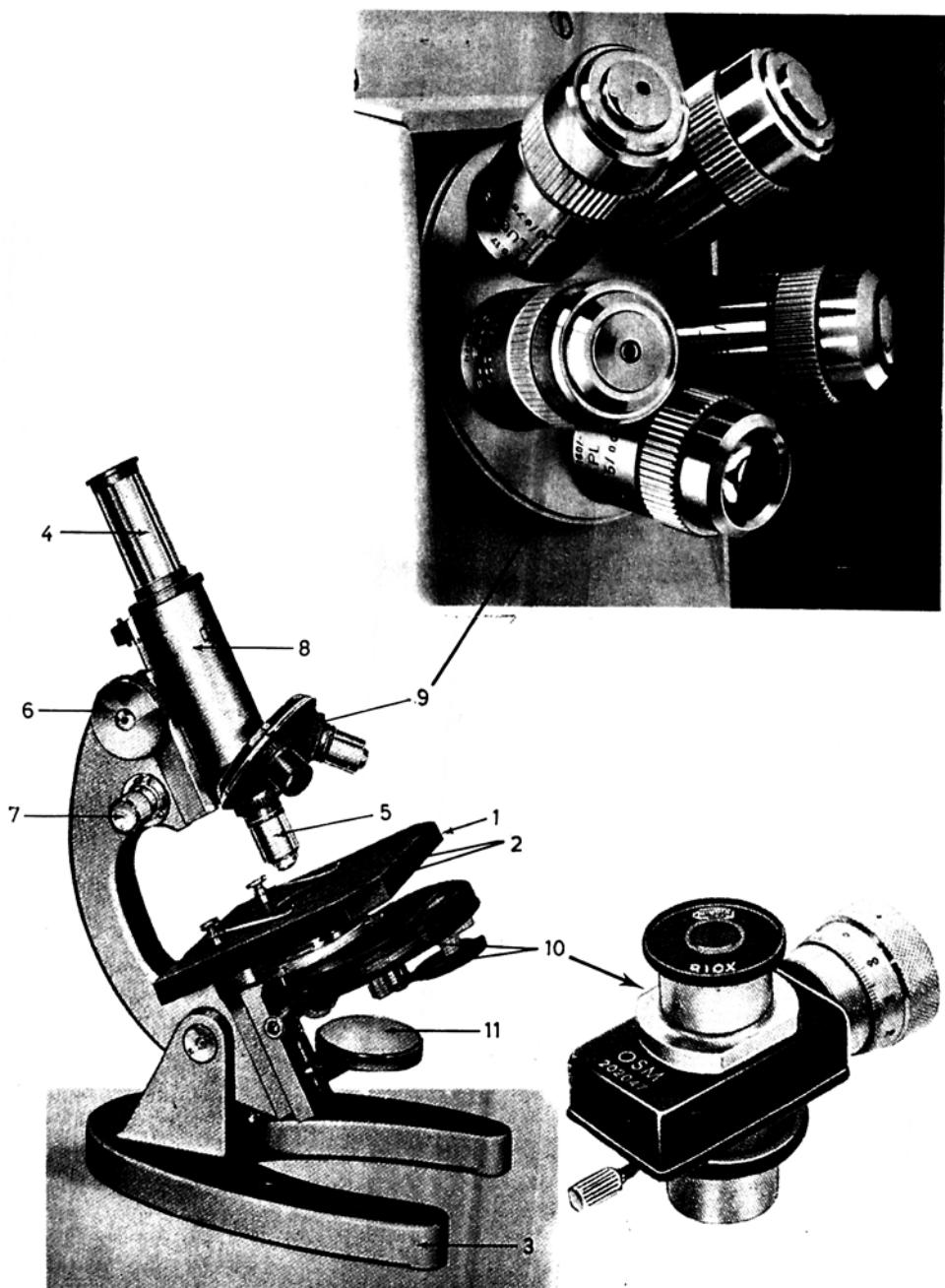
- Από τη βάση του μικροσκοπίου (σχ. 1.3β).

2. Το οπτικό μέρος, κάθετη τομή του οποίου φαίνεται στο σχήμα 1.3γ, αποτελείται:

- Από δύο συστήματα φακών.
- Από συμπυκνωτή τύπου Abbe συνήθως.
- Από διάφραγμα και
- από σειρά εγχρώμων φίλτρων.

Τα δύο συστήματα φακών έχουν κατάλληλα επιλεγεί (π.χ. φακοί κυρτοί, αμφίκυρτοι και επιπεδόκυρτοι) για την ελαχιστοποίηση σφαλμάτων, όπως είναι η χρωματική ή σφαιρική εκτροπή.

Το ένα από αυτά τα δύο συστήματα είναι το προσοφθάλμιο και βρίσκεται προς το μέρος του παρατηρητή (σχ. 1.3β) ενώ το άλλο, το αντικειμενικό ή αντο-



Σχ. 1.3β.

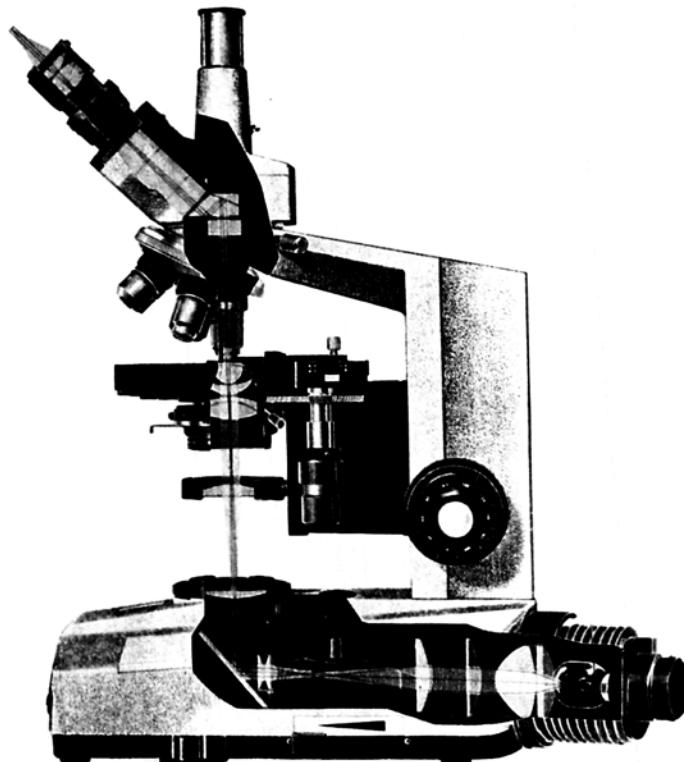
Σύνθετο μικροσκόπιο (μονοφθάλμιο).

1) Κινητή τράπεζα. 2) Πίεστρα. 3) Βάση μικροσκοπίου. 4) Προσοφθάλμιο σύστημα. 5) Αντικειμενικό ή αντοφθάλμιο σύστημα. 6) Στρόφαλος αδρών κινήσεων. 7) Στρόφαλος λεπτών κινήσεων. 8) Κυλινδρικός σωλήνας. 9) Περιστρεφόμενος δίσκος. 10) Συμπυκνωτής. 11) Κάτοπτρο.

φθάλμιο, βρίσκεται προς το μέρος του μικροσκοπούμενου αντικειμένου (σχ. 1.3β).

Το προσοφθάλμιο σύστημα αποτελείται από δύο φακούς, το φακό πεδίου, που βρίσκεται προς την πλευρά του αντικειμένου, και το φακό οφθαλμού.

Η οπτική ικανότητα των προσοφθαλμίων φακών δείχνει τη μεγεθυντική τους ικανότητα και εκφράζεται με το σύμβολο \times , συνοδευόμενο μ' έναν αριθμό, π.χ. 5 ή 10 ($\times 5$, $\times 10$) κλπ., που μας πληροφορεί για τη μεγεθυντική τους ικανότητα.



Σχ. 1.3γ.

Κάθετη τομή σύνθετου μικροσκοπίου.

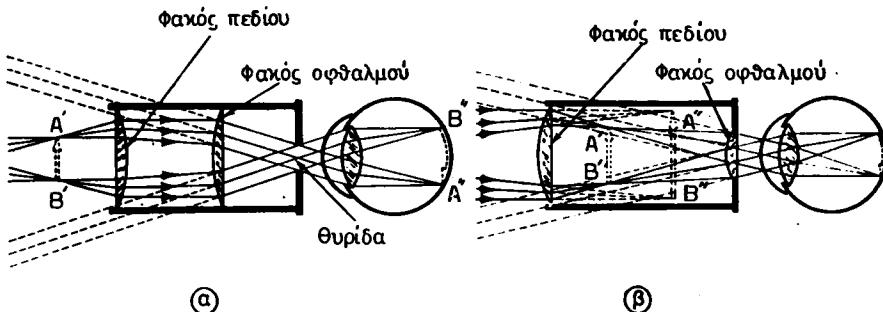
Τα πιο γνωστά προσφθάλμια συστήματα είναι το σύστημα του Ramsden και το σύστημα Huygens (σχ. 1.3δ).

Προσοφθάλμιος Ramsden και Huygens.

Το σύστημα Ramsden αποτελείται από δύο συγκλίνοντες φακούς με την ίδια ισχύ* $1/f$ που βρίσκονται σε απόσταση πρακτικά $2/3f$ (σχ. 1.3δ(a)).

Το σύστημα αυτό είναι στην πραγματικότητα ένας ισχυρός σύνθετος μεγεθυντικός φακός με σημαντικό χρωματικό σφάλμα. Το μειονέκτημα αυτό μπορεί να διορθωθεί με τη χρησιμοποίηση ειδικών συνθέτων φακών, οπότε οι προσοφθάλμιοι αυτοί ονομάζονται προσοφθάλμιοι του Kellner, από το όνομα του Kellner που πρώτος επινόησε το σύστημα αυτό, και χρησιμοποιούνται κυρίως στα τηλεσκόπια.

* Ισχύς φακού είναι το αντίστροφο της εστιακής του αποστάσεως. Δηλαδή η ισχύς φακού = $1/f$.



Σχ. 1.36.

a) Προσοφθάλμιος Ramsden και β) προσοφθάλμιος Huygens.

Τα μικροσκόπια έχουν συνήθως το προσοφθάλμιο σύστημα Huygens που αποτελείται από δύο επιπεδόκυρτους φακούς με διαφορετικές μεταξύ τους εστιακές αποστάσεις $(f_1 + f_2)/2$ (σχ. 1.3δ(β)).

Το βασικό πλεονέκτημα αυτού του συστήματος είναι ότι έχει πολύ περιορισμένο χρωματικό σφάλμα.

Το προσοφθάλμιο σύστημα κινείται, με τη βοήθεια στροφάλου αδρών κινήσεων και στροφάλου λεπτών κινήσεων, μέσα σε κυλινδρικό σωλήνα (σχ. 1.3β), με αποτέλεσμα να αυξομειώνεται η απόσταση που χωρίζει τον προσοφθάλμιο από τον αντικειμενικό.

Το μικροσκόπιο, ανάλογα με τον αριθμό των προσοφθαλμίων σωλήνων που διαθέτει, διακρίνεται σε μονοφθάλμιο, όταν έχει ένα (σχ. 1.3β), και σε διοφθάλμιο, όταν έχει δύο (σχ. 1.3ε). Ο προσοφθάλμιος ή οι προσοφθάλμιοι φακοί, μπορεί να είναι σταθεροί ή να αντικαθίστανται με άλλους από τους οποίους ο καθένας έχει διαφορετικές οπτικές ικανότητες.

Το άλλο από τα δύο συστήματα, δηλαδή το αντικειμενικό ή αντοφθάλμιο βρίσκεται προς το μέρος του μικροσκοπούμενου αντικειμένου.

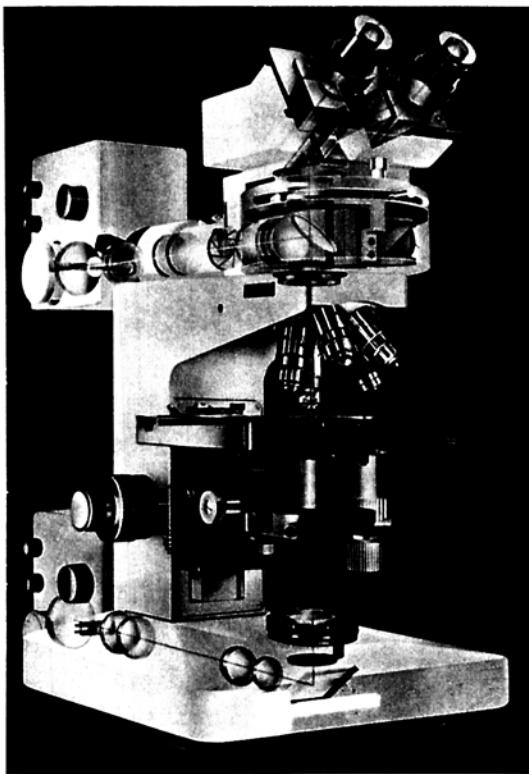
Οι αντικειμενικοί φακοί διακρίνονται, από απόψεως εκτροπικών διορθώσεων, σε **αχρωματικούς, ημι-αποχρωματικούς και αποχρωματικούς**.

Οι αχρωματικοί είναι οι πιο συνηθισμένοι και ικανοποιούν τις τρέχουσες ανάγκες μικροσκοπήσεως.

Οι ημι-αποχρωματικοί είναι πιο βελτιωμένοι από τους αχρωματικούς, αλλά υπερούν σε σύγκριση με τους αποχρωματικούς, οι οποίοι πρακτικά είναι απαλλαγμένοι από χρωματικές και σφαιρικές εκτροπές.

Οι αντικειμενικοί φακοί διακρίνονται, επίσης, σε **ξηρούς και καταδυτικούς**. Στους ξηρούς παρεμβάλλεται αέρας μεταξύ του φακού και του αντικειμένου που μικροσκοπείται, ενώ στους καταδυτικούς μεταξύ αυτών και της αντικειμενοφόρας πλάκας παρεμβάλλεται υγρό, συνήθως κεδρέλαιο. Με την παρεμβολή του υγρού αυξάνεται ο φωτισμός και η λαμπρότητα των ειδώλων.

Ο αντικειμενικός ή αντοφθάλμιος φακός μπορεί να είναι σταθερός ή αντικαθί-



Σχ. 1.3ε.
Σύνθετο διαφθάλμιο μικροσκόπιο.

σταται με στερέωση επάνω σε περιστρεφόμενο δίσκο (σχ. 1.3β).

Ο συμπυκνωτής (σχ. 1.3β), το διάφραγμα και τα έγχρωμα φίλτρα, βελτιώνουν τις φωτιστικές και διακριτικές ικανότητες του μικροσκοπίου.

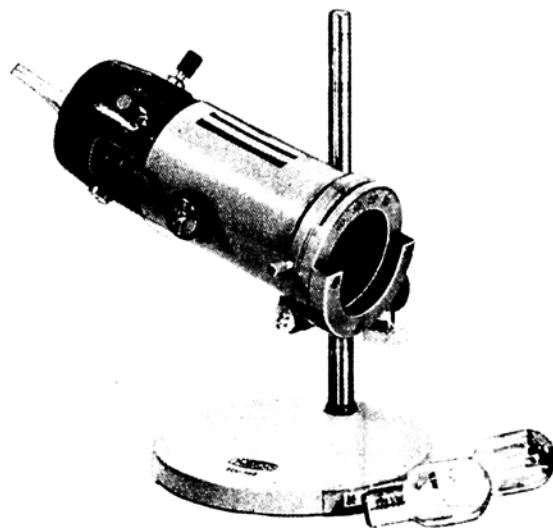
Ο συμπυκνωτής με το κάτοπτρό του (σχ. 1.3β) βρίσκεται κάτω από την τράπεζα και έχει ως αποστολή να συγκεντρώνει το φως που προέρχεται από τη φωτεινή πηγή στο μικροσκοπούμενο αντικείμενο. Γι' αυτό το λόγο ο συμπυκνωτής πρέπει να είναι πολύ καλά εστιασμένος στον οπτικό άξονα των φακών του μικροσκοπίου.

Η εστίαση αυτή στα περισσότερα μικροσκόπια επιτυγχάνεται με ειδικούς κοχλίες. Για να διαπιστώσομε, αν η εστίαση είναι καλή ή όχι, κλείνομε το διάφραγμα της ίριδας όσο γίνεται περισσότερο και αφαιρούμε τον προσοφθάλμιο φακό. Σε περίπτωση καλής εστιάσεως, το μικρό άνοιγμα του διαφράγματος που τελικά μένει, πρέπει να βρίσκεται στο κέντρο του οπτικού πεδίου. Στο συμπυκνωτή είναι προσαρμοσμένο το διάφραγμα της ίριδας, που ανοιγοκλείνει και ρυθμίζει την ποσότητα του φωτός που θα περάσει.

Κάτω από την ίριδα υπάρχει ειδική θέση για την τοποθέτηση φίλτρων διαφόρων χρωμάτων. Το πιο συχνά χρησιμοποιούμενο φίλτρο είναι το **κυανό** που έχει την ιδιότητα να μειώνει τις κόκκινες και κίτρινες ακτίνες του ηλεκτρικού φωτός.

3. *To φωτιστικό μέρος* δίνει φωτισμό φυσικό ή τεχνητό.

Στην περίπτωση τεχνητού φωτισμού, που είναι και η πιο συνηθισμένη, ο φωτισμός είναι ενσωματωμένος και σπανιότερα ανεξάρτητος από το μικροσκόπιο (σχ. 1.3στ).



Σχ. 1.3στ.
Συσκευή ανεξάρτητου φωτισμού για μικροσκόπια.

Ο φυσικός φωτισμός, όπως και ο μη ενσωματωμένος τεχνητός, πέφτει στο κάτοπτρο (επίπεδο από τη μια μεριά και κοίλο από την άλλη) του μικροσκοπίου, που βρίσκεται κάτω από την τράπεζα (σχ. 1.3β) και φωτίζει το μικροσκοπούμενο αντικείμενο. Με τη βοήθεια του αντικειμενικού φακού, σχηματίζεται είδωλο αναστραμμένο και μεγαλύτερο από το πραγματικό. Στην συνέχεια οι ακτίνες, όταν περάσουν από τον προσοφθάλμιο φακό, σχηματίζουν νέο είδωλο ακόμα μεγαλύτερο.

Η μεγέθυνση που θα έχουμε με το σύνθετο μικροσκόπιο, εξαρτάται από τη μεγέθυνση του προσοφθάλμιου και του αντικειμενικού και υπολογίζεται από τη σχέση:

$$\text{Μεγέθυνση} = \text{Μεγ. προσοφθάλμιου} \times \text{Μεγ. αντικειμενικών}$$

Για μεγέθυνση π.χ. προσοφθάλμιου $\times 15$ και αντικειμενικού $\times 10$, έχουμε μεγέθυνση:

$$15 \times 10 = 150$$

Η μεγέθυνση είναι τόσο μεγαλύτερη όσο μεγαλύτερη είναι η απόσταση μεταξύ του προσοφθάλμιου και αντικειμενικού φακού. Η απόσταση αυτή είναι συνήθως $15 \div 20$ cm. Πέρα από μια οριακή τιμή, γύρω στα 30 cm το μικροσκόπιο δύσκολα μπορεί να χρησιμοποιηθεί.

Η μεγέθυνση εξαρτάται επίσης και από τις εστιακές αποστάσεις των δύο φακών. Είναι τόσο μεγαλύτερη όσο οι εστιακές αποστάσεις είναι μικρότερες.

Συμπερασματικά:

Η μεγέθυνση με το σύνθετο μικροσκόπιο, δίνεται από τη σχέση:

$$M = \frac{A}{E_1} \times \frac{E_{op}}{E_2}$$

όπου: M η τελική μεγέθυνση

A η απόσταση προσοφθάλμιου-αντικειμενικού

E_{op} η απόσταση ευκρινούς οράσεως

E_1 η εστιακή απόσταση προσοφθάλμιου

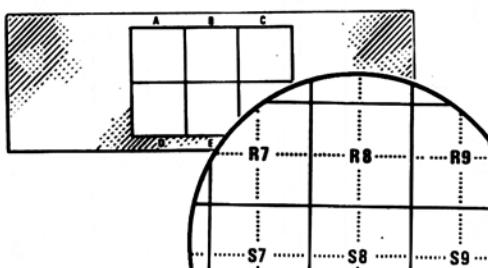
E_2 η εστιακή απόσταση αντικειμενικών.

Η τελική μεγέθυνση των συνθέτων μικροσκοπίων κυμαίνεται σε μεγάλα όρια, γιατί έχει μεγεθύνσεις $4 \div 1700$.

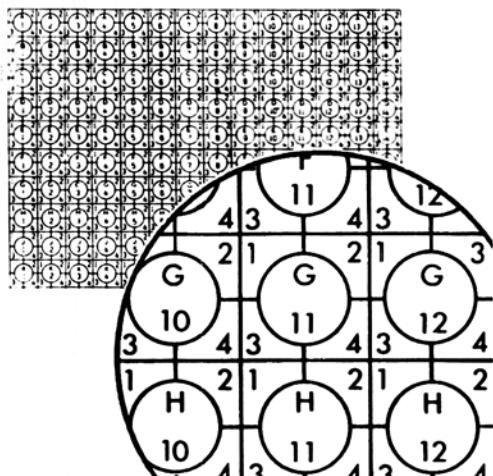
Μεγαλύτερες μεγεθύνσεις είναι άσκοπες, γιατί δε θα μπορούσαμε, εξαιτίας της «πεπερασμένης διακριτικής ικανότητας» των φακών, με μεγαλύτερες μεγεθύνσεις να έχομε περισσότερες λεπτομέρειες. Απλώς το είδωλο θα φαινόταν σε μεγαλύτερη κλίμακα.



Ⓐ



Ⓑ



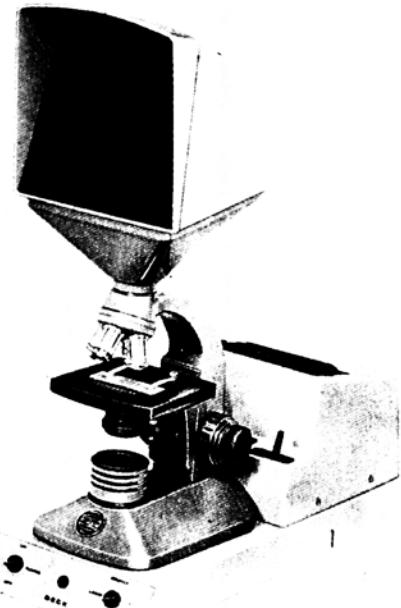
⓪

Σχ. 1.3ζ.

Διατάξεις αναγνώσεως για διάφορες περιπτώσεις μικροσκοπήσεως.

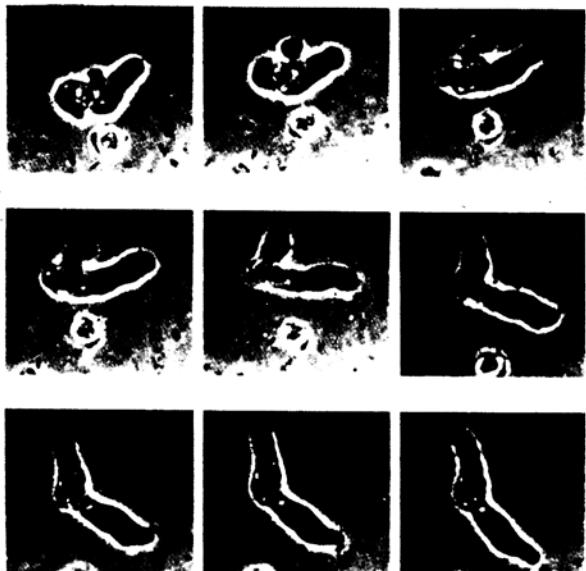
Οι διαστάσεις των αντικειμένων που μικροσκοπούνται μπορούν να μετρηθούν με τη σύγχρονη προβολή μικρομετρικής κλίμακας. Μπορούν επίσης να μετρηθούν, με κατάλληλες διατάξεις αναγνώσεως (σχ. 1.3ζ), πλευρές παραλληλογράμμου, άνοιγμα γωνιών κλπ.

Τέλος, τα σύγχρονα σύνθετα μικροσκόπια έχουν τη δυνατότητα λήψεως μεγεθυσμένων φωτογραφιών, λήψεως κινηματογραφικής ταινίας, προβολής πάνω σε οθόνη (σχ. 1.3η), μικρες σκοπήσεως αντίθεσης φάσεως (σχ. 1.3θ).



Σχ. 1.3η.

Μικροσκόπιο με οθόνη προβολής και ενσωματωμένο φωτισμό στη βάση.



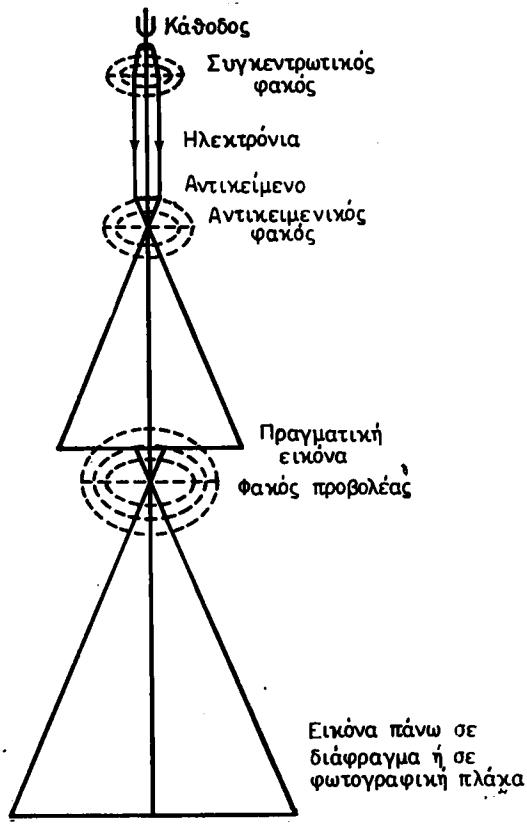
Σχ. 1.3θ.

Ταχυφωτογραφία κινήσεως αμοιβάδας με μικροσκόπιο με αντίθεση φάσεως (μεγέθυνση $\times 9380$, ενδιάμεσοι χρόνοι 15 sec).

1.3.2 Ηλεκτρονικό μικροσκόπιο.

Το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο, σχηματικό διάγραμμα του οποίου φαίνεται στο σχήμα 1.3ι, είναι γνωστό από το 1931 και στηρίζεται στη γνωστή/αρχή του De Broglie για την κυματική φύση των ηλεκτρονίων. Στο μικροσκόπιο αυτό αντί των οπτικών φακών χρησιμοποιούνται φακοί για ακτίνες ηλεκτρονίων, δηλαδή μια ακτίνα ηλεκτρονίων περνώντας από ένα ηλεκτρικό ή μαγνητικό σύστημα (μαγνήτες, πηνία ή μεταλλικά ηλεκτρόδια με διάφορες διαφορές δυναμικού) εκτρέπεται από την ευθεία κατεύθυνση και συγκλίνοντας σε κάποιο σημείο σχηματίζει το είδωλο της πηγής.

Η βασική διάταξη στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο είναι παρόμοια με τη διάταξη στο οπτικό μικροσκόπιο. Ηλεκτρόνια, που κινούνται πάρα πολύ γρήγορα, αφού



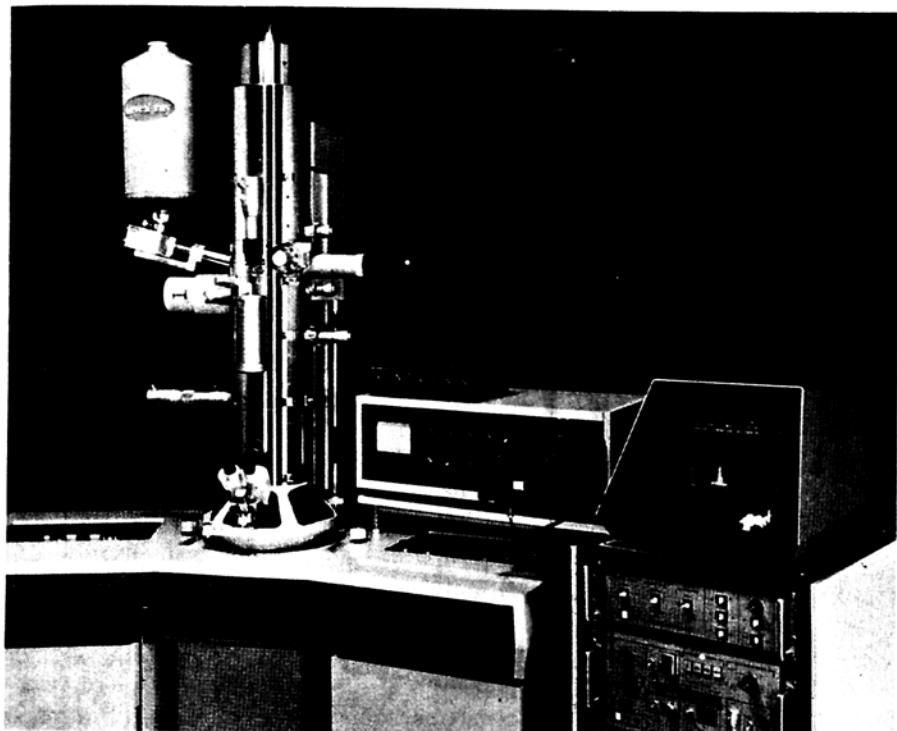
Σχ. 1.3ι.
Σχηματικό διάγραμμα ηλεκτρονικού μικροσκοπίου.

περάσουν από τους ηλεκτρικούς ή μαγνητικούς φακούς και το μικροσκοπούμενο αντικείμενο, πέφτουν επάνω σε φωτογραφική πλάκα ή σε φθορίζουσα οθόνη όπου και απεικονίζεται το αντικείμενο σε μεγέθυνση. Σχετικά με τις μεγεθύνσεις που επιτυγχάνονται, από την κυματομηχανική είναι γνωστό ότι σε κάθε υλική ακτινοβολία αντιστοιχεί και μία κυματική, δηλαδή το υλικό κύμα που έχει ορισμένο μήκος κύματος. Είναι επίσης γνωστό ότι σόσο μικρότερο είναι το μήκος κύματος τόσο η ταχύτητα των ηλεκτρονίων είναι μεγαλύτερη.

Στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο η καθαρότητα του ειδώλου εξαρτάται από το μήκος κύματος της κινούμενης ύλης, ενώ η διακριτική του ικανότητα εξαρτάται από την ταχύτητα των ηλεκτρονίων. Τα ηλεκτρονικά μικροσκόπια, ανάλογα με τις κατασκευαστικές τους ικανότητες, χαρακτηρίζονται ως μικροσκόπια πρώτης, δεύτερης κλπ. γενιάς. Ξεκινώντας από τάσεις 75.000 V για την επιτάχυνση των ηλεκτρονίων, έχομε ξεπεράσει σήμερα τα 3.500.000 V. Στην τάση των 75.000 V αντιστοιχεί μήκος κύματος 100.000 μικρότερο από το μήκος κύματος του φωτός και κατά συνέπεια η διακριτική ικανότητα είναι 100.000 φορές μεγαλύτερη από την ικανότητα του οπτικού μικροσκοπίου. Στη σύγχρονη γενιά των ηλεκτρονικών μικροσκοπίων η μεγεθυντική ικανότητα είναι 800.000.

Τα ηλεκτρονικά μικροσκόπια, εκτός από τις εφαρμογές τους στα ερευνητικά βιολογικά εργαστήρια, χρησιμοποιούνται και σε νοσοκομεία, ανώτατα εκπαιδευτικά ίδρυματα, εργοστάσια κλπ.

. Τελικά θα μπορούσε να γραφεί ότι είναι όργανα υψηλών και ειδικών απαιτήσεων για χώρους, προσωπικό, εξυπηρετήσεις κλπ. Είναι όργανα πολύ υψηλού, όχι μόνον αρχικού κόστους αλλά και κόστους λειτουργίας. Έχουν δυνατότητες που πριν λίγα χρόνια θα θεωρούνταν φανταστικές. Π.χ. με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο (σχ. 1.3ια) μπορούμε να πετύχομε φωτογραφική απεικόνιση αντικειμένων πολύ μικροσκοπικών, π.χ. 1/10.000 του μ, ή να πετύχομε πολύ μεγάλες μεγεθύνσεις [από 100 ÷ 800.000 (σχ. 1.3ιβ)].

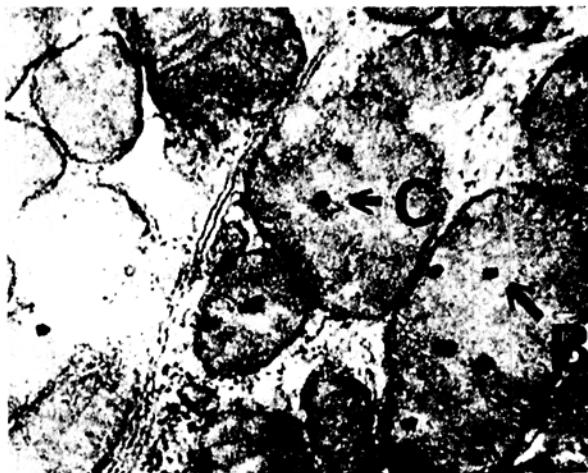


Σχ. 1.3ια.

Μικρού μεγέθους ηλεκτρονικό μικροσκόπιο.

1.3.3 Πρωτονικό μικροσκόπιο.

Τα πρωτονικά μικροσκόπια είναι ανάλογα με τα ηλεκτρονικά, με τη διαφορά ότι έχουν αντικατασταθεί τα ηλεκτρόνια με πρωτόνια που είναι 1840 φορές βαρύτερα. Το γεγονός αυτό, δηλαδή η μεγαλύτερή τους μάζα, έχει σαν αποτέλεσμα τα μήκη κύματος να είναι μικρότερα και οι μεγεθύνσεις μεγαλύτερες.



Σχ. 1.3ιβ.
Δομή μιτοχονδρίου (μεγέθυνση $\times 59.500$).

1.4 Κριτήρια επιλογής.

Η επιλογή του μικροσκοπίου εξαρτάται, βασικά, από το ποιες είναι οι απαιτήσεις - επιδιώξεις που έχομε από τη μικροσκόπηση και από το ποιες είναι οι τεχνικές δυνατότητες-επιδόσεις που έχει το μικροσκόπιο.

Στις τεχνικές προδιαγραφές, εκτός από τις εξωτερικές διαστάσεις, το βάρος, τις δυνατότητες συνδυασμού κλπ., σημαντικό ρόλο παίζουν οι πιο κάτω παράγοντες ή χαρακτηριστικά:

- Η κατηγορία μικροσκοπίου, π.χ. οπτικό, ηλεκτρονικό, πρωτονικό.
- Το προσοφθάλμιο σύστημα, π.χ. μονοφθάλμιο, διοφθάλμιο.
- Ο φωτισμός, π.χ. ενσωματωμένος, ανεξάρτητος.
- Το είδος των προσοφθαλμίων φακών, π.χ. κοινοί, αποχρωματικοί.
- Το είδος των αντικειμενικών φακών, π.χ. κοινοί, καταδυτικοί, αχρωματικοί, ημι-αποχρωματικοί, αποχρωματικοί.
- Η ισχύς των προσοφθαλμίων φακών, π.χ. $\times 5$, $\times 6$, $\times 10$, $\times 20$.
- Η ισχύς των αντικειμενικών φακών ή εστιακή απόσταση.
- Το αριθμητικό άνοιγμα των αντικειμενικών φακών (ποσό φωτισμού που μπαίνει στον αντικειμενικό φακό από κάποιο σημείο του οπτικού πεδίου).
- Η αναλυτική δύναμη (ικανότητα φακού για τη διάκριση μικρολεπτομερειών του αντικειμένου που μικροσκοπείται, δηλαδή ικανότητα για να διαχωρίσουμε ότι είναι ξεχωριστά δύο σημεία που βρίσκονται κοντά το ένα στο άλλο).
- Το αριθμητικό άνοιγμα των φακών του συμπυκνωτή.
- Η ολική μεγέθυνση του μικροσκοπίου.

1.5 Μέθοδοι μικροσκοπήσεως.

Οι πιο συνηθισμένες μέθοδοι μικροσκοπήσεως για τις βιολογικές επιστήμες είναι οι ακόλουθες:

- Απλή μικροσκόπηση.
- Μικροσκόπηση σε σκοτεινό πεδίο.
- Μικροσκόπηση με αντίθεση φάσεως.
- Μικροσκόπηση σε φθορισμό.

1.5.1 Απλή μικροσκόπηση.

Με τη μέθοδο αυτή, που είναι και η πιο συνηθισμένη, παίρνομε πληροφορίες σχετικά με το χρώμα, την περίμετρο και την κατασκευή του αντικειμένου που μικροσκοπείται.

Ανάλογα με τα βασικά χαρακτηριστικά του αντικειμένου που μικροσκοπείται και τους σκοπούς που επιδιώκομε, χρησιμοποιούμε τις διάφορες δυνατότητες του μικροσκοπίου.

1.5.2 Μικροσκόπηση σε σκοτεινό πεδίο.

Η μέθοδος αυτή, που έχει σε σημαντικό βαθμό αντικατασταθεί από την επόμενη, έχει το πλεονέκτημα ότι μπορεί να χρησιμοποιηθεί για παρατήρηση και μελέτη σωματιδίων που είναι αόρατα με το οπτικό μικροσκόπιο εξαιτίας της περιορισμένης του διακριτικής ικανότητας, ενώ παράλληλα η εικόνα του μικροσκοπούμενου αντικειμένου είναι πολύ καθαρή.

Η μέθοδος επιτρέπει τη μελέτη και τον έλεγχο λεπτομερειών που δεν επιτρέπει η απλή μικροσκόπηση, όπως π.χ. σπουδή μορφής και κινητικότητας σπειροχαϊτών κλπ. Επίσης με τη μέθοδο αυτή τα όρια των κυττάρων, διάφορα οργανίδια, όπως π.χ. μαστίγια, βλεφαρίδες κλπ., είναι πολύ σαφή, γιατί εμφανίζονται φωτεινά μέσα σε σκοτεινό πεδίο. Η οπτική αυτή δυνατότητα προέρχεται από το γεγονός ότι μόνο οι κεντρικές ακτίνες δεσμεύονται, ενώ οι περιφερειακές φθάνουν στο μικροσκοπούμενο αντικείμενο. Οι ακτίνες αυτές προσβάλλουν από τα πλάγια το μικροσκοπούμενο αντικείμενο, ανακλώνται, και περνώντας από τον αντικειμενικό φακό φωτίζουν το μικροσκοπούμενο αντικείμενο, ενώ το υπόστρωμα του υπόλοιπου οπτικού πεδίου είναι σκοτεινό. Για το σκοπό αυτό υπάρχουν ειδικά εξαρτήματα, συμπυκνωτής και φακοί με χαμηλό αριθμό ανοίγματος. Στην περίπτωση που θα χρησιμοποιηθεί ο συνηθισμένος καταδυτικός φακός, το αριθμητικό του άνοιγμα θα πρέπει να μειωθεί, είτε με την τοποθέτηση πάνω στο φακό ειδικού οπτικού συστήματος, είτε με τη σμίκρυνση του διαφράγματος που έχουν μερικοί καταδυτικοί φακοί.

Η διαδικασία της μικροσκοπήσεως σε σκοτεινό πεδίο είναι η ακόλουθη:

- Τοποθετούμε μια σταγόνα από το υγρό που θα μικροσκοπήσουμε πάνω σε τελείως καθαρή αντικειμενοφόρα πλάκα με ορισμένο πάχος και καλύπτομε την πλάκα με καλυπτίδα.
- Τοποθετούμε τον ειδικό συμπυκνωτή στη θέση του συνηθισμένου συμπυκνωτή ή φέρνομε, με τη βοήθεια του περιστροφικού μηχανισμού, το ανάλογο τρίμητα του διεθνούς συμπυκνωτή* σε κατάληλη θέση. Οι φωτεινές ακτίνες συγκεντρώνονται στον οπτικό άξονα του συμπυκνωτή πάνω στον οποίο υπάρχουν χαραγμένοι κύκλοι.
- Ρίχνομε μια σταγόνα κεδρέλαιο στην κορυφή του συμπυκνωτή και φέρνομε την αντικειμενοφόρα πλάκα στην τράπεζα του μικροσκοπίου.

* Ο διεθνής συμπυκνωτής (universal) είναι έτσι φτιαγμένος ώστε να μπορεί να χρησιμοποιηθεί για όλες τις μορφές (μεθόδους) μικροσκοπήσεως.

- Σηκώνομε το συμπυκνωτή μέχρις ότου η σταγόνα του κεδρελαίου έρθει σε επαφή με την αντί κειμενοφόρα πλάκα και μικροσκοπούμε.

1.5.3 Μικροσκόπηση με αντίθεση φάσεως.

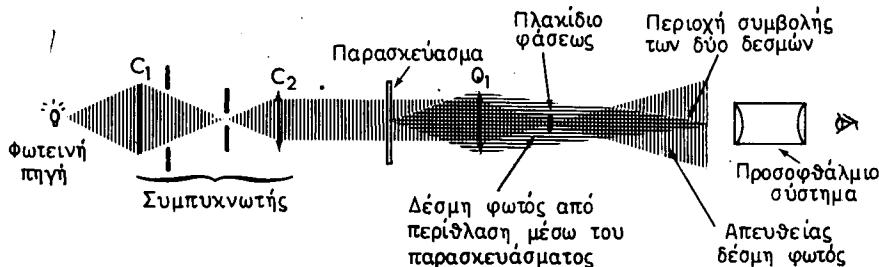
Η μέθοδος αυτή, γνωστή από το 1932, βελτιώνει τις δυνατότητες που προσφέρει γενικά η μικροσκόπηση τόσο σε φωτεινό όσο και σε σκοτεινό πεδίο. Στηρίζεται στη διαπίστωση ότι η ζωντανή ύλη αποτελείται από υλικά με διαφορετικό το καθένα δείκτη διαθλάσεως. Αυτό έχει ως συνέπεια να ελαττώνεται η ταχύτητα του φωτός και να αλλάζει η φορά των ακτίνων που πέρνονται μέσα από τη ζωντανή ύλη.

Με τη μέθοδο αυτή, οι σχεδόν αόρατες για το μάτι αλλαγές φάσεως, με τη βοήθεια ειδικής οπτικής διατάξεως, γίνονται ορατές για το μάτι και μάλιστα με αντίθεση μεταβολής εντάσεως. Με τη μέθοδο αυτή μικροσκοπούμε χωρίς καμία επέμβαση στο παρασκεύασμα, δηλαδή μικροσκοπούμε ζωντανό υλικό, και έτσι όχι μόνο κερδίζουμε χρόνο, αλλά και αποφεύγουμε τις ζημιές που μπορούν να γίνουν κατά τη διάρκεια της προετοιμασίας του παρασκευάσματος. Μικροσκοπούμε ζωντανά κύτταρα, διαφανή παρασκευάσματα και γενικά διττή προσφέρεται για έρευνα. (Η μέθοδος προσφέρεται ιδιαίτερα για ερευνητικούς σκοπούς).

Για τη μικροσκόπηση με αντίθεση φάσεως χρειάζονται ορισμένα απαραίτητα εξαρτήματα, όπως είναι:

- α) Αντικειμενικοί φακοί φάσεως, αχρωματικοί και καταδυτικοί φακοί ειδικής οπτικής κατεργασίας που στο εσωτερικό τους έχουν ειδικά «πλακίδια».
- β) Ειδικός συμπυκνωτής, στην πέριπτωση που δεν υπάρχει διεθνούς τύπου συμπυκνωτής, με δακτυλιοειδούς μορφής διαφράγματα.
- γ) Βοηθητικό μικροσκόπιο που τοποθετείται στη θέση του προσοφθάλμιου φακού.

Η πορεία των φωτεινών ακτίνων σ' ένα μικροσκόπιο με αντίθεση φάσεως, φαίνεται στο σχήμα 1.5a.



Σχ. 1.5a.

Πορεία των φωτεινών ακτίνων μέσα σε μικροσκόπιο με αντίθεση φάσεως.

Η διαδικασία της μικροσκοπήσεως με αντίθεση φάσεως είναι σε συντομία η ακόλουθη:

- Τοποθετούμε τον ειδικό ή διεθνή συμπυκνωτή όπως και τον ανάλογο αντικειμενικό φακό σε κατάλληλη θέση.
- Βάζουμε το για μικροσκόπηση παρασκεύασμα, ρυθμίζουμε το φωτισμό και μικροσκοπούμε.

1.5.4 Μικροσκόπηση με φθορισμό.

Με τη μέθοδο αυτή μικροσκοπούμε:

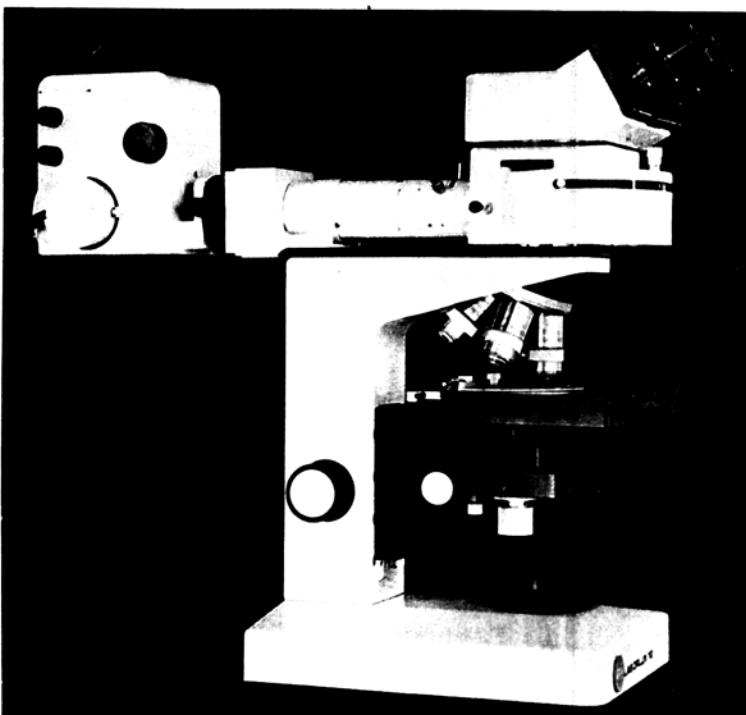
- Ουσίες που φθορίζουν πρωτογενώς, δηλαδή έχουν την ιδιότητα αυτοφθορισμού, όπως είναι οι βιταμίνες, τα μιτοχόνδρια, τα ηπατικά κύτταρα κλπ.
- Ουσίες που φθορίζουν δευτερογενώς, δηλαδή έχουν την ιδιότητα ετεροφθορισμού, όπως είναι ορισμένα νεοπλασματικά κύτταρα, αντισώματα κλπ. Στην περίπτωση αυτή δίνομε στα κύτταρα ουσίες που φθορίζουν, π.χ. φλουρεσκίνη και ύστερα βλέπομε πού έχει δεσμευθεί.

Γενικά η μικροσκόπηση με φθορισμό επιτρέπει τη μελέτη της υφής των παρασκευασμάτων που εξετάζονται, τη σπουδή της κυτταρικής δομής, την έρευνα και γένεση αντισωμάτων, τη σήμανση πρωτεΐνων, ορολογικές διαγνώσεις και γενικά χρησιμοποιείται πολύ στην ανοσοβιολογία.

Υπάρχουν βασικά δύο μέθοδοι μικροσκοπήσεως με φθορισμό: **η μικροσκόπηση με μπλε σκούρο φως και η μικροσκόπηση με υπεριώδη ακτινοβολία.**

α) Η μικροσκόπηση με μπλε σκούρο φως έχει αρκετά πλεονεκτήματα, όπως π.χ. ικανοποιητική ένταση φωτισμού, είναι σχετικά ακίνδυνη για το μάτι, το κόστος λειτουργίας της είναι χαμηλό κλπ. Βασικό της μειονέκτημα είναι ότι δεν μπορούμε να αναζητήσομε και να μελετήσομε ουσίες που εμφανίζουν μπλε φθορισμό, γιατί το φίλτρο, που υποχρεωτικά χρησιμοποιείται, είναι αδιαπέραστο στο μπλε χρώμα. Το μειονέκτημα αυτό είναι σημαντικό, γιατί υπάρχουν αρκετές ουσίες που έχουν πρωτογενή μπλε σκούρο φθορισμό όπως είναι το.άμυλο, η κυτταρίνη κλπ.

β) Η μικροσκόπηση με υπεριώδη ακτινοβολία έχει αρκετά οικονομικά μειονέκτημα: απαιτείται ειδικό μικροσκόπιο, ειδική λυχνία φωτός, ολόκληρη σειρά από φίλτρα κλπ. τα οποία όμως ισορροπούνται από τα σημαντικά πλεονεκτήματα που έχει σε σύγκριση με τις άλλες μεθόδους μικροσκοπήσεως (σχ. 1.5β). Π.χ. διαύγεια, σαφήνεια κλπ.



Σχ. 1.5β.
Μικροσκόπιο φθορισμού.

1.6 Οδηγίες χρήσεως.

Για το σωστό χειρισμό του μικροσκοπίου ο χρήστης πρέπει:

- Να θυμηθεί τις αρχές λειτουργίας του μικροσκοπίου.
 - Να αναγνωρίσει τα βασικά μέρη του μικροσκοπίου.
 - Να υπολογίσει τις μεγεθύνσεις και
 - να εργασθεί σύμφωνα με την ακόλουθη σειρά κινήσεων.
1. Τοποθέτηση παρασκευάσματος στην τράπεζα του μικροσκοπίου.
 2. Ακινητοποίηση παρασκευάσματος με τα πίεστρα που υπάρχουν πάνω στην τράπεζα.
 3. Πλάγια παρατήρηση και προσέγγιση αντικειμενικού φακού προς το παρασκεύασμα με τη βοήθεια του στροφάλου των αδρών κινήσεων.
 4. Θέση μικροσκοπήσεως (αριστερό μάτι σε μονοφθάλμιο, και τα δύο μάτια στο διοφθάλμιο, αφού ρυθμισθεί η απόσταση προσοφθαλμίων).
 5. Εστίαση με το στρόφαλο των λεπτών κινήσεων ή μικρομετρικό κοχλία.
 6. Αυξομείωση διαφράγματος μέχρι την επίτευξη «άριστου φωτισμού».
 7. Χρησιμοποίηση του αντικειμενικού φακού με τη μικρότερη μεγεθυντική ικανότητα και βαθμιαία χρησιμοποίηση των υπολοίπων.
 8. Απαγόρευση χρήσεως στροφάλου αδρών κινήσεων όταν χρησιμοποιείται αντικειμενικός φακός μεγεθυντικής ικανότητας: «θέσεως εργασίας», που συνήθως είναι μεγαλύτερος από $\times 10$.

1.7 Οδηγίες συντηρήσεως.

Το μικροσκόπιο, σαν όργανο ακρίβειας από το οποίο ζητάμε υψηλή και σταθερή λειτουργική απόδοση, πρέπει να υποβάλλεται σε συστηματικό έλεγχο όλων των μερών του (μηχανικού, οπτικού και φωτιστικού).

Ο κάθε οίκος κατασκευής μικροσκοπίων δίνει συνήθως οδηγίες για τη συντήρηση, τις οποίες και πρέπει να ακολουθούμε σχολαστικά. Για τη σωστή και άρτια σύντηρηση χρειάζονται:

- Έκτακτοι έλεγχοι κατά περίπτωση, όπως π.χ. δυσκολία ή χαλάρωση κινητικότητας, πρόσκρουση αντικειμενικού φακού στο παρασκεύασμα κλπ.
- Τακτικοί έλεγχοι συνήθως τριών ειδών από απόψεως χρόνου: ημερήσιος, δεκαπενθήμερος και ετήσιος.

1.7.1 Ημερήσιος έλεγχος.

- Απομάκρυνση μικροσκοπούμενου παρασκευάσματος και προσεκτικό καθάρισμα του μηχανικού μέρους με ειδικό δέρμα, συνήθως καμηλόδερμα.
- Καθάρισμα του οπτικού μέρους εμφυσώντας αέρα με τη βοήθεια μικρού ελαστικού κλάσματος (ροΐτε).
- Οι καταδυτικοί φακοί και το φωτιστικό μέρος καθαρίζονται με ειδικό χαρτί ή με καθαρό λινό ύφασμα.
- Μετά τον τερματισμό των εργασιών καθαρισμού, καλύπτεται το μικροσκόπιο με το ειδικό του κάλυμμα, που συνήθως είναι από διαφανές πλαστικό.

1.7.2 Δεκαπενθήμερος έλεγχος.

Έλεγχος κινητικότητας των κινητών τμημάτων, όπως π.χ. ο στρόφαλος αδρών κινήσεων, ο μικρομετρικός κοχλίας κλπ.

Η ελαττωματική κινητικότητα μπορεί να οφείλεται σε απλά αίτια, όπως π.χ. σκόνη, έλλειψη λιπάνσεως ή σε άλλα αίτια που είχαν ως συνέπεια βλάβη από κακή ή μακροχρόνια χρήση, οπότε το μικροσκόπιο πρέπει να ελεγχθεί από ειδικό τεχνίτη.

Η επιθεώρηση του οπτικού μέρους περιλαμβάνει:

- Επιμελημένο καθάρισμα με εμφύσηση αέρα, τόσο των προσοφθαλμίων και αντικειμενικών φακών όσο και των άλλων οπτικών στοιχείων, όπως είναι ο συμπυκνωτής, ο καθρέπτης και το σύστημα φθορισμού. Μερικές φορές η εμφύσηση αέρα, δεν είναι αρκετή και χρησιμοποιείται ειδικό πινέλο - βουρτσάκι που καθαρίζεται με μίγμα οινοπνεύματος-αιθέρα.
- Έλεγχος αντικειμενικών φακών με μεγεθυντικό φακό για τη διαπίστωση παραμονής ίχνους ξένων ουσιών, όπως π.χ. από κεδρέλαιο. Στην περίπτωση αυτή καθαρίζεται ο φακός με ειδικό χαρτί βουτηγμένο σε διάλυμα τολουόλης ή ξυλόλης.
- Έλεγχος προσοφθαλμίων και αντικειμενικών φακών με τη βοήθεια μεγεθυντικού φακού για τη διαπίστωση βλαβών ή τραυματισμών από χάραξη, πρόσκρουση του αντικειμενικού φακού, στο παρασκεύασμα κλπ. Στις περιπτώσεις αυτές επιβάλλεται άμεση αντικατάσταση του φακού, που θεωρείται άχρηστος.
- Λεπτομερής έλεγχος του συστήματος φωτισμού.

1.7.3 Ετήσιος έλεγχος.

Ο έλεγχος αυτός γίνεται από ειδικούς τεχνίτες και σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστικού οίκου. Οι τεχνίτες αυτοί ανήκουν συνήθως στο προσωπικό της εταιρίας που αντιπροσωπεύει τον κατασκευαστή οίκο.

1.8 Ερωτήσεις.

- Πού αποδίδονταν τα αίτια των λοιμωδών νοσημάτων;
- Ποιος πρωτοείδε «μικροοργανισμούς»;
- Πως γίνεται η μελέτη των μικροβίων;
- Ποια είναι τα βασικά είδη των μικροσκοπίων και τι μεγεθύνσεις πραγματοποιούν;
- Πώς βρίσκεται η μεγέθυνση ενός απλού μικροσκοπίου;
- Ποια είναι τα βασικά μέρη ενός σύνθετου μικροσκοπίου;
- Ποια είναι τα χαρακτηριστικά των αντικειμενικών φακών;
- Ποια είναι τα χαρακτηριστικά των αντικειμενικών φακών;
- Πώς βρίσκεται η μεγέθυνση ενός σύνθετου μικροσκοπίου;
- Ποιες είναι οι δυνατότητες του σύνθετου μικροσκοπίου;
- Ποιά είναι τα βασικά κριτήρια επιλογής ενός σύνθετου οπτικού μικροσκοπίου;
- Ποια είναι τα πλεονεκτήματα της μικροσκοπήσεως με αντίθεση φάσεως;
- Τι χρειάζεται για τη σωστή και άρτια συντήρηση ενός μικροσκοπίου;
- Ποια είναι η αρχή του ηλεκτρονικού και ποια του πρωτονικού μικροσκοπίου;
- Ποια είναι τα πλεονεκτήματα του ηλεκτρονικού μικροσκοπίου;

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΔΕΥΤΕΡΟ

ΟΡΓΑΝΑ ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΕΩΣ ΤΟΥ ΦΩΤΟΣ ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΟ ΟΡΑΤΗΣ-ΥΠΕΡΙΩΔΟΥΣ, ΥΠΕΡΥΘΡΗΣ ΚΑΙ ΑΤΟΜΙΚΗΣ ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΕΩΣ

2.1 Γενικά.

Το φάσμα του φωτός διαιρείται σε τρεις περιοχές:

- Στην **υπεριώδη περιοχή** (ultraviolet) που είναι **αόρατη** στο μάτι, με μήκος κύματος ακτινοβολίας 185-380 τμ.
- Στην **ορατή περιοχή** (visible) που είναι **ορατή** στο μάτι, με μήκος κύματος ακτινοβολίας 380-780 τμ.
- Στην **υπέρυθρη περιοχή** (infrared) που είναι **αόρατη** στο μάτι, με μήκος κύματος ακτινοβολίας συνήθως από 780 τμ ως 15 μ.

2.2 Φασματοφωτομετρία απορροφήσεως (Absorption spectrophotometry).

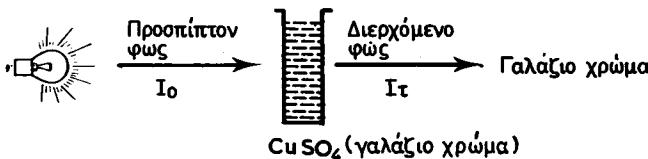
Είναι η μέθοδος εκείνη που μετρά την απορρόφηση που υφίσταται μια χημική ουσία στην υπεριώδη και στην ορατή περιοχή του φάσματος του φωτός, όταν αυτή ακτινοβοληθεί με τη βοήθεια μονοχρωματικής ακτινοβολίας. Η μονοχρωματική ακτινοβολία επιτυγχάνεται είτε με κατάλληλα πρίσματα (prisms) είτε με φράγματα περιθλάσσεως (grating). Τα όργανα με τα οποία μετρούμε την ένταση της απορροφήσεως του φωτός ονομάζονται φασματοφωτόμετρα (spectrophotometer) και διακρίνονται σε:

- Ορατής-υπεριώδους ακτινοβολίας (vis-ultraviolet, UV-Vis) και περιλαμβάνουν μήκος κύματος $\lambda = 180-780$ τμ.
- Υπέρυθρης ακτινοβολίας (infrared, I.R.) και περιλαμβάνουν συνήθως μήκος κύματος $\lambda = 625-4000 \text{ cm}^{-1}$ και εκφράζεται σε κυματαριθμούς*.
- Ατομικής απορροφήσεως (atomic absorption).

Αν μπροστά από μια ηλεκτρική λυχνία βάλομε διάλυμα κάποιας ουσίας, π.χ. CuSO₄, ορισμένης συγκεντρώσεως C, τότε ένα μέρος από το φως απορροφάται από το διάλυμα και ένα άλλο «διέρχεται» από το διάλυμα (σχ. 2.2a). Το διερχόμενο γαλάζιο φως είναι εκείνο που διεγείρει το μάτι και έχομε το αίσθημα του γαλάζιου χρώματος. Αυτό οφείλεται στο ότι η ουσία απορροφά όλα τα χρώματα εκτός από το γαλάζιο.

Αν διπλασιάσουμε τη συγκέντρωση του διαλύματος, τότε η ένταση του διερχόμενου φωτός θα διπλασιασθεί, αν την τριπλασιάσουμε θα τριπλασιασθεί κ.ο.κ.

(*) **Κυματαριθμός** (σ) (wavenumber) καλείται το αντίστροφο του μήκους κύματος λ , όταν το μήκος κύματος εκφράζεται σε cm. Έχει διαστάσεις cm^{-1} και χρησιμοποιείται κυρίως στην υπέρυθρη φασματοφωτομετρία. Η παραπάνω μονάδα μας δείχνει πόσα μήκη κύματος χωρούν σε ένα cm (π.χ. το 4000^{-1} cm δείχνει ότι υπάρχουν 4000 μήκη κύματος σε ένα cm).



Σχ. 2.2a.

Συμπέρασμα:

Η ένταση του διερχόμενου φωτός είναι ανάλογη με τη συγκέντρωση της ουσίας που απορροφά την ακτινοβολούμενη ενέργεια. Στη φασματοφωτομετρία απορροφήσεως ισχύει ο βασικός νόμος των Lambert-Beer.

Σύμφωνα με το θεμελιώδη αυτό νόμο, η απορρόφηση μιας ουσίας σε ορισμένο μήκος κύματος είναι ανάλογη με τη συγκέντρωση της ουσίας. Δηλαδή:

$$A = a \cdot b \cdot c$$

όπου: A η απορρόφηση της ουσίας σε μήκος κύματος λ

α μία σταθερά της ουσίας

β το πάχος στοιβάδας διαλύματος (συνήθως σε 1 cm)

c η συγκέντρωση της ουσίας (συνήθως σε g/100 ml).

Μεγάλη πρακτική εφαρμογή στη φασματοφωτομετρία απορροφήσεως έχει ο ειδικός συντελεστής απορροφήσεως.

Ονομάζομε **ειδικό συντελεστή απορροφήσεως** ($E_{1\text{cm}}^{1\%}$) την απορρόφηση που παρουσιάζει σε «λ» μήκος κύματος διάλυμα ουσίας συγκεντρώσεως 1g/100 ml, που βρίσκεται μέσα σε κυψελίδα με πάχος 1 cm.

$$E_{1\text{cm}}^{1\%} = \frac{A}{b \cdot c}$$

όπου: A η απορρόφηση του διαλύματος

β το πάχος στοιβάδας του διαλύματος

c η συγκέντρωση της ουσίας σε g/100 ml.

Η μεγάλη πρακτική εφαρμογή του νόμου των Lambert-Beer φαίνεται στο εξής παράδειγμα.

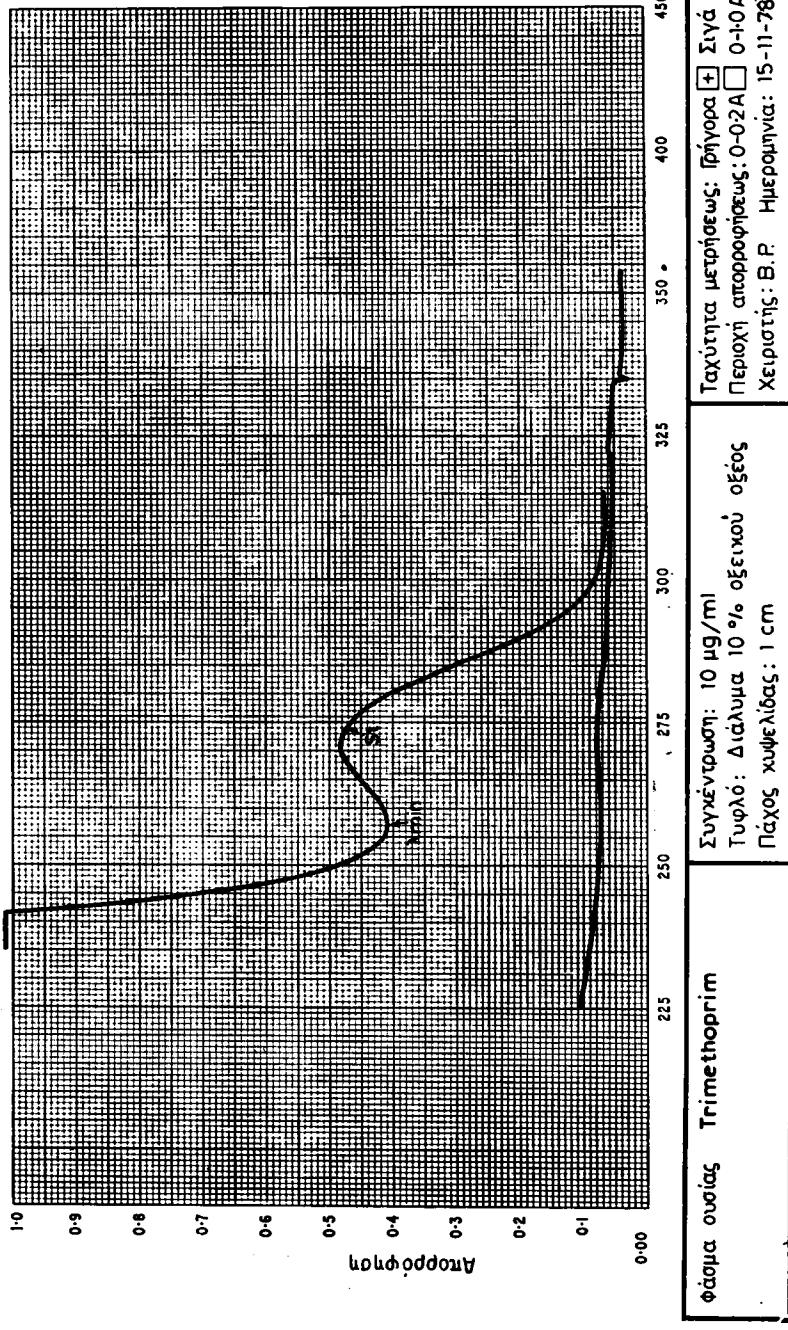
Προσδιορισμός γλυκόζης σε βιολογικά υγρά (ούρα, αίμα κλπ.).

Η γλυκόζη σε διάλυμα είναι άχρωμη. Αν στο δείγμα ούρων βάλομε ένα κομμάτι χαρτιού το οποίο προηγουμένως έχει διαβραχεί με δύο «ένζυμα» και ένα «αντιδραστήριο» που παράγει χρώμα, τότε από την παρουσία της γλυκόζης θα σχηματίσθούν ουσίες (γλυκογονικό οξύ και υπεροξείδιο του υδρογόνου) που αλλάζουν το χρώμα του χαρτιού. Αν η περιεχόμενη ποσότητα γλυκόζης είναι διπλάσια, τότε η ένταση του χρώματος είναι διπλάσια.

Ανάλογα με την ένταση του χρώματος, συγκρίνοντάς την με την ένταση χρώματος «πρότυπης» ουσίας γνωστής συγκεντρώσεως, βρίσκομε την περιεχόμενη γλυκόζη.

Φάσμα απορροφήσεως.

Η γραφική παράσταση που λαμβάνεται όταν η απορρόφηση καταγραφεί σε



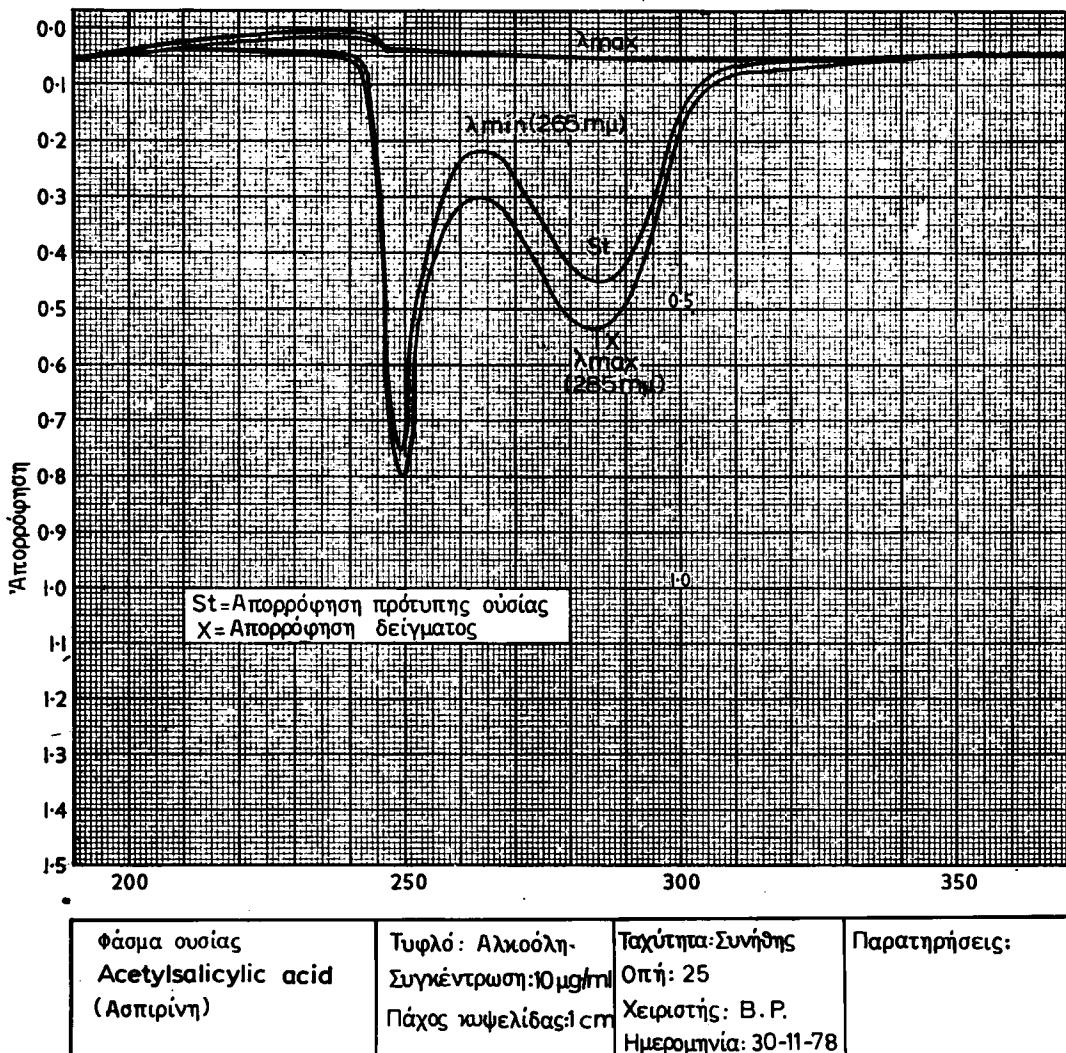
Σχ. 2.2β.
Φάσμα απορροφήσεως τριμεθοπρίμης.

σχέση με το μήκος κύματος, καλείται φάσμα απορροφήσεως και είναι χαρακτηριστικό κάθε ουσίας (σχήματα 2.2β και 2.2γ).

Κάθε χημική ουσία απορροφά και δίνει ένα μέγιστο απορροφήσεως σε ορισμένο μήκος κύματος. **Από το μέγιστο αυτό ταυτοποιούμε την ουσία.** Το μήκος κύματος που αντιστοιχεί στο μέγιστο και ελάχιστο του φάσματος συμβολίζονται αντίστοιχα με λ_{\max} (μήκος κύματος μέγιστο) και λ_{\min} (μήκος κύματος ελάχιστο).

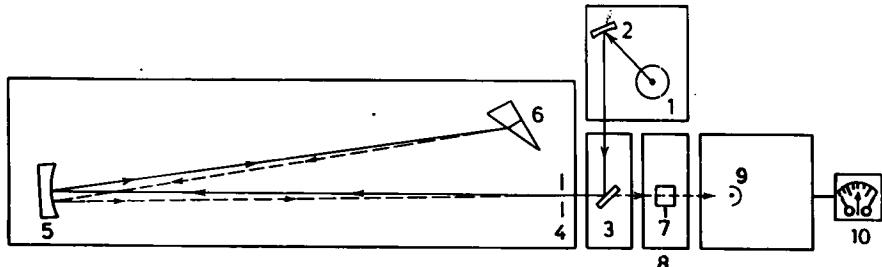
2.2.1 Αρχή λειτουργίας φασματοφωτόμετρου απορροφήσεως ορατής-υπερώδους.

Αν από μία πηγή ακτινοβολίας, π.χ. λάμπας βολφραμίου, απομονωθεί διά μέσου



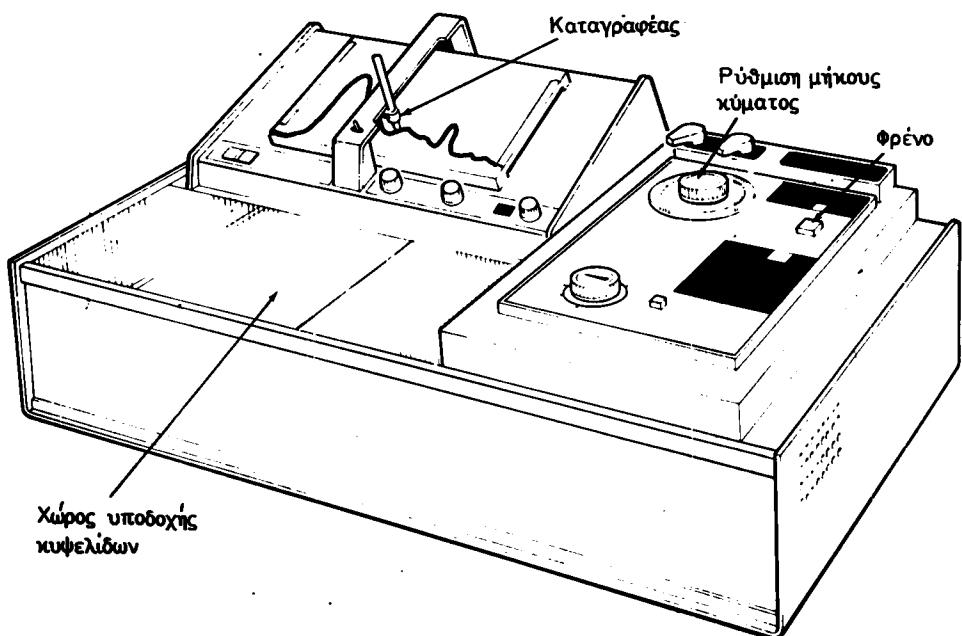
Σχ. 2.2γ.
Φάσμα απορροφήσεως ακετυλοσαλικυλικού οξέος (ασπιρίνη).

πρίσματος μία μονοχρωματική ακτινοβολία και πέσει επάνω σε κυψελίδα που περιέχει το προς εξέταση διάλυμα, μέρος της ακτινοβολίας απορρόφαται και μέρος της περνά από το διάλυμα. Η διερχόμενη ακτινοβολία πέφτει σ' ένα φωτοκύτταρο, μετατρέπεται η φωτεινή ενέργεια σε ηλεκτρική και αφού ένισχυθεί δίνεται είτε ψηφιακά είτε με μορφή καμπύλης (2.2δ). Έτσι η περιεκτικότητα (συγκέντρωση) του διαλύματος τελικά διαβάζεται ως απορρόφηση.



Σχ. 2.2δ.

Σχηματική παράσταση φασματοφωτόμετρου απορροφήσεως ορατού-υπεριώδους.
1) Λάμπες. 2,3 και 5) Κάτοπτρα. 4) Οπή. 6) Πρίσμα. 7) Κυψελίδα. 8) Χώρος τοποθετήσεως του δείγματος. 9) Φωτοκύτταρο (ανιχνευτής). 10) Μετρητής.



Σχ. 2.2ε.

Φασματοφωτόμετρο απορροφήσεως ορατής-υπεριώδους ακτινοβολίας.

Τα κύρια μέρη του φασματοφωτόμετρου (σχ. 2.2ε) είναι τα ακόλουθα:

α) Πηγή ακτινοβολίας (σχ. 2.2δ).

Περιέχει δύο λάμπες, μία από βιολφράμιο που εκπέμπει συνεχές φάσμα ορατού

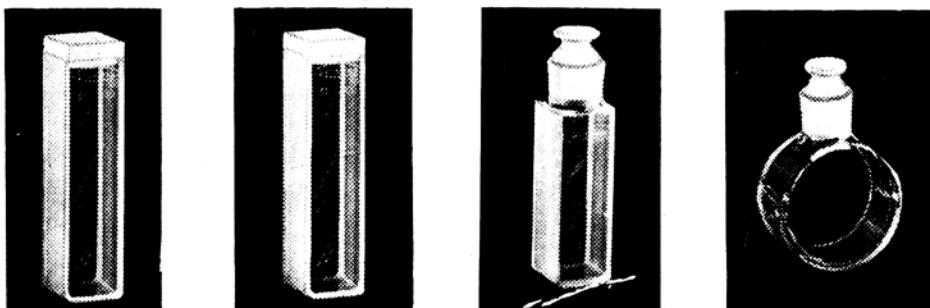
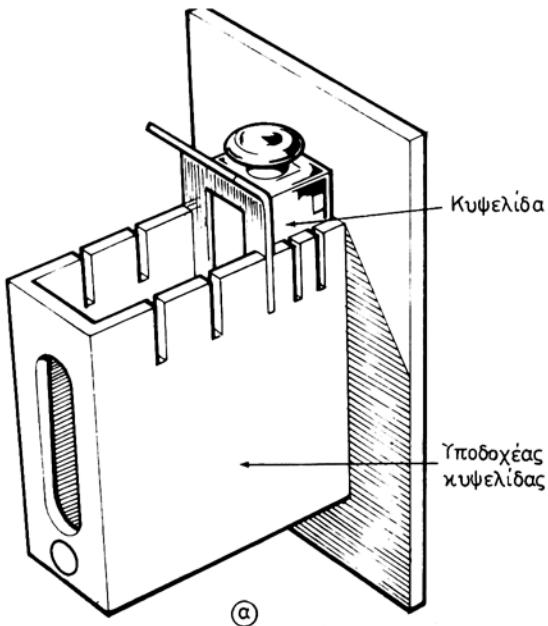
φωτός και μία υδρογόνου που εκπέμπει συνεχές φάσμα **υπεριώδους φωτός** (180-380 μμ).

β) Πρίσμα αναλύσεως ή σύστημα περιθλάσεως (2.2δ).

Έχει ως σκοπό την ανάλυση της εκπεμπόμενης ακτινοβολίας σε ένα επιθυμητό, συγκεκριμένο μηκος κύματος.

γ) Χώρος τοποθετήσεως του δείγματος.

Το δειγμα ή τα δείγματα τοποθετούνται σε κυψελίδες (cells, σχ. 2.2στ), που είναι κατασκευασμένες από χαλαζία (quartz). Οι κυψελίδες στέρεωνται σε ειδικό υποδοχέα και μετρούνται στον ειδικό χώρο που υπάρχει μέσα στο όργανο.



Σχ. 2.2στ.

α) Κυψελίδα και στήριγμα κυψελίδας. β) Διάφοροι τύποι κυψελίδων.

δ) Ηλεκτρονικό σύστημα μετατροπής της εντάσεως του φωτός σε ηλεκτρική ενέργεια (σχ. 2.2στ).

Η μετατροπή αυτή γίνεται με τη βοήθεια φωτοκύπταρου που μετατρέπει τη φωτεινή ενέργεια σε ηλεκτρική. Επειδή το παραγόμενο ρεύμα είναι μικρής εντάσεως ενισχύεται και στη συνέχεια δίνεται είτε ψηφιακά είτε με μορφή καμπύλης.

2.2.2 Τεχνική της μεθόδου.

Για το φασματοφωτομετρικό προσδιορισμό μιας ουσίας ακολουθείται η πιο κάτω πορεία εργασίας.

- Λήψη του φάσματος της άγνωστης ουσίας στον καταγραφέα του οργάνου και εύρεση του μήκους κύματος που παρουσιάζεται η μέγιστη απορρόφηση.
- Παρασκευή πρότυπου διαλύματος ουσίας (standard preparation) γνωστής συγκεντρώσεως.
- Μέτρηση του πρότυπου διαλύματος στο όργανο χρησιμοποιώντας για μηδενισμό του οργάνου το τυφλό ή «λευκό» (δηλαδή το διαλύτη με όλες τις ουσίες εκτός από αυτή που εξετάζομε).
- Τοποθέτηση του προς εξέταση δείγματος στο όργανο και νέα μέτρηση συγκριτικά με το τυφλό. Διαιρώντας τις δύο απορροφήσεις ή με κατάλληλους υπολογισμούς βρίσκεται η περιεκτικότητα της ουσίας.

2.2.3 Οδηγίες χρήσεως.

Ο κάθε κατασκευαστής μαζί με τα όργανα δίνει και ενημερωτικό φυλλάδιο όπου γράφονται αναλυτικά οι οδηγίες χρήσεως. Σε γενικές γραμμές πρέπει να γνωρίζομε τα εξής:

- Οι φασματοφωτομετρικές μέθοδοι είναι μεγάλης ακρίβειας και χρειάζονται υλικά πάρα πολύ καλής ποιότητας.
- Οι χρησιμοποιούμενοι διαλύτες πρέπει να είναι βαθμού υψηλής καθαρότητας, κατάλληλου για φασματοφωτομετρήσεις και όχι απλώς κατάλληλοι για χημική ανάλυση (especially for spectroscopy).
- Τα γυάλινα όργανα και τα διάφορα εξαρτήματα του οργάνου πρέπει να είναι απολύτως καθαρά, γιατί στην αντίθετη περίπτωση μπορεί να έχομε λανθασμένα αποτελέσματα.
- Τα διαλύματα των προς μέτρηση ουσιών πρέπει να **είναι απολύτως διαυγή** και να **μην περιέχουν κοκκία ή τριχίδια σε αιώρηση**, γιατί τα αποτελέσματα μπορεί να είναι λανθασμένα.
- Ιδιαίτερη προσοχή χρειάζεται στο πλύσιμο των κυψελίδων. Πλέονται με νιτρικό οξύ, με ένυδρη αμμωνία (2%) και με άφθονο αποσταγμένο νερό.
- Οι κυψελίδες πιάνονται με μεγάλη προσοχή και πάντοτε από τις σμυρισμένες επιφάνειες.
- Οι κυψελίδες μετα από κάθε μέτρηση πλέονται στην αρχή με το διαλύτη που χρησιμοποιήθηκε και ύστερα με άφθονο αποσταγμένο νερό. **Μετά το στεγνωμά τους τοποθετούνται πάντοτε στη θήκη τους.**
- Όπως έχομε γράψει, οι μετρήσεις των διαλυμάτων γίνονται σε μικρούς ορθογώνιους υποδοχείς με πώματα που κατασκευάζονται είτε από γυαλί είτε α-

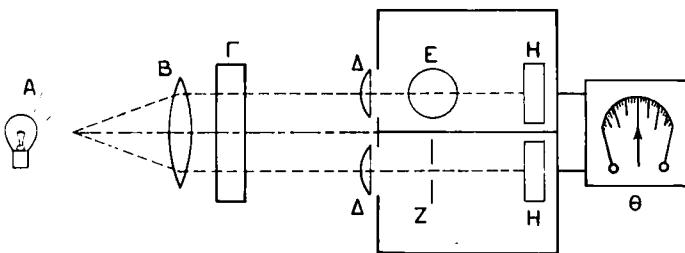
πό χαλαζία και έχουν πάχος συνήθως 1cm. Οι υποδοχείς αυτοί ονομάζονται κυψελίδες (cuvettes, cells) και είναι συνήθως ορθογώνιες. Οι δύο επιφάνειές τους έχουν λειανθεί πάρα πολύ καλά, ενώ οι άλλες δύο έχουν σμυρινθεί. Είναι εξαρτήματα πολύ ακριβά και γι' αυτό χρειάζονται πολύ μεγάλη προσοχή στο χειρισμό τους.

- Οι πρότυπες ουσίες είναι πανάκριβες και φέρονται σε ποσότητα 200 mg συνήθως. Γι' αυτό χρειάζονται ειδική φύλαξη και χρησιμοποιούνται με μεγάλη προσοχή και ακρίβεια.
- Οι καλύτερες μετρήσεις γίνονται σε περιοχή ενδείξεως απορροφήσεως 0,1-0,7.
- Όταν ο διαλύτης που χρησιμοποιείται στη μέτρηση εξατμίζεται πάρα πολύ εύκολα (πχ. CHCl_3), **πάντοτε** θα καλύπτομε αμέσως τις κυψελίδες με το ειδικό τους πώμα, γιατί η εξάτμιση του διαλύτη δημιουργεί πυκνότερη συγκέντρωση και επομένως λανθασμένα αποτελέσματα.

2.2.4 Φωτομετρία.

Η μέτρηση της απορροφήσεως με τη μέθοδο αυτή γίνεται μόνο στην ορατή περιοχή του φάσματος φωτός.

Τα φωτόμετρα είναι όργανα που χρησιμοποιούνται για τη μέτρηση της απορροφήσεως του ορατού μόνο φωτός (σχ. 2.2ζ). Είναι όργανο που έχει ηλεκτρονικό σύστημα μετρήσεως της απορροφούμενης ενέργειας, όπως και το φασματοφωτόμετρο, αλλά στη θέση του πρίσματος που αναλύει όλο το φάσμα του ορατού-υπεριώδους σε απλή ακτινοβολία, έχει 3-4 φίλτρα ορισμένων στενών περιοχών του ορατού μόνου φάσματος όπως π.χ. 430-450 nm. Το πάχος της ακτινοβολίας που απομονώνει το κάθε φίλτρο, είναι 10-20 nm, ενώ στο φασματοφωτόμετρο 1nm ή και λιγότερο.



Σχ. 2.2ζ.

Σχηματική παράσταση λειτουργίας του φωτόμετρου.

A = πηγή φωτός, B = φακός, C = φίλτρο, Δ = φακοί, E = διάλυμα για εξέταση, Z = παράθυρο, H = φωτοκύπταρο, Θ = μετρητής.

Ο χώρος τοποθετήσεως των δειγμάτων έχει θέσεις για τοποθέτηση και μέτρηση πολλών δειγμάτων ταυτόχρονα.

Η μέθοδος, στην πιο απλή της μορφή, περιλαμβάνει τη σύγκριση με γυμνό μάτι του χρώματος που έχει αναπτυχθεί στο δείγμα που εξετάζεται με το χρώμα «πρότυπου» διαλύματος. Γι' αυτούς τους προσδιορισμούς χρησιμοποιείται το συνηθισμένο φως ημέρας. Σε πιο σύνθετη περίπτωση χρησιμοποιούνται όργανα που διάθέτουν πρόσθετα εξαρτήματα, όπως π.χ. φίλτρα, φωτοκύπταρο, μονοχρωμάτορες,

ανιχνευτές κλπ. Χρησιμοποιούνται κυρίως στη μικροβιολογία σε μικροβιολογικά και κλινικά εργαστήρια, στην ανάλυση βιολογικών υγρών (αιματος, ούρων κλπ).

2.3 Φασματοφωτόμετρα υπέρυθρης (Infrared spectrophotometry).

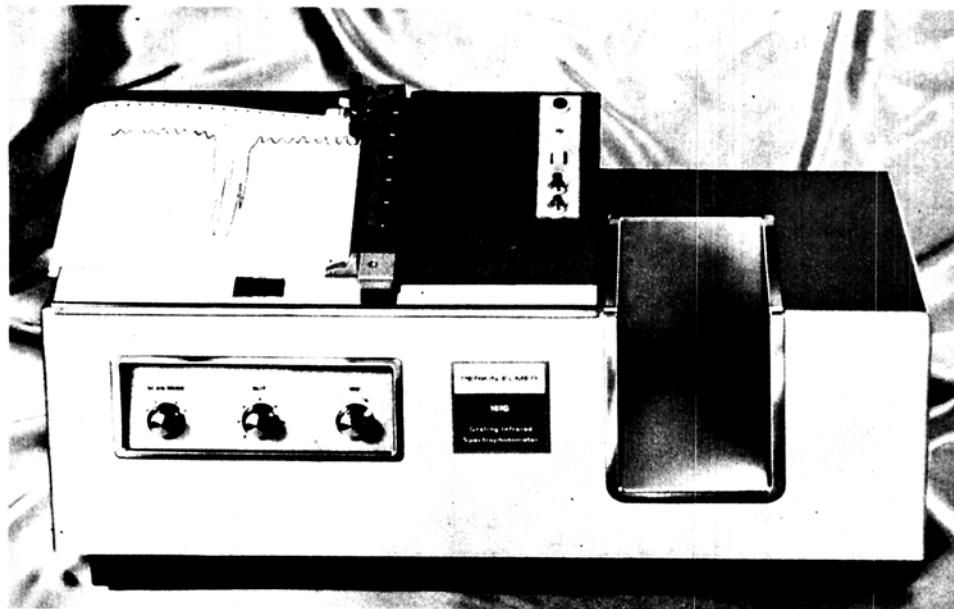
2.3.1 Γενικά.

Με τη μέθοδο αυτή της απορροφήσεως προσδιορίζονται κυρίως **ποιοτικά** διάφορες ουσίες.

Η μέθοδος έχει τόση ακρίβεια και ασφάλεια που θα μπορούσε κανείς να πει ότι δίνει το **δακτυλικό αποτύπωμα** όχι μόνο των διαφόρων ενώσεων αλλά και των στερεοϊσομερών ακόμη. Με τα σύγχρονα φασματοφωτόμετρα υπέρυθρης, μπορούμε σήμερα να προσδιορίσουμε μια ουσία και ποσοτικά ακόμη.

Τα όργανα που μετρούν την απορρόφηση στην περιοχή της υπέρυθρης ακτινοβολίας ονομάζονται **φασματοφωτόμετρα υπέρυθρης** (σχ. 2.3a).

Η καταγραφή του φάσματος γίνεται ως απορρόφηση ή ως διαπερατότητα σε συνάρτηση με το μήκος κύματος [σχ. 2.3β(α), (β), (γ), (δ)].



Σχ. 2.3a.

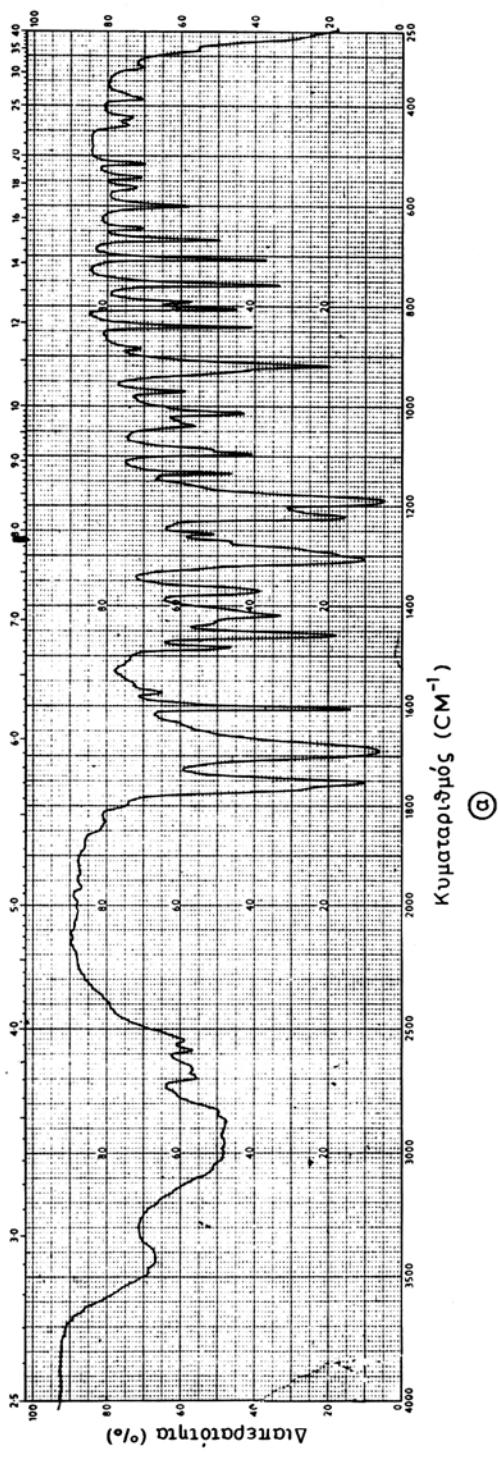
Φασματοφωτόμετρο υπέρυθρης (infrared).

Η αρχή του οργάνου είναι η ίδια όπως γενικά στα φασματοφωτόμετρα απορροφήσεως, με μόνες διαφορές τη φωτεινή πηγή, που εδώ την παρέχει υπέρυθρη ακτινοβολία, τον ανιχνευτή και την οπτική κατασκευή.

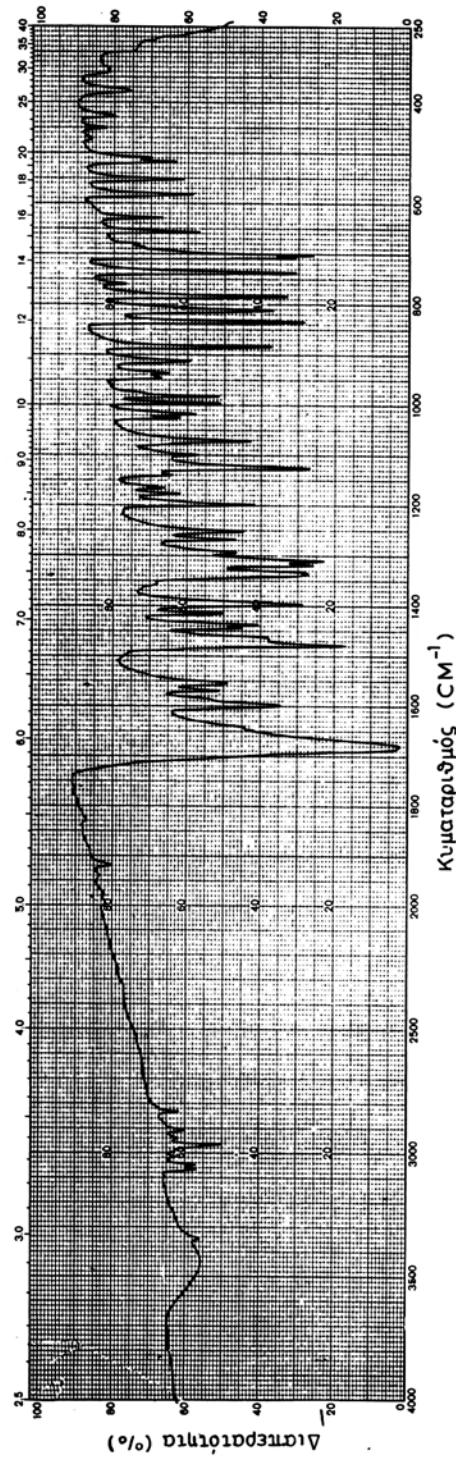
Χρησιμοποιούμενες τεχνικές.

Οι ουσίες εξετάζονται στην υπέρυθρη φασματοσκοπία με τις εξής κυρίως τεχνικές.

- Αν είναι υγρές, σε ειδικές κυψελίδες ορισμένου πάχους στοιβάδας.
- Αν είναι στερεές:
 - Με διασπορά σε παραφινέλαιο (nujol) που αποτελεί και την πιο διαδομένη τεχνική.



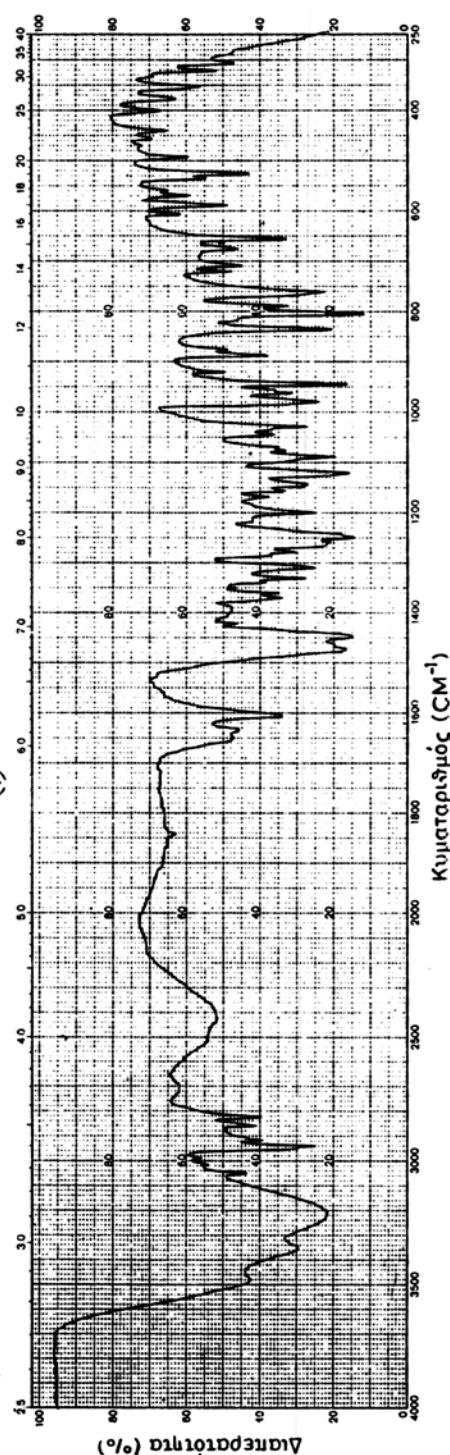
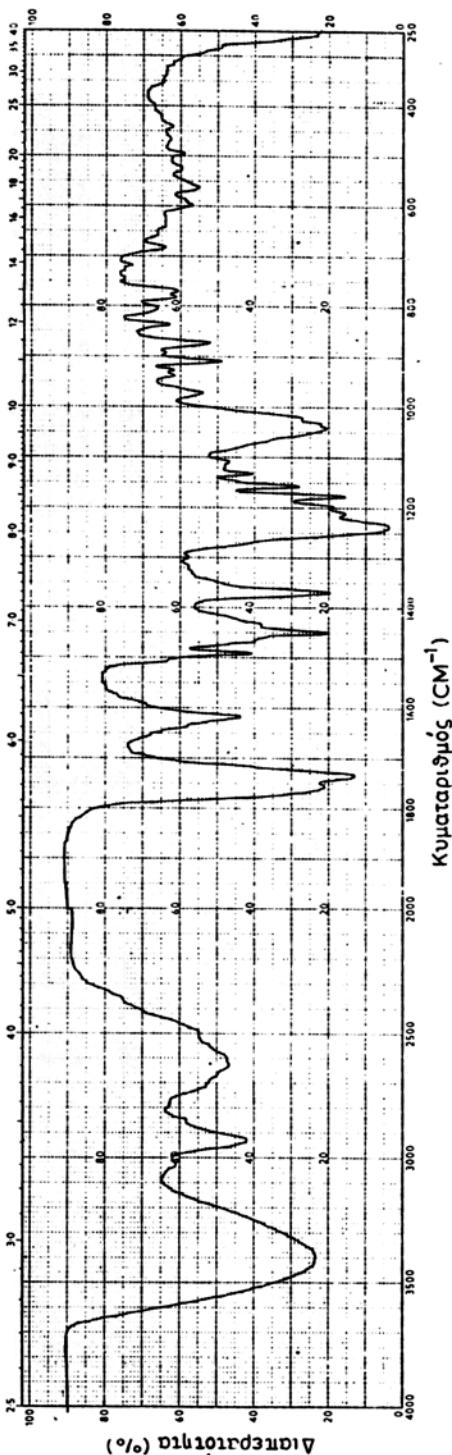
(α)



(β)

α) Φόρσμα υπέρυθρης της ουσίας αστρινη. β) Φόρσμα υπέρυθρης της ουσίας Diazepam.

Σχ. 2.3B.



v) Φάσμα υπέρυθρης της ουσίας αδροχλωρική ηρωινη. δ) Φάσμα υπέρυθρης της ουσίας μορφίνη.

⑥
Σχ. 2.3β.

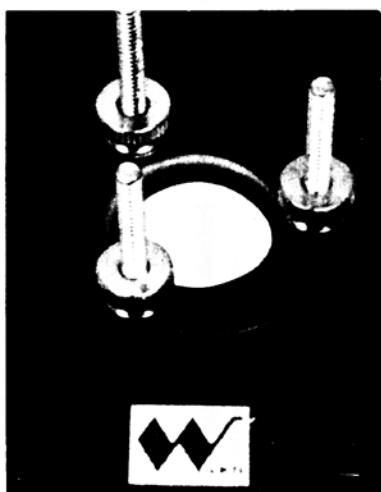
- Με διασπορά σε βρωμιούχο κάλιο (KBr) σε μορφή πιεσμένων δισκίων (KBr disks).

Οι μετρήσεις γίνονται σε μικρούς υποδοχείς που ονομάζονται κυψελίδες.

2.3.2 Οδηγίες χρήσεως.

Σε γενικές γραμμές ακολουθούνται οι πιο κάτω οδηγίες:

1. Οι κυψελίδες του I.R. είναι συνήθως φτιαγμένες από χλωριούχο νάτριο. *Γι' αυτό κατά τη χρήση τους απαγορεύεται να πλένονται με νερό γιατί διαλύνονται.*
2. Οι κυψελίδες πλένονται με διθειάνθρακα (CS_2) ή τετραχλωράνθρακα (CCl_4) και στεγνώνονται με αέρα. Γενικά η χρήση του νερου απαγορεύεται γιατί απορροφά και δημιουργεί σφάλματα στα φάσματα που πέρνομε.
3. Δεν πρέπει να αγγίζονται με γυμνό χέρι, γιατί μπορεί να μείνουν αποτυπώματα των δακτύλων ή να επηρεασθούν από την υγρασία τους. Γιαύτο προσεκτικά πάντοτε θα πιάνονται με λαβίδα.
4. Διακρίνονται ανάλογα με τη χρήση τους σε:
 - **Αποσυνδεόμενες** (demountable) (σχ. 2.3γ), για ποιοτική ανάλυση παχύρευστων υγρών (π.χ. παραφινέλαια).



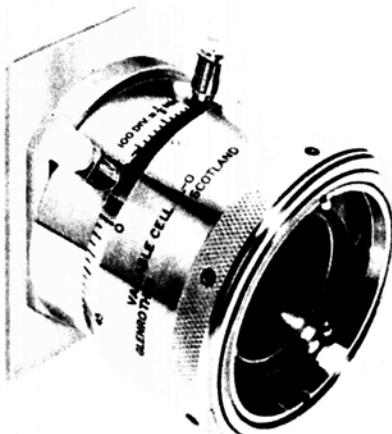
Σχ. 2.3γ.
Αποσυνδεόμενη κυψελίδα.



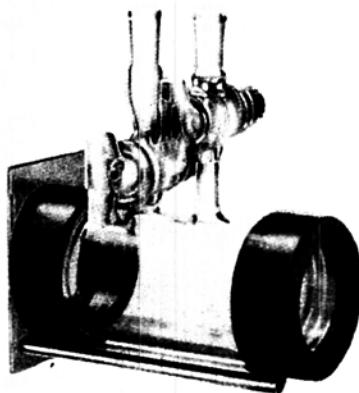
Σχ. 2.3δ.
Σταθερή κυψελίδα.

- **Σταθερές** (sealed) (σχ. 2.3δ), είναι μεγάλης ακρίβειας και χρησιμοποιούνται για πολύ πτητικά υγρά και για ποσοτικούς προσδιορισμούς ουσιών.
 - **Μεταβλητού πλάτους** (variable) (2.3ε) που το πλάτος τους μεταβάλλεται από 0-6 mm και χρησιμεύουν για πειραματικούς σκοπούς και για καλύτερη απόδοση του φάσματος.
 - **Αερίων** (σχ. 2.3στ).
5. Το όργανο και τα εξαρτήματα πρέπει να είναι πάντοτε εφοδιασμένα με θερμοστάτη, γιατί στην αντίθετη περίπτωση επηρεάζεται η ακρίβεια της μετρήσεως του μήκους κύματος του οργάνου. Για το λόγο αυτό το όργανο πρέπει να είναι πάντοτε **θερμοστατημένο**.

6. Σχετική υγρασία που ξεπερνά τα 50% δημιουργεί προβλήματα στο πρίσμα του οργάνου και στις πλάκες (δίσκους) του χλωριούχου νατρίου.



Σχ. 2.3ε.
Κυψελίδα μεταβλητού πλάτους.



Σχ. 2.3στ.
Κυψελίδα αερίων.

7. Η παρουσία CO_2 και υδρατμών στην πορεία των οπτικών ακτίνων μπορεί να καλύψει το φάσμα που πέρνομε.

Για την αποφυγή σφαλμάτων **θα πρέπει πάντοτε, τόσο στο δργανό δσο και στη θήκη των εξαρτημάτων να υπάρχει αφυγραντικό υλικό**, π.χ. silica gel (πυριτικό πήγμα, SiO_2).

2.4 Φασματοφωτομετρία ατομικής απορροφήσεως (Atomic absorption).

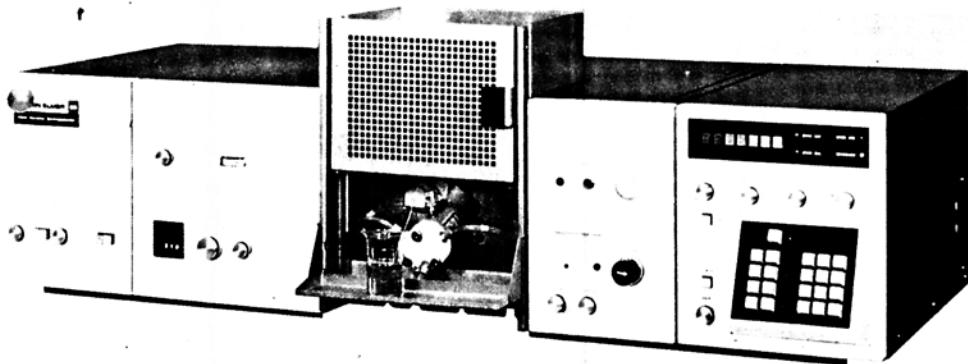
2.4.1 Γενικά.

Η ανάπτυξη της φασματοφωτομετρίας ατομικής απορροφήσεως στα τελευταία 15-20 χρόνια υπήρξε εντυπωσιακά ραγδαία. Με τις συνεχείς τεχνολογικές βελτιώσεις και τις προχωρημένες μεθόδους έχει εξελιχθεί σήμερα στην πιο αποτελεσματική και διαδομένη μέθοδο για την ποιοτική και ποσοτική ανάλυση **μεταλλικών στοιχείων και ιχνοστοιχείων**. Στο σχήμα 2.4α φαίνεται ένα φασματοφωτόμετρο ατομικής απορροφήσεως.

2.4.2 Αρχή της μεθόδου.

Η μέθοδος βασίζεται στην αρχή ότι κάθε χημικό στοιχείο σε **ελεύθερη ατομική κατάσταση απορροφά** εκείνη μόνο την ακτινοβολία που το ίδιο εκπέμπει.

Έστω ότι έχομε καθοδική λυχνία π.χ. Να (σχ. 2.4β) που εκπέμπει γραμμικό φάσμα του στοιχείου αυτού, δηλαδή νατρίου. Αν στην πορεία των ακτίνων του, εντάσεως π.χ. I_0 , παρεμβάλλομε το διάλυμα Να που θέλομε να εξετάσομε και το οποίο προηγουμένως έχει προστροφηθεί και εξαχνωθεί σε υψηλές θερμοκρασίες, γύρω στους 2300°C , τότε γίνεται **απορρόφηση ενέργειας από τα άτομα του «στοιχείου»** που θέλομε να εξετάσομε, με αποτέλεσμα η διερχόμενη ακτινοβολία να έχει ένταση I , μικρότερη από την ένταση I_0 .



Σχ. 2.4a.
Φασματοφωτόμετρο ατομικής απορροφήσεως.

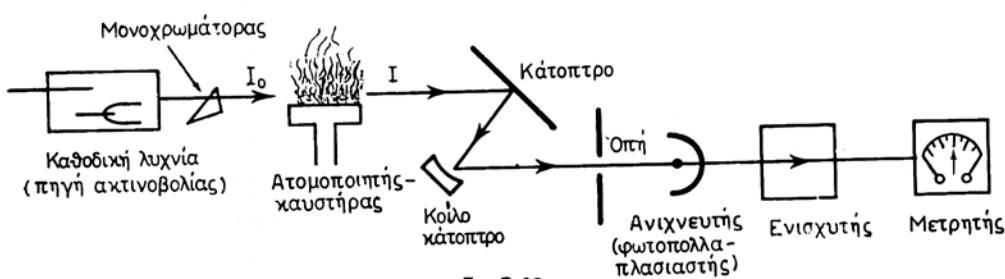
Η απορρόφηση αυτή ενέργειας είναι ανάλογη με τη συγκέντρωση της ουσίας.

Στη συνέχεια η ακτινοβολία πέφτει σ' ένα φωτοπολλαπλασιαστή και μετατρέπεται σε ρεύμα. Το ηλεκτρικό αυτό ρεύμα διαβάζεται ψηφιακά ή γραφικά.

Τα όργανα με τα οποία μετρούμε την ένταση της απορροφούμενης ενέργειας ονομάζονται φασματοφωτόμετρα ατομικής απορροφήσεως (σχ. 2.4β). Σε γενικές γραμμές τα όργανα αυτά είναι ανάλογα με τα φασματοφωτόμετρα υπεριώδους-օρατού και αποτελούνται από τα ακόλουθα μέρη:

α) Πηγή ακτινοβολίας.

Είναι κάθε καθοδική λυχνία που εκπέμπει το φάσμα του στοιχείου που θέλομε να αναλύσουμε (π.χ. καθοδική λυχνία Na για Na, K για K κ.ο.κ.).



Σχ. 2.4β.

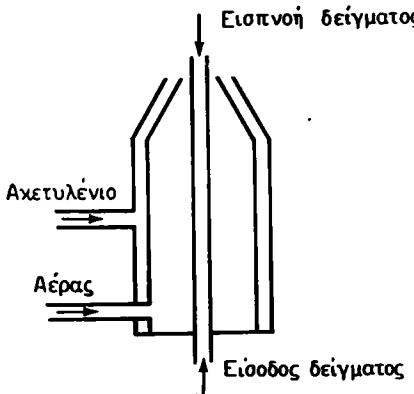
Σχηματική παράσταση αρχής λειτουργίας φασματοφωτόμετρου ατομικής απορροφήσεως.

β) Μονοχρωμάτορας.

Είναι πρίσμα ή φράγμα περιθλάσσεως για τη συλλογή της ακτινοβολίας ορισμένου μόνο μήκους κύματος, με ταυτόχρονη εξάλειψη άλλων δευτερευουσών ακτινοβολιών.

γ) Ατομοποιητής-καυστήρας (atomizer-burner).

Ο ατομοποιητής (σχ. 2.4γ) μετατρέπει τα συνενωμένα άτομα του υγρού δείγματος σε ελεύθερα άτομα, με τη βοήθεια υψηλών θερμοκρασιών ($2000\text{--}2900^{\circ}\text{C}$). Οι υψηλές αυτές θερμοκρασίες επιτυγχάνονται με την καύση διαφόρων τύπων αερίων. Το πιο συνηθισμένο καύσιμο είναι ακετυλένιο-αέρας.



Σχ. 2.4γ.
Ατομοποιητής-Καυστήρας.

δ) Ανιχνευτής.

Μετατρέπει την ένταση του φωτός σε ηλεκτρικό ρεύμα. Η ένταση αυτού του ρεύματος είναι μικρή, γι' αυτό ενισχύεται και μετά δίνεται, είτε ψηφιακά είτε με μορφή καμπύλης.

2.4.3 Πλεονεκτήματα φασματοφωτομετρίας ατομικής απορροφήσεως.

1. Μπορεί να προσδιορίσει τα περισσότερα μέταλλα του περιοδικού συστήματος.
2. Έχει τόσο πολύ χαμηλά όρια ανιχνεύσεως, που μπορούν να φθάσουν τα εκατομμυριοστά ή δισεκατομμυριοστά του γραμμαρίου.
3. Έχει μεγάλη ακρίβεια.
4. Η μέθοδος λειτουργεί και με μικρές ποσότητες διαλύματος ή δείγματος.

2.4.4 Οδηγίες χρήσεως.

Ποικίλλουν από κατασκευαστή σε κατασκευαστή. Σε γενικές γραμμές πρέπει να ληφθούν υπόψη τα ακόλουθα:

- Η καθοδική λυχνία (λάμπα) θα πρέπει να θερμανθεί 30 min τουλάχιστο στο κατάλληλο ρεύμα, που αναφέρεται από τον κατασκευαστή της λυχνίας.
- Είναι απαραίτητη η καλή ευθυγράμμιση της δέσμης ακτινοβολίας της λυχνίας σε σχέση με τον ατομοποιητή-καυστήρα.
- Όταν κλείνει το μηχάνημα, πρώτα θα πρέπει να κλείσομε την παροχή ακετυλενίου από τη μονάδα αναμίξεως και ύστερα την οβίδα του αέρα.
- Όταν κλείνει το μηχάνημα, θα πρέπει να μηδενίζομε πάντοτε όλα τα επιμέρους εξαρτήματα και το ρυθμιστή ενισχύσεως (gain).
- Η ένταση των λυχνιών θα πρέπει να ελέγχεται τακτικά, γιατί με την πάροδο του χρόνου η ένταση τους εξασθενίζει.
- Πρέπει να απομακρύνονται έγκαιρα από τη φιάλη, όπου καταλήγουν, τα απόνερα της εισπνοής του διαλύματος στον καυστήρα.
- Πρέπει, ανάλογα με τη χρήση του οργάνου, να καθαρίζεται τακτικά η κεφαλή του καυστήρα.
- **Πρέπει να θέτομε πάντοτε σε λειτουργία τον απαγωγό αερίων πάνω από τον καυστήρα, για την απομάκρυνση των τοξικών αερίων.**

2.5 Οδηγίες συντηρήσεως.

Γενικά η συντήρηση όλων των οργάνων που έχομε αναφέρει περιλαμβάνει τα-
κτικούς και έκτακτους ελέγχους.

Οι έκτακτοι έλεγχοι γίνονται περιστασιακά, όταν διαπιστωθεί κάποια ανωμαλία, ενώ οι τακτικοί γίνονται σε τακτά χρονικά διαστήματα και σύμφωνα με κάποιο πρόγραμμα. Οι τακτικοί έλεγχοι είναι ημερήσιοι, μηνιαίοι, εξαμηνιαίοι και ετήσιοι.

2.6 Κριτήρια επιλογής.

Η επιλογή των οργάνων απορροφήσεως του φωτός εξαρτάται από πολλούς παράγοντες, όπως π.χ. οι απαιτήσεις που έχομε, ο χώρος και τα χρήματα που διαθέτουμε, οι ικανότητες που έχουν τα όργανα κλπ.

2.7 Ερωτήσεις.

1. Ποια όργανα απορροφήσεως του φωτός γνωρίζετε;
 2. Σε ποιες περιοχές διαιρείται το φως;
 3. Ποιος είναι ο βασικός νόμος της φασματοφωτομετρίας απορροφήσεως;
 4. Τι ονομάζομε ειδικό συντελεστή απορροφήσεως;
 5. Τι είναι φάσμα απορροφήσεως και πού χρησιμοποιείται;
 6. Ποια είναι τα κύρια μέρη ενός φασματοφωτόμετρου απορροφήσεως ορατής-υπεριώδους;
 7. Ποιες είναι οι διαφορές του φωτόμετρου από το φασματοφωτόμετρο.
 8. Τι πρέπει ιδιαίτερα να προσέχουμε όταν μετρούμε ένα διάλυμα στο φασματοφωτόμετρο;
 9. Σε ποια περιοχή γίνονται οι καλύτερες μετρήσεις;
 10. Γιατί οι διαλύτες που εξατμίζονται εύκολα μπορεί να δημιουργήσουν προβλήματα αν δε ληφθούν έγκαιρα κατάλληλα μέτρα προφυλάξεως;
 11. Πού κυρίως χρησιμοποιείται η φασματοφωτομετρία υπέρυθρης;
 12. Ποια περιοχή του φάσματος καλύπτει η υπέρυθρη ακτινοβολία και σε τι μονάδες εκφράζεται συνήθως;
 13. Ποιες είναι οι διαφορές του φασματοφωτόμετρου απορροφήσεως και του φασματοφωτόμετρου υπέρυθρης;
 14. Γιατί απαγορεύεται η χρήση του νερού στις κυψελίδες του φασματοφωτόμετρου υπέρυθρης και πώς πλέονται συνήθως αυτές;
 15. Γιατί πρέπει να αποφεύγομε όσο μπορούμε περισσότερο την υγρασία στα δείγματα που έχουμε για ανάλυση;
 16. Ποιοι είναι οι παράγοντες που ιδιαίτερα πρέπει να ληφθούν υπόψη σε χώρο που βρίσκεται τοποθετημένο ένα φασματοφωτόμετρο υπέρυθρης;
 17. Πώς εξετάζονται από τεχνική πλευρά τα υγρά και πώς τα στερεά στην υπέρυθρη φασματοφωτομετρία;
 18. Σε ποιες κατηγορίες διακρίνονται οι κυψελίδες στην υπέρυθρη φασματοφωτομετρία;
 19. Ποια είναι η κύρια εφαρμογή της ατομικής απορροφήσεως;
 20. Ποια είναι η αρχή της μεθόδου της ατομικής απορροφήσεως;
 21. Ποιο αέριο καύσεως χρησιμοποιείται συνήθως στη μέθοδο της ατομικής απορροφήσεως;
 22. Ποια είναι τα πλεονεκτήματα της φασματοφωτομετρίας ατομικής απορροφήσεως;
 23. Γιατί πρέπει να ελέγχουμε τις λυχνίες της ατομικής απορροφήσεως;
 24. Τι πρέπει να προσέχουμε στη δέσμη ακτινοβολίας της λυχνίας σε σχέση με τον ατομοποιητή-καυστήρα;
 25. Τι πρέπει να προσέχουμε στην κεφαλή του καυστήρα;
 26. Γιατί πρέπει πάντοτε να θέτομε σε λειτουργία τον απαγωγό αερίων στη φασματοφωτομετρία ατομικής απορροφήσεως;
 27. Ποια είναι τα κύρια μέρη του οργάνου της ατομικής απορροφήσεως;
 28. Από τι εξαρτάται η απορρόφηση ενέργειας ενός στοιχείου;

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΡΙΤΟ

ΟΡΓΑΝΑ ΜΕΤΡΗΣΕΩΣ ΕΚΠΟΜΠΗΣ ΦΩΤΟΣ (ΦΑΣΜΑΤΟΦΘΟΡΙΟΜΕΤΡΟ, ΦΛΟΓΟΦΩΤΟΜΕΤΡΟ)

3.1 Φθοριομετρία ή φλουορομετρία (Fluorimetry).

Φθοριομετρία είναι η μέθοδος με την οποία μετρούμε την ένταση του φθορισμού που εκπέμπεται από ορισμένες ουσίες. Με τη μέθοδο αυτή ταυτοποιούμε και προσδιορίζομε ποσοτικά μια ουσία.

Η φθοριομετρία έχει πολλές πρακτικές εφαρμογές στη βιοχημεία, την τοξικολογία, τη φαρμακευτική, τη χημεία κλπ. Χρησιμοποιείται κυρίως για τον προσδιορισμό ορμονών, αλκαλοειδών, φαινολών, αρωματικών αιμινών, καρδιακών γλυκοσιτών κλπ., ενώ παράλληλα είναι η επίσημη μέθοδος εφαρμογής Φαρμακοποϊών όπως π.χ. της Ελληνικής, Αμερικανικής, Γαλλικής κλπ.

Τα σπουδαιότερα πλεονεκτήματα που έχει η φθοριομετρία σε σύγκριση με την φασματοφωτομετρία είναι δύο:

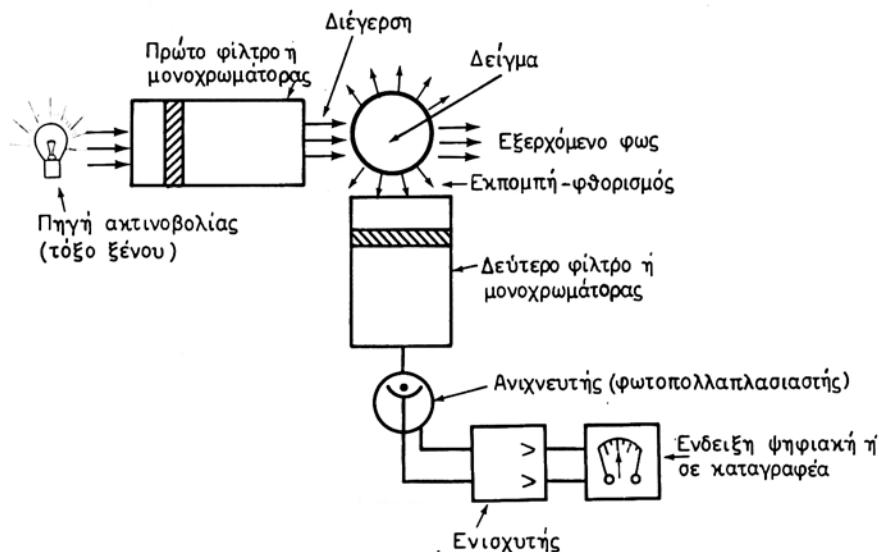
- α) Είναι σαφώς πιο ευαίσθητη από τη φασματοφωτομετρία. Μπορεί να ανιχνεύσει ουσίες σε συγκεντρώσεις $0,01 \text{ } \mu\text{g/ml}$ ή και ακόμη μικρότερες*.
- β) Είναι πιο εξειδικευμένη μέθοδος, γιατί με την εναλλαγή του φάσματος διεγέρσεως και φθορισμού (εκπομπής) μπορούμε να εξαλείψουμε ουσίες που παρεμβάλλονται.

3.1.1 Αρχή μεθόδου – Όργανα.

Η ένταση του φθορισμού που εκπέμπεται είναι ευθέως ανάλογη με τη συγκέντρωση της ουσίας. Δηλαδή και εδώ συναντούμε την ίδια αρχή που είχαμε στη φασματοφωτομετρία απορροφήσεως. Σύμφωνα με τη βασική αυτή αρχή, μπορούμε να προσδιορίσουμε μια ουσία ποσοτικά, αν προηγουμένως παρασκευάσουμε **πρότυπη ουσία** με γνωστή περιεκτικότητα (standard preparation) και συγκρίνουμε με αυτή την ουσία που θα εξετάσουμε.

Τα όργανα με τα οποία μετρούμε το φθορισμό, ονομάζονται φθοριόμετρα ή φασματοφθοριόμετρα. Η αρχή λειτουργίας τους παριστάνεται γραφικά στο σχήμα 3.1a.

* Γενικά υπολογίζεται ότι μπορεί να έχει ευαισθησία 10^3 ή και 10^4 μεγαλύτερη απ' ότι έχει η φασματοφωτερική μέθοδος απορροφήσεως.

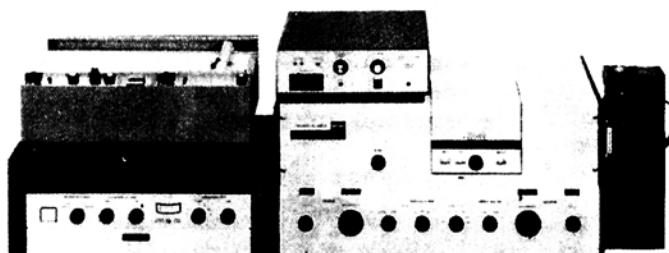


Σχ. 3.1α.
Σχηματική παράσταση αρχής λειτουργίας φασματοφθοριόμετρου.

Το φως της πηγής περνά από μονοχρωμάτορα ή φίλτρο περιθλάσσεως και φίλτρο περιθλάσσεως και διαχωρίζεται. Η ακτινοβολία πού θα χρησιμοποιηθεί για τη διέγερση της ουσίας πέφτει επάνω στο διάλυμα της ουσίας που διεγείρεται. Η διέγερση αυτή δημιουργεί εκπομπή-φθορισμό (δευτερογενής ακτινοβολία) που περνώντας κατευθείαν από δεύτερο μονοχρωμάτορα ή φίλτρο, μετατρέπεται με τη βοήθεια φωτοπολλαπλασιαστή σε ρεύμα. Το ρεύμα αυτό αφού ενισχυθεί είτε καταγράφεται είτε δίνεται με ψηφιακή ένδειξη. Τα όργανα στα οποία το μήκος κύματος διεγέρσεως και φθορισμού γίνεται με φίλτρα στενής περιοχής λέγονται **φθοριόμετρα**, ενώ αυτά όπου η εκλογή του μήκους κύματος γίνεται με μονοχρωμάτορα λέγονται **φασματοφθοριόμετρα** (σχ. 3.1β).

3.1.2 Οδηγίες χρήσεως.

Κάθε κατασκευαστής μαζί με τα όργανα δίνει και ενημερωτικό φυλλάδιο στο οποίο γράφονται αναλυτικά οι οδηγίες χρήσεως. Σε γενικές γραμμές ακολουθούνται οι πιο κάτω οδηγίες.



Σχ. 3.1β.
Φασματοφθοριόμετρο.

- Οι διαλύτες που χρησιμοποιούνται είναι ειδικοί για τις φθοριομετρικές αναλύσεις, γιατί η πιθανή ύπαρξη φθοριζουσών ουσιών μπορεί να οδηγήσει σε λανθασμένα αποτελέσματα.
- Τα διαλύματα για μέτρηση **πρέπει να είναι απόλυτα διαυγή**, γιατί στην αντίθετη περίπτωση παρατηρούνται σφάλματα μετρήσεως.
- Οι επιφάνειες των κυψελίδων πρέπει να είναι **απόλυτα καθαρές**, γιατί η ύπαρξη αποτυπωμάτων από δάχτυλα κλπ. γίνονται αιτία εσφαλμένης αναγνώσεως.
- Οι κυψελίδες σκουπίζονται προσεκτικά με μαλακό και καθαρό πανί που δεν έχει τριχίδια, ή με ειδικό χαρτί που καθαρίζουν τα γυαλιά.
- Η μέτρηση γίνεται συνήθως σε κυψελίδες 1cm. Οι κυψελίδες πλένονται με ίδιατερη προσοχή μετά τη χρήση.
- Για να λειτουργήσουν σωστά τα όργανα της φθοριομετρίας και για να σταθεροποιηθεί η ένταση του εκπεμπόμενου φωτός, θα πρέπει τα όργανα να παραμένουν αναμμένα τουλάχιστον για 10-20 min.
- Στην περίπτωση που χρησιμοποιείται λαμπτήρας ξένου (Xe) δημιουργείται όζο (O_3), γι' αυτό το λόγο θα πρέπει να υπάρχει ειδική εγκατάσταση για την απαγωγή του.
- Μετά τη μέτρηση της ουσίας, το άνοιγμα ή παράθυρο της ακτινοβολίας, πρέπει να κλείσει αμέσως, γιατί στην αντίθετη περίπτωση μειώνεται η ένταση φθορισμού της ουσίας, οπότε θα καταλήξουμε σε λανθασμένα αποτελέσματα.
- Μετά το τέλος της μετρήσεως, πρέπει να κλείνονται όλα τα μέρη των οργάνων, **εκτός από το σύστημα εξαερισμού της τροφοδοτικής μονάδας που παραμένει ανοικτό τουλάχιστον για 10 min.**

3.2 Φλογοφωτομετρία (Flame photometry).

Η φλογοφωτομετρία είναι φασματοφωτομετρική μέθοδος εκπομπής και χρησιμοποιείται με ίδιατερη επιτυχία από τα περισσότερα βιοχημικά εργαστήρια για το γρήγορο προσδιορισμό του K, Na, Ca, Mg.

3.2.1 Αρχή της μεθόδου — Όργανα.

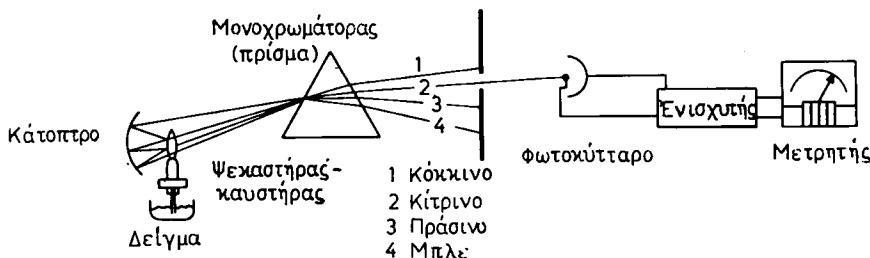
Η διέγερση ενός χημικού στοιχείου σε φλόγα, ηλεκτρικό τόξο ή σπινθήρα έχει ως αποτέλεσμα την εκπομπή φάσματος φωτός που είναι χαρακτηριστικό για το στοιχείο.

Κατά τη διάρκεια της φλογοφωτομετρικής εξετάσεως, διάλυμα του μετάλλου ψεκάζεται, με τη μορφή λεπτότατου νέφους σταγονίδιων, σε ισχυρή άχρωμη φλόγα, οπότε διεγείρεται και εκπέμπεται έγχρωμη φλόγα της οποίας η ένταση είναι ανάλογη με τη συγκέντρωση της ουσίας στο διάλυμα που ψεκάσαμε. Το φως που παράγεται διαχωρίζεται με κατάλληλα φίλτρα σε επιμέρους ακτινοβολίες, πέφτει σε φωτοκύπταρο, οπότε η φωτεινή ενέργεια μετατρέπεται σε ηλεκτρική και καταγράφεται σε ειδικό όργανο (σχ. 3.2).

Τα όργανα με τα οποία μετρούμε την ένταση του φωτός που προέρχεται από τον τρόπο που περιγράφαμε πιο πάνω λέγονται **φλογοφωτόμετρα**.

Το φλογοφωτόμετρο αποτελείται από τα ακόλουθα μέρη:

- Ψεκαστήρα.
- Καυστήρα.



Σχ. 3.2.

Σχηματική παράσταση αρχικής λειτουργίας φλογοφωτόμετρου.

- Μονοχρωμάτορα.
- Φωτοκύτταρο.
- Ενισχυτή.
- Μετρητή.

Τα σπουδαιότερα μέρη του φλογοφωτόμετρου είναι ο ψεκαστήρας και ο καυστήρας.

Ο **ψεκαστήρας** χρησιμοποιείται για την παραγωγή λεπτού και ομοιόμορφου «εκνέφωματος» (spray) από το διάλυμα το οποίο περιέχει το στοιχείο που θέλομε να προσδιορίσουμε. Το εκνέφωμα μεταφέρεται στον **καυστήρα*** με τη βοήθεια ρεύματος από οξειδωτικό μέσο (αέρα ή οξυγόνου), για την υποβοήθηση της καύσεως του αερίου που χρησιμοποιείται στη φλόγα. Ως καύσιμο χρησιμοποιείται υδρογόνο, ακετυλένιο, φυσικό αέριο ή ανθρακαέριο.

Ο **μονοχρωμάτορας** αναλύει την ακτινοβολία και είναι συνήθως πρίσμα και σπανιότερα φράγμα περιθλάσσεως.

Το **φωτοκύτταρο** μετατρέπει τη φωτεινή ενέργεια σε ηλεκτρική. Επειδή όμως το ρεύμα που παράγεται είναι μικρής εντάσεως, ενισχύεται με κατάλληλο **ενισχυτή** και τελικά η μέτρηση γίνεται στο μετρητή.

3.2.2 Οδηγίες χρήσεως.

Κάθε κατασκευαστής μαζί με τα όργανα δίνει και ένα ενημερωτικό φυλλάδιο στο οποίο γράφονται αναλυτικά οδηγίες χρήσεως. Σε γενικές γραμμές ακολουθούνται οι πιο κάτω οδηγίες για την αποφυγή λαθών.

- Η διαφορετική σύνθεση του «πρότυπου» από το άγνωστο διάλυμα του «στοιχείου» δημιουργεί λάθη. Έτσι π.χ. η παρουσία οξαλικών, φωσφορικών ή και θειικών ελαττώνουν την ένταση των φασματικών γραμμών στο Ca και Mg, ενώ αντίθετα δεν έχουν καμιά επίδραση στα στοιχεία νάτριο, κάλιο.
- Το νάτριο και το κάλιο μπορούν να επηρεάσουν το ένα το άλλο, αυξάνοντας την ένταση των φασματικών γραμμών τους.
- Πρέπει να χρησιμοποιούνται αραιά διαλύματα, γιατί μπορεί να δημιουργηθεί φαινόμενο αυτοαπορροφήσεως.

* Συνήθως ο ψεκαστήρας και ο καυστήρας είναι συνενωμένοι σε ενιαία μονάδα.

- Τα στοιχεία αναλύονται συνήθως σε υδατικά διαλύματα, μερικές όμως φορές χρησιμοποιούνται και οργανικοί διαλύτες. Στις περιπτώσεις αυτές δημιουργούνται προϋποθέσεις σφαλμάτων, γιατί:
 - a) Άλλαζει το μέγεθος των σταγονιδίων του «εκνεφώματος» και ο ρυθμός χορηγήσεως του (λόγω του ιξώδους ή της γλοιότητας και της επιφανειακής τάσεως του οργανικού διαλύτη);
 - b) Αντί να ψυχθεί η φλόγα, όπως γίνεται στην περίπτωση των υδατικών διαλυμάτων, οι οργανικοί διαλύτες αυξάνουν τη θερμοκρασία της φλόγας, με αποτέλεσμα να αυξάνεται η ένταση του «στοιχείου» που μετρούμε.
- Τέλος άλλη πηγή σφαλμάτων είναι η ασταθής φλόγα.

3.3 Ερωτήσεις.

1. Ποια είναι τα όργανα μετρήσεως εκπομπής του φωτός;
2. Ποια είναι η αρχή της φθοριομετρίας και πού εφαρμόζεται;
3. Ποια είναι τα πλεονεκτήματα της φθοριομετρίας σε σύγκριση με τη φασματοφωτομετρία απορροφήσεως ορατής-υπεριώδους;
4. Πόσα φάσματα έχει στη φθοριομετρία μία ουσία;
5. Ποια είναι τα κύρια μέρη του φθοριοφωτόμετρου;
6. Τι πρέπει ιδιαίτερα να προσέχομε στη διάρκεια φθοριομετρήσεως;
7. Τι αέριο δημιουργείται από το άναμμα της λάμπας του «ξένου» και τι πρέπει να προσέχομε;
8. Γιατί πρέπει αρέσως μετά από τη μέτρηση της ουσίας να κλείνομε το παράθυρο της ακτινοβολίας;
9. Πόσο χρόνο πρέπει να μείνει ανοικτό το όργανο για να σταθεροποιηθεί η ένταση του έκπεμπομένου φωτός;
10. Ποιο κομμάτι του φασματοφθοριόμετρου πρέπει να παραμείνει ανοιχτό μετά το τέλος της μετρήσεως και για πόσο χρόνο;
11. Ποια είναι η αρχή της φλογοφωτομετρίας και πού κυρίως χρησιμοποιείται;
12. Ποια είναι τα κύρια μέρη του φλογοφωτόμετρου;
13. Ποια είναι τα πλεονεκτήματα-μειονεκτήματα της φλογοφωτομετρίας σε σύγκριση με τη φασματοφωτομετρία ατομικής απορροφήσεως;
14. Ποιο αέριο χρησιμοποιείται πιο συχνά ως οξειδωτικό και σε ποια θερμοκρασία επιτυγχάνεται;
15. Ποια προβλήματα μπορεί να δημιουργηθούν στη φλογοφωτομετρία:

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΕΤΑΡΤΟ

ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ

4.1 Γενικά.

Η χρωματογραφία (σχ. 4.1) είναι η πιο διαδομένη αναλυτική μέθοδος διαχωρισμού ουσιών που πολύ δύσκολα διαχωρίζονται με τις κλασσικές άναλυτικές μεθόδους. Η δυσκολία του διαχωρισμού γίνεται τόσο μεγαλύτερη όσο περισσότερο μοιάζουν οι χημικές ιδιότητες των ουσιών που προσπαθούμε να διαχωρίσουμε.

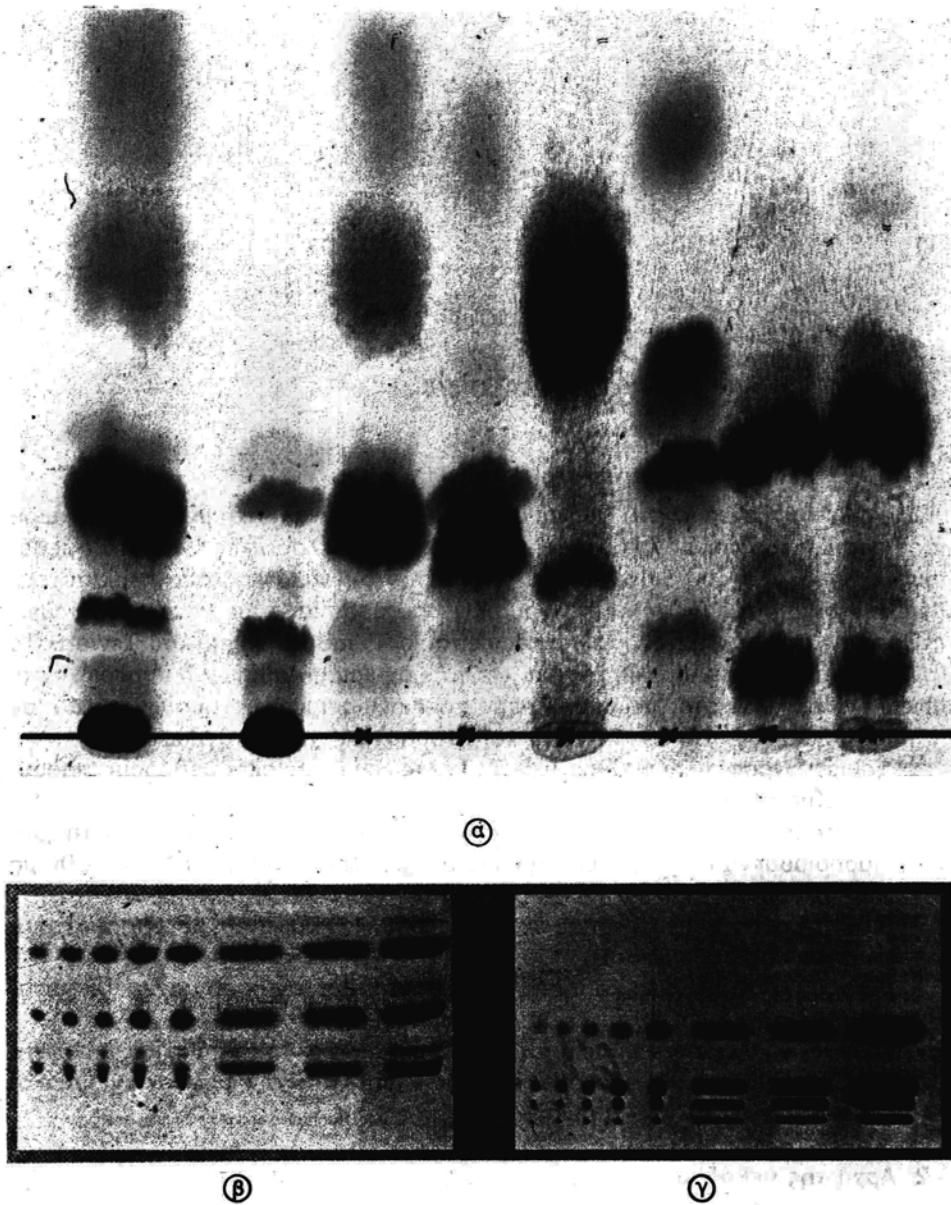
Πατέρας της χρωματογραφίας θεωρείται ο Ρώσος βιοχημικός Tswett. Το 1903 χρησιμοποίησε μια νέα τεχνική για το διαχωρισμό ουσιών που περιέχονται σε φυτικά εκχυλίσματα, με αποτέλεσμα το διαχωρισμό των ουσιών αυτών σε έγχρωμες λωρίδες (ζώνες). Γι' αυτό και ονομάστηκε χρωματογραφία.

Η χρωματογραφία, σε σύγκριση με τις άλλες εργαστηριακές μεθόδους, παρουσιάζει τα εξής πλεονεκτήματα:

- Απαιτείται πολύ μικρή ποσότητα δείγματος για ανάλυση. Ανάλογα με τη χρησιμοποιούμενη τεχνική χρωματογραφίας χρειάζεται ποσότητα 1 µg - 1000 µg (1 mg) ουσίας.
- Διαχωρίζονται συστατικά που πολύ δύσκολα διαχωρίζονται μεταξύ τους τόσο ποιοτικά όσο και ποσοτικά.
- Επιτυγχάνεται μεγάλη καθαρότητα της ουσίας, πράγμα που έχει αποφαστιστική σημασία για τη συνέχεια της αναλύσεως.
- Τέλος πρέπει να σημειωθεί ότι η χρωματογραφία είναι επίσημη και νομοθετικά κατοχυρωμένη μέθοδος που χρησιμοποιείται από την Ελληνική Φαρμακοποία, τη Γαλλική, την Ευρωπαϊκή κλπ.

4.2 Αρχή της μεθόδου.

Σε όλους τους τύπους ή μορφές της χρωματογραφίας υπάρχουν βασικά δύο φάσεις: *η στατική* και *η κινητή*, που περνά πάνω στη στατική και οδηγεί τα συστατικά του μίγματος με διαφορετικές ταχύτητες προς την κατεύθυνση της ροής της κινητής φάσεως. Μεταξύ των δύο φάσεων γίνονται συνεχείς ανταλλαγές με φυσικό επακόλουθο το διαχωρισμό των συστατικών του μίγματος, ανάλογα με τη διαφορετική χημική συγγένεια των συστατικών ως προς την κινητή (υγρό ή αέριο) και τη στατική φάση (στερεό ή υγρό).



Σχ. 4.1.

Χρωματογραφικός διαχωρισμός μίγματος ουσιών.

- α) Ανόργανα στοιχεία. β) Υδρόφιλα χρώματα σε μορφή κηλίδων και λωρίδων. γ) Λιπόφιλα χρώματα σε μορφή λωρίδων και κηλίδων.

4.3 Είδη χρωματογραφίας.

Ο συνδυασμός των διαφόρων δυνητικών μορφών των δύο φάσεων μας δίνει

και τα διάφορα είδη της χρωματογραφίας.

Έτσι:

- Αν η κινητή φάση είναι υγρό (liquid) και η στατική στερεό (solid), τότε έχουμε τη **χρωματογραφία προσροφήσεως** (Adsorption Chromatography), που περιλαμβάνει τη **χρωματογραφία στήλης με προσρόφηση** (Column Adsorption) και τη **χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας** (Thin Layer Chromatography).
- Αν η κινητή φάση είναι υγρό και η στατική υγρό, τότε έχουμε τη **χρωματογραφία κατανομής** (Partition Chromatography), που περιλαμβάνει τη **χρωματογραφία στήλης με κατανομή** (Column Partition), τη **χαρτοχρωματογραφία** (Paper Chromatography), την **ιοντοανταλλακτική χρωματογραφία** (Ion Exchange Chromatography) και την **υγρή χρωματογραφία με υψηλή πίεση** (High Pressure Liquid Chromatography).
- Αν η κινητή φάση είναι αέριο και η στατική φάση στερεό, τότε έχουμε την **αέριο-χρωματογραφία προσροφήσεως** (Adsorption Chromatography).
- Αν η κινητή φάση είναι αέριο και η στατική υγρό, τότε έχουμε την **αέριο-υγρό-χρωματογραφία** (Gas-Liquid Chromatography).

Συνοπτικά τα είδη της χρωματογραφίας φαίνονται στον πίνακα 4.3.1.

ΠΙΝΑΚΑΣ 4.3.1
Τα είδη της χρωματογραφίας

Κινητή φάση	Στατική φάση φάση	
	Στερεό (χρωματογραφία προσροφήσεως)	Υγρό (χρωματογραφία κατανομής)
Υγρό	<ul style="list-style-type: none"> – Χρωματογραφία στήλης με προσρόφηση – Χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας (T.L.C.) 	<ul style="list-style-type: none"> – Χρωματογραφία στήλης με κατανομή – Χαρτοχρωματογραφία – Ιοντοανταλλακτική χρωματογραφία – Υγρή χρωματογραφία με υψηλή πίεση
Αέριο	<ul style="list-style-type: none"> – Αέριο-χρωματογραφία προσροφήσεως 	<ul style="list-style-type: none"> – Αέριο-υγρό-χρωματογραφία

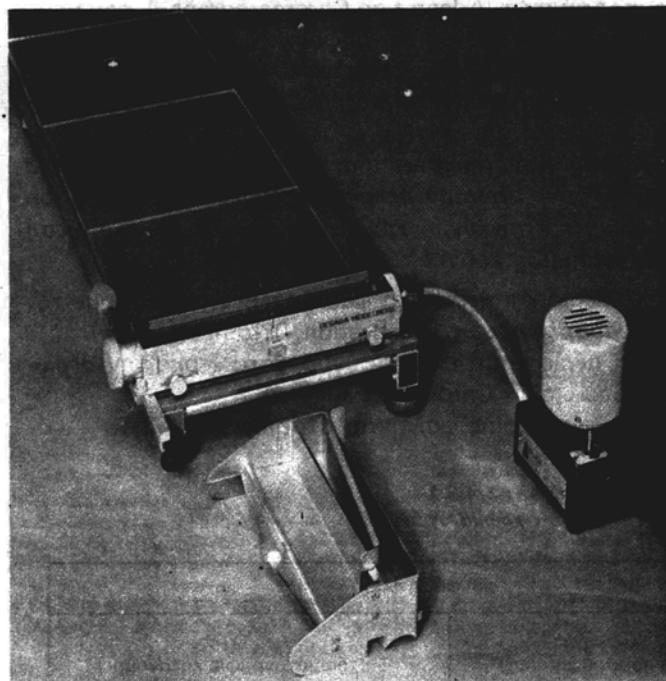
4.3.1 Χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας (Thin Layer Chromatography, T.L.C.).

Η μέθοδος αυτή είναι γνωστή από το 1938 που την ανέπτυξαν οι Ismailov και Shraiber. Αργότερα, δηλαδή το 1956, αναμορφώθηκε η μέθοδος ριζικά από τον Stahl, που θεωρείται και πατέρας της χρωματογραφίας λεπτής στοιβάδας. Από τότε η ανάπτυξή της υπήρξε ραγδαία και όλα τα επιστημονικά περιοδικά κατακλύζονται από μελέτες που έχουν χρησιμοποιήσει τη μέθοδο.

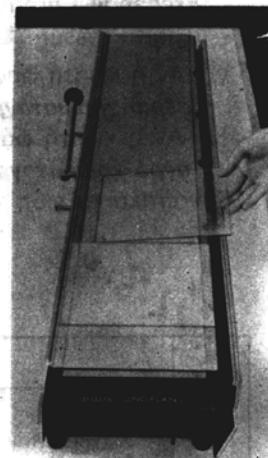
α) Τεχνική της μεθόδου.

Στη χρωματογραφική αυτή μέθοδο το προσροφητικό μέσο (στατική φάση) στρώνεται σε λεπτή στοιβάδα πάνω σε ειδική γυάλινη πλάκα και πάνω στην πλάκα τοποθετείται το δείγμα με τη μορφή λωρίδας ή κηλίδας με ειδικές μικροπιπέττες. Η πλάκα τοποθετείται σε γυάλινο θάλαμο (tank) και αναπτύσσεται με κατάλληλο διαλύτη, οπότε διαχωρίζεται το δείγμα στα διάφορα συστατικά. Μετά βγαίνει από

το θάλαμο, στεγνώνεται και παρατηρείται σε κατάλληλη λάμπα (στα 254 μμ ή στα 350 μμ). Αν τα συστατικά του δείγματος δεν είναι ορατά στο μάτι ή στη λάμπα, τότε ψεκάζονται με ειδικό αντιδραστήριο και έτσι εμφανίζονται έγχρωμα.



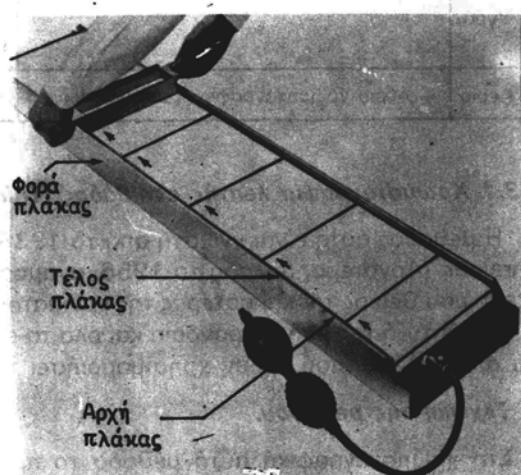
Ⓐ



Ⓑ



Ⓒ



Ⓓ

Σχ. 4.3α.

Τεχνική χρωματογραφίας λεπτής στοιβάδας.

- α) Συσκευή επιστρώσεως πλακών. β) Τοποθέτηση πλακών.
γ) Επίστρωση πλακών.

Η χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας, όπως εφαρμόζεται συνήθως, ανήκει στη χρωματογραφία προσροφήσεως. Μπορεί όμως να χρησιμοποιηθεί επίσης και στη χρωματογραφία κατανομής αν το στερεό προσροφητικό μέσο καλυφθεί με υγρή φάση.

Μεγάλη σημασία στην T.L.C. έχει ο **συντελεστής κατακρατήσεως Rf** (Retention factor) που είναι χαρακτηριστικός για κάθε ουσία, γιατί έτσι την ταυτοποιούμε (ανιχνεύομε).

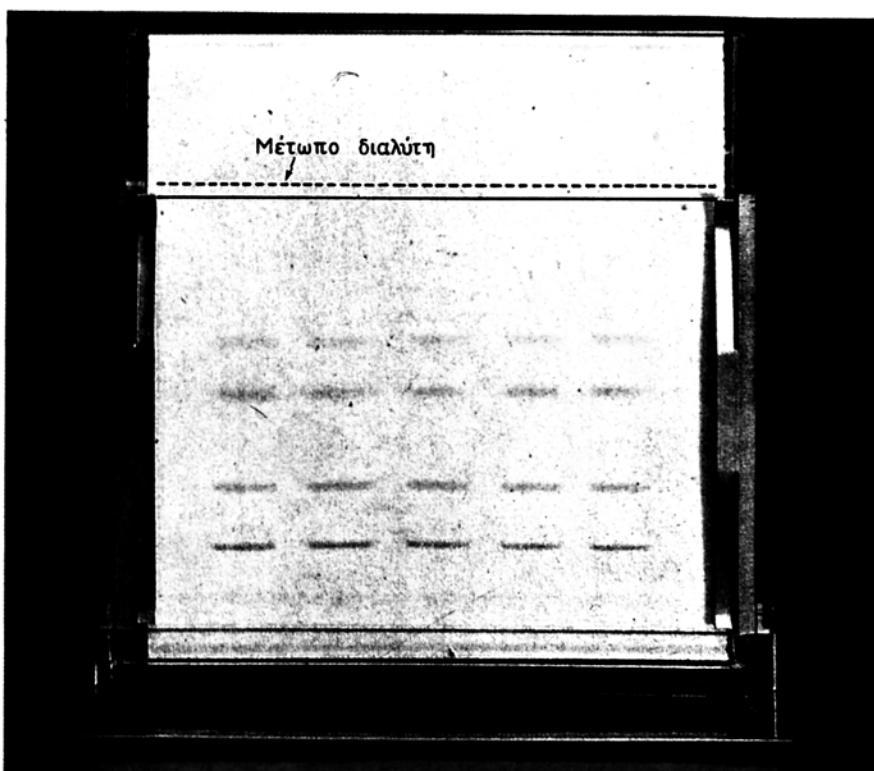
Ονομάζομε Rf μιας ουσίας το λόγο της αποστάσεως της κηλίδας (από το σημείο εκκινήσεως μέχρι το τελικό σημείο της) προς την απόσταση που διήνυσε ο διαλύτης. Δηλαδή:

$$Rf = \frac{\text{απόσταση που διανύθηκε από την κηλίδα}}{\text{απόσταση που διανύθηκε από το διαλύτη}}$$

Έτσι π.χ. στο σχήμα 4.3β το Rf των διαφόρων χρωμάτων των κηλίδων είναι:

$$Rf \text{ κυανής κηλίδας} = \frac{1,7}{10} = 0,17$$

$$Rf \text{ μωβ κηλίδας} = \frac{3,2}{10} = 0,32$$



Σχ. 4.3β.

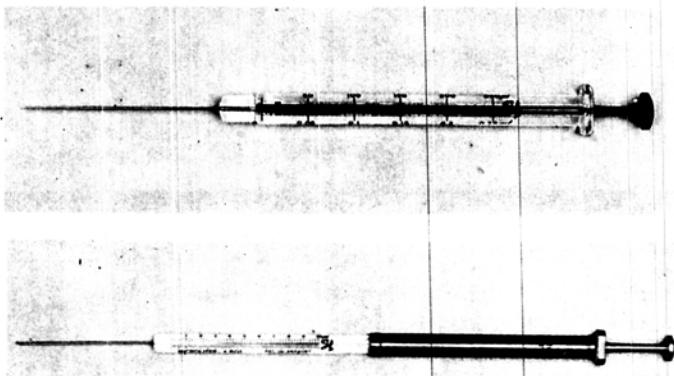
Εύρεση της τιμής Rf διαφόρων χρωμάτων.

$$Rf \text{ καφέ κηλίδας} = \frac{6}{10} = 0,60$$

$$Rf \text{ κίτρινης κηλίδας} = \frac{7,4}{10} = 0,74$$

Η απόσταση που διάνυσε ο διαλύτης από την κηλίδα ως τη στιγμή που βγάζομε από το θάλαμο την πλάκα, ονομάζεται *μέτωπο του διαλύτη*. Η τοποθέτηση των κηλίδων πρέπει να γίνεται με πολύ μεγάλη προσοχή και προϋποθέτει εξειδίκευση. Συνήθως επιθέτομε από 1-10λ (1 ml = 1000λ) για ποιοτικό προσδιορισμό σε μορφή κηλίδων και 50-200λ για ποσοτικό προσδιορισμό σε μορφή λωρίδων (σχ. 4.1). Η τοποθέτηση γίνεται με ειδικές μικροσύριγγες (σχ. 4.3γ) οι οποίες επίσης χρειάζονται μεγάλη προσοχή στο χειρισμό τους.

Οι μικροσύριγγες πρέπει να είναι πολύ καλά πλυμένες, γιατί διαφορετικά, λόγω ευαισθησίας της μεθόδου, μπορεί να συμβούν αναλυτικά σφάλματα.



Σχ. 4.3γ.
Διάφοροι τύποι μικροσυρίγγων.

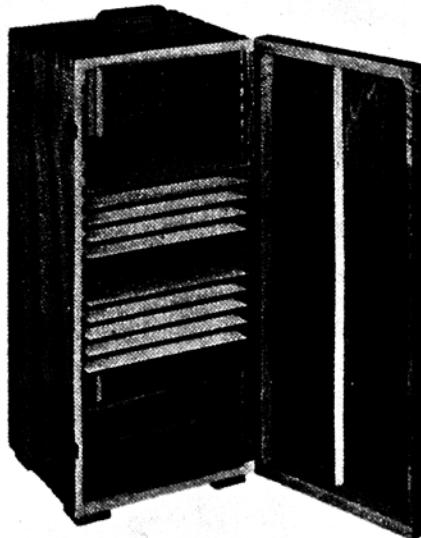
β) Πλεονεκτήματα της μεθόδου.

Τα πιο σημαντικά πλεονεκτήματα της χρωματογραφίας λεπτής στοιβάδας είναι:

1. Απαιτεί μικρό χρόνο για ανάλυση. Συνήθως 30 min είναι αρκετά.
2. Η συσκευή είναι μικρή και όχι πολύ ακριβή.
3. Η ευαισθησία της μεθόδου είναι πολύ μεγάλη. Μπορεί να ανιχνεύσει π.χ. ορμόνες σε ποσότητα 0,1 μg.
4. Γίνεται πολύ καλός διαχωρισμός μίγματος ουσιών.
5. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί η χρωματογραφική αυτή μέθοδος τόσο για ποιοτικό όσο και για ποσοτικό προσδιορισμό.
6. Αν χρησιμοποιηθούν πλάκες προσροφητικού με ειδικό δείκτη φθορισμού μπορούν να ανιχνευθούν κατευθείαν ουσίες που απορροφούν στο υπεριώδες φως.
7. Οι απαιτούμενες για ανάλυση ποσότητες είναι πολύ μικρές. Συνήθως 10-500 μg είναι αρκετές για ανάλυση.

γ) Γενικές οδηγίες.

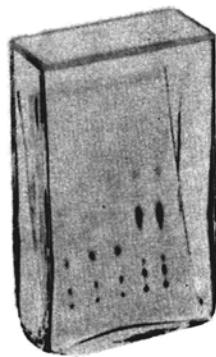
- Οι πλάκες πρέπει να τοποθετούνται σε ειδική θήκη που έχει αναγεννημένο πυρίτιο (silica gel) για να προστατεύονται από την υγρασία και τους ατμούς του εργαστηρίου (σχ. 4.3δ).



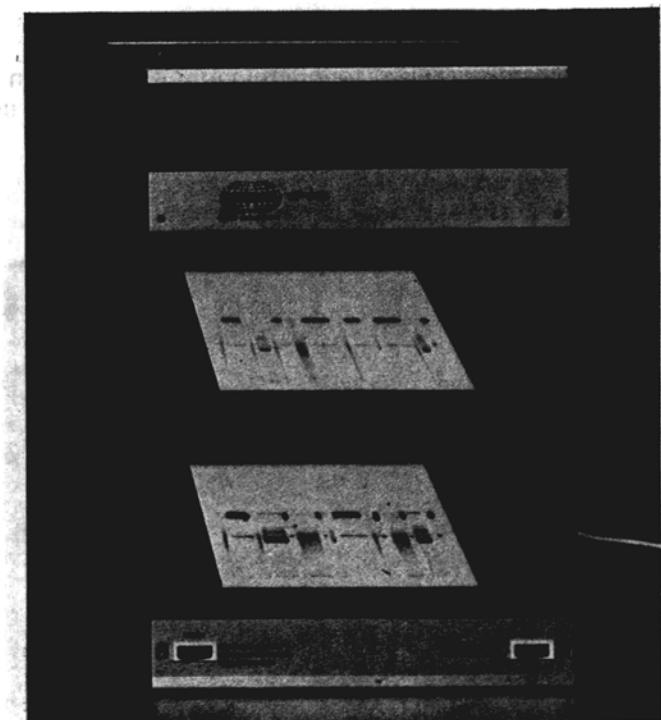
Σχ. 4.3δ.

Θήκη για τη διατήρηση γυάλινων πλακών χρωματογραφίας.

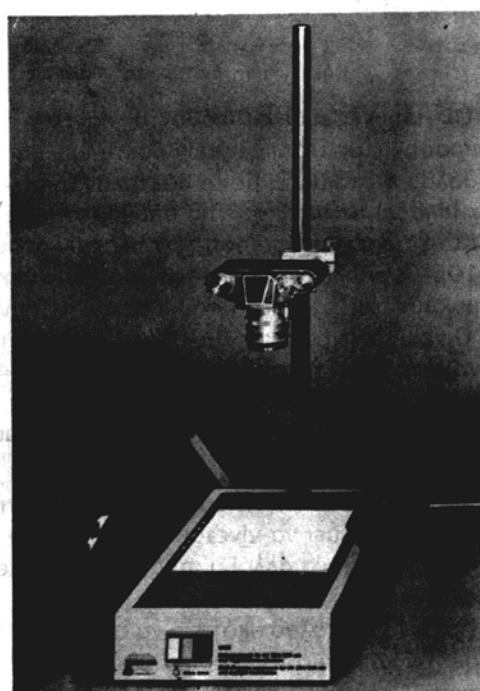
- Οι γυάλινες πλάκες πιάνονται πάντοτε από την κάτω επιφάνεια με μεγάλη προσοχή, με τις άκρες των δακτύλων και με τρόπο, ώστε να μην αγγιχθεί καθόλου η στοιβάδα με τα δάκτυλα. Ιδιαίτερα πρέπει να προσεχθεί η **αρχή της πλάκας** από το άκρο της οποίας τοποθετείται η κηλίδα [σχ. 4.3α (γ)].
- Κατά την ενεργοποίηση των πλακών στον κλίβανο με θερμοκρασία συνήθως 105°C, οι πλάκες πρέπει να **τοποθετούνται όρθιες**, κατά τρόπο που να απομακρύνεται καλύτερα το νερό και να γίνεται πλήρης ενεργοποίησή τους.
- Ο χρωματογραφικός θάλαμος (tank) πρέπει να είναι πολύ καλά πλυμένος και να σφραγίζει το πώμα του ερμητικά (σχ. 4.3ε). Για το λόγο αυτό τα χείλη του θαλάμου λιπαίνονται, ώστε να έχουν με το πώμα τέλεια επαφή. Υπάρχουν διάφοροι τύποι χρωματογραφικών θαλάμων, π.χ. ορθογώνιοι, κυκλικοί συνεχούς ροής, σάντουιτς κλπ. (σχ. 4.3στ).
- Τόσο η τοποθέτηση όσο και η έξοδος της πλάκας από το χρωματογραφικό θάλαμο πρέπει να γίνεται γρήγορα, γιατί η ατμόσφαιρα του διαλύτη στο θάλαμο μπορεί να αλλάξει, πράγμα που θα έχει ως συνέπεια την αλλοίωση των αποτελεσμάτων.
- Πρέπει με σχολαστικότητα να ακολουθούμε τις οδηγίες της μεθόδου σχετικά με τον κορεσμό του χρωματογραφικού θαλάμου με το διαλύτη, το στέγνωμα των πλακών, την εναπόθεση των κηλίδων, τη σύνθεση του διαλύτη κλπ., γιατί διαφορετικά μπορεί να έχομε σφάλματα αναλυτικά.



(δ)



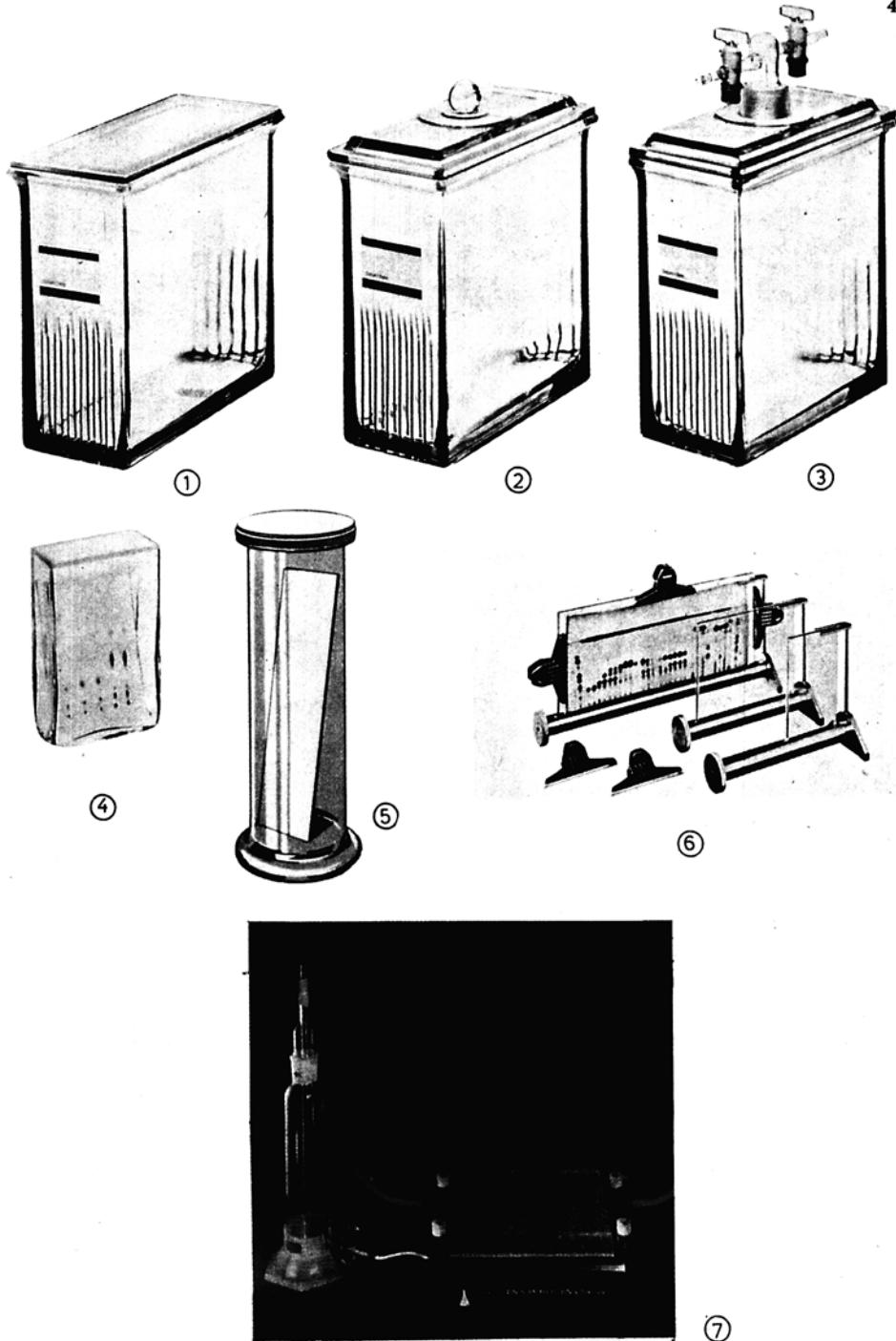
(ε)



(ε)

Σχ. 4.3ε.

- Τεχνική χρωματογραφίας λεπτής στοιβάδας.
 δ) Χρωματογραφικός θάλαμος αναπτύξεως.
 ε) Λάμπες εμφανίσεως πλακών χρωματογραφίας.



Σχ. 4.3στ.

Διάφοροι τύποι χρωματογραφικών θαλάμων.
1, 2, 3, 4 και 5 συνηθισμένοι τύποι. 6) Σάντουιτς χρωματογραφικός θάλαμος. 7) Οριζόντιος χρωματογραφικός θάλαμος (συνεχούς ροής).

7. Ο διαλύτης, συνήθως, αντικαθίσταται μετά 2 ή 3 τοποθετήσεις πλακών.
8. Πρέπει να αποφεύγομε να εκθέσουμε τα μάτια μας σε υπεριώδη ακτινοβολία για μεγάλο χρονικό διάστημα γιατί μπορούν να πάθουν βλάβη. **Συνιστάται να φοράμε ειδικά γυαλιά.**

4.3.2 Χαρτοχρωματογραφία (Paper Chromatography).

Στην πραγματικότητα αποτελεί ειδική περίπτωση της χρωματογραφίας στήλης με κατανομή.

a) Τεχνική της μεθόδου.

Η τεχνική της είναι όμοια με την T.L.C., με τη διαφορά ότι εδώ το προσροφητικό μέσο είναι φύλλο ειδικού χρωματογραφικού χαρτιού πάνω στο οποίο γίνεται η τοποθέτηση των κηλίδων. Και στην τεχνική αυτή χαρακτηριστικό μέγεθος για την κάθε ουσία αποτελεί· ο συντελεστής κατακρατήσεως.

Η μέθοδος αυτή είναι δύσχρηστη, γι' αυτό και βαθμιαία υποκαθίσταται από τη χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας, γιατί έχει το βασικό μειονέκτημα ότι αργεί πολύ η ανάπτυξη του χρωματογραφήματος (τουλάχιστον 6 ώρες). Η γρήγορη κίνηση του διαλύτη και των διαχωριζομένων ουσιών πάνω στο χαρτί οφείλεται σε τριχοειδή φαινόμενα του χρωματογραφικού χαρτιού.

Από τεχνική πλευρά η χαρτοχρωματογραφία διακρίνεται σε:

- α) Ανιούσα χρωματογραφία, όταν ο διαλύτης έχει φορά προς τα επάνω.
- β) Κατιούσα χρωματογραφία, όταν ο διαλύτης έχει φορά προς τα κάτω.

β) Ηλεκτροφόρηση ή χαρτοηλεκτροφόρηση (Electrophoresis ή Paper-Electrophoresis).

Είναι χρωματογραφική μέθοδος με μεγάλες εφαρμογές για τον προσδιορισμό κυρίως πρωτεΐνων και αμινοξέων των βιολογικών υγρών, ενώ σπανιότερα χρησιμοποιείται και για ανόργανους προσδιορισμούς. Κατ' αυτή έχομε διέλευση ηλεκτρικού ρεύματος από διάλυμα που περιέχει ενώσεις διπολάρων σε ίοντα. Τα φορτισμένα ίόντα κατευθύνονται προς τα αντίθετα φορτισμένα ηλεκτρόδια και έτσι γίνεται ο διαχωρισμός των ενώσεων, ανάλογα με το φορτίο των ιόντων τους. Ο διαχωρισμός αυτός εξαρτάται από το μέγεθος των ιόντων, δηλαδή από το μοριακό βάρος (μ.β.), τη διαφορά δυναμικού και την ένταση του ηλεκτρικού πεδίου.

4.3.3 Αέριο-υγρο-χρωματογραφίας (Gas-Liquid Chromatography, G.L.C.).

Η χρωματογραφική αυτή μέθοδος ανακαλύφθηκε το 1941 από τους Martin και Synge, πήρε όμως τη σημερινή της μορφή το 1952 με τις εργασίες των Martin και James που τιμήθηκαν γι' αυτό με το βραβείο Nobel.

Είναι μέθοδος πολύ χρήσιμη και εφαρμόζεται κυρίως για τον προσδιορισμό αιθερίων ελαίων και γενικά ππητικών ουσιών.

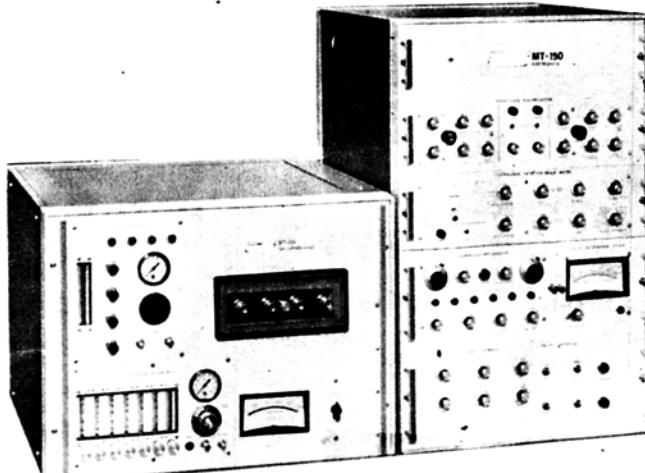
Η ευρύτητα των εφαρμογών της μεθόδου αυτής αποδεικνύεται και από το γεγονός ότι δημοσιεύονται γι' αυτή σε έγκυρα περιοδικά πάνω από 2.000 δημοσιεύσεις το χρόνο.

α) Αρχή της μεθόδου.

Η βάση για το διαχωρισμό με την τεχνική αυτή είναι η κατανομή του δείγματος μεταξύ δύο φάσεων. Η μία από τις φάσεις είναι υγρό υψηλού σημείου ζέστεως (σ.ζ.) επικαλυμμένο υπό μορφή λεπτού υμενίου (film) πάνω σε αδρανές στερεό και η άλλη φάση είναι αέρια που περνά από τη στατική φάση και διαχωρίζει τα συστατικά του μίγματος ανάλογα με μια φυσικοχημική σταθερά, που ονομάζεται **συντελεστής κατανομής** και έχει διαφορετική τιμή για κάθε συστατικό του μίγματος.

Τα εκλυόμενα κλάσματα των διαφόρων συστατικών περνούν από ανιχνευτή, όπου μετατρέπονται σε ηλεκτρικό ρεύμα και στη συνέχεια καταγράφονται με τη μορφή καμπύλης σε καταγραφέα (recorder).

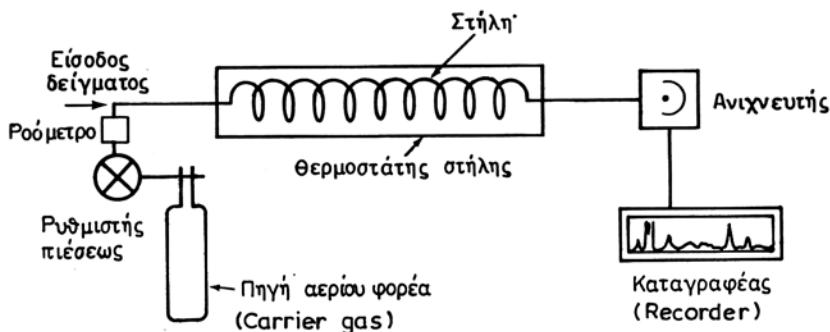
Η συσκευή που χρησιμοποιείται για την αέρια χρωματογραφία ονομάζεται αεριοχρωματογράφος (σχ. 4.3ζ).



Σχ. 4.3ζ.
Αεριοχρωματογράφος.

β) Περιγραφή αεριοχρωματογράφου.

Τα κύρια μέρη του αεριοχρωματογράφου είναι (σχ. 4.3η):



Σχ. 4.3η.
Σχηματική παράσταση αρχής λειτουργίας αεριοχρωματογραφίας.

- Πηγή αέριου φορέα (carrier gas).
- Ακριβές ρούμετρο (flow controller).
- Είσοδος δείγματος (injection port).
- Στήλη (column).
- Ανιχνευτής (detector).
- Καταγραφέας (recorder).

1. Πηγή του αέριου φορέα (carrier gas).

Τα αέρια που χρησιμοποιούνται συνήθως είναι το άζωτο (N_2) και το ήλιο (He) και πρέπει να είναι υψηλής καθαρότητας και ειδικής παρασκευής (για αεριοχρωματογραφία).

2. Ακριβές ρούμετρο (flow controller).

Χρησιμεύει για τη μέτρηση της ροής του αέριου φορέα και έχει μεγάλη σημασία για την ανάλυση.

3. Είσοδος δείγματος (injection port).

Από εδώ «ενίσται» αμέσως το δείγμα, με ειδικές μικροσύριγγες, διά μέσου ελαστικού πώματος (septum) που εμποδίζει τη διαρροή του έξω από το όργανο. Η ποσότητα κυμαίνεται συνήθως από 1-5 μl. Η θερμοκρασία του οργάνου στο σημείο αυτό είναι μεγαλύτερη από τη θερμοκρασία της στήλης, για να εξατμίζεται τό δείγμα γρήγορα και να παρασύρεται ευκολότερα από το ρεύμα του αερίου.

4. Στήλη.

Αποτελεί την **καρδιά** του αεριοχρωματογράφου. Βρίσκεται θερμοστατημένη μέσα σε κλίβανο που μπορεί να φθάσει σε θερμοκρασίες μέχρι 400°C .

Οι σωλήνες που γεμίζονται οι στήλες είναι είτε γυάλινες είτε από χαλκό είτε αλουμίνιο σε σχήμα **υοειδές** ή **ελικοειδές**.

Η στήλη αποτελείται από αδρανές στερεό υπόστρωμα και υγρή φάση.

Το αδρανές στερεό υπόστρωμα (solid support) είναι αδρανές στερεό με μεγάλο εμβαδό επιφάνειας σωματιδίων πάνω στο οποίο απλώνεται η υγρή φάση σε μορφή πολύ λεπτού υμενίου. Τα υλικά που χρησιμοποιούνται πιο πολύ είναι το Chromosorb W, Chromosorb P, Celite, Fire-Brick κλπ. Η υγρή φάση (liquid phase) είναι υγρά σώματα υψηλού σ.ζ. που μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε θερμοκρασίες μέχρι και της τάξεως των 400°C .

Η υγρή φάση επικαλύπτει το αδρανές υπόστρωμα και πάνω από αυτή περνά η αέρια φάση, που είναι συνήθως άζωτο (N_2).

Τα υλικά που χρησιμοποιούνται πιο πολύ είναι διάφορες ποικιλίες του Carbowax (πολυαιθυλενογλυκόλη), εστέρες διαιθυλενογλυκόλης, σιλικόνες, σκουαλάνιο, Tween 80, Porapack Q, Porapack P κλπ.

5. Ανιχνευτής.

Ο ανιχνευτής ταυτοποιεί την παρουσία και μετρά την ποσότητα των «εκλυομένων» από τη στήλη συστατικών του μίγματος.

Οι πιο γνωστοί ανιχνευτές είναι οι ακόλουθοι:

- **Ανιχνευτής Θερμικής αγωγιμότητας ή καθαρόμετρο** (Thermal Conductivity ή

Katharometer). Βασίζεται στη θερμική αγωγιμότητα των αερίων που περνούν από τη στήλη.

- **Ανιχνευτής ιονισμού με φλόγα** (Flame ionization, F.I.D) Είναι ο πιο διαδομένος και εύχρηστος κι έχει μεγάλη κλίμακα ανιχνεύσεως. Ανιχνεύει όλες σχεδόν τις ενώσεις εκτός από το φορμικό οξύ, τα ευγενή αέρια, τα οξείδια του N, τα οξείδια του C, H₂S, Cs₂, και το νερό. Το μεγάλο πλεονέκτημά του είναι ότι δεν ανιχνεύει το νερό, με αποτέλεσμα να έχομε τη δυνατότητα να αναλύσουμε υδατικά διαλύματα.
- Τα εκλυόμενα από τη στήλη αέρια καίγονται σε υψηλή θερμοκρασία με τη βοήθεια μίγματος υδρογόνου και αέρα, ιονίζονται και μετατρέπονται σε ηλεκτρικό σήμα που καταγράφεται σε **καταγραφέα**.
- **Ανιχνευτής ηλεκτρονίων** (Electron Capture) παρουσιάζει μεγάλη ευαισθησία και **εξειδίκευση για αλογονούχα παράγωγα** και οργανοφωσφορικές ενώσεις όπως π.χ. οργανοφωσφορικά εντομοκτόνα.

γ) Ταυτοποίηση και προσδιορισμός των συστατικών ενός μίγματος.

Ονομάζομε **αέριο-χρωματογράφημα** τη γραφική παράσταση που παίρνομε στον καταγραφέα ενός αεριοχρωματογράφου ύστερα από μια ανάλυση (σχ. 4.3θ).

Ονομάζομε **χρόνο ανασχέσεως** (Retention time, Rt) το χρόνο που χρειάζεται μια ουσία σε min για να εκλυθεί από τη στήλη, από τη στιγμή της ενέσεως της (σχ. 4.3ι).

Ο χρόνος ανασχέσεως αποτελεί χαρακτηριστική φυσικοχημική σταθερά της ουσίας και γι' αυτό χρησιμοποιείται για την **ταυτοποίηση της ουσίας**. Είναι δηλαδή έννοια ανάλογη με τη Rf της χρωματογραφίας λεπτής στοιβάδας, αλλά δεν είναι τόσο χαρακτηριστική όπως στην T.L.C. Ο ποσοτικός προσδιορισμός βασίζεται στη μέτρηση, είτε του ύψους των καμπυλών είτε των εμβαδών που περικλείονται από την καμπύλη και τον άξονα των χρόνων, γιατί έχει βρεθεί ότι **το ύψος μιας καμπύλης ή το εμβαδό της είναι ανάλογα με τη συγκέντρωση της ουσίας**.

δ) Πλεονεκτήματα της αεριο-υγρο-χρωματογραφίας (G.L.C.).

Τα σπουδαιότερα πλεονεκτήματα της μεθόδου είναι:

1. Προσφέρει μεγάλη ταχύτητα στην ανάλυση, 20-22 min είναι συνήθως αρκετά.

2. Έχει μεγάλη διαχωριστική ικανότητα.

Μπορεί π.χ. να διαχωρίσει τους εστέρες του στεατικού, ελαϊκού και λινολεϊκού οξέος, που ο διαχωρισμός τους με τις κλασικές μεθόδους είναι αδύνατος, γιατί η διαφορά του σημείου ζέσεως τους είναι ασήμαντη και διαφοροποιούνται ανάλογα με το βαθμό κορεσμού.

3. Παρουσιάζει υψηλή ακρίβεια ποσοτικού προσδιορισμού. Το συνηθισμένο σφάλμα μετρήσεως με τα χέρια δεν είναι μεγαλύτερο από 2%.

4. Η στήλη μπορεί να χρησιμοποιηθεί για πολλές αναλύσεις, με την προϋπόθεση ότι η θερμοκρασία δεν είναι τόσο υψηλή, ώστε να δημιουργείται έκλυση της στατικής φάσεως.

ε) Οδηγίες χρήσεως.

'Όπως σε όλα τα όργανα, οι οδηγίες ποικίλλουν ανάλογα με τον οίκο κατα-

PEPPERMINT OIL (BRASIL)

Column : 15% Carbowax 20M σε
Chromosorb W, AW, DMCS

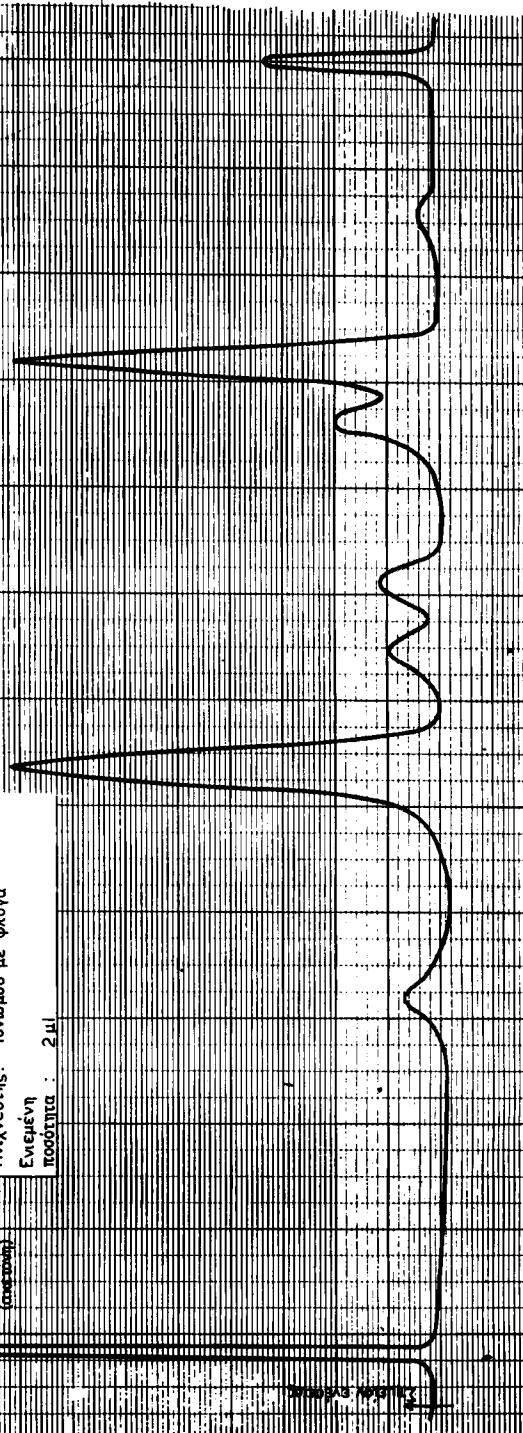
Μήκος στρωγγ.: Γιαλίνη, Υ, 6 μετρικά πόδια
0,6 mm επιμερικής διαμέτρου
Τ στρωγγ.: 80°C - 150°C με ρυθμό
2°C / min.

Ρυθμός ροής : 50 ml / min
Πηγή αερίου
φορέα : N₂

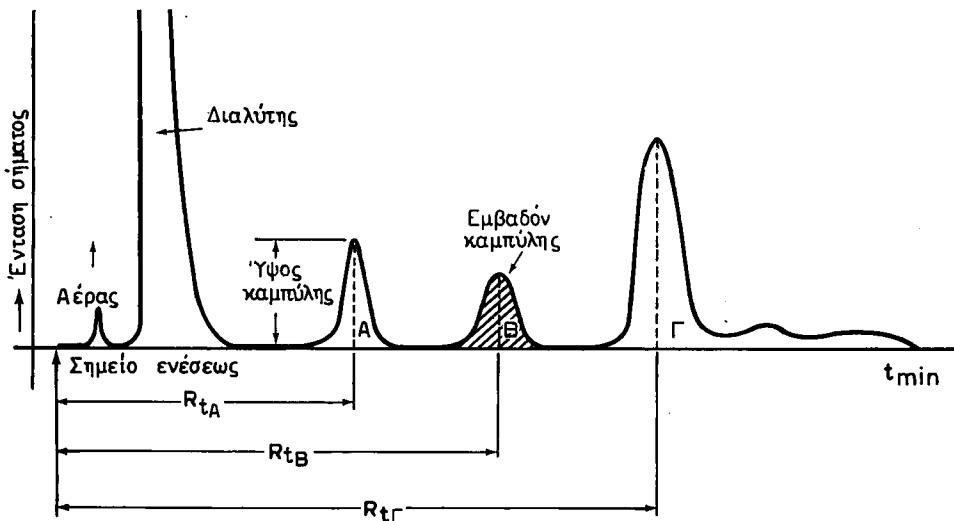
Αναχνευτής : Ionoskop με φλόγα
Ενεργείη
ποσοτητά : 2ψι

Αναχνευτής
αποτύπωσης

Ενεργείη
ποσοτητά : 2ψι



Σχ. 4.38.
Αεροχρωματογράφημα.



Σχ. 4.3ι.
Εύρεση χρόνου ανασχέσεως στην αεριοχρωματογραφία.

σκευής. Γενικά θα πρέπει να τηρηθούν οι ακόλουθες οδηγίες:

1. **Τακτικός έλεγχος του ελαστικού πώματος** (septum) στο σημείο της ενέσεως. Χρειάζεται **ιδιαίτερη προσοχή στο βαθμό χρησιμοποίησεως**, γιατί **αν είναι πολύ χρησιμοποιημένο μπορεί το δείγμα να διαφύγει**, με αποτέλεσμα τα αναλυτικά ευρήματα να μην είναι σωστά.
2. Να ελέγχεται κάθε φορά με καθρέπτη το άναμμα του ανιχνευτή. (Αν ο καθρέπτης θολώσει λίγο ο ανιχνευτής έχει ανάψει).
3. **Να προούνται με σχολαστική ακρίβεια οι συνθήκες ταχύτητας ροής θερμοκρασίας κλπ. του αερίου**, ώστε να υπάρχουν επαναλήψιμα αποτελέσματα.
4. Να γίνεται έλεγχος των παροχών των σωληνώσεων που φέρουν τα αέρια. Η δοκιμασία γίνεται εύκολα και αποτελεσματικά με σαπουνόνερο.
5. 'Όταν χρησιμοποιούμε για πρώτη φορά μια στήλη στο χρωματογράφο ή όταν η στήλη έχει **λεωθεί** από μακροχρόνια χρήση, τότε την καθαρίζομε θερμαίνοντας τη στήλη σε ορισμένη θερμοκρασία και διαβιβάζοντας τον αέριο φορέα (carrier gas) κατά τη διάρκεια μιας νύχτας. Η εργασία αυτή λέγεται **ρύθμιση της στήλης** (conditioning of column).

Στη διάρκεια αυτής της προετοιμασίας θα πρέπει να γίνει αποσύνδεση της στήλης από τον ανιχνευτή, γιατί στην αντίθετη περίπτωση τα εκλύμενα αέρια μπορεί να μολύνουν την κεφαλή του ανιχνευτή και να οδηγηθούμε έτσι σε ασφαλένα αποτελέσματα.

Πρέπει στο σημείο αυτό να προστεθεί ότι, όταν η στήλη είναι πολύ **λεωμένη**, τότε το χρώμα του ανιχνευτή είναι πορτοκαλί ή μπλε, ενώ όταν η στήλη είναι καθαρή η φλόγα δε φαίνεται.

6. Να φροντίζομε πάντοτε να είναι κλειστή η παροχή των αερίων.
7. Η παροχή του αζώτου να κλείνει πάντοτε, αφού κρυώσει η στήλη.
8. **Η ανάλυση πρέπει να αρχίζει όταν έχουν σταθεροποιηθεί τόσο η ταχύτητα ροής δύο και οι θερμοκρασίες του ανιχνευτή, της στήλης και της εισόδου του δείγματος**, γιατί τα αποτελέσματα δεν είναι επαναλήψιμα.

9. Τα αέρια που θα χρησιμοποιηθούν, δηλαδή άζωτο, αέρας και οξυγόνο, πρέπει να είναι πολύ υψηλής καθαρότητας και μάλιστα ειδικά για αέριο-υγρό-χρωματογραφία.
10. Όταν γίνεται μία ένεση, πρέπει να αφήνομε να περάσει ένα χρονικό διάστημα για την επόμενη ένεση, έτσι ώστε να εκλύονται όλα τα συστατικά του μίγματος.

4.3.4 Υγρή χρωματογραφία με υψηλή πίεση (High pressure liquid chromatography HPLC ή High performance liquid chromatography).

Είναι η πιο σύγχρονη χρωματογραφική μέθοδος και η εξέλιξή της υπήρξε ραγδαία. Είναι μέθοδος που συμπληρώνει και σε πολλές περιπτώσεις μέθοδος που αντικαθιστά την αεριο-υγρό-χρωματογραφία, που όπως ήδη έχει γραφτεί, είναι κατάλληλη βασικά για ενώσεις πτητικές και για ενώσεις ανθεκτικές σε υψηλές θερμοκρασίες. Από το σύνολο των οργανικών ενώσεων όμως μόνο το 15% πληρούν τις πιο πάνω δύο προϋποθέσεις, ενώ οι υπόλοιπες 85% δεν είναι επιδεκτικές για ανάλυση με την αεριο-υγρό-χρωματογραφία.

Στην περίπτωση αυτών των ουσιών που αντιστοιχούν σε ποσοστό 85% στο σύνολο των οργανικών ενώσεων, μπορεί να χρησιμοποιηθεί η υγρή χρωματογραφία με υψηλή πίεση που έχει τα εξής βασικά πλεονεκτήματα, σε σύγκριση με την αεριοχρωματογραφία.

- Η ουσία που πρόκειται να διαλυθεί δεν είναι απαραίτητο να είναι πτητική.
- Η ανάλυση μπορεί να γίνει σε πολύ χαμηλότερες θερμοκρασίες.
- Δεν καταστρέφεται το «μόριο» της προς ανίχνευση ουσίας και έτσι μπορεί να γίνει ανίχνευση και προϊόντων διασπάσεως των διαφόρων ουσιών.
- Τόσο η στατική όσο και η κινητή φάση είναι υγρές. Η διέλευση κινητής φάσεως γίνεται κάτω από υψηλή πίεση, συνήθως, 2000 psig (136 Atm) και γι' αυτό ονομάζεται υγρή χρωματογραφία με υψηλή πίεση*.

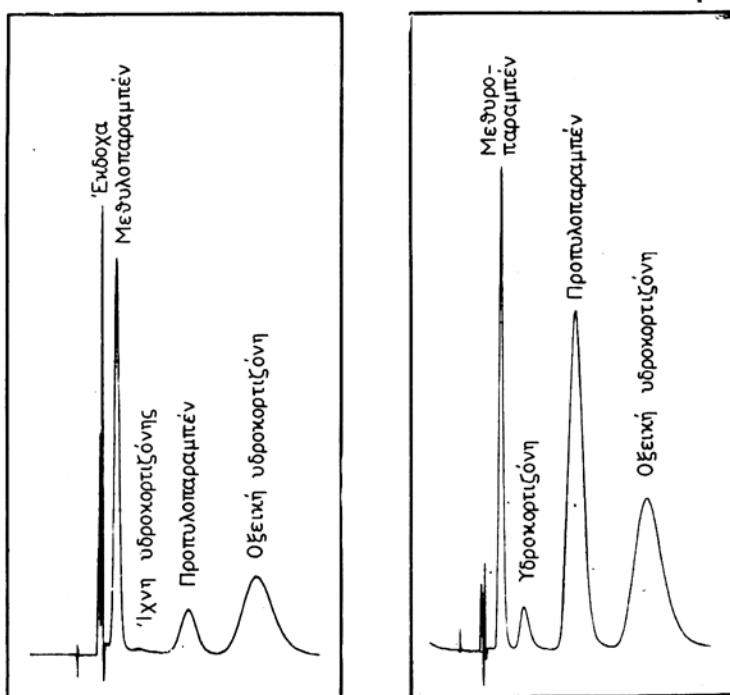
4.4 Ερωτήσεις.

1. Ποια είναι τα σπουδαιότερα πλεονεκτήματα της χρωματογραφίας;
2. Ποια είναι η αρχή της μεθόδου της;
3. Ποια είναι η είδη της χρωματογραφίας που προκύπτουν από το συνδυασμό των φάσεώς της;
4. Γιατί ονομάστηκε χρωματογραφία και ποιος θεωρείται πατέρας της;
5. Ποια είναι η τεχνική της χρωματογραφίας λεπτής στοιβάδας (T.L.C.);
6. Τι ονομάζομε Rf μιας ουσίας στην T.L.C.;
7. Τι ονομάζομε μέτωπο διαλύτη;
8. Ποια είναι τα πλεονεκτήματα της μεθόδου;
9. Ποιες προφυλάξεις πρέπει να λαμβάνονται για την προστασία των πλακών στο εργαστήριο;
10. Πώς πρέπει να πιάνονται οι πλάκες;
11. Πώς πρέπει να τοποθετούνται οι πλάκες στον κλίβανο κατά την ενεργοποίησή τους;
12. Γιατί πρέπει ο Θάλαμος να είναι ερμηνητικά κλεισμένος;
13. Κάθε πότε αλλάσσεται ο διαλύτης;

* Η συσκευή που χρησιμοποιείται ονομάζεται υγρο-χρωματογράφος υπό υψηλή πίεση (High pressure liquid chromatograph apparatus, σχ. 4.3i) και η γραφική παράσταση που παίρνομε στον καταγραφέα του οργάνου ονομάζεται χρωματογράφημα υγρής χρωματογραφίας (σχ. 4.3ia).



Σχ. 4.3ια.
Συσκευή υγρής χρωματογραφίας με υψηλή πίεση (H.P.L.C.).



Σχ. 4.3ιβ.
Χρωματογράφημα υγρής χρωματογραφίας με υψηλή πίεση.

14. Γιατί πρέπει να φοραμε γυαλιά όταν εκθέτομε τα μάτια μας σε υπεριώδη ακτινοβολία;
 15. Ποια είναι η τεχνική της χαρτοχρωματογραφίας;
 16. Σε πόσα είδη διακρίνεται αυτή;
 17. Ποια είναι τα μειονεκτήματά της;
 18. Τι ονομάζομε Rf στη χαρτοχρωματογραφία;
 19. Πού χρησιμοποιείται η ηλεκτροφόρηση;
 20. Σε ποιες ουσίες, εφαρμόζεται κυρίως η μέθοδος G.L.C.;
 21. Ποια είναι η αρχή της μεθόδου;
 22. Ποια είναι τα κύρια μέρη του αεριοχρωματογράφου;
 23. Ποια είδη ανιχνευτών γνωρίζετε;
 24. Πώς ταυτοποιείται μια ουσία και πώς προσδιορίζεται ποσοτικά στη G.L.C.;
 25. Ποια είναι τα πλεονεκτήματα της G.L.C.;
 26. Αν το ελαστικό πώμα στο σημείο ενέσεως έχει χρησιμοποιηθεί πολύ τι σφάλμα θα δημιουργήσει;
 27. Τι ονομάζομε ρύθμιση της στήλης (conditioning of column);
 28. Πώς μπορούμε να καταλάβουμε πότε μια στήλη είναι λερωμένη;
 29. Πότε πρέπει να αρχίζει η ανάλυση;
 30. Ποια είναι τα πλεονεκτήματα της υγρο-χρωματογραφίας με υψηλή πίεση;
 31. Γιατί ονομάζεται έτσι;
-

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΠΕΜΠΤΟ

ΘΟΛΟΜΕΤΡΙΑ – ΝΕΦΕΛΟΜΕΤΡΙΑ ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΤΩΝ ΔΙΑΦΟΡΩΝ ΑΝΑΛΥΤΙΚΩΝ ΜΕΘΟΔΩΝ

5.1 Θολομετρία και νεφελομετρία (Turbidimetry and Nephelometry).

Είναι μέθοδοι που μπορούν να θεωρηθούν ως τμήματα της φασματοφωτομετρίας. Στηρίζονται στη μέτρηση του φωτός που περνά ή που ανακλάται αντίστοιχα όταν η ακτινοβολούμενη ενέργεια περάσει δια μέσου θολού διαλύματος ή εναιωρήματος. Το φως που περνά ή που ανακλάται, μετρείται με χρωματόμετρα ή φασματοφωτόμετρα, αφού προηγουμένως εξοπλισθούν με κατάλληλα για κάθε περίπτωση εξαρτήματα.

Οι θολομετρικές μέθοδοι είναι μέθοδοι που χρησιμοποιούνται για τα περισσότερα αντιβιοτικά, τις βιταμίνες και άλλες βιολογικές ουσίες. Με τις μεθόδους αυτές η δραστικότητα των βιολογικών παραγόντων, π.χ. αντιβιοτικών, προσδιορίζεται με τη μέτρηση της θολερότητας που παράγεται από μια σειρά αραιωμένα αντιβιοτικά που περιέχουν κατάλληλο μικροβιολογικό φορέα (καλλιέργεια μικροβίων). Όσο μεγαλύτερη είναι η θολερότητα που οφείλεται στη μικροβιολογική ανάπτυξη τόσο μικρότερη είναι η δραστικότητα του αντιβιοτικού.

Με τις μεθόδους αυτές μπορούμε επίσης να τυποποιήσουμε τις βακτηριακές συγκεντρώσεις του εμβολιαστικού υλικού που χρησιμοποιείται στους μικροβιολογικούς προσδιορισμούς με τη βοήθεια κατάλληλου χρωματόμετρου ή φασματοφωτόμετρου.

Η θολερότητα, που συμβολίζεται συνήθως με το γράμμα S, ορίζεται ως πηλίκο του $\log \frac{P_0}{P}$

όπου: P_0 η ένταση της ακτινοβολίας που πέφτει και
 P η ένταση της ακτινοβολίας που περνά.

Κάτω από ορισμένες συνθήκες, η θολερότητα (S) είναι ανάλογη με τη συγκέντρωση της ουσίας. Δηλαδή:

$$S = K \cdot C$$

όπου: K είναι μία σταθερά και
 C η συγκέντρωση της ουσίας.

Η προηγούμενη σχέση είναι σχέση ανάλογη με την αντίστοιχη σχέση της φασματοφωτομετρίας και *ισχύει μόνο για πολύ αραιά διαλύματα*.

5.1.1 Τεχνική νεφελομετρίας.

- Προσαρμόζουμε το κατάλληλο εξάρτημα νεφελομετρίας σε κατάλληλα διαλεγμένο χρωματόμετρο.

- β) Βάζομε το κατάλληλο μήκος κύματος ή φίλτρο. Στην περίπτωση που δε γράφεται συγκεκριμένο μήκος κύματος, χρησιμοποιούμε φίλτρο που δίνει μπλε φωτισμό.
- γ) Βάζομε στο όργανο το πιο πυκνό διάλυμα και ρυθμίζομε κατάλληλα τη διαπερατότητα* ή απορρόφηση του διαλύματος.
- δ) Μετρούμε τη διαπερατότητα (T) των υπολοίπων αραιών συγκεντρώσεων και ετοιμάζομε μια καμπύλη αναφοράς (calibration curve) της διαπερατότητας σε συνάρτηση με τη συγκέντρωση του πρότυπου διαλύματος.
- Από την καμπύλη αναφοράς βρίσκομε το άγνωστο δείγμα.

5.2 Σύγκριση και εφαρμογές των διαφόρων αναλυτικών μεθόδων.

Μέθοδος	Εφαρμογές – Πλεονεκτήματα	Μειονεκτήματα
ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΑ ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΕΩΣ	<ul style="list-style-type: none"> – Μέθοδος ταυτοποίησεως και ποσοτικού προσδιορισμού ουσιών. – Είναι απλή, ακριβής και η περισσότερο χρησιμοποιούμενη αναλυτική μέθοδος. 	<ul style="list-style-type: none"> – Δεν είναι εξειδικευμένη, γιατί μπορεί στο ίδιο μήκος κύματος να απορροφά και άλλη ουσία.
ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΑ ΥΠΕΡΥΘΡΗΣ (I.R.)	<ul style="list-style-type: none"> – Μέθοδος ταυτοποίησεως των ουσιών. – Αποτελεί το δακτυλικό αποτύπωμα της ουσίας. 	<ul style="list-style-type: none"> – Υψηλό κόστος αγοράς οργάνου.
ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΑ ΑΤΟΜΙΚΗΣ ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΕΩΣ	<ul style="list-style-type: none"> – Ταυτοποίηση και ποσοτικός προσδιορισμός μεταλλικών στοιχείων. – Μεγάλη Ευαισθησία. – Μεγάλη εξειδικευση. – Ταχύτητα. 	<ul style="list-style-type: none"> – Προσδιορίζει μόνο μερικά από τα αμέταλλα και μάλιστα έρμεστα. – Υψηλό κόστος αγοράς.
ΦΘΟΡΙΟΜΕΤΡΙΑ ή ΦΛΟΥΟΡΟΜΕΤΡΙΑ	<ul style="list-style-type: none"> – Ταυτοποίηση και ποσοτικός προσδιορισμός ενώσεων που φθορίζουν. – Μεγάλη εξειδικευση. – Μεγάλη ευαισθησία. 	<ul style="list-style-type: none"> – Μικρό πεδίο εφαρμογής. – Περιορίζεται μόνο σε ενώσεις που έχουν την ιδιότητα φθορισμού.
ΦΛΟΓΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΑ	<ul style="list-style-type: none"> – Ταυτοποίηση και προσδιορισμός των αλκαλίων και αλακαλικών γαιών. 	<ul style="list-style-type: none"> – Μικρό πεδίο εφαρμογής.
ΘΟΛΟΜΕΤΡΙΑ ΚΑΙ ΝΕΦΕΛΟΜΕΤΡΙΑ	<ul style="list-style-type: none"> – Μικροβιολογικοί έλεγχοι αντιβιοτικών, βιταμινών κλπ. – Έύρεση ιχνών χλωριούχων και θειίκων σε χημικές ουσίες. 	<ul style="list-style-type: none"> – Μικρό πεδίο εφαρμογής. – Επίπονη μέθοδος. – Όχι τόσο ακριβής.

* Διαπερατότητα (transmitancy): Είναι το πρηλίκο της εντάσεως της ακτινοβολίας που περνά ή αναλάται από θολό διάλυμα, προς την ένταση (P_0) της προσπίπουσας στο διάλυμα ακτινοβολίας. Η συνηθισμένη έκφραση για τη διαπερατότητα είναι η «επί τοις εκατόν» διαπερατότητα (100 T).

5.2 Σύγκριση και εφαρμογές των διαφόρων αναλυτικών μεθόδων.

Μέθοδος	Εφαρμογές – Πλεονεκτήματα	Μειονεκτήματα
ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΛΕΠΤΗΣ ΣΤΟΙΒΑΔΑΣ (T.L.C.)	<ul style="list-style-type: none"> – Μέθοδος διαχωρισμού και ταυτοποίησεως ουσιών. – Απλή, ευαίσθητη μέθοδος. – Μικρό κόστος αγοράς οργάνων και υλικών. 	<ul style="list-style-type: none"> – Ποσοτικός προσδιορισμός που δεν είναι πολύ ακριβής.
ΑΕΡΙΟ-ΥΓΡΟ - ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ (G.L.C.)	<ul style="list-style-type: none"> – Διαχωρισμός αιθερίων ελαίων και γενικά πιπήτικων ουσιών. – Μεγάλη ικανότητα διαχωρισμού ουσιών. – Ταχύτητα αναλύσεως. – Προσδιορίζει με ακρίβεια ποσοτικά μια ουσία. 	<ul style="list-style-type: none"> – Υψηλό κόστος αγοράς. – Εφαρμογή στο 15% μόνο γενικά των ουσιών. – Δεν παρουσιάζει μεγάλη εξειδίκευση για ταυτοποίηση.
ΥΓΡΟ-ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΥΨΗΛΗΣ ΠΙΕΣΕΩΣ (H.P.L.C.)	<ul style="list-style-type: none"> – Μεγάλο πεδίο εφαρμογών που σχεδόν δεν συγκρίνεται με άλλη γνωστή τεχνική. – Αυτόματος χειρισμός. – Ευαίσθησία. – Εξειδίκευση. – Διαχωριστική ικανότητα. 	<ul style="list-style-type: none"> – Υψηλό κόστος αγοράς. – Εμπειρία στην εφαρμογή.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΕΚΤΟ

ΦΥΓΟΚΕΝΤΡΗ ΣΥΣΚΕΥΗ

6.1 Γενικά.

Ο διαχωρισμός στερεών από έτερογενή συστήματα στερεών-υγρών είναι βασική χημική διεργασία που είναι αρκετά συχνή στηγη ποσοτική ανάλυση. Ο διαχωρισμός αυτός μπορεί να γίνει με διάφορες μεθόδους, όπως π.χ. καταβύθιση ή καθίζηση, διήθηση, φυγοκέντρηση.

Η φυγοκέντρηση χρησιμοποιείται βασικά σε δύο περιπτώσεις:

- Όταν έχομε μικρά ποσά στερεών ή ίζηματα με τόσο μικρούς κόκκους ή συσώματα που περνούν και από σκληρούς ακόμη ηθμούς ή
- Όταν διαθέτομε τόσο μικρούς όγκους υγρών, ώστε να υπάρχει κίνδυνος δημιουργίας αναλυτικών σφαλμάτων από απώλειες του αρχικού διαλύματος, όταν χρησιμοποιηθούν άλλες μέθοδοι διαχωρισμού, όπως π.χ. διήθηση.

Κατά τη διάρκεια της φυγοκεντρήσεως διαχωρίζονται τα υλικά ενός διαλύματος ανάλογα με την πυκνότητά τους.

6.2 Αρχή της μεθόδου.

Η φυγοκέντρηση αποτελεί μια από τις πιο χρήσιμες πρακτικά εφαρμογές της κυκλικής κινήσεως.

Από τη Φυσική είναι γνωστό ότι στερεά σωματίδια αιωρούμενα μέσα σε υγρό που έχει μικρή πυκνότητα έχουν πιστική τάση κάτω από την επίδραση της βαρύτητας. Η ταχύτητα με την οποία πέφτουν τελικά εξαρτάται από μια σειρά παραγόντων, όπως είναι το μέγεθος και σχήμα των αιωρουμένων σωματίδιων, η διαφορά πυκνότητας της στερεάς φάσεως, δηλαδή των αιωρουμένων σωματίδιων, από την υγρή, η γλοιότητα ή το ιεώδες του υγρού, η βαρύτητα κλπ.

Σύμφωνα με το γνωστό από τη Φυσική νόμο τού Stokes, **όσο μεγαλώνει η δύναμη της τεχνητά δημιουργούμενης βαρύτητας τόσο και πο γρήγορα διαχωρίζεται η στερεά φάση από την υγρή.**

Επίσης είναι γνωστό ότι **η δύναμη που απαιτείται για να μπορέσει να διατηρηθεί ένα σωματίδιο σε κυκλική κίνηση σταθερής ακτίνας και ταχύτητας είναι ανάλογη με τη μάζα του.** Γι' αυτό σ' ένα περιστρεφόμενο μηχάνημα της μορφής του σχήματος 6.2α τα βαρύτερα σωματίδια κινούνται προς τις άκρες του σωλήνα, ενώ τα ελαφρότερα παραμένουν πιο κοντά προς το κέντρο περιστροφής.

Στις φυγόκεντρες συσκευές εύκολα επιτυγχάνουμε δυνάμεις μεγαλύτερες από τη βαρύτητα. Η δύναμη f πάνω σε κάποιο σώματίδιο S δίνεται από τη σχέση:

$$f = m \cdot g$$

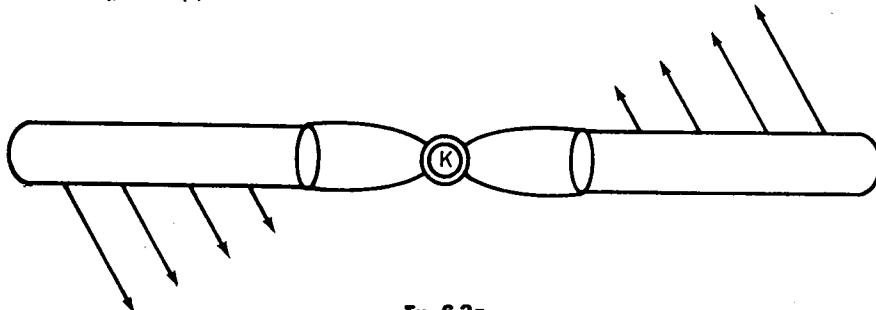
όπου: m η μάζα του σωματίδιου και

g η επιτάχυνσή του

Η φυγόκεντρη επιτάχυνση γ δίνεται από τη σχέση:

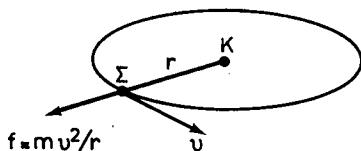
$$V = \frac{u^2}{r}$$

όπου: u η επιτρόχια ή εφαπτομενική ταχύτητα και
 r η ακτίνα κύκλου στην περιφέρεια του οποίου κινείται το σωματίδιο
(σχ. 6.2.β)



Σχ. 6.2α.

Κίνηση σωματιδίων ανάλογα με το βάρος τους.
 K = κέντρο βάρους.



Σχ. 6.2β.

Σχέση δυνάμεων που αναπτύσσονται
κατά τη διάρκεια της φυγοκεντρήσεως.

Η επιτρόχια ή εφαπτομενική ταχύτητα κάποιου σημείου, που κινείται σε απόσταση r από το κέντρο, δίνεται από τη σχέση:

$$u = \omega r \quad \text{ή} \quad u = 2\pi r f$$

όπου: ω ο αριθμός στροφών κατά λεπτό και
 u η γωνιακή ταχύτητα

Η δύναμη πάνω στο περιστρεφόμενο σημείο, δίνεται από τη σχέση:

$$f = \frac{m (2\pi r)^2}{r} = 4\pi^2 r m f$$

Η δύναμη της βαρύτητας από τη γνωστή σχέση $F = mg$ και κατά συνέπεια ο λόγος Q της φυγόκεντρης δυνάμεως f προς τη δύναμη βαρύτητας F πάνω στο σωματίδιο, δίνεται από τη σχέση:

$$Q = \frac{f}{F_1} = \frac{4\pi^2 r m f}{mg} = \frac{4\pi^2 r n}{g}$$

Αν αντικαταστήσουμε στην προηγούμενη σχέση το π και g με τις τιμές τους αντίστοιχα 3,14 και $9,80 \times 10^2 \text{ cm/sec}^2$ και συγχρόνως μετατρέψουμε τις περιστροφές σε στροφές κατά λεπτό, θα έχουμε τη σχέση:

$$Q = \frac{4 \cdot (3,14)^2 \cdot r \cdot (\text{rpm})^2}{9,80 \times 10^2 \times (60)^2} = 1,18 \cdot 10^{-5} r (\text{rpm})^2$$

όπου το r εκφράζεται σε cm. Τελικά θα έχομε την προσεγγιστική σχέση:

$$Q \approx 10^{-5} \cdot r (\text{rpm})^2$$

Παράδειγμα:

Ζητείται ο χρόνος καταβυθίσεως ή σχηματισμού ιζήματος στην περίπτωση που έχομε τα ακόλου θα δεδομένα:

- Στερεό σωματίδιο αιωρούμενο μέσα σε υγρό μικρής πυκνότητας.
- Κάτω από την επίδραση της βαρύτητας καταβυθίζεται σε 10 min.
- 2×10^3 rpm (στροφές το λεπτό).
- 10 cm απόσταση σωματιδίου από το κέντρο της περιστροφής.

Απάντηση:

Η εφαρμογή της σχέσεως $Q = 10^{-5} \cdot r \cdot (\text{rpm})^2$ μας δίνει:

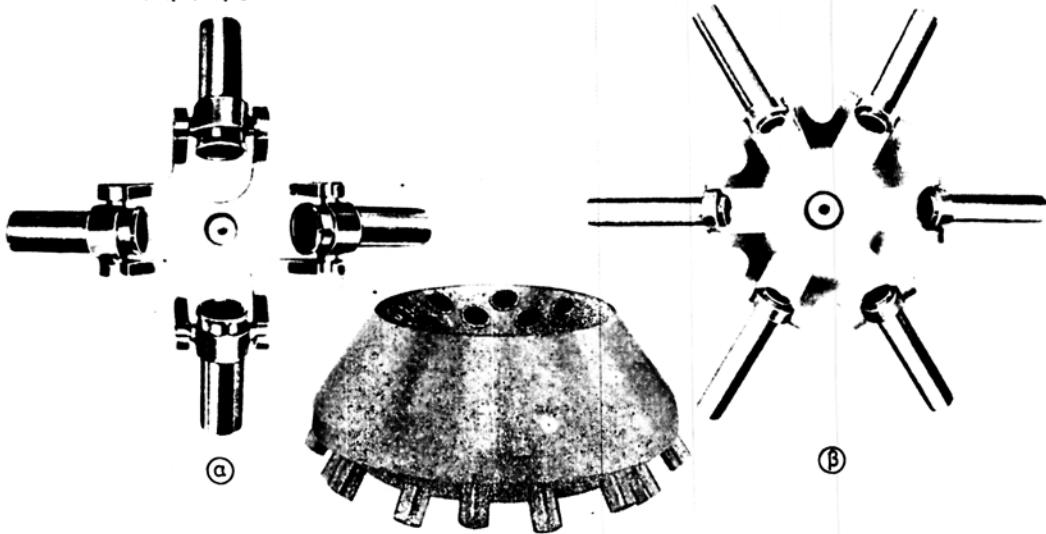
$$Q = 10^{-5} \times 10 \times (2 \times 10^3)^2 = 4 \times 10^2$$

Ο χρόνος καταβυθίσεως ή σχηματισμού του ιζήματος είναι αντιστρόφως ανάλογος με τη δύναμη που έχει εφαρμοσθεί, δηλαδή ο χρόνος καταβυθίσεως είναι:

$$\frac{10 \times 60}{4 \times 10^2} = \frac{600}{400} = 1,5 \text{ sec}$$

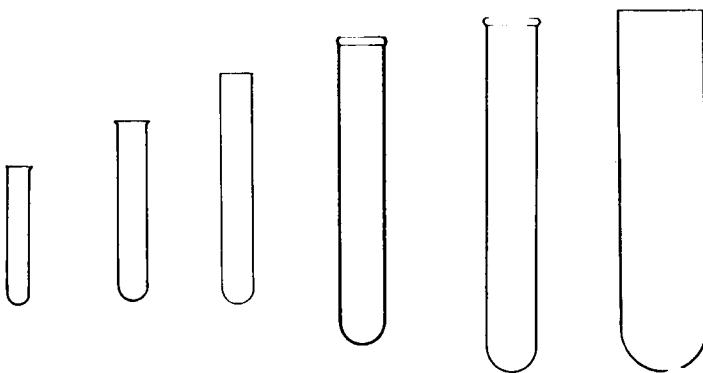
6.3 Περιγραφή φυγόκεντρης συσκευής.

Η φυγόκεντρη συσκευή αποτελείται από έναν κατακόρυφο άξονα με μία στεφάνη η οποία έχει $2 \div 16$ ή και περισσότερες μεταλλικές υποδοχές ή θήκες [σχ. 6.3α (α), (β), (γ)].



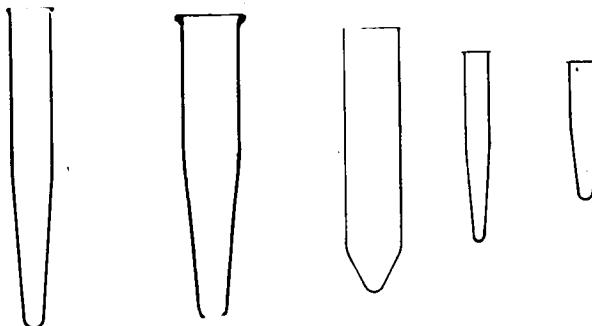
Σχ. 6.3α.
Στεφάνη φυγόκεντρης.

α) Με 4 υποδοχές. β) Με 6 υποδοχές. γ) Με 16 υποδοχές.



Σχ. 6.3β.

Σωλήνες φυγοκεντρήσεως με ημισφαιρικό πυθμένα.



Σχ. 6.3γ.

Σωλήνες φυγοκεντρήσεως με κωνικό πυθμένα.

Στις υποδοχές ή θήκες αυτές τοποθετούνται ειδικοί σωλήνες ή και φιάλες για φυγοκέντρηση. Οι σωλήνες είναι κυλινδρικής διαμορφώσεως με κωνικό ή ημισφαιρικό πυθμένα (σχήματα 6.3β και 6.3γ). Οι πιο συνηθισμένες τους διαστάσεις είναι:

- Διάμετρος $6 \div 40$ mm
- Ύψος $60 \div 170$ mm

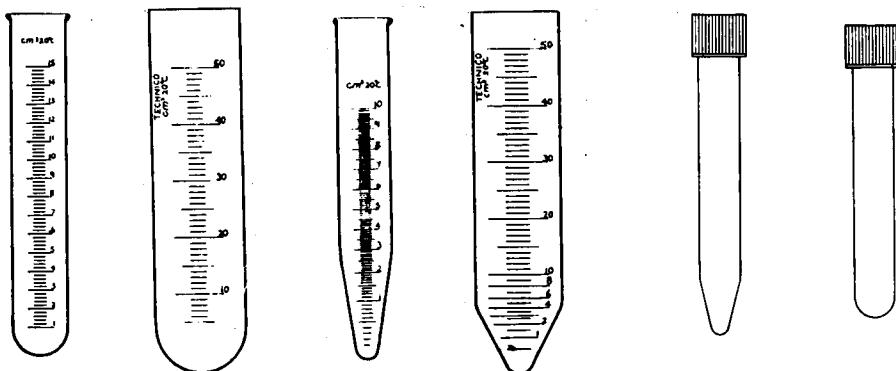
Η περιεκτικότητά τους ποικίλλει από $0,5 \div 100$ ml.

Μερικές φορές, για ειδικές ανάγκες, όπως π.χ. αιματολογικές, ανοσοβιολογικές κλπ., χρησιμοποιούνται σωλήνες με βαθμολογημένη κλίμακα ή σωλήνες με πώμα (σχήματα 6.3δ και 6.3ε).

Εκτός από τους σωλήνες χρησιμοποιούνται, σε πιο σπάνιες περιπτώσεις, και ειδικές φιάλες για φυγοκέντρηση διαφόρων διαστάσεων με ονομαστική χωρητικότητα που ποικίλλει από $50 \div 250$ ml [σχ. 6.3στ (α), (β)].

Στους σωλήνες ή τις φιάλες της φυγοκεντρήσεως βάζομε το υλικό που θέλομε να φυγοκεντρίσουμε και στη συνέχεια τις τοποθετούμε στις μεταλλικές υποδοχές ή θήκες και θέτομε σε κίνηση τη φυγόκεντρη συσκευή.

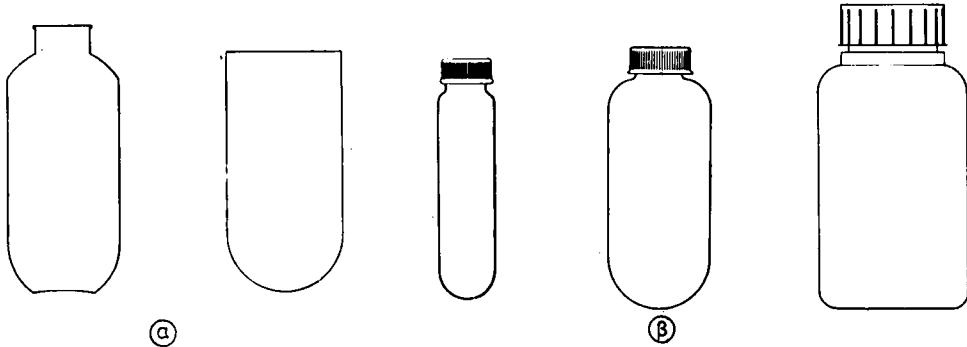
Η ταχύτητα περιστροφής ρυθμίζεται με ειδικό βαθμολογημένο διακόπτη θέσεων του οποίου η κλίμακα, ανάλογα με τις κατασκευαστικές προδιαγραφές, μπο-



Σχ. 6.3ε.

Σωλήνες φυγοκεντρήσεως με βαθμολογημένη κλίμακα.

Σχ. 6.3ε.
Σωλήνες φυγοκεντρήσεως με πώμα.



Σχ. 6.3στ.

Φιάλες φυγοκεντρήσεως.
α) Χωρίς πώμα. β) Με πώμα.

ρεί να ξεπεράσει και τις 6000 rpm (στροφές το λεπτό). Στο σχήμα 6.3ζ φαίνεται ένας τέτοιος διακόπτης.

Ανάλογα με τις εργαστηριακές ανάγκες υπάρχουν και διάφοροι τύποι φυγοκέντρων συσκευών.

α) Χειροκίνητες.

Είναι συσκευές (σχ. 6.3η) με περιορισμένες δυνατότητες.

Έχουν συνήθως $2 \div 4$ μεταλλικές υποδοχές ή θήκες για σωλήνες χωρητικότητας πάνω από 15 ml.

β) Αυτόματες.

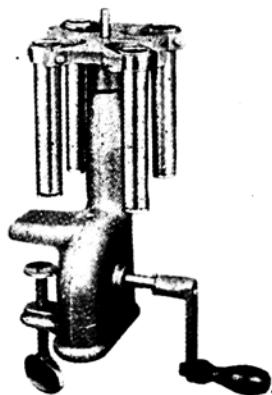
Είναι από τις πιο συχνά χρησιμοποιούμενες φυγόκεντρες συσκευές (σχ. 6.3θ) σε νοσοκομεία, οργανωμένα εργαστήρια, στη βιομηχανία κλπ. Έχουν μεγάλες δυνατότητες, όπως π.χ. αλλαγή στεφάνης, για να μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε πολλές εργαστηριακές εξετάσεις, κλιμάκωση ταχυτήτων, ταχύμετρο, αυτόματη ρύθμιση κλπ.



Σχ. 6.3ζ.

Διακόπτης θέσεως.

- α) Διακόπτης ταχύτητας.
- β) Χρονοδιακόπτης.

Σχ. 6.3η.
Χειροκίνητη φυγόκεντρη:Σχ. 6.3θ.
Αυτόματη φυγόκεντρη συσκευή.Σχ. 6.3ι.
Ψυκτική φυγόκεντρη.

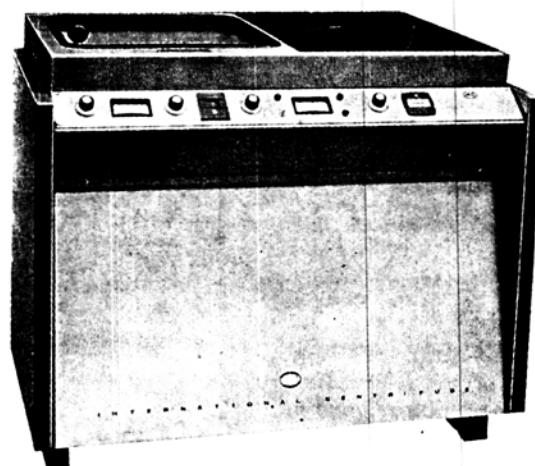
γ) Ψυκτικές.

Είναι συσκευές (σχ. 6.3ι) υψηλής τεχνολογίας με εξαιρετικές επιδόσεις τόσο για εργασίες ρουτίνας σε τράπεζες αίματος, όπως π.χ. διαχωρισμός συστατικών αίματος, διαχωρισμός πρωτεΐνούχων διαλυμάτων που δύσκολα διαχωρίζονται μεταξύ τους κλπ., όπως και για προχωρημένη έρευνα, όπως π.χ. κλασμάτωση πρωτεΐνών, υπολογισμός μοριακού βάρους διαφόρων πρωτεΐνών του DNA (δεσοξυριβονούκλεϊνικό οξύ) και του RNA (ριβονουκλεϊνικό οξύ), κάθαρση ιών, διαύγαση διαλυμάτων που δε διαμγάζονται με τη συνθητισμένη αυτόματη φυγόκεντρη συσκευή. Η περιστροφική τους ικανότητα είναι συνήθως 20.000 στροφές το λεπτό (rpm). Οι ψυκτικές φυγοκεντρικές αποτελούνται από τρία τμήματα:

- Κυρίως σώμα.
- Σύστημα κενού.
- Σύστημα ψύξεως (οι φυγοκεντρήσεις γίνονται συνήθως μεταξύ 2-4°C, γενικά όμως εξαρτάται από τη φύση του υλικού).
 - Η πορεία εργασίας στην ψυκτική φυγόκεντρη είναι η ακόλουθη:
- Τοποθέτηση του προς εξέταση δείγματος σε ειδικούς υποδοχείς, συνήθως πλαστικούς, για να μη σπάσουν από την υψηλή ταχύτητα περιστροφής.
- Προσαρμογή των υποδοχέων στην κεφαλή της συσκευής.
- Δημιουργία κενού και ψύξη στην επιθυμητή θερμοκρασία.
- Λειτουργία σε περιστροφική κίνηση όπως συνήθως.
 - Κατά τη διάρκεια εργασίας σε ψυκτική φυγόκεντρη πρέπει να προσέχομε, μεταξύ των άλλων, τα ακόλουθα:
- **Τα δείγματα πρέπει να είναι πολύ καλά ζυγισμένα**, γιατί λόγω της υψηλής συχνότητας, είναι πολύ πιθανό να καταστραφούν.
- **Η ταχύτητα περιστροφής είναι χαρακτηριστική για κάθε διαχωριζόμενο υλικό και πρέπει σχολαστικά να τηρούμε τη συνθήκη αυτή.** Στην περίπτωση που δεν τηρείται η συνθήκη, μπορεί ή να καταστραφεί ή να μη διαχωριστεί το υλικό, π.χ. αιμοσφαιρίνη από διάφορα κύτταρα.
- Πριν από φυγοκέντρηση, ο θάλαμος περιστροφής πρέπει να έχει αποψυχθεί από προηγούμενη φυγοκέντρηση.
- Ιδιαίτερη σημασία έχει η καλή λίπανση και γενικά οι συνθήκες συντηρήσεως.

δ) Υπερφυγόκεντρες.

Πρόκειται για συσκευές (σχ. 6.3ια), με πολύ μεγάλο φάσμα δυνατοτήτων, όπως, π.χ. αριθμός στροφών 6000 το λεπτό ή και περισσότερες, ελεγκτήρας στροφών, αλλαγή στεφάνης, εισαγωγή και κυκλοφορία ψυχρού αέρα, λειτουργία σε αρνητικές θερμοκρασίες, πολύ υψηλές επιταχύνσεις κτλ.



Σχ. 6.3ια.
Υπερφυγόκεντρη συσκευή.

ε) Μικροφυγόκεντρες.

Είναι ειδικές φυγόκεντρες (σχ. 6.3ιβ) και χρησιμοποιούνται κυρίως σε αιματολογικά εργαστήρια, τράπεζες αίματος, βιοχημικά εργαστήρια κτλ.

Έχουν ειδική αντικαθιστάμενη στεφάνη με υποδοχές για σωληνίσκους με χωρητικότητα από 400 μl μέχρι και 1,5 ml. Χρησιμοποιούνται σε καλά οργανωμένα εργαστήρια, γιατί έχουν ορισμένα πρακτικά πλεονεκτήματα, όπως π.χ. το ότι απαιτούνται μικρές ποσότητες υλικού, ο χρόνος φυγοκεντρήσεως είναι πολύ μικρός, οι επιτυγχανόμενες επιταχύνσεις πολύ υψηλές (10.000 rpm) κλπ.

στ) Ζωνοφυγόκεντρες.

Είναι συσκευές πολύ προχωρημένης τεχνολογίας. Διακρίνονται σε τρεις κατασκευαστικούς τύπους που καθένας έχει και ορισμένες εφαρμογές.

- Ο τύπος «Α χαμηλής ταχύτητας» προσφέρει τη δυνατότητα απομονώσεως, καθάρσεως κλπ. κυττάρων σε υποκυτταρικό επίπεδο, όπως π.χ. πυρήνες, μιτοχόνδρια, λυσοσώματα.
- Ο τύπος «Β ενδιάμεσης ταχύτητας» προσφέρει τη δυνατότητα απομονώσεως, καθάρσεως κλπ. των ευμεγέθων ιών, όπως είναι ο ιός της μωσαϊκής του καπνού, των χλωροπλαστών κλπ.



Σχ. 6.3ιβ.
Μικροφυγόκεντρη.

- Ο τύπος «Β μεγάλης ταχύτητας» προσφέρει τη δυνατότητα απομονώσεως, καθάρσεως κλπ., των μικρού μεγέθους ιών, όπως είναι ο ιός της πολιομυελίτιδας, των αμινοξέων, του βακτηριακού RNA κλπ.

6.4 Οδηγίες χρήσεως.

α) Γεμίζομε το προς φυγοκέντρηση υλικό με κατάλληλους κατά περίπτωση σώλήνες ή φιάλες και τους τοποθετούμε στη συνέχεια στις μεταλλικές υποδοχές ή θήκες της φυγόκεντρης.

Εξαιρετική σημασία έχει η φόρτωση των υποδοχέων της φυγόκεντρης που πρέπει να γίνει με την τοποθέτηση των σωλήνων ή φιαλών κατά ζεύγη και σε **θέσεις διαμετρικά αντίθετες**. *Οι σωλήνες ή φιάλες πρέπει να είναι ισοβαρείς.*

Η ανισόμετρή φόρτωση των υποδοχέων ή η ισόμετρη φόρτωση με σωλήνες ή φιάλες ανισοβαρείς *είναι επικίνδυνη, γιατί εκτός από τους κραδασμούς και την πρώιμη-φθορά, μπορεί να προκαλέσει και το σπάσιμο της συσκευής.*

β) Αφού σκεπάσομε τη συσκευή με το σκέπαστρό της, τη βάζομε σε κίνηση. Στην αρχή και για λίγα λεπτά, συνήθως $4 \div 5$ μίν, χρησιμοποιούμε μικρές ή μεσαίες θέσεις ταχύτητας.

γ) Μετά το τέλειο **και οριστικό σταμάτημα** της φυγόκεντρης ελέγχομε αν έχει σχηματισθεί στον πυθμένα του σωλήνα ή της φιάλης ίζημα και αν η υπερκείμενη στοιβάδα είναι διαυγής.

Στην αντίθετη περίπτωση, δηλαδή αν ο διαχωρισμός δεν έχει γίνει, τότε επαναλαμβάνομε την φυγοκέντρηση αυξάνοντας την ταχύτητα περιστροφής και το χρόνο λειτουργίας μέχρις ότου επιτύχομε πλήρη διαχωρισμό. Ο πλήρης διαχωρισμός αποδεικνύεται από τη διαύγεια της υπερκείμενης υγρής στοιβάδας.

Μετά την απόχυση της υγρής στοιβάδας απομένει η στερεή φάση, που υπό μορφή ίζηματος έχει συσσωματωθεί στον πυθμένα του σωλήνα ή της φιάλης.

Το ίζημα πλένεται με κατάλληλο και ανάλογα με την περίπτωση, υγρό πλύσεως, οπότε μετά από νέα φυγοκέντρηση και απόχυση της υγρής στοιβάδας παραλαμβάνεται η τελική στέρεη φάση, δηλαδή το ίζημα, σε σχεδόν καθαρή μορφή.

Μεγάλη προσοχή χρειάζεται σε δύο σημεία:

- Δεν πρέπει ποτέ να ανοίγουμε τη φυγόκεντρη πριν σταματήσει τελείως, γιατί υπάρχει κίνδυνος να σπάσει από εκτίναξή των σωλήνων.
- Η αύξηση των στροφών, όταν θέτομε σε λειτουργία τη συσκευή, πρέπει να γίνεται, σιγά-σιγά μέχρι την τελική τιμή γιατί διαφορετικά δεν μπορούμε να ελέγχομε τον αριθμό στροφών το λεπτό (rpm).

6.5 Ερωτήσεις.

1. Με ποιες μεθόδους μπορεί να γίνει διαχωρισμός στερεών από ετερογενή συστήματα;
2. Σε ποιες περιπτώσεις χρησιμοποιείται η φυγοκέντρηση;
3. Από ποιους παράγοντες εξαρτάται η ταχύτητα πτώσεως σωματιδίων μέσα σε υγρό μικρής πυκνότητας κάτω από την επίδραση της βαρύτητας;
4. Από ποιες σχέσεις δίνονται η φυγόκεντρη επιτάχυνση και η επιτρόχια ή εφαπτομενική ταχύτητα;
5. Ποια είναι τα βασικά μέρη μιας φυγόκεντρης συσκευής;
6. Πόσων τύπων σωλήνες και φιάλες φυγοκεντρήσεως υπάρχουν;
7. Ποιοι είναι οι πιο συχνά χρησιμοποιούμενοι τύποι φυγοκέντρων;
8. Τι δυνατότητες έχουν οι υπερφυγόκεντρες και τι οι ζωνοφυγόκεντρες;
9. Τι γνωρίζετε για τον τρόπο φορτώσεως των υποδοχέων της φυγόκεντρης;
10. Πώς διαπιστώνεται ο διαχωρισμός στέρεης-υγρής φάσεως μετά τη φυγοκέντρηση;

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΕΒΔΟΜΟ

ΖΥΓΟΣ

7.1 Γενικά.

Η ποσοτική ανάλυση, που έχει ως σκοπό την ανεύρεση της εκατοστιαίας αναλογίας των στοιχείων μιας ενώσεως ή των ουσιών ενός μίγματος, χρησιμοποιεί διάφορες μεθόδους, όπως π.χ. τη σταθμική ανάλυση, την ογκομετρική ανάλυση, την αεριομετρική ανάλυση, διάφορες φυσικοχημικές μεθόδους κλπ.

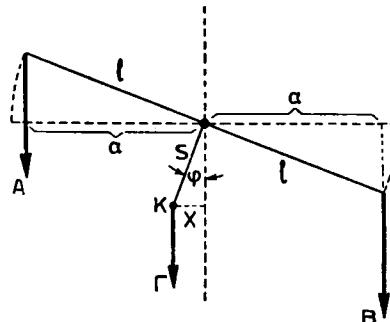
Η ποσοτική ανάλυση στο μικροβιολογικό και βιοχημικό τομέα έχει περιορισμούς που δε συναντώνται στη γενική χημική ανάλυση. Οι περιορισμοί προέρχονται από την ποσότητα του διατιθέμενου για ανάλυση υλικού, όπως επίσης και από την πυκνότητα με την οποία συναντώνται ορισμένες ενώσεις ή ουσίες σε κάποιο μίγμα ή διάλυμα.

Οι περιορισμοί αυτοί έχουν διαμορφώσει ειδικότερους κλάδους της ποσοτικής αναλύσεως όπως είναι:

- Η ημιμικροχημική.
- Η μικροχημική και
- Η υπερμικροχημική.

7.2 Λειτουργία ζυγού.

Σ' ένα ζυγό που βρίσκεται σε ισορροπία ασκούνται, εκτός από τη δύναμη που προέρχεται από το κεντρικό στήριγμα, οι ακόλουθες τρεις δυνάμεις (σχ. 7.2).



Σχ. 7.2.

Δυνάμεις που ασκούνται σε ζυγό που βρίσκεται σε ισορροπία.

- Η δύναμη Α που προέρχεται από το βάρος του δίσκου ή και το βάρος αντικειμένων που μπορεί να έχουν τοποθετηθεί στον αριστερό δίσκο.
 - Η δύναμη Β που προέρχεται από το βάρος του δίσκου ή και το βάρος σταθμών που μπορεί να έχουν τοποθετηθεί στο δεξιό δίσκο.
 - Η δύναμη Γ που προέρχεται από το βάρος της φάλαγγας.
- Η σχέση μεταξύ των δυνάμεων αυτών προκύπτει από τις συνθήκες ισορροπίας $\Sigma M = 0$, που δίνεται από την εξίσωση:

$$A \cdot a - \Gamma \cdot x + B \cdot a = 0 \quad (1)$$

Από το προηγούμενο σχήμα έχουμε τις σχέσεις:

$$a = l \cdot \text{συνφ} \quad \text{και} \quad x = s \cdot \text{ημφ} \quad (2)$$

Από τις σχέσεις (1) και (2) προκύπτει:

$$A \cdot l \cdot \text{συνφ} - \Gamma \cdot s \cdot \text{ημφ} + B \cdot l \cdot \text{συνφ} = 0$$

και τελικά $\epsilon \cdot \phi = \frac{B - A}{\Gamma} + \frac{l}{s}$ (3)

ή $\epsilon = -\frac{l}{\Gamma \cdot s}$

όταν η γωνία φ έχει μικρές τιμές, δηλαδή $\epsilon \cdot \phi = \phi$.

Όταν οι δυνάμεις Α και Β είναι ίσες, ο ζυγός ισορροπεί στη θέση μηδέν, ενώ όταν οι δυνάμεις Α και Β είναι άνισες ο ζυγός δεν ισορροπεί στη θέση μηδέν, αλλά στη θέση που ισχύει η σχέση (3).

7.3 Είδη ζυγών.

Οι ζυγοί, από περιγραφική άποψη, διακρίνονται σε διάφορες κατηγορίες ανάλογα με βασικά τους χαρακτηριστικά, όπως είναι ικανότητα και ακρίβεια ζυγίσεως, μήκος μοχλοβραχίονων φάλαγγας, βαθμός αυτοματισμού κλπ.

Στην εργαστηριακή πρακτική μια αρκετά συνηθισμένη διάκριση είναι η διάκριση που γίνεται λαμβάνοντας υπόψη δύο χαρακτηριστικά:

- Το εύρος ή ικανότητα ζυγίσεως που προσδιορίζει την περιοχή ακραίων τιμών βάρους.
- Την ακρίβεια ζυγίσεως, που βρίσκεται σε αντίστροφη σχέση με το εύρος, δηλαδή όσο μεγαλώνει το εύρος ζυγίσεως τόσο μικράνει και η ακρίβεια ζυγίσεως, όπως φαίνεται στον πίνακα 7.3.1.

Μια άλλη ταξινόμηση, που θα ακολουθήσουμε στην περιγραφή, είναι εκείνη που έχει σαν προσδιοριστικό γνώρισμά της την ύπαρξη ενός ή δύο δίσκων. Δηλαδή έχομε:

- Ζυγούς με δύο δίσκους ή ζυγούς με ισομεγέθεις μοχλοβραχίονες φάλαγγας
- Ζυγούς με ένα δίσκο ή ζυγούς με ανισομεγέθεις μοχλοβραχίονες φάλαγγας.

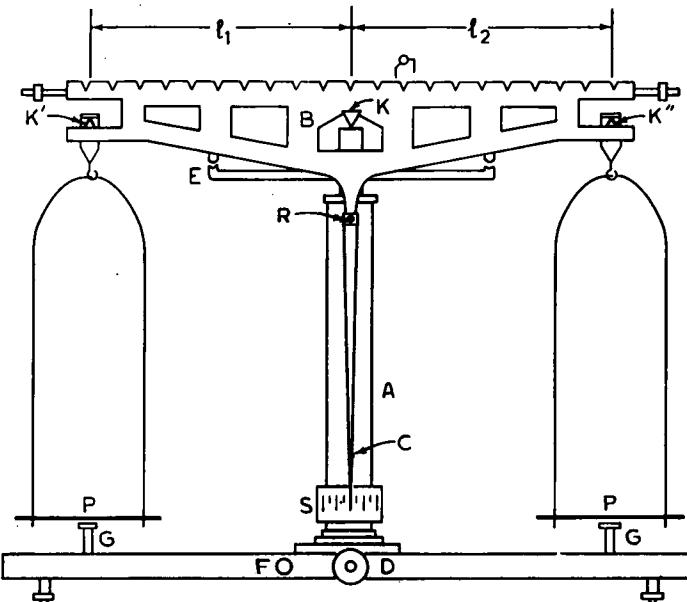
ΠΙΝΑΚΑΣ 7.3.1
Οι σχέσεις εύρους ζυγίσεως και ακρίβειας στα διάφορα είδη ζυγών

	Ευρος Ζυγίσεως		Ακρίβεια Ζυγίσεως
	Ελάχιστο βάρος	Μέγιστο βάρος	(g)
Κοινός ζυγός	2 kg	5 kg	0,1 ÷ 0,5
Φαρμακευτικός ή ημιαναλυτικός ζυγός	100 g	200 g	0,003 ÷ 0,2
Χημικός μακροζυγός ή αναλυτικός ζυγός	150 g	200 g	0,001
Χημικός ημιμικροζυγός	50 g	100 g	0,00001
Χημικός μικροζυγός	10 g	20 g	0,000001

7.4 Περιγραφή ζυγού.

7.4.1 Ζυγοί με δύο δίσκους.

Οι πιο συνηθισμένοι ζυγοί είναι οι ζυγοί με δύο δίσκους ή ζυγοί με ισομεγέθεις μοχλοβραχίονες φάλαγγας. Ένα τέτοιο ζυγό βλέπομε στο σχήμα 7.4a. Ο ζυγός αυτός στην πραγματικότητα είναι μοχλός α' είδους στον οποίο το υπομόχλιο Κ βρίσκεται μεταξύ των σημείων εφαρμογής των δυνάμεων Κ' και Κ''.



Σχ. 7.4a.

Ζυγός με δύο δίσκους ή ζυγός με ισομέγεθους μοχλοβραχίονες φάλαγγας.

Τα βασικά μέρη ζυγού με δύο δίσκους είναι τα ακόλουθα:

α) Φάλαγγα (B).

Είναι οριζόντια ράβδος που στηρίζεται στην ακμή ενός τριγωνικής διατομής πρίσματος (K) από αχάτη ή σκληρό χάλυβα με δυνατότητα περιστροφής.

Η φάλαγγα σχηματίζει με το σημείο στηρίξεως της δύο ισομεγέθεις μοχλοβραχίονες με μήκη $l_1 = l_2$.

β) Δίσκοι (P).

Είναι δύο ισοβαρείς δίσκοι, κρεμασμένοι σε ίσες αποστάσεις από την ακμή του πρίσματος της φάλαγγας. Κάθε δίσκος στηρίζεται στην ακμή ενός πρίσματος, δηλαδή στα σημεία K' και K''. Από κατασκευής και οι τρεις ακμές των πρισμάτων, δηλαδή της φάλαγγας και των δίσκων, βρίσκονται στο ίδιο επίπεδο και σε απόσταση $KK' = l_1$, και $KK'' = l_2$.

γ) Δείκτης (C).

Είναι ενσωματωμένος στη φάλαγγα και κινείται μπροστά από μια βαθμονομημένη κλίμακα (S).

δ) Κουμπί ελέγχου φάλαγγας (D).

Με την περιστροφή του ανεβαίνει η φάλαγγα και ελευθερώνονται οι δίσκοι με τη διάταξη E, έτσι ώστε οι τρεις ακμές K, K' και K'' να μη βρίσκονται για μεγάλη χρονική διάρκεια σε επαφή με τα αντίστοιχα τους στοιχεία.

ε) Κουμπί ελέγχου δίσκων (F).

Ρυθμίζει την ακινητοποίηση των δίσκων, αποφεύγοντας έτσι την καταστροφή των ακμών από απότομη φόρτιση ή υπερφόρτιση κλπ.

στ) Κανονιστικοί κοχλίες (H).

Βρίσκονται στη βάση στηρίξεως του ζυγού και εξασφαλίζουν την οριζοντιότητά του. Ο έλεγχος της οριζοντιότητας γίνεται με νήμα στάθμης, που βρίσκεται πίσω από το κατακόρυφο στέλεχος στηρίξεως της φάλαγγας, ή από υδροστατική στάθμη που συνήθως, βρίσκεται στη βάση του ζυγού.

ζ) Θήκη.

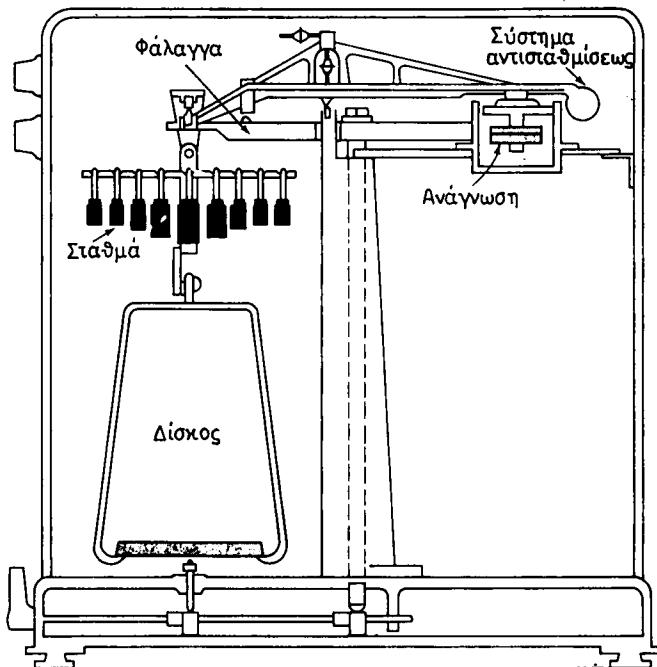
Ο ζυγός περικλείεται μέσα σε υαλόφρακτη θήκη-κουτί, που έχει ένα μετωπικό άνοιγμα για τους διάφορους χειρισμούς της ζυγίσεως.

η) Κουτί σταθμών.

Τα σταθμά βρίσκονται συνήθως σε ειδικό κουτί με κατάλληλες υποδοχές για κάθε σταθμό και σπανιότερα σε υποδοχές που βρίσκονται στη βάση στηρίξεως του ζυγού.

7.4.2 Ζυγοί με ένα δίσκο.

Οι ζυγοί αυτοί σιγά-σιγά εκτοπίζουν από την αγορά τους ζυγούς με ισομεγέθεις μοχλοβραχίονες. Ένα τέτοιο ζυγό βλέπομε στο σχήμα 7.4β.



Σχ. 7.4β.

Ζυγός με ένα δίσκο ή ζυγός με ανισομέγεθους μοχλοβραχίονες φάλαγγας.

Τα βασικά μέρη του ζυγού με ένα δίσκο είναι τα άκολουθα:

α) Φάλαγγα.

Η φάλαγγα έχει το δίσκο φορτίσεως προς το κοντότερο σκέλος.

β) Σταθμά.

Πάνω από το δίσκο φορτίσεως και σ' ένα οριζόντιο στέλεχος υπάρχει σειρά από σταθμά που συνήθως είναι βάρους $0,1 \div 100 \text{ g}$.

γ) Σύστημα αντισταθμίσεως.

Το βάρος του κοντότερου σκέλους αντισταθμίζεται από το βάρος του μακρύτερου και από το βάρος του αντίβαρου. Στο μακρύτερο σκέλος υπάρχει ένα κυλινδρικό βάρος, που ισορροπεί το δίσκο μαζί με τα κρεμασμένα βάρη. Το κυλινδρικό αυτό βάρος «ολισθαίνει» συνήθως μέσα σ' ένα κοίλο κύλινδρο για την απόσβεση των αιωρήσεων.

δ) Μετατόπιση σταθμών.

Τα σταθμά μετατοπίζονται με τη βοήθεια κουμπιών που βρίσκονται στα πλάγια ή μπροστά στο ζυγό.

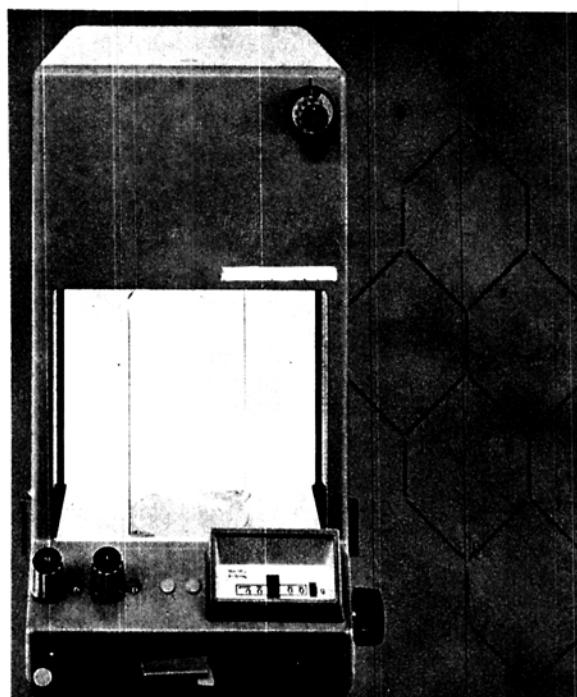
ε) Ανάγνωση.

Η ένδειξη του βάρους διαβάζεται σε ειδικό σύστημα με ενσωματωμένο συνή-

θως φωτισμό.

Οι ζυγοί αυτοί παρουσιάζουν το πλεονέκτημα ότι είναι γρήγοροι και ακριβείς. Ανάλογα τώρα με το χρησιμοποιούμενο τύπο ζυγού τα χαρακτηριστικά της ταχύτητας και ακριβειας αλλάζουν.

Εκτός από τους απλούς αυτούς ζυγούς με ένα δίσκο, υπάρχουν και άλλοι που έχουν λειτουργικά πλεονεκτήματα, όπως π.χ. η ζύγιση είναι πιο εύκολη, τα σταθμά έχουν αντικατασταθεί με διακόπτες-μοχλούς, η ένδειξη προβάλλεται πάνω σε γυάλινη επιφάνεια που κατά κανόνα φωτίζεται και έτσι η ανάγνωση γίνεται πιο εύκολα (σχ. 7.4γ). Υπάρχουν, επίσης, ζυγοί υψηλών απαιτήσεων με ηλεκτρονικές διατάξεις που εξασφαλίζουν ειδικές επιδόσεις, όπως π.χ. χρόνος ζυγίσεως 0,4 - 0,8 sec αυτοματοποίηση μηδενισμού, ικανότητα μνήμης κλπ. (σχ. 7.4δ).



Σχ. 7.4γ.

Σύγχρονος αναλυτικός ζυγός με πολλά λειτουργικά πλεονεκτήματα.

7.5 Προϋποθέσεις ζυγίσεως.

Οι κατασκευαστές προσδιορίζουν στο φυλλάδιο οδηγιών τις απαραίτητες προϋποθέσεις για τη διατήρηση σε λειτουργική ικανότητα του ζυγού.

Βασικές προϋποθέσεις είναι οι ακόλουθες:

α) Χώρος ή αίθουσα ζυγίσεων.

Σε μεγάλα και γενικότερα σε καλά οργανωμένα εργαστήρια υπάρχει ιδιαίτερος χώρος ή αίθουσα ζυγίσεων όπου βρίσκονται οι διάφοροι ζυγοί. Ο χώρος αυτός



Σχ. 7.4δ.
Ηλεκτρονικός ζυγός υψηλών απαιτήσεων.

βρίσκεται δίπλα στο κυρίως εργαστήριο και ανταποκρίνεται σε προδιαγραφές διαστάσεων, σταθερότητας δαπέδου, αερισμού κλπ.

β) Σωστή τοποθέτηση ζυγού για την εξασφάλιση σταθερότητας.

Για το σκοπό αυτό δίνεται ιδιαίτερη προσοχή στις επιφάνειες πάνω στις οποίες θα τοποθετηθούν οι ζυγοί. Οι πιο συνηθισμένοι τρόποι είναι η τοποθέτηση των ζυγών είτε πάνω σε πλάκες, από μάρμαρο ή φορμάικα, που είναι εντοιχισμένες σε κατάλληλες θέσεις του εργαστηρίου είτε πάνω σε ειδικά διαρρυθμισμένους πάγκους.

γ) Προστασία από τη σκόνη.

Για το σκοπό αυτό οι ζυγοί καλύπτονται με πλαστικό ή γυάλινο περίβλημα με θυρίδες.

δ) Προστασία από την υγρασία.

Για το σκοπό αυτό κάτω από το προστατευτικό κάλυμμα υπάρχει κάποιο υγροσκοπικό σώμα, π.χ. ασβεστοχλωρίδιο, πηκτή πυριτικού οξέος (silica gel) κλπ.

ε) Εξασφάλιση κανονικών συνθηκών φωτισμού για την άνετη ανάγνωση των ενδείξεων.

στ) Ελεγχόμενη θερμοκρασία και αποφυγή ρευμάτων αέρα στο χώρο ζυγίσεως.

Ω) Έλεγχος ευαισθησίας ζυγού.

Λέγοντας ευαισθησία (ε) ζυγού εννοούμε το πηλίκο:

$$\epsilon = \frac{\Delta Y}{\Delta B}$$

όπου: Δγ η απόκλιση του δείκτη από την αρχική θέση ισορροπίας.

ΔΒ, το πρόσθετο βάρος που τοποθετήθηκε σ' έναν από τους δίσκους του ζυγού.

Η ευαισθησία του ζυγού εξαρτάται από τα κατασκευαστικά στοιχεία και ειδικότερα η ευαισθησία του ζυγού είναι τόσο μεγαλύτερη όσο μεγαλύτερος είναι ο μοχλοβραχίονας / και όσο μικρότερο είναι το βάρος της φάλαγγας.

η) Έλεγχος θέσεως ισορροπίας δείκτη ζυγού.

Η θέση ισορροπίας του δείκτη, όταν ο ζυγός είναι αφόρτιστος, γίνεται με απευθείας ανάγνωση σε ζυγούς που έχουν συστήματα πάρα πολύ γρήγορης αποσβέσεως των ταλαντώσεων, ενώ στους υπόλοιπους ζυγούς γίνεται με τη «μέθοδο των αιωρήσεων». Δηλαδή μετά την απελευθέρωση της φάλαγγας με τους δίσκους αφόρτιστους, ο δείκτης αλλάζει θέσεις δεξιά-αριστερά ή εμφανίζει αποκλείσεις θετικές και αρνητικές. Μετράμε τα μέγιστα αυτών των αποκλίσεων, που στην πραγματικότητα αντιστοιχούν στον αριθμό των υποδιαιρέσεων της κλίμακας. Αν οι προς τα αριστερά ή αρνητικές αποκλίσεις είναι Α και οι προς τα δεξιά είναι Δ, τότε η θέση ισορροπίας ή θέση του μηδέν είναι:

$$\frac{A + \Delta}{2}$$

θ) Έλεγχος ακρίβειας.

Ένας ζυγός χαρακτηρίζεται ως ακριβής όταν, η θέση του δείκτη δεν αλλάζει στην περίπτωση που οι δίσκοι του ζυγού φορτισθούν με ίσα σταθμά. Ο έλεγχος αυτός γίνεται με πολλούς τρόπους, όπως π.χ. έλεγχος σημείου στηρίξεως ζυγού, παραλληλότητα τομών αχατών κλπ.

Ο καλύτερος τρόπος ελέγχου της ακρίβειας γίνεται με την πιο κάτω μέθοδο που ονομάζεται «μέθοδος διπλής ζυγίσεως».

Στους δίσκους του ζυγού τοποθετούμε σταθμά ή βάρη τέτοια, ώστε ο ζυγός να ισορροπεί, δηλαδή η θέση του δείκτη να μην αλλάζει. Στη συνέχεια αλλάζομε τη θέση των σταθμών ή βαρών, δηλαδή αυτά που ήταν στο δεξιό δίσκο τα τοποθετούμε στον αριστερό και αυτά που ήταν στον αριστερό τα τοποθετούμε στο δεξιό. Στην περίπτωση που η θέση του δείκτη μετά τη μετακίνηση των σταθμών δεν αλλάζει τότε, οι μοχλοβραχίονες είναι ίσοι και τα σταθμά είναι ίσα.

7.6 Σφάλματα ζυγίσεως σε ζυγούς με ισομεγέθεις βραχίονες.

Οι πιθανές πηγές σφαλμάτων κατά τη διάρκεια της ζυγίσεως είναι αρκετές. Οι ποιοι αξιοσημείωτες από αυτές θα αναπτυχθούν στη συνέχεια. Τα περισσότερα σφάλματα είναι συστηματικά και κατά συνέπεια με κατάλληλες μετρήσεις μπορούν να ελαπτωθούν ή να εξαλειφθούν.

1. Σφάλμα ζυγού.

Προέρχεται συνήθως από χαλαρωμένες ή καταστραμμένες ακμές και από άνισο μήκος βραχιόνων. Το τελευταίο αυτό αίτιο σφάλματος μπορεί να εκμηδενισθεί με ειδικές τεχνικές ζυγίσεως, π.χ. με τη μέθοδο του Gauss. Σύμφωνα με τη μέθοδο αυτή τοποθετείται το προς ζύγιση αντικείμενο στον αριστερό δίσκο και ζυγίζεται. Στη συνέχεια μεταφέρεται το αντικείμενο στο δεξιό δίσκο και ξαναζυγίζεται. Η τετραγωνική ρίζα του γινομένου των δύο ζυγίσεων μας δίνει το βάρος του αντικειμένου.

2. Σφάλμα σταθμών.

Τα πρότυπα σταθμά λόγω της μεγάλης χρήσεώς τους παρουσιάζουν μερικές απώλειες μάζας. Το σφάλμα αυτό εξαφανίζεται με το συστηματικό έλεγχο του βάρους των σταθμών.

3. Σφάλμα από την άνωση του αέρα.

Σύμφωνα με την αρχή του Αρχιμήδη ένα αντικείμενο στον αέρα είναι τόσο ελαφρότερο όσο το βάρος του αέρα που εκτοπίζει. Αποτέλεσμα της αρχής αυτής είναι η δημιουργία σφάλματος, που γίνεται σημαντικό στην περίπτωση που υπάρχει διαφορά στην πυκνότητα μεταξύ του αντικειμένου που ζυγίζεται και των σταθμών.

4. Σφάλμα από την υγρασία.

Στην περίπτωση που το αντικείμενο που έχομε να ζυγίσουμε είναι υγροσκοπικό, τότε αλλάζει το βάρος του. Στις περιπτώσεις αυτές το ζύγισμα γίνεται σε ειδικά γυάλινα φιαλίδια.

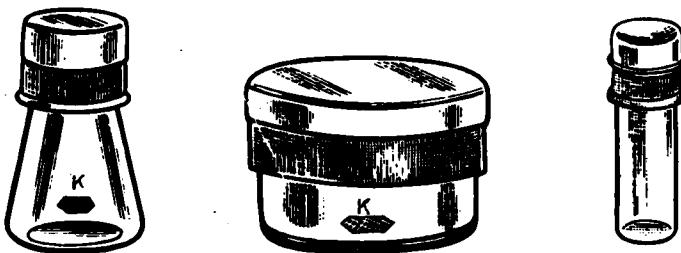
5. Σφάλμα από τη θερμοκρασία.

Η θερμοκρασία του περιβάλλοντος μεταβάλλει το βάρος των αντικειμένων, γι' αυτό όταν πρόκειται να ζυγίσουμε ένα αντικείμενο, θα πρέπει η θερμοκρασία του να εξισωθεί με τη θερμοκρασία του ζυγού. Ο ζυγός δηλαδή δεν πρέπει να βρίσκεται κάτω από την έπιδραση του ηλιακού φωτός.

7.7 Οδηγίες χρήσεως.

Οι βασικές οδηγίες χρήσεως των ζυγών είναι οι ακόλουθες:

1. Κατά τη διάρκεια της ζυγίσεως οι κινήσεις πρέπει να είναι ήρεμες και να αποφεύγεται κάθε βίαια κίνηση δταν απελευθερωθούν οι δίσκοι, γιατί φθείρονται οι ακμές των πρισμάτων του ζυγού.
2. Πρέπει να ελέγχεται πάντοτε η επιφάνεια του ζυγού με το δάπεδο της βάσεως, δηλαδή πρέπει να γίνεται έλεγχος της οριζοντιότητας του ζυγού πριν από κάθε ζύγιση.
3. Πρέπει να ελεγχθεί ο ζυγός χωρίς φορτίο και να ρυθμισθεί για να βρεθεί η θέση ισορροπίας του.
4. Στους αναλυτικούς ζυγούς, τα πρότυπα σταθμά, που βρίσκονται σε ειδικό κουτί-θήκη, πρέπει να πιάνονται με λαβίδα, όπως επίσης και τα αντικείμενα που πρόκειται να ζυγισθούν, γιατί η υγρασία των χεριών αυξάνει το βάρος.
5. Αντικείμενα και γενικά σώματα υγροσκοπικά ή πτητικά, ζυγίζονται αφού το-



Σχ. 7.7.

Υποδοχείς ζυγίσεως για υγροσκοπικά ή πτητικά αντικείμενα.

ποθετηθούν σε κατάλληλους υποδοχείς, όπως π.χ. γυαλί ρολογιού, κάψα, φιαλίδια, κυκλικά κομμένα χαρτιά από αδιάβροχο ή πλαστικό υλικό κλπ. (σχ. 7.7). Οι γυάλινες φιάλες ζυγίσεως είναι οι πιο συνηθισμένες. Χρησιμοποιούνται όμως αρκετά και οι πλαστικές, αλλά γι' αυτές τις τελευταίες πρέπει να προσέχουμε να μην τις χρησιμοποιούμε σε υψηλές θερμοκρασίες. Επίσης πρέπει να φροντίζουμε, όταν υπάρχουν πολλά φιαλίδια ζυγίσεως, να μην αλλάζουμε τα πώματα και γι' αυτό είναι προτιμότερο να σημαδεύουμε με μολύβι τα γυάλινα και με μελάνη τα πλαστικά φιαλίδια.

6. Τα αντικείμενα που πρόκειται να ζυγισθούν, πρέπει να έχουν απαραίτητα τη θερμοκρασία του δωματίου ή του χώρου ζυγίσεως και δεν πρέπει ποτέ να τοποθετούνται θερμά αντικείμενα στο δίσκο ζυγίσεως.
7. Κατά τη ζύγιση δεν πρέπει να υπάρχει ρεύμα αέρα γιατί και η πιο μικρή ακόμη κίνηση, όπως π.χ. οι αναπνευστικές κινήσεις, την επηρεάζουν.
8. Κατά τη ζύγιση στους ζυγούς με ισομεγέθεις βραχίονες τα σταθμά τοποθετούνται δεξιά και τα προς ζύγιση αντικείμενα αριστερά. Πιο απλοί στη χρήση είναι οι ζυγοί στους οποίους η τοποθέτηση των σταθμών γίνεται απ' έξω και η ανάγνωση σε φωτεινό ενδείκτη.
9. Για να ζυγίσουμε μια ουσία χρησιμοποιούμε δύο βασικούς τρόπους:
 - α) Ζυγίζουμε τον περιέκτη ή υποδοχέα άδειο, προσθέτομε σ' αυτόν την ουσία και ξαναζυγίζουμε. Η διαφορά των δύο ζυγίσεων θα μας δώσει το βάρος της ουσίας.
 - β) Ζυγίζουμε τον περιέκτη ή υποδοχέα μαζί με την ουσία. Μετά αδειάζομε την ουσία σε ογκομετρική φιάλη και ξαναζυγίζουμε τον περιέκτη με την ουσία που έχει κολλήσει στα τοιχώματά του. Η διαφορά των δύο ζυγίσεων μας δείχνει το βάρος της ουσίας. Η μέθοδος αυτή είναι ακριβής και χρησιμοποιείται κυρίως όταν κάνουμε σειρά ζυγίσεων, επειδή οι διαδοχικές εκπλύσεις και ξηράνσεις πριν από το ζύγισμα είναι περιπτές.
10. Οι ζυγοί δεν πρέπει να υπερφορτώνονται γιατί στην περίπτωση που ένας ζυγός φορτισθεί με υπερβολικό βάρος υπάρχει κίνδυνος να καμφθεί η φάλαγγα, με αποτέλεσμα οι ζυγίσεις να είναι ανακριβείς. Για να αποφευχθεί ένα τέτοιο ενδεχόμενο ο κατασκευαστής προσδιορίζει το «μέγιστο φορτίο» που δεν πρέπει να το ξεπεράσουμε κατά τη ζύγιση.
11. Μετά από κάθε ζύγιση πρέπει να βγάζουμε όλα τα αντικείμενα πάνω από το ζυγό, να μηδενίζουμε την ένδειξη και να καλύπτουμε το ζυγό.
12. Στην περίπτωση που ο ζυγός φαίνεται ότι δε λειτουργεί καλά, αναφερόμαστε

στον αντιπρόσωπο και ποτέ δεν προσπαθούμε να τον ρυθμίσουμε εμείς.

7.8 Ερωτήσεις.

1. Ποιοι είναι οι κλάδοι της ποσοτικής αναλύσεως;
 2. Ποιες δυνάμεις ασκούνται σ' ένα ζυγό που βρίσκεται σε θέση ισορροπίας;
 3. Ποια είναι τα πιο συνηθισμένα είδη ζυγών;
 4. Ποια είναι τα βασικά μέρη ζυγού με δύο δίσκους;
 5. Ποια είναι τα βασικά μέρη ζυγού με ένα δίσκο;
 6. Πώς εξασφαλίζεται η σταθερότητα του ζυγού;
 7. Πώς εξασφαλίζεται η προστασία από τη σκόνη και την υγρασία;
 8. Τι καλείται ευαισθησία ζυγού και από τι εξαρτάται;
 9. Πώς ελέγχεται η θέση ισορροπίας του δείκτη του ζυγού;
 10. Πότε χαρακτηρίζεται ένας ζυγός ακριβής και πώς εκτελείται η «μέθοδος της διπλής ζυγίσεως»;
 11. Σε πι χρησιμεύει και πώς εκτελείται η μέθοδος Gauss;
 12. Γιατί δεν πρέπει να υπερφορτώνονται οι ζυγοί;
-

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΟΓΔΟΟ

ΥΔΑΤΟΛΟΥΤΡΟ

8.1 Γενικά.

Μία από τις βασικές εργαστηριακές τεχνικές είναι η εξάτμιση που χρησιμοποιείται για τη συμπύκνωση υδατικών διαλυμάτων.

Κατά τη διάρκεια της εξατμίσεως, ένα μέρος του **διαλυτικού μέσου ή διαλύτη εξατμίζεται**, οπότε ο όγκος του αρχικού διαλύματος ελαττώνεται και κατά συνέπεια η διαλυμένη ουσία ή το διαλυμένο σώμα μέσα στο διάλυμα βρίσκεται σε μικρότερη συγκέντρωση.

Για την εφαρμογή αυτής της τεχνικής που χρειάζεται σιγανή και για μεγάλο χρονικό διάστημα θέρμανση του διαλύματος, απαραίτητη προϋπόθεση είναι το διαλυμένο σώμα να μην εξατμίζεται μαζί με το διαλύτη. Για τη συντόμευση του χρόνου πτηρούνται ορισμένες βασικές προϋποθέσεις όπως π.χ.:

- Θέρμανση του διαλύματος σε θερμοκρασίες που είναι κοντά στο σημείο ζέστεως του διαλύτη.
- Σχέση επιφάνειας-όγκου διαλύματος όσο γίνεται μεγαλύτερη.
- Απορρόφηση και γενικότερα απομάκρυνση των αναπτυσσομένων ατμών.
- Ύπαρξη απαγωγού. Είναι ιδιαίτερα απαραίτητος στην περίπτωση που μεταξύ των εξατμιζομένων ατμών υπάρχουν ατμοί ή αέρια επικίνδυνα.

Για την εξάτμιση χρησιμοποιούνται ειδικές κατά περίπτωση συσκευές ή αρχές, όπως π.χ. υδατόλουτρα, ελαιόλουτρα, αμμόλουτρα, λυχνίες υπέρυθρης ακτινοβολίας κλπ.

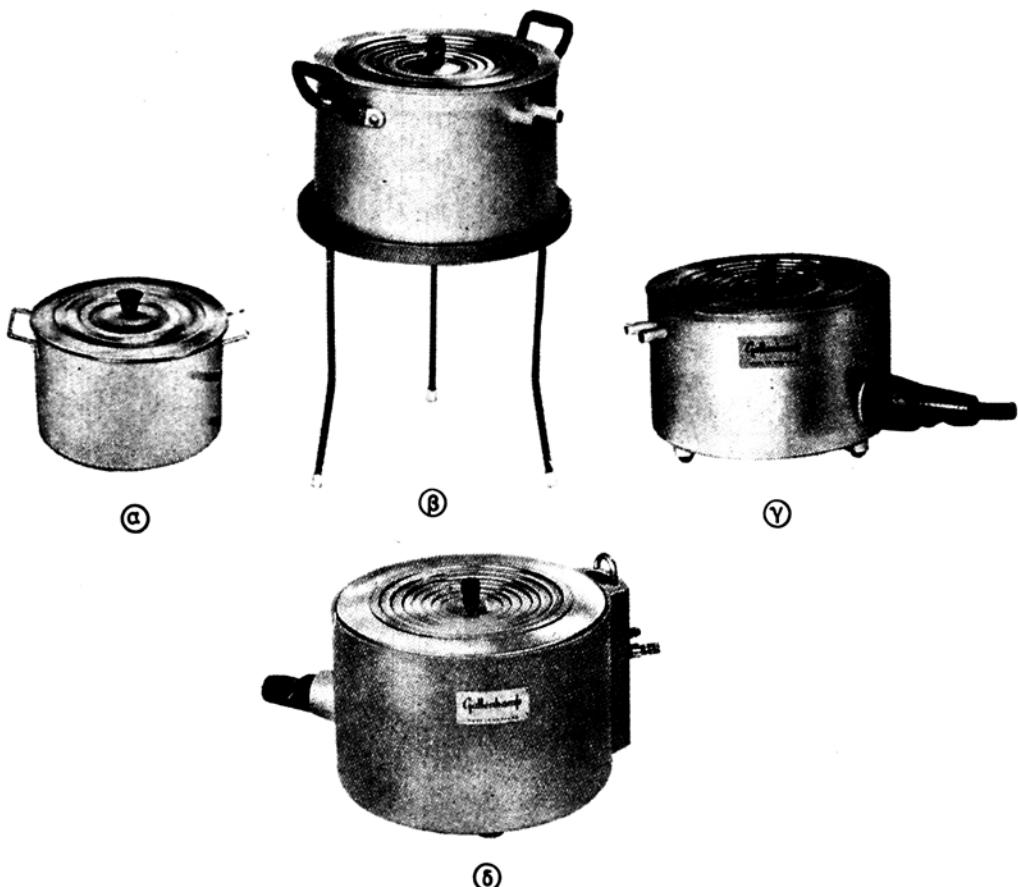
Οι πιο συνηθισμένες συσκευές είναι τα υδατόλουτρα ή ατμόλουτρα, γιατί τα υδατικά διαλύματα είναι τα πιο συνηθισμένα στην τρέχουσα εργαστηριακή πρακτική.

8.2 Περιγραφή υδατόλουτρου.

Τα υδατόλουτρα, ανάλογα με το βαθμό τελειοποίησεως και τις τεχνολογικές προδιαγραφές τους, διακρίνονται σε **απλά υδατόλουτρα** και σε **σύγχρονα υδατόλουτρα**.

8.2.1 Απλό υδατόλουτρο.

Τα απλά υδατόλουτρα (σχ. 8.2a) αποτελούνται από τα ακόλουθα μέρη:



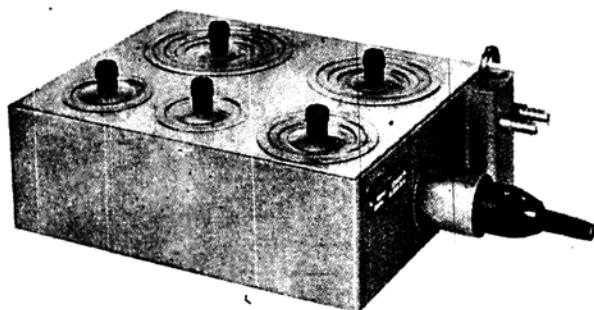
Σχ. 8.2a.

α) Απλό υδατόλουτρο για γυμνή φλόγα. β) Απλό υδατόλουτρο για γυμνή φλόγα πάνω σε τρίποδο στηρίξεως. γ) Απλό ηλεκτρικό υδατόλουτρο. δ) Απλό υδατόλουτρο ηλεκτρικό με σύστημα για εξασφάλιση της στάθμης του νερού.

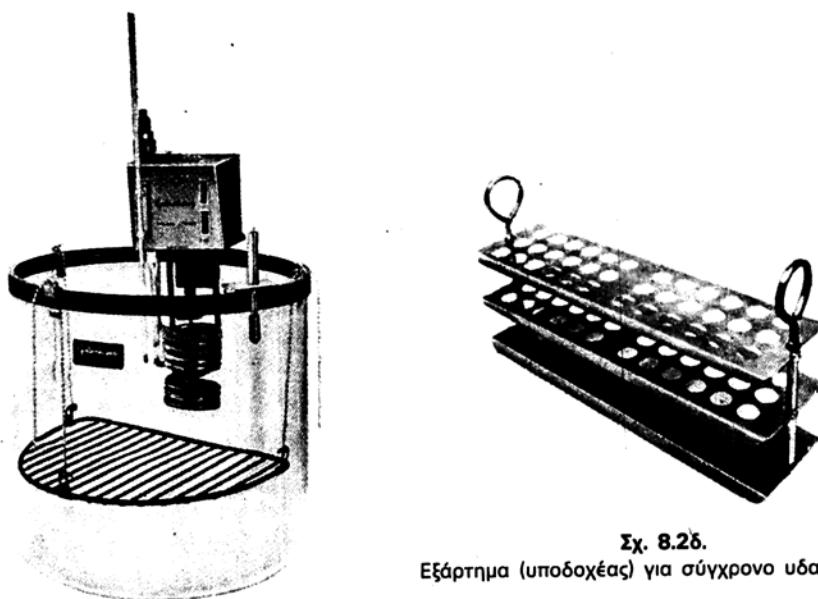
- Χώρος εξατμίσεως κυκλικής συνήθως διατομής ($10 \div 20$ cm) και βάθος από $10 \div 15$ cm που είναι κατασκευασμένος από χαλκό, απλό ή ανοδειωμένο αλουμίνιο.
- Σειρά μεταλλικών στεφανιών που σκεπάζουν σε επιθυμητή έκταση το χώρο εξατμίσεως.
- Λαβές (χερούλια).
- Τρίποδο στηρίξεως στην περίπτωση που ως πηγή ενέργειας χρησιμοποιείται, γυμνή φλόγα [σχ. 8.2a(β)].
- Σε κάπως πιο βελτιωμένα υδατόλουτρα υπάρχει σύστημα που εξασφαλίζει σταθερότητα στη στάθμη του νερού που υπάρχει μέσα στο χώρο εξατμίσεως [σχ. 8.2a(δ)].

8.2.2 Σύγχρονο υδατόλουτρο.

Τα σύγχρονα υδατόλουτρα (σχ. 8.2β) αποτελούνται από τα ακόλουθα μέρη:



Σχ. 8.2β.
Σύγχρονο υδατόλουτρο με έξι θέσεις εξατμίσεως.



Σχ. 8.2δ.
Εξάρτημα (υποδοχέας) για σύγχρονο υδατόλουτρο

Σχ. 8.2γ.
Σύγχρονο υδατόλουτρο με θερμοστάτη.

- Χώρος εξατμίσεως που μπορεί να έχει μία ή περισσότερες θέσεις.
- Στεφάνια από χάλυβα με ειδική σύνθεση.
- Θερμοστάτης με εύρος συνήθως $20 \div 100^\circ\text{C}$ και σπανιότερα $5 \div 100^\circ\text{C}$ (σχ. 8.2γ).
- Ρυθμιστής στάθμης νερού σε τρόπο, ώστε η αναπλήρωση του νερού που γίνεται υδρατμός να γίνεται αυτόματα.
- Διάφορα εξαρτήματα που βελτιώνουν τις δυνατότητες των συγχρόνων υδατόλουτρων, όπως π.χ. υποδοχείς σωληναρίων (σχ. 8.2δ).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΕΝΑΤΟ

ΚΛΙΒΑΝΟΣ (ΞΗΡΟΣ – ΥΓΡΟΣ – ΕΠΩΑΣΤΙΚΟΣ)

9.1. Γενικότητες.

Για την καταστροφή κυρίως και σπανιότερα για την αναστολή του πολλαπλασιασμού των μικροβίων, χρησιμοποιούνται διάφοροι παράγοντες που διακρίνονται σε χημικούς και φυσικούς.

Μεταξύ των φυσικών παραγόντων που συχνά χρησιμοποιούνται για την καταστροφή των μικροβίων, ο πιο συνηθισμένος είναι η θερμότητα.

Η θερμότητα μπορεί να εφαρμοσθεί με δύο μορφές: **ξηρή** και **υγρή**.

9.1.1 Ξηρή Θερμότητα.

Η ξηρή θερμότητα χρησιμοποιείται ως μέσο αποστειρώσεως, γιατί επιδρά καταστρεπτικά στο κυτταρόπλασμα των μικροβίων, προκαλώντας πήξη και οξείδωση των πρωτεΐνων τους. Η δράση της εξαρτάται από διάφορους παράγοντες, όπως π.χ. αναπτυσσόμενη θερμότητα, είδος μικροβίων, υδατοπεριεκτικότητα μικροβίων κλπ.

Με την ξηρή θερμότητα αποστειρώνονται συνήθως γυάλινα σκεύη, όπως π.χ. δοκιμαστικά σωληνάρια φυγοκεντρήσεως, φιάλες, σύριγγες κλπ. Η αποστείρωση σε ξηρή θερμότητα γίνεται με ξηροκλίβανο.

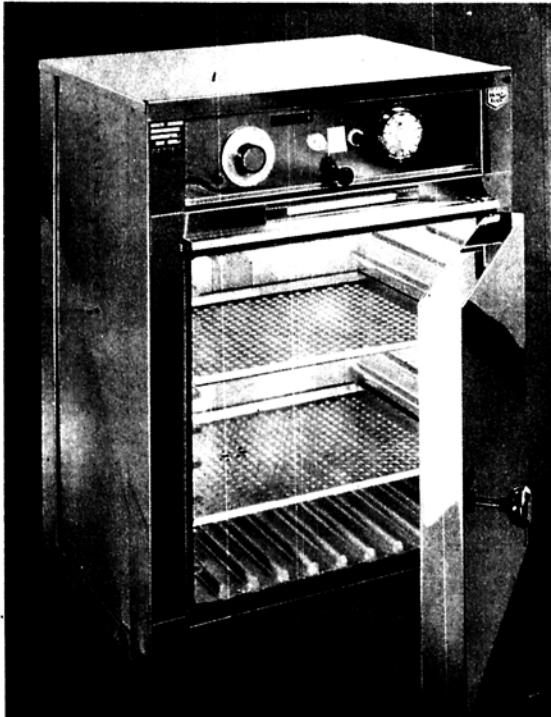
9.1.2 Υγρή Θερμότητα.

Η αποστείρωση με υγρή θερμότητα, που είναι πιο δραστική από την ξηρή θερμότητα, γίνεται με ειδικούς κλιβάνους ξεκινώντας από τον ατμοκλίβανο του Koch ή του Arnold και περνώντας από τα απλά αυτόκαυστα συστήματα έχομε φθάσει στα σημερινά υπερσύγχρονα αυτόκαυστα.

Με το αυτόκαυστο αποστειρώνονται, εκτός από τα μικροβιολογικά υλικά, και διάφορα αντικείμενα του χειρουργείου όπως π.χ. εργαλεία, γάζες, μπλούζες, σεντόνια κλπ.

9.2 Περιγραφή ξηροκλιβάνου.

Ο ξηροκλίβανος (σχ. 9.2) στην πραγματικότητα είναι ένα μεταλλικό κιβώτιο από ειδικής ποιότητας χάλυβα που περιβάλλεται από αμίαντο ή άλλη δυσθερμαγγή και άκαυστη ουσία, για να παρεμποδισθεί η μετάδοση θερμότητας από το εσωτερικό του ξηροκλιβάνου στον εξωτερικό χώρο.



Σχ. 9.2.
Ξηροκλίβανος.

Ο ξηροκλίβανος παλαιότερα θερμαινόταν με φωταέριο ή πετρέλαιο, ενώ έδω και αρκετά χρόνια χρήσιμοποιείται το ηλεκτρικό ρεύμα.

Αποτελείται από:

- Το χώρο κλιβανισμού.
- Τον εσωτερικό θερμοστάτη.
- Το εξωτερικό θερμόμετρο.
- Τον επιλογέα θερμοκρασιών με εύρος $30 \div 220^{\circ}\text{C}$.
- Το χρονοδιακόπτη διάρκειας μέχρι και 2,5 ώρες.
- Διάταξη ασφάλειας για την πρόληψη ατυχημάτων από λανθασμένη επιλογή θερμοκρασίας.
- Τον κυκλοφορητή αέρα που εξασφαλίζει τόσο τη κυκλοφορία όσο και τη θερμική ομοιογένεια σε όλα τα σημεία του χώρου κλιβανισμού.

9.2.1 Οδηγίες χρήσεως.

Όταν τα αντικείμενα που προορίζονται για άποστείρωση σε ξηροκλίβανο είναι έτοιμα, τότε κανονίζομε το θερμοστάτη στην επιθυμητή θερμοκρασία, το χρονοδιακόπτη στην επιθυμητή διάρκεια χρόνου* και βάζομε το ρευματολήπτη στο ρευματοδότη (πρίζα).

* Ο χρόνος αποστειρώσεως δεν αντιστοιχεί στο χρόνο ηλεκτροδοσήσεως του ξηροκλιβάνου, αλλά στο χρόνο που αναλογεί στην αποστείρωση. Δηλαδή στο χρόνο που αρχίζει από τη χρονική στιγμή που η θερμοκρασία στο θάλαμο έφθασε στην επιθυμητή θερμοκρασία και τελειώνει με το τέλος της αποστειρώσεως.

9.2.2 Πρακτικές οδηγίες.

Για τη σωστή και αποτελεσματική χρησιμοποίηση του ξηροκλιβάνου τηρείται μια σειρά από οδηγίες από τις οποίες οι σπουδαιότερες είναι:

1. Η ετοιμασία των αντικειμένων που θα μπουν στον ξηροκλίβανο χρειάζεται ιδιαίτερη προσοχή και επιμέλεια. Έτσι, τα γυάλινα π.χ. αντικείμενα πρέπει να έχουν πλυθεί και στεγνωθεί, γιατί στην αντίθετη περίπτωση υπάρχει κίνδυνος να σπάσουν. Πρέπει επίσης να πωματισθούν με βαμβάκι ή να τυλιχθούν με χαρτί.
2. Το πλύσιμο των αντικειμένων που προορίζονται για κλιβανισμό είναι απαραίτητο, γιατί αν παραμείνουν πάνω σ' αυτά οργανικές ουσίες όπως π.χ. αίμα, τότε αυτές απανθρακώνονται και τα αντικείμενα μαυρίζουν.
3. Μετά το τέλος της αποστειρώσεως, τα αποστειρωθέντα αντικείμενα δεν πρέπει να βγαίνουν από τον κλίβανο αρέσως, γιατί υπάρχει κίνδυνος να σπάσουν, αν είναι γυάλινα, από την απότομη μεταβολή της θερμοκρασίας.
4. Τα αντικείμενα που θα τοποθετηθούν στο θάλαμο του ξηροκλιβάνου δεν πρέπει να είναι ογκώδη ούτε και να είναι κοντά το ένα με το άλλο, γιατί μ' αυτόν τον τρόπο δυσκολεύεται η κυκλοφορία του αέρα.
5. Ο ξηροκλίβανος δεν πρέπει να παραφορτώνεται, γιατί τότε χρειάζεται να παραταθεί ο συνηθισμένος χρόνος αποστειρώσεως που είναι 1 ώρα στους 180°C ή 2 ώρες στους 160°C .

9.3 Περιγραφή αυτόκαυστου.

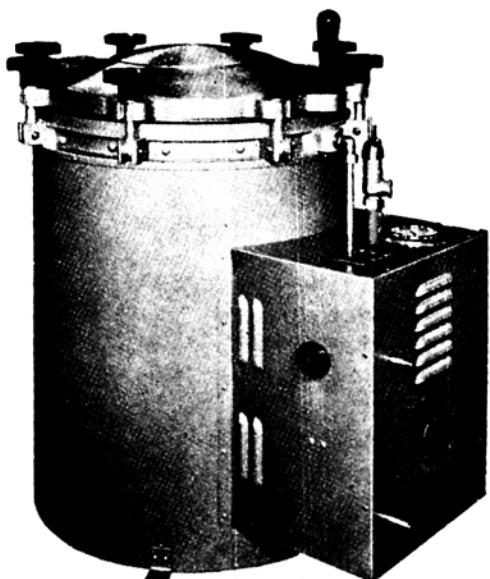
Το αυτόκαυστο στην πραγματικότητα είναι ένα κυλινδρικό δοχείο, κάθετο ή οριζόντιο; με ιδιαιτέρως ανθεκτικά στην πίεση μεταλλικά τοιχώματα, που κλείνει αεροστεγώς.

Τα κυριότερα μέρη του αυτόκαυστου είναι τα ακόλουθα:

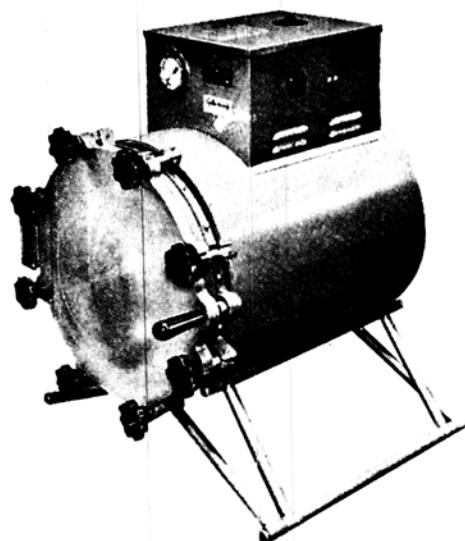
- Ο χώρος ή θάλαμος κλιβανισμού, που κατασκευάζεται από χάλυβα ειδικής συνθέσεως.
- Ο βραστήρας, που γίνεται από ειδικής συνθέσεως χαλκό που εσωτερικά είναι επικαστιτερωμένος.
- Το αεροστεγές κάλυμμα, που είναι από ειδικό μίγμα στο οποίο κυριαρχεί ο χάλυβας.
- Οι συγκρατητήρες με χερούλια, από πλαστικό συνήθως.
- Οι στρόφιγγες διαφυγής αέρα και υδρατμών.
- Η ασφαλιστική δικλείδα.
- Το θερμόμετρο.
- Το μανόμετρο.

Τα αυτόκαυστα, ανάλογα με τη διάταξή τους στο χώρο, μπορεί να είναι κάθετου ή οριζόντιου τύπου (σχήματα 9.3α και 9.3β).

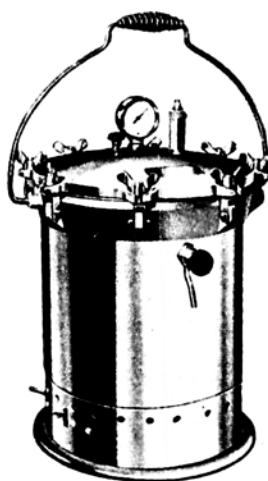
Υπάρχουν επίσης φορητά αυτόκαυστα (σχ. 9.3γ) και αυτόματα αυτόκαυστα υψηλής τεχνολογίας (σχ. 9.3δ) που εξασφαλίζουν αποστείρωση σε χρόνο 3 min με θερμοκρασίες γύρω στους 135°C , ενώ οι συνηθισμένες επιδόσεις των αυτόκαυστων είναι 25 min σε θερμοκρασίες $20 \div 100^{\circ}\text{C}$ και 10 min σε θερμοκρασία από $100 \div 130^{\circ}\text{C}$.



Σχ. 9.3α.
Αυτόκαυστο κάθετου τύπου.



Σχ. 9.3β.
Αυτόκαυστο οριζόντιου τύπου.



Σχ. 9.3γ.
Φορητό αυτόκαυστο



Σχ. 9.3δ.
Αυτόματο αυτόκαυστο.

9.3.5 Όδηγίες χρήσεως.

Βασικές οδηγίες για τη χρήση του αυτόκαυστου είναι οι ακόλουθες:

1. Απαραίτητη προϋπόθεση για την καλή αποστέρωση είναι η απομάκρυνση του αέρα που υπάρχει μέσα στο αυτόκαυστο. Για το σκοπό αυτό ρίχνομε

στο αυτόκαυστο, μέχρι το σημείο που καθορίζεται από τον κατασκευαστή, νερό, κατά προτίμηση αποσταγμένο. Αν το νερό είναι λιγότερο απ' ό, τι πρέπει, τότε θα εξαπλισθεί γρήγορα και τα αντικείμενα μπορεί να καταστραφούν.

2. Πάνω από το νερό, και σε ειδικά μεταλλικά δοχεία, τοποθετούνται τα αντικείμενα που προορίζονται για αποστείρωση.
3. Σκεπάζεται ή κλείνεται το αεροστεγές κάλυμμα του αυτόκαυστου, αφήνοντας ανοικτή τη στρόφιγγα διαφυγής του αέρα και των υδρατμών.
4. Το νερό θερμαίνεται μέχρι βρασμού οπότε ο παραγόμενος ατμός βγαίνοντας συμπαρασύρει τον αέρα, στην αρχή διακεκομένα και μετά κατά τρόπο συνεχή, γιατί η ύπαρξη μίγματος αέρα και υδρατμών παρεμποδίζει την κανονική άνοδο της θερμοκρασίας, ενώ παράλληλα υπάρχει κίνδυνος εκρήξεως, αν η ασφαλιστική δικλείδα δε λειπουργήσει.
5. Μετά κλείνομε τη στρόφιγγα, έτσι ώστε με τη συμπίεση των υδρατμών να δημιουργηθεί θερμοκρασία πάνω από 100°C.
6. Ρυθμίζομε τη θερμοκρασία, πίεση και χρόνο αποστειρώσεως.
7. Μετά το τέλος της αποστειρώσεως διακόπτεται η θέρμανση, οπότε η πίεση σιγά-σιγά πέφτει και όταν πια μηδενισθεί, ανοίγομε τη στρόφιγγα και το κάλυμμα.

9.3.2 Πρακτικές οδηγίες.

Για τη σωστή και αποτελεσματική χρησιμοποίηση του αυτόκαυστου, όπως και του ξηροκλιβάνου, τηρείται μια σειρά από οδηγίες από τις οποίες οι σπουδαιότερες είναι:

1. Η προετοιμασία των αντικειμένων που θα μπουν στο αυτόκαυστο απαιτεί ιδιάίτερη επιμέλεια. Τα μεταλλικά κουτιά π.χ. πρέπει να έχουν πλευρικές τρύπες, για να μπορεί ο αέρας να κυκλοφορεί ελεύθερα. Τα μεταλλικά αντικείμενα, όπως μαχαίρια, λαβίδες κλπ. πρέπει να τυλίγονται με χαρτί ή πορώδες ύφασμα.
2. Μετά το τέλος της αποστειρώσεως, για την αποφυγή υποπίεσεως στο θάλαμο του αυτόκαυστου, αφήνομε τον ατμό να βγαίνει με αργό ρυθμό.
3. Για το άνοιγμα του αυτόκαυστου το μανόμετρο πρέπει να έχει μηδενική ένδειξη.
4. Μετά το τέλος της αποστειρώσεως, πρέπει όλοι οι δείκτες να έχουν μηδενισθεί και να διακοπεί η ηλεκτροδότηση.

9.4 Επωαστικός κλίβανος.

Για τη μελέτη των μικροβίων πολλές φορές καταφεύγομε στην τεχνική της καλλιέργειας. Λέγοντας καλλιέργεια μικροβίων εννοούμε τη μεταφορά, σπορά των μικροβίων σε κατάλληλα κατά περίπτωση θρεπτική υλικά, πάνω στα οποία πολλαπλασιάζονται τα μικρόβια και σχηματίζονται έτσι *αποικίες* που είναι ορατές και με γυμνό μάτι.

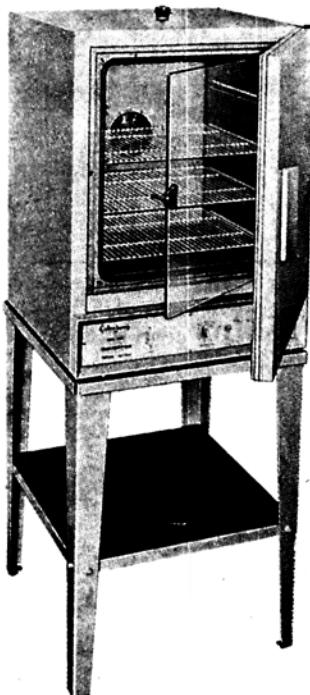
Για τον επιτυχή πολλαπλασιασμό των μικροβίων χρειάζεται και κατάλληλη θερ-

μοκρασία. Για τα περισσότερα μικρόβια η κατάλληλη θερμοκρασία κυμαίνεται μεταξύ $20 \div 40^{\circ}\text{C}$, ενώ η άριστη είναι 37°C , δηλαδή η θερμοκρασία του σώματος του ανθρώπου. Για το σκοπό αυτό οι καλλιέργειες των μικροβίων τοποθετούνται σε ειδικές συσκευές που λέγονται **επωαστικοί κλίβανοι**.

9.4.1 Περιγραφή επωαστικού κλίβανου.

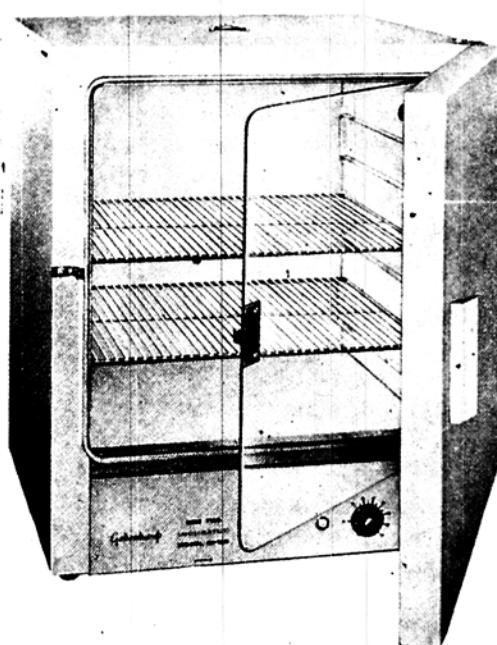
Οι επωαστικοί κλίβανοι έχουν συνήθως σχήμα ορθογωνίου παραλληλεπιπέδου με διάφορες διαστάσεις, βάρος, ηλεκτρική ισχύ κλπ.

Ανάλογα με τις διαστάσεις τους μπορεί να τοποθετηθούν επάνω σε ειδική βάση (σχ. 9.4α), επάνω σε εργαστηριακό πάγκο ή στο δάπεδο (σχ. 9.4β) ή να αναρτηθούν στογύ τοίχο (σχ. 9.4γ).



Σχ. 9.4α.

Βάση με τοποθετημένο επωαστικό κλίβανο.



Σχ. 9.4β.

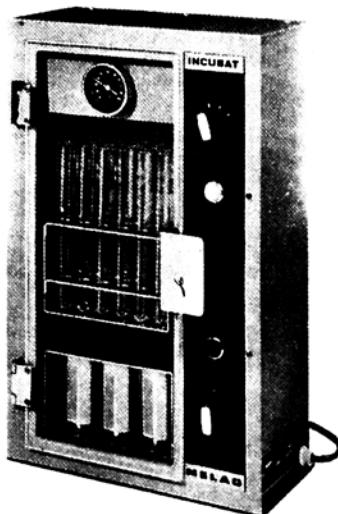
Επωαστικός κλίβανος που μπορεί να τοποθετηθεί σε εργαστηριακό πάγκο.

Τα κύρια μέρη ενός επωαστικού κλιβάνου είναι:

- Το εξωτερικό τοίχωμα, κατασκευασμένο συνήθως από χάλυβα.
- Το εσωτερικό τοίχωμα, κατασκευασμένο συνήθως από αλουμίνιο ή ειδικό πλαστικό. Ανάμεσα στα δύο αυτά τοιχώματα υπάρχει δυσθερμαγωγό υλικό.
- Η εξωτερική μεταλλική πόρτα με διπλά τοιχώματα.
- Η εσωτερική πόρτα, από διαφανές γυαλί που κλείνει πολύ καλά.
- Ο θερμορρυθμιστής, με τριχοειδικό συνήθως σωλήνα για αύξηση της ευαίσθησίας του, που χρησιμεύει για να διατηρεί τη θερμοκρασία του κλιβάνου.

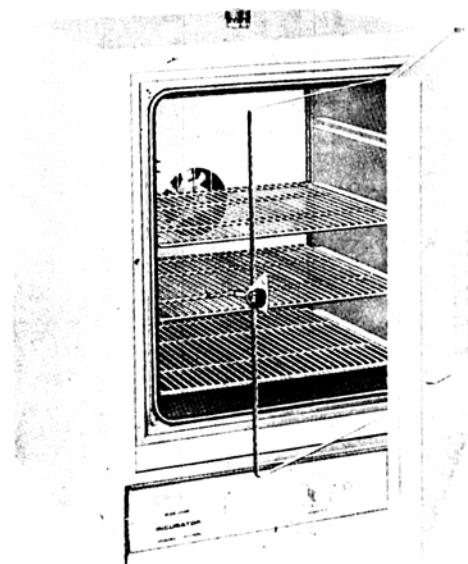
σταθερή μεταξύ $36 \div 38^{\circ}\text{C}$.

- Το ή τα θερμόμετρα, τοποθετημένα στο εσωτερικό του θαλάμου.
 - Τα χωρίσματα, συνήθως δύο ως οκτώ.
 - Οι ενδεικτικές λυχνίες για τον έλεγχο της ηλεκτροδοτήσεως του θαλάμου και τη λειτουργία του θερμορρυθμιστή.
 - Τα χειριστήρια όργανα, όπως π.χ. διακόπτης ηλεκτροδοτήσεως, χρονοδιακόπτης κλπ.
- Τέλος, εκτός από τους συνηθισμένους επωαστικούς κλίβανους, υπάρχουν και κλίβανοι ειδικών απαιτήσεων όπως:
- **Ανυδρικοί επωαστικοί κλίβανοι** (σχ. 9.4δ) με μαγνητικές πόρτες, κυκλοφορητή θερμού αέρα, βοηθητικό θερμορρυθμιστή ασφάλειας κλπ. Οι κλίβανοι αυτοί χρησιμοποιούνται κυρίως σε βακτηριολογικά, ιολογικά και βιολογικά εργαστήρια.



Σχ. 9.4γ.

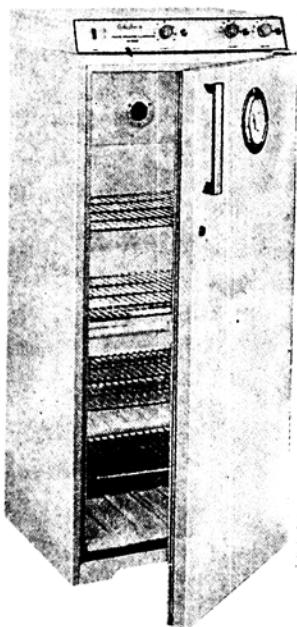
Επωαστικός κλίβανος για ανάρτηση.



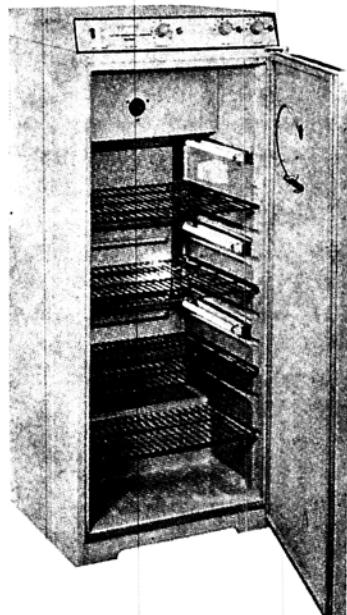
Σχ. 9.4δ.

Ανυδρικός επωαστικός κλίβανος.

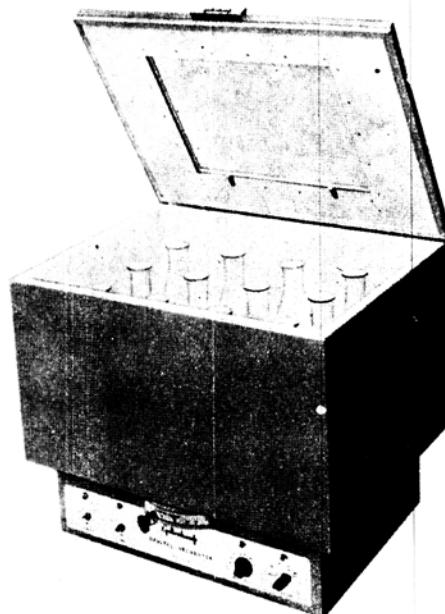
- **Ψυχόμενοι επωαστικοί κλίβανοι** (σχ. 9.4ε) που χρησιμοποιούνται για ιολογικές έρευνες, για έλεγχο ενζύμων, για καλλιέργειες ιστών κλπ.
- **Επωαστικοί κλίβανοι με φθορίζοντα φωτιστικά** (σχ. 9.4στ) γιὰ τη μελέτη φωτοσυνθετόντων οργανισμών, που χρησιμοποιούνται κυρίως στη μικροβιολογία, ωκεανογραφία κλπ.
- **Επωαστικοί κλίβανοι για επώαση σε περιβάλλον CO_2** που χρησιμοποιούνται κυρίως για ανοσοβιολογικές, ραδιοβιολογικές και ιολογικές μελέτες.
- **Επωαστικοί κλίβανοι με τροχιακή ανάδευση** (σχ. 9.4ζ) που χρησιμοποιούνται κυρίως για βιοχημικές, ζωολογικές, βοτανολογικές και μεταλλουργικές μελέτες.



Σχ. 9.4ε.
Ψυχόμενος επωαστικός κλίβανος.



Σχ. 9.4στ.
Επωαστικός κλίβανος με φθορίζοντα φωτιστικά.



Σχ. 9.4ζ.
Επωαστικός κλίβανος με τροχιακή ανάδευση.

9.4.2 Οδηγίες χρήσεως.

Σε γενικές γραμμές, εκτός από τις οδηγίες του κατασκευαστή, πρέπει να έχομε υπόψη και τα ακόλουθα:

1. Για τη σωστή καλλιέργεια των μικροβίων, το ποσό των υδρατμών μέσα στο θάλαμο του κλιβάνου πρέπει να είναι σταθερό. Για το σκοπό αυτό τοποθετούμε μέσα στο θάλαμο ένα ποτήρι νερό ή κομμάτια από βαμβάκι τα οποία έχουμε βρέξει με νερό.
2. Τα τρυβλία τοποθετούνται το ένα πάνω στο άλλο και το πολύ μέχρι τρία. Τα τρυβλία πρέπει να τοποθετούνται ανάποδα, δηλαδή το σκέπασμά τους να είναι γυρισμένο προς το δάπεδο του θαλάμου του κλιβάνου.
3. Τα σωληνάρια, αν έχει εμβολιασθεί το υλικό σ' αυτά, τοποθετούνται σε συρμάτινα καλάθια τα οποία στον πυθμένα τους έχουν βαμβάκι.
4. Η θερμοκρασία στο θάλαμο του κλιβάνου ρυθμίζεται και παραμένει περίπου σταθερή γύρω στους 37°C .
5. Η διάρκεια της επωάσεως εξαρτάται από το είδος των καλλιεργουμένων μικροβίων. Γενικά όμως κυμαίνεται από $24 \div 72$ ώρες.

9.5 Ερωτήσεις.

1. Από ποιους παράγοντες εξαρτάται η δράση της ξηρής θερμότητας;
2. Ποια είναι τα λειτουργικά στοιχεία του ξηροκλιβάνου;
3. Πώς λειτουργεί ο ξηροκλιβάνος;
4. Γιατί πρέπει να είναι καθαρά τα αντικείμενα που ετοιμάζονται για κλιβανισμό;
5. Γιατί δεν πρέπει να βγάζομε τα αντικείμενα αμέσως μετά την αποστείρωση;
6. Πόσος χρόνος και τι θερμοκρασία χρειάζονται συνήθως για την αποστείρωση με ξηρή θερμότητα;
7. Ποια είναι τα κυριότερα μέρη του αυτόκαυστου;
8. Ποια είναι η βασική προϋπόθεση για την απομάκρυνση του αέρα από το θάλαμο του αυτόκαυστου;
9. Πότε ανοίγομε τη στρόφιγγα του αυτόκαυστου;
10. Τι πρέπει να κάνομε για να αποφύγομε την υποπίεση στο θάλαμο του αυτόκαυστου;
11. Ποια είναι η κατάλληλη και ποια η άριστη θερμοκρασία για την καλλιέργεια των μικροβίων;
12. Ποια είναι τα κύρια μέρη ενός συνηθισμένου επωαστικού κλιβάνου;
13. Περιγράψτε κλιβάνους ειδικών απαίτησεων.
14. Πώς τοποθετούνται τα τρυβλία και τα δοκιμαστικά σωληνάρια στον κλίβανο;
15. Πόσο διαρκεί συνήθως η επώαση;

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΔΕΚΑΤΟ

ΨΥΚΤΙΚΕΣ ΣΥΣΚΕΥΕΣ

10.1 Γενικά.

Στα διάφορα εργαστήρια, π.χ. αιματοτολογίας, ανατομίας, ανοσοβιολογίας, βιοχημείας, γενετικής, δερματολογίας, ιατροδικαστικής, ιστολογίας, ορθοπεδικής, οφθαλμολογίας, παθολογικής ανατομικής, φαρμακολογίας, χειρουργικής κλπ., χρησιμοποιούνται γενικά ψυκτικές συσκευές της μορφής των ψυγείων ή ψυκτικοί χώροι της μορφής των συντηρητών-καταψυκτών για την διατήρηση και φύλαξη οργανικών προϊόντων, όπως είναι το αίμα και τα υποπροϊόντα αιμάτος, τα ούρα, ιστοί και δργανα, δέρμα, οροί κλπ. Οι ψυκτικές ανάγκες των εργαστηρίων καλύπτονται από:

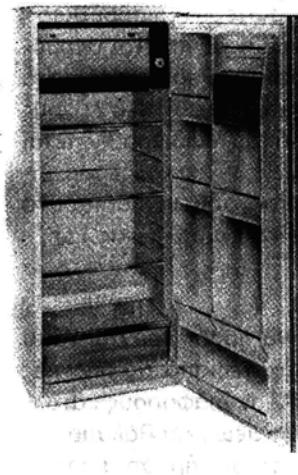
- Κοινά ψυγεία.
- Ψυγεία καταψύξεως.
- Ψυγεία αιμοδοσίας.
- Συντηρητές-καταψύκτες.

10.2 Κοινά ψυγεία.

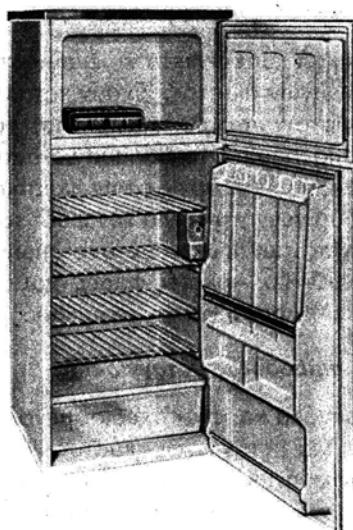
Αρκετά από τα προϊόντα και υλικά των εργαστηρίων, π.χ. το αίμα και τα ούρα, φυλάσσονται σε θερμοκρασίες όμοιες μ' αυτές των κοινών οικιακών ψυγείων, δηλαδή σε θερμοκρασία $2 \div 4^{\circ}\text{C}$. Τα ψυγεία αυτά μπορεί να είναι μονόπορτα (σχ. 10.2α) ή δίπορτα (σχ. 10.2β), δηλαδή με χωριστό θάλαμο καταψύξεως και με διαφορετική εσωτερική διαρρύθμηση. Έχουν μαγνητικές πόρτες, αυτόματη απόψυξη, ελεγχόμενο θερμοστάτη κλπ.

Ο λόγος της φυλάξεως των οργανικών προϊόντων σε ψυγεία είναι ότι σε θερμό περιβάλλον αποτελούν θρεπτικό υπόστρωμα για τους διάφορους μικροοργανισμούς με αποτέλεσμα να προκαλούνται αλλοιώσεις στα δείγματα ή και να αχρηστεύονται αυτά. Τα ούρα σε θερμό περιβάλλον αλκαλοποιούνται, ενώ το αίμα αλλοιώνεται, αιμολύνεται και όχι μόνο δεν προσφέρεται για ανάλυση, αλλά μπορεί να προκαλέσει και σοβαρά προβλήματα στη δημόσια υγεία, π.χ. στην περίπτωση μεταγγίσεων.

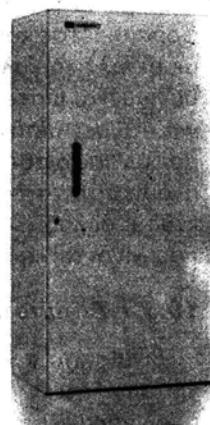
Η φύλαξη σε ψυγείο επιτρέπει τη διατήρηση των δειγμάτων για αρκετές μέρες. Έτσι π.χ. μπορεί να γίνει και μια βδομάδα μετά την αιμοληψία ο προσδιορισμός του ουρικού οξέος στον ορό ή το πλάσμα, ο προσδιορισμός χοληστερίνης στον ορό κλπ., ενώ οροί και αντιδραστήρια διατηρούν την ισχύ τους για μεγάλο χρονικό διάστημα στις θερμοκρασίες που επικρατούν στα ψυγεία.



Σχ. 10.2a.
Μονόπορτο ψυγείο.



Σχ. 10.2b.
Δίπορτο ψυγείο.



Σχ. 10.3.
Ψυγείο καταψύξεως.

10.3 Ψυγεία καταψύξεως.

Τά ψυγεία αυτά, ειδικών προδιαγραφών κατασκευής, επιτυγχάνουν θερμοκρασίες της τάξεως των -15°C , όταν η θερμοκρασία του περιβάλλοντος είναι γύρω στους 30°C (σχ. 10.3)

Χρησιμοποιούνται στις τράπεζες αίματος, αλλά και σε διάφορα εργαστήρια, σε ειδικές περιπτώσεις, όπως όταν θέλουμε να διατηρήσουμε ορό ή πλάσμα για να προσδιορίσουμε ορισμένα ένζυμα (τρανσαμινάσες) κλπ. Τα προς ανάλυση δείγματα μετά την έξοδό τους από το ψυγείο καταψύξεως, πρέπει να λιώσουν τελείως και ακόμη πρέπει να αναταραχθούν με πολλή προσοχή και επιμέλεια, γιατί με τις διαδοχικές μεταπτώσεις από την υγρή σε στερεή κατάσταση (κατάψυξη-τήξη) συμβαίνουν σοβαρές μεταβολές στις συγκεντρώσεις των ουσιών του δείγματος.

10.4 Ψυγεία αιμοδοσίας.

Τα κέντρα αιμοδοσίας έχουν συνήθως ψυγεία αιμοδοσίας, αυτοκίνητο ψυγείο αίματος και αυτοκίνητο αιμοδοσίας-μεταγγίσεως.

10.4.1 Τα ψυγεία αιμοδοσίας.

Είναι ψυγεία μεγάλης χωρητικότητας και έτσι σχεδιασμένα, ώστε σε ράφια, περιστρεφόμενα ή συρόμενα, να μπορούν να τοποθετηθούν οι ειδικές φιάλες αίματος του ενός λίτρου. Η πόρτα τους εκτός από το μαγνητικό κλείσιμο έχει ένα τρίμημα διαφανές και κλειδαριά ασφάλειας. Η θερμοκρασιακή περιοχή λειτουργίας τους είναι 0° - 8°C , διαθέτουν μια σειρά από κατάλληλα ενδεικτικά όργανα, όπως λειτουργίας, βλάβης, συναγερμού κλπ. και παρέχουν εβδομαδιαίο καταγραφικό θερμοδιάγραμμα και συχνά έχουν εφεδρικές γεννήτριες.

10.4.2 Τα αυτοκίνητα-ψυγεία αίματος.

Είναι κατά κανόνα μικρά και ευέλικτα κι έχουν ψυχόμενο θάλαμο για τη μεταφορά αίματος και παραγώγων αίματος. Έχουν κατάλληλη εσωτερική διαρρύθμιση με μεταλλικά καλάθια για την ασφαλή συγκράτηση των φιαλών. Είναι έτσι θερμομονωμένα, ώστε η θερμοκρασία στο θάλαμο να διατηρείται σταθερή τουλάχιστο για 4 ώρες μετά τη διακοπή λειτουργίας των ψυκτικών μηχανημάτων. Για λόγους ασφάλειας διαθέτουν δύο γεννήτριες για την ψύξη του θαλάμου, ενώ προβλέπεται η δυνατότητα λειτουργίας των ψυκτικών στοιχείων και με ηλεκτρικό ρεύμα δικτύου, δηλαδή 220 V, 50 Hz. Αρκετές φορές διαθέτουν πτυσσόμενα καθίσματα που γίνονται κρεββάτια, χώρους για τη μεταφορά του υλικού αιμοληψίας κλπ.

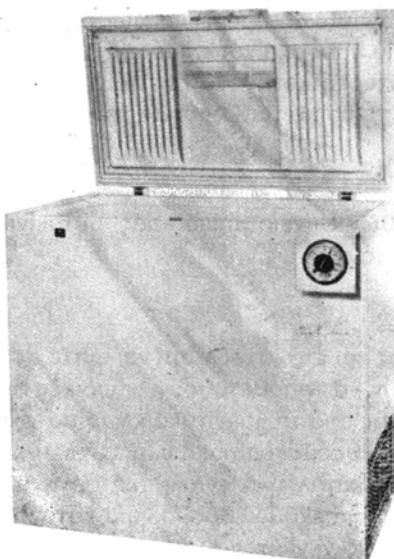
10.4.3 Τα αυτοκίνητα αιμοδοσίας-μεταγγίσεως.

Είναι κατά κανόνα μεγάλα και έτσι σχεδιασμένα, ώστε να προσφέρονται τόσο για αιμοληψίες όσο και για μεταγγίσεις αίματος. Έχουν αρκετές από τις τεχνικές προδιαγραφές των αυτοκίνητων ψυγείων αίματος και επιπλέον διάφορους κατάλληλους χώρους, όπως π.χ. γραφείο, αναπαυτήριο, θάλαμο λήψεως και θάλαμο μεταγγίσεως με πτυσσόμενα ανάκλιντρα, θάλαμο-ψυγείο για τη διατήρηση αίματος, θάλαμο για άμεσες εργαστηριακές ανάγκες κλπ.

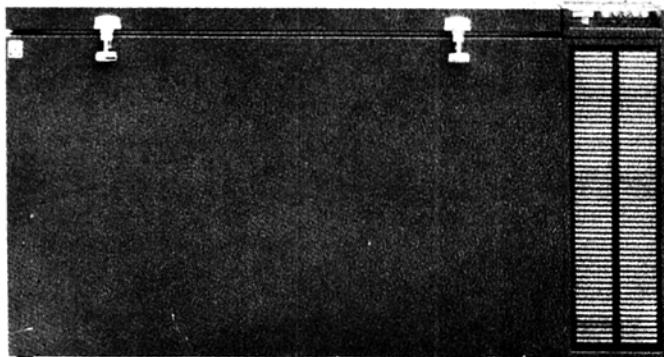
10.5 Συντηρητές-καταψύκτες.

Οι συντηρητές-καταψύκτες είναι κατασκευασμένοι συνήθως από αλουμίνιο υψηλής καθαρότητας, έχουν ειδική θερμομονωτική θωράκιση-επένδυση από αφρό πολυουρεθάνης και γενικά έχουν υψηλές τεχνολογικές προδιαγραφές.

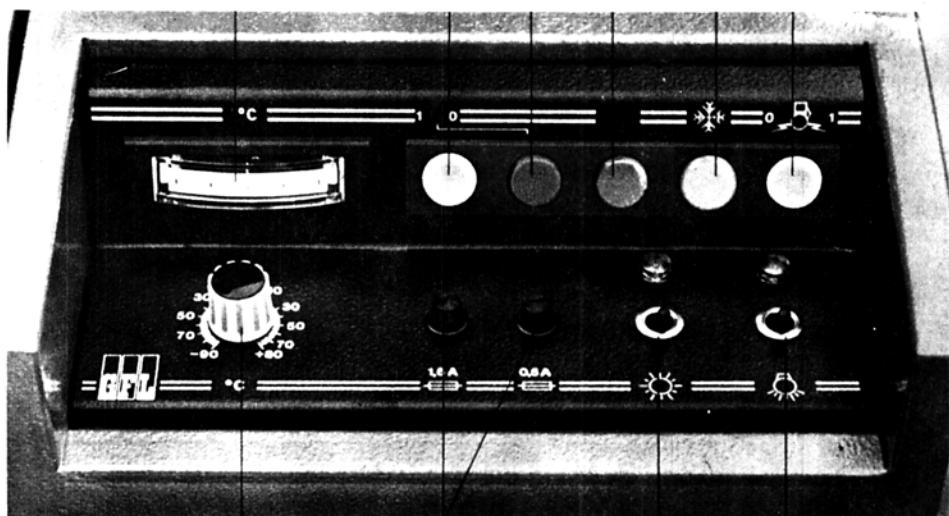
Ανάλογα με τις ψυκτικές τους ικανότητες διακρίνονται σε συντηρητές καταψύξεως χαμηλών θερμοκρασιών, με θερμοκρασία θαλάμου μέχρι -40°C όταν στο περιβάλλον η θερμοκράσια είναι πάνω από 27°C (σχ. 10.5a) και σε υπερχαμηλών



10.5a. Συντηρητής-καταψύκτης αιμοδοσίας με πτυσσόμενα ανάκλιντρα.



Σχ. 10.5β.
Συντηρητής-καταψύκτης υπερχαμηλών θερμοκρασιών.



Σχ. 10.5γ.
Πίνακας ενδείξεων συντηρητή-καταψύκτη υπερχαμηλών θερμοκρασιών.

Θερμοκρασιών, με θερμοκρασία θαλάμου από -40 ως -90°C , όταν η θερμοκρασία στο περιβάλλον είναι πάνω από 30°C (σχ. 10.5β).

Οι συντηρητές-καταψύκτες χρησιμοποιούνται, συνήθως, για τη συντήρηση προϊόντων αίματος και ιστών ή οργάνων και γενικότερα μοσχευμάτων σε αναμονή μεταμοσχεύσεως.

Ενδεικτικά αναφέρομε ότι ερυθρά αιμοσφαίρια σε θερμοκρασία -80°C παραμένουν στη ζωή και κατά συνέπεια μπορούν να χρησιμοποιηθούν, αφού φυσικά πρώτα αποψυχθούν, μετά 2-5 χρόνια. Το γεγονός αυτό έχει ιδιαίτερη σημασία, γιατί έχει δύο βασικά πλεονεκτήματα. Το ένα είναι η εκμηδένιση πιθανότητας για μετάδοση ηπατίτιδας από ομόλογο ορό και το άλλο είναι η δυνατότητα που προσφέρεται για τη διατήρηση σπανίων τύπων ομάδων αίματος.

Οι συντηρητές-καταψύκτες υπερχαμηλών θερμοκρασιών είναι εφοδιασμένοι με ειδικής σχεδιάσεως πίνακα ειδικών στοιχείων, όπως π.χ. εξωτερικός ένδεικτης θερμοκρασίας, ηλεκτρονικός ρυθμιστής θερμοκρασίας, ενδείκτης βλάβης, ενδεικτικές λυχνίες λειτουργίας, σύστημα συναγερμού, δυνατότητα αυτόματης εγγραφής θερμοκρασίας κλπ. (σχ. 10.5γ).

10.6 Ερωτήσεις.

1. Σε ποια εργαστήρια χρησιμοποιούνται ψυκτικά μηχανήματα;
 2. Γιατί τα οργανικά προϊόντα φυλάγονται στα ψυγεία;
 3. Ποιες είναι οι ψυκτικές επιδόσεις των ψυγείων καταψύξεως και πού χρησιμοποιούνται;
 4. Τι ψυκτικά μηχανήματα διαθέτουν τα κέντρα αιμοδοσίας;
 5. Περιγράψτε ένα ψυγείο αιμοδοσίας.
 6. Περιγράψτε ένα αυτοκίνητο-ψυγείο αίματος.
 7. Περιγράψτε ένα αυτοκίνητο αιμοδοσίας-μεταγγίσεως.
 8. Πώς είναι κατασκευασμένοι οι συντηρητές-καταψύκτες και σε ποιες κατηγορίες διακρίνονται;
 9. Ποια είναι η πρακτική σημασία συντηρήσεως του αίματος σε πολύ χαμηλές θερμοκρασίες;
-

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΕΝΔΕΚΑΤΟ

pH - ΜΕΤΡΟ (ΠΕΧΑΜΕΤΡΟ)

11.1 Γενικά.

Με τον όρο pH, που οφείλεται στον Sörensen, εννοούμε τον αρνητικό δεκαδικό λογάριθμο της συγκεντρώσεως ιόντων υδρογόνου. Δηλαδή:

$$pH = \log [H^+] \quad \text{ή} \quad [H^+] = 10^{-pH} \quad (1)$$

Το αποσταγμένο νερό, όπως είναι γνωστό από τη Χημεία διίσταται σε ίσο αριθμό $[H^+]$ και $[OH^-]$ και το γινόμενο των συγκεντρώσεών τους σε ορισμένη θερμοκρασία ($25^\circ C$) είναι σταθερό. Δηλαδή:

$$[H^+] \cdot [OH^-] = 10^{-14} \quad (2)$$

$$[H^+] = [OH^-] = 10^{-7} \quad (3)$$

Με την παρουσία οξέος ο αριθμός των $[H^+]$ αυξάνεται, δηλαδή έχομε **δξνη** αντίδραση, ενώ με την παρουσία αλκάλεως ή βάσεως έχομε **αλκαλική** ή **βασική** αντίδραση.

Από τη σχέση (2) προκύπτει ότι, αν σε ένα διάλυμα γνωρίζομε τη συγκέντρωση των $[H^+]$ ή $[OH^-]$ μπορούμε να υπολογίσουμε λογιστικά τη συγκέντρωση των $[OH^-]$ ή $[H^+]$. Από τη σχέση (3) προκύπτει ότι σ' ένα λίτρο αποσταγμένου καθαρού νερού θερμοκρασίας $25^\circ C$ περιέχονται:

$$\frac{1}{10.000.000} \text{ g } [H^+] \quad \text{και} \quad \frac{17}{10.000.000} \text{ g } [OH^-]$$

Η αντίδραση ενός διαλύματος μπορεί να εκφρασθεί με τη συγκέντρωση είτε των $[H^+]$ είτε των $[OH^-]$, έχει όμως επικρατήσει στη διεθνή πρακτική η έκφραση συγκεντρώσεων $[H^+]$, δηλαδή pH. Το pH σε τελική ανάλυση εκφράζει την **ενεργό οξύτητα** ή **πραγματική οξύτητα** ενός διαλύματος και δείχνει τη συγκέντρωση των ενεργών κατιόντων υδρογόνου σ' ένα λίτρο διαλύματος.

Η ενεργός οξύτητα είναι αρκετές φορές διαφορετική από το ποσό του οξέος που υπάρχει σ' ένα διάλυμα. Η διαφορά αυτή είναι μεγαλύτερη στα ασθενή οξέα, γιατί σ' αυτά τα οξέα τα ενεργά ιόντα υδρογόνου είναι πολύ λιγότερα από το σύνολο των ιόντων του οξέος.

Συνοψίζοντας μπορούμε να γράψουμε τα ακόλουθα:

- το pH παίρνει τιμές από $0 \div 14$.
- $pH < 7$ σημαίνει αντίδραση **δξνη** και μάλιστα όσο μικρότερη αριθμητική τιμή

έχει τόσο ισχυρότερο είναι το οξύ.

- $\text{pH} = 7$ σημαίνει αντίδραση **ουδέτερη** και
- $\text{pH} > 7$ σημαίνει αντίδραση **αλκαλική** ή **βασική** και μάλιστα όσο μεγαλύτερη αριθμητική τιμή έχει τόσο ισχυρότερο είναι το άλκαλι ή η βάση.

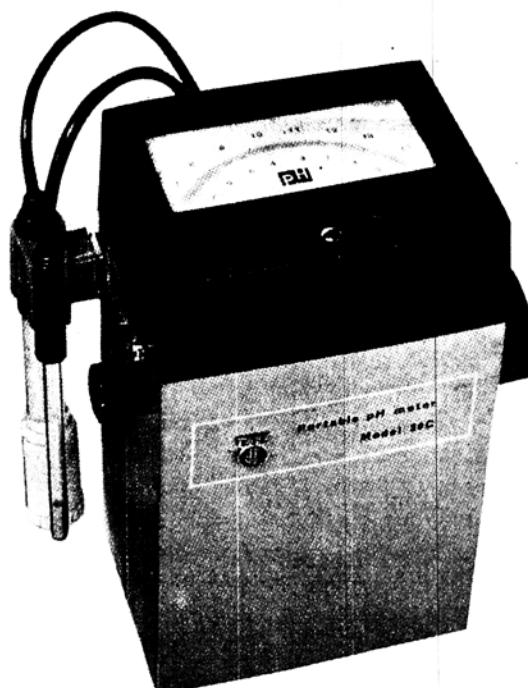
Η μέτρηση του pH έχει μεγάλη σημασία όχι μόνο στις ιατρικές επιστήμες, αλλά και σε άλλες επιστήμες, όπως π.χ. τη Χημεία, Φαρμακευτική, Βιολογία, Ζωολογία, Βοτανική, Ωκεανογραφία, Μεταλλουργία κλπ.

Η αναγκαιότητα και η σημασία της μετρήσεως του pH προέρχονται από το γεγονός ότι διάφορες διεργασίες, τόσο βιολογικές όσο και τεχνολογικές, απαιτούν αυστηρά προκαθορισμένο pH ή επιτρέπουν τη διακύμανση του σε πολύ στενή περιοχή τιμών.

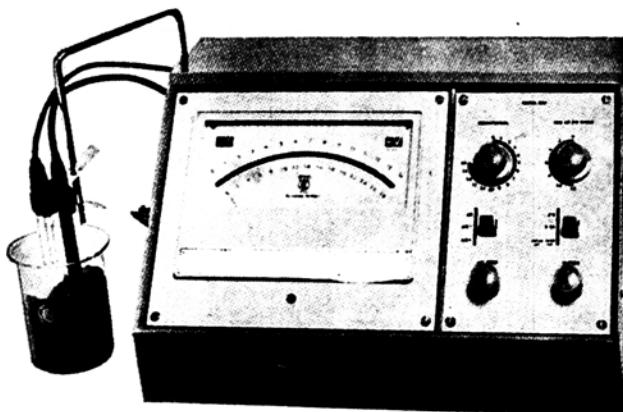
Η μέτρηση του pH μπορεί να γίνει με διάφορες μεθόδους, όπως π.χ. χρωματομετρική με διάφορες παραλλαγές, αεριομετρική κλπ. Ο πιο ακριβής όμως προσδιορισμός γίνεται με ηλεκτρομετρικές μεθόδους στις οποίες χρησιμοποιούνται ειδικά όργανα, τα pH-μετρα (πεχάμετρα).

11.2 Αρχή λειτουργίας pH-μετρου (πεχάμετρου).

Η αρχή λειτουργίας του pH-μετρου στηρίζεται στη διαφορά δυναμικού που αναπτύσσεται μεταξύ δύο ηλεκτροδίων:



Σχ. 11.2α.
Φορητό pH-μετρο.



Σχ. 11.2β.

Τα pH-μετρα από απόψεως διαστάσεων, βάρους, λειτουργικών δυνατοτήτων κλπ, διακρίνονται σε δύο τύπους: τα φορητά (σχ. 11.2a) και τα εργαστηριακά (σχ. 11.2B).

11.3 Περιγραφή pH-μετρου (πεχάμετρου).

Το pH-μετρό εκτός από το ηλεκτρικό τμήμα, έχει και τα ακόλουθα μέρη:

- Του ηλεκτροδίου **αναφοράς** που λαμβάνεται ως **O** (σχ. 11.3α) και
 - του ηλεκτροδίου **μετρήσεως** (σχ. 11.3β).

Τα δύο αυτά ηλεκτρόδια, που είναι συνδεμένα με το pH-μετρό, βυθίζονται στο διάλυμα του οποίου θέλομε να μετρήσουμε την **ενεργό οξύτητα**, οπότε η βέλόνα του οργάνου που κινείται μπροστά στην **ενδεικτική κλίμακα** μας δίνει απευθείας την τιμή του pH, γιατί η αναπτυσσόμενη διαφορά δυναμικού μεταξύ των δύο ηλεκτροδίων είναι συνάρτηση της ενεργού οξύτητας του διαλύματος.

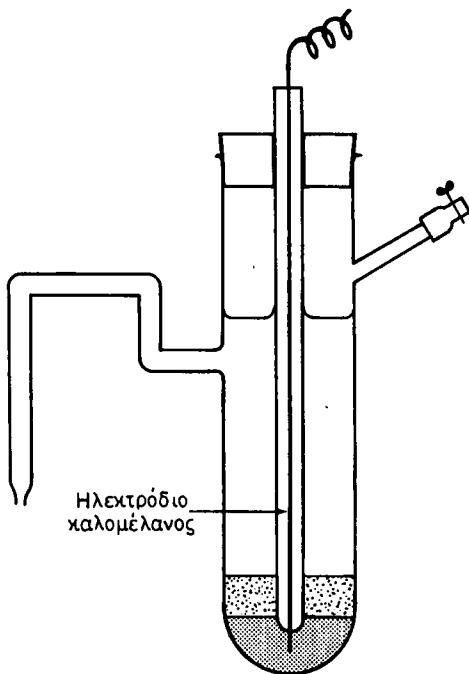
a) Ηλεκτρόδιο αναφοράς (σχ. 11.3a).

Είναι συνήθως ηλεκτρόδιο καλομέλανος ($Hg_2 Cl_2$) και αποτελείται από μικρή ποσότητα υδραργύρου καλυμμένη μ' ένα λεπτό στρώμα καλομέλανος πάνω στο οποίο υπάρχει διάλυμα χλωριούχου καλίου (KCl). Στο κέντρο της όλης διαστάξεως υπάρχει λεπτό σύρμα από πλατίνα που φθάνει μέχρι το στρώμα του υδραργύρου, για να εξασφαλίσει την ηλεκτρική επαφή.

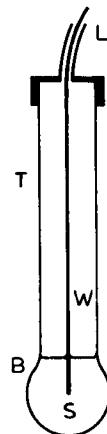
Ως ηλεκτρόδιο αναφοράς χρησιμοποιείται, σπανιότερα όμως, και ηλεκτρόδιο χλωριούχου αργύρου.

β) Ηλεκτρόδιο μετρήσεως (σχ. 11.3β).

Είναι συνήθως ηλεκτρόδιο γυαλιού L που αποτελείται από σφαιρικό κοίλωμα από πολύ λεπτή και ευαίσθητη γυάλινη μεμβράνη, σωλήνα από ειδικό γυαλί T, διάλυμα S γνωστού pH. Στο κέντρο της όλης διατάξης συνήθως από άργυρο, του οποίου το ένα άκρο είναι ιούχου αργύρου ($AgCl$), ενώ το άλλο άκρο προστατεύεται εξασφαλίζει την ηλεκτρική επαφή.



Σχ. 11.3α.
Ηλεκτρόδιο καλομέλανος, δηλαδή ηλεκτρόδιο αναφοράς,



Σχ. 11.3β.
Ηλεκτρόδιο μετρήσεως.

γ) Ενδεκτική κλίμακα που καλύπτει όλο το δυνατό εύρος σε συνεχή ενιαία κλίμακα από $0 \div 14$ ή σε δύο ημικλίμακες της μορφής $0 \div 7$ και $7 \div 14$ ή $0 \div 8$ και $6 \div 14$ με υποδιαιρέσεις $0,1$ pH.

δ) Σειρά χειριστηρίων οργάνων, όπως διακόπτης ρεύματος, διακόπτης ρυθμίσεως κλπ. Τα σύγχρονα pH-μετρα έχουν, με κατάλληλες διατάξεις, πρόσθετες επιδόσεις, όπως π.χ. δυνατότητα αυτοεγγραφής των αποτελεσμάτων, συνδέσεως με μικρούπολογιστή κλπ.

Εκτός από τα συνηθισμένα pH-μετρα υπάρχουν, εδώ και μερικά χρόνια, τα ψηφιακά pH-μετρα τα οποία έχουν υψηλές επιδόσεις και ανταποκρίνονται σε μια σειρά τεχνικών προδιαγραφών όπως είναι οι ακόλουθες:

- Ψηφιακή ανάγνωση με ευανάγνωστα ψηφία και φωτεινή ένδειξη.
- Υψηλή ακρίβεια, της τάξεως του $0,01$ pH.
- Σύστημα αντισταθμίσεως της θερμοκρασίας στην περιοχή $0\text{--}100^\circ\text{C}$.
- Σύστημα για αντιστάθμιση κλίσεως $90 \div 100\%$.
- Έξοδο για καταγραφέα.
- Αυτόματη ένδειξη σε περίπτωση βλάβης.

11.4 Οδηγίες χρήσεως .

Σε γενικές γραμμές, εκτός από τις οδηγίες που δίνει κάθε κατασκευαστής, πρέ-

πει να έχομε υπόψη τα ακόλουθα.

1. Βασική προϋπόθεση για λήψη σωστών μετρήσεων είναι η διατήρηση των ηλεκτροδίων τόσο αναφοράς όσο και μετρήσεως σε άριστη κατάσταση, γιατί είναι εξαρτήματα πολύ ευπαθή.
2. Το ηλεκτρόδιο μετρήσεως πριν χρησιμοποιηθεί, πρέπει να μείνει τουλάχιστο 12 ώρες σε καθαρό αποσταγμένο νερό.
3. Για άμεση λειτουργική ετοιμότητα χρήσεως, το ηλεκτρόδιο μετρήσεως πρέπει να φυλάγεται μέσα σε αποσταγμένο νερό, ενώ το ηλεκτρόδιο αναφοράς μέσα σε κορεσμένο διάλυμα χλωριούχου καλίου.
4. Μετά από κάθε μέτρηση πρέπει και τα δύο ηλεκτρόδια να πλυθούν καλά με καθαρό αποσταγμένο νερό. Αφήνονται να στεγνώσουν με προσοχή. Για το στέγνωμα των άκρων τους χρησιμοποιείται απαλό μαλακό απορροφητικό χαρτί.

Η ακρίβεια του pH-μετρου πρέπει να ελέγχεται συχνά. Ο έλεγχος γίνεται με τη μέτρηση ρυθμιστικού διαλύματος γνωστού pH. Στην περίπτωση αποκλίσεως από την αναμενόμενη ένδειξη, τότε με κατάλληλους χειρισμούς σε ειδικό κουμπί ρυθμίζομε το pH-μετρο.

11.5 Ερωτήσεις.

1. Τι καλείται pH και τι εκφράζει στην πραγματικότητα;
 2. Τι αντίδραση έχομε με pH = 3, με pH = 7 και με pH = 9;
 3. Ποια είναι η αρχή λειτουργίας του pH-μετρου;
 4. Ποια είναι τα μέρη ενός pH-μετρου;
 5. Περιγράψτε το ηλεκτρόδιο αναφοράς.
 6. Περιγράψτε το ηλεκτρόδιο μετρήσεως.
 7. Πού φυλάγονται για άμεση λειτουργική ετοιμότητα το ηλεκτρόδιο αναφοράς και το ηλεκτρόδιο μετρήσεως;
 8. Πώς ελέγχεται η ακρίβεια του pH-μετρου;
-

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΔΩΔΕΚΑΤΟ

ΟΡΓΑΝΑ ΓΙΑ ΑΥΤΟΜΑΤΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΣΤΗΝ ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΑ

12.1 Γενικά.

Ο αριθμός και η ποικιλία των εξετάσεων και γενικότερα ο όγκος εργασίας στα βιοχημικά και αιματολογικά εργαστήρια, τα τελευταία χρόνια έχει πολλαπλασιασθεί σημαντικά εξαιτίας της εφαρμογής νέων μεθόδων έρευνας, της τεχνολογικής εξελίξεως, της βελτιώσεως βιοτικού επιπέδου κλπ.

Στην προσπάθεια για αύξηση της αποδόσεως των εργαστηρίων, σημαντικό ρόλο παίζουν από είκοσι περίπου χρόνια και συγκεκριμένα από το 1960 οι αυτοαναλυτές ή αυτόματοι αναλυτές και γενικότερα τα αυτοματοποιημένα όργανα υψηλής τεχνολογίας.

Τα όργανα αυτά, αν και δεν έχουν εξαφανίσει τη χειρωνακτική εργασία στα διάφορα εργαστήρια, προσφέρουν οπωσδήποτε πολύ σημαντική βοήθεια από απόψεως εξοικονομήσεως χρόνου και ανθρώπινου δυναμικού. Ενδεικτικά αναφέρεται ότι σε χρονικό διάστημα μιας περίπου ώρας μπορούν να εξετασθούν πάνω από 50 δείγματα υγρών, όπως π.χ. πλάσματος, για μία ή περισσότερες βιοχημικές εξετάσεις ανάλογα με τον αριθμό των **διαύλων ή καναλιών** του οργάνου.

Τα όργανα αυτόματης αναλύσεως με μια σειρά αυτόματων και αυστηρά ελεγχομένων χειρισμών καταλήγουν σε αριθμητικά δεδομένα, όπως ακριβώς και στην περίπτωση των κλασικών μεθόδων που χρειάζονται ανθρώπινα χέρια.

Στην αρχή η χρησιμοποίηση των οργάνων αυτόματης αναλύσεως είχε εφαρμογές στα εργαστήρια των μεγάλων νοσηλευτικών μονάδων και μάλιστα για τις περιπτώσεις ορισμένων γενικών εξετάσεων που γίνονται με μεγάλη συχνότητα όπως π.χ. ουρία, ολικές πρωτεΐνες πλάσματος, ειδικό βάρος, ρΗ, λεύκωμα, χολοχρωστικές ούρων κλπ. Σήμερα όμως, επειδή η κλινική διάγνωση είναι περισσότερο εξαρτημένη από τα εργαστηριακά ευρήματα και επειδή οι γιατροί ζητούν μεγάλο αριθμό εξετάσεων, ένα νοσοκομείο ή ένα καλά οργανωμένο εργαστήριο για να μπορέσει να ανταπεξέλθει στις ανάγκες αυτές, χρησιμοποιεί όλο και περισσότερο την αυτοματοποίηση, γιατί μόνο έτσι παρέχονται αποτελέσματα **γρήγορα, σωστά** (ακριβή) και **φθηνά**.

Ένας άλλος τομέας στον οποίο η αυτόματη ανάλυση έχει πολλές εφαρμογές, είναι η φαρμακοβιομηχανία. Ενδεικτικά αναφέρονται μερικές σχετικές εφαρμογές, όπως π.χ. προσδιορισμός δραστικών συστατικών και εκδόχων, εκτίμηση βιοδιαθεσιμότητας *in vitro*, ποιοτικός έλεγχος κλπ.

Η μεγάλη και συνεχώς αυξανόμενη ανάπτυξη της αυτόματης αναλύσεως οφείλεται:

- Στην αλματώδη ανάπτυξη της βιοχημείας και φαρμακοβιομηχανίας.
- Στην εξοικονόμηση ανθρώπινου δυναμικού.
- Στην ταχύτητα αναλύσεως.
- Στην αναπαραγωγικότητα αποτελεσμάτων.
- Στο χαμηλό κόστος αναλύσεως.

Η απόσβεση του πραγματικά υψηλού κόστους αγοράς των οργάνων γίνεται σε σύντομο χρονικό διάστημα από την οικονομία που προκύπτει από το μικρό αριθμό ατόμων που απασχολούνται με την ανάλυση, από την ταχύτητα αναλύσεως, από την μικρότερη ποσότητα των αντιδραστηρίων που χρησιμοποιούνται κλπ.

12.2. Αυτοαναλυτής.

12.2.1. Κατηγορίες οργάνων αυτόματης αναλύσεως.

Τα όργανα αυτόματης αναλύσεως, ανάλογα με την αρχή λειτουργίας τους, διακρίνονται στις ακόλουθες κατηγορίες:

- **Αναλυτές ασυνεχούς δειγματοληψίας**, βασίζονται στην αρχή της σταδιακής επεξεργασίας του δείγματος. Δηλαδή η επεξεργασία του δείγματος γίνεται ξεχωριστά κατά στάδια, όπως γίνεται και στην κλασική ανάλυση.
- **Αναλυτές συνεχούς δειγματοληψίας**, που είναι και οι πιο διαδομένοι. Σ' αυτή την κατηγορία αναλυτών το δείγμα απορροφάται συνεχώς με μια πλανητική βελόνα με τη βοήθεια αντλίας και οδηγείται από τη μια ανάλυση στην επόμενη ανάλυση.
- **Αναλυτές φυγοκεντρικοί**, που είναι και οι λιγότερο διαδομένοι. Σ' αυτή την κατηγορία αναλυτών χρησιμοποιείται η φυγόκεντρη δύναμη για τη μεταφορά και ανάμιξη του δείγματος με τα ανάλογα κατά περίπτωση αντιδραστήρια.

12.2.2. Περιγραφή του αναλυτή.

Τα βασικά μέρη από τα οποία αποτελείται ένας αυτόματος αναλυτής είναι τα ακόλουθα (σχ. 12.2):

α) Δειγματολήπτης [σχ. 12.2(1)].

Είναι το τμήμα στο οποίο τοποθετούνται τα ειδικά σωληνάρια με τα προς ανάλυση δείγματα. Οι απαιτούμενες ποσότητες είναι μικρές ($0,3 \text{ ml}$).

β) Αντλία.

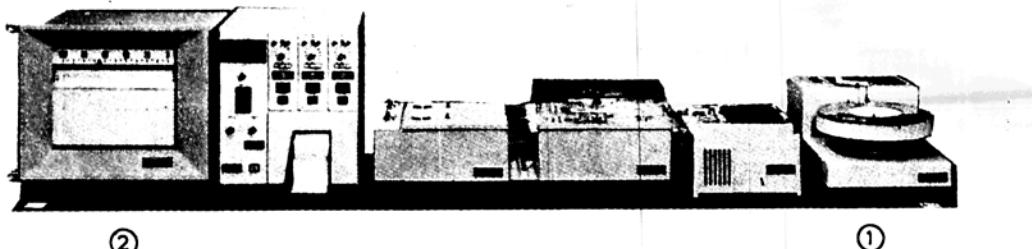
Χρησιμεύει για την αναρρόφηση και κατανομή των δειγμάτων, αντιδραστηρίων και «προτύπων» δειγμάτων με τη βοήθεια συστήματος σωληνώσεων.

γ) Σύστημα σωληνώσεων.

Ανάλογα με τον αριθμό διαιώλων ή καναλιών, οι μετρητές ονομάζονται **μονοδιαιωλοί, διδιαιωλοί, τριδιαιωλοί ή πολυδιαιωλοί**.

δ) Σύστημα εισαγωγής φυσαλίδων αέρα.

Ο εισαγόμενος στις σωληνώσεις αέρας χρησιμεύει για να συμπαρασύρει την



Σχ. 12.2.
Διάταξη αυτοαναλυτή ή αυτόματος αναλυτής.

κατάλληλη για κάθε ανάλυση πιοσότητα δείγματος και αντιδραστηρίου, για να διαχωρίζει το ένα δείγμα από το άλλο και για να ελαττώνει στο ελάχιστο τη μεταφορά του υπολείμματος του προηγούμενου δείγματος στο επόμενο.

ε) Διαπιδυτήρας.

Στην πραγματικότητα είναι ένας σπειροειδής σωλήνας που σχηματίζεται από τις επιφάνειες δύο δίσκων με σπειροειδή αυλάκωση οι οποίοι τοποθετούνται ο ένας απέναντι από τον άλλο. Μεταξύ των δύο αυτών δίσκων υπάρχει ημιδιαπερατή μεμβράνη από κυτταρίνη, μέσω της οποίας γίνεται διαπίδυση.

στ) Μεταβλητά εξαρτήματα.

Π.χ. συσκευή ή λουτρό θερμάνσεως για τίς περιπτώσεις που χρειάζεται σταθερή θερμοκρασία κατά την πορεία της αναλύσεως, φλουορόμετρο, που αντικαθίσταται όταν αλλάζομε μέθοδο αναλύσεως κλπ.

ζ) Σύστημα χρωματομετρήσεως.

Αποτελείται από φωτεινή πηγή, σειρά κατόπτρων, φωτοστοιχείων κλπ. και συνδέεται τελικά με τον καταγραφέα.

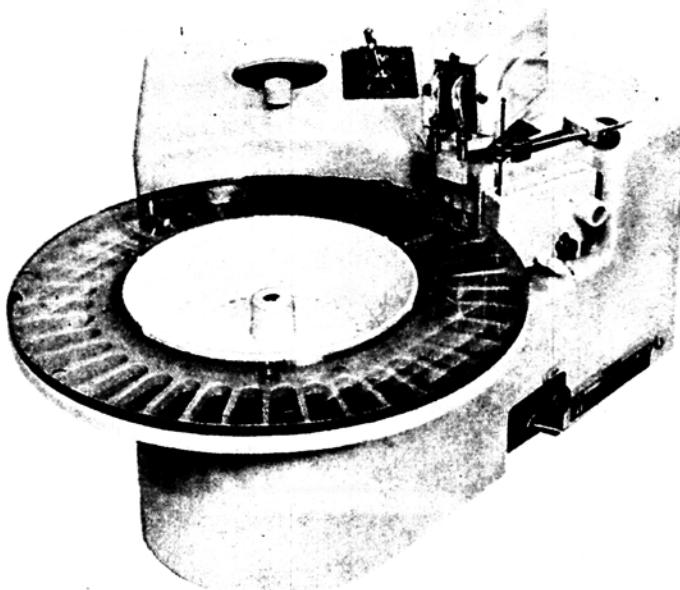
η) Καταγραφέας [σχ. 12.2(2)].

Είναι το τμήμα του οργάνου όπου καταγραφονται αυτόματα τα αποτελέσματα των αναλύσεων, αφού πολλαπλασιασθούν με τον κατάλληλο κατά περίπτωση αναλύσεως συντελεστή. Υπάρχει επίσης δυνατότητα συνδέσεως τόσο με τηλέτυπα όσο και με κεντρικό προγραμματιστή.

12.3 Πορεία εργασίας.

Τα βασικά στάδια πορείας της αναλύσεως είναι τα ακόλουθα:

- Ρύθμιση οργάνου για μέτρηση.
- Παρασκευή δείγματος. Περιλαμβάνει τη μετατροπή του δείγματος σε διάλυμα.
- Δειγματοληψία. Ορισμένος όγκος δείγματος απορροφάται από τον αναλυτή και τα δείγματα τοποθετούνται σε μικρά πλαστικά σωληνάρια που βρίσκονται πάνω σε περιστρεφόμενο δίσκο (σχ. 12.3).



Σχ. 12.3.

Περιστρεφόμενος δίσκος με πλαστικά σωληνάρια δειγματοληψίας.

- Ανάμιξη δείγματος-αντιδραστηρίου. Σταθερή ποσότητα απορροφάται από τον απορροφητή και αναμιγνύεται με σταθερή ποσότητα αντιδραστηρίου. Τα δείγματα χωρίζονται μεταξύ τους με φυσαλίδα αέρα. Στην περίπτωση που χρειάζεται το μίγμα δείγματος-αντιδραστηρίου, περνά από συσκευή ή λουτρό θερμάνσεως για να διατηρείται σταθερή η θερμοκρασία του.

12.4 Όργανα αυτόματης αναλύσεως στην αιματολογία.

Οι σύγχρονες ανάγκες της θεραπευτικής στον τομέα των νοσημάτων του αίματος (αναιμίες, λευχαιμίες), και της χειρουργικής (μεγάλες αιματηρές επεμβάσεις σε κοιλιακά όργανα, εκτεταμένα εγκαύματα) δημιούργησαν την ανάγκη:

- Αυτόματου διαχωρισμού των εμμόρφων στοιχείων του αίματος (έρυθρα, λευκά αιμοσφαίρια, αιμοπετάλια) και πλάσματος.
- Αυτόματης μετρήσεως των εμμόρφων στοιχείων του αίματος.
- Αυτόματου διαχωρισμού των έρυθρών αιμοσφαιρίων από τα λευκά και τα αιμοπετάλια και την ανάγκη συμπυκνώσεως των έρυθρών.
- Αυτόματου διαχωρισμού των λευκών αιμοσφαιρίων.
- Αυτόματου προσδιορισμού των ομάδων αίματος.

Οι πιο πάνω διαχωρισμοί, γίνονται με ειδικές συσκευές, σταθερές ή τροχήλατες, που η αρχή λειτουργίας τους στηρίζεται στη φυγοκέντρηση με ηλεκτρονική διάταξη.

12.4.1 Διαχωρισμός εμμόρφων στοιχείων-πλάσματος.

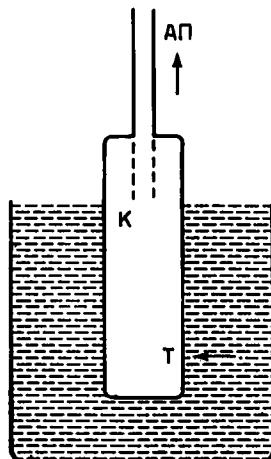
Ο διαχωρισμός γίνεται με διακίνηση του αίματος μέσα σε ειδικούς υποδοχείς

μιας χρήσεως.

12.4.2 Αυτόματος μετρητής εμμόρφων στοιχείων.

α) Αρχή λειτουργίας.

Το αίμα που θέλομε να εξετάσουμε αραιώνεται, συνήθως σε ισότονο διάλυμα NaCl , και μέσα στον περιέκτη του εναιωρήματος βυθίζεται η κεφαλή ειδικής ηλεκτρονικής συσκευής (σχ. 12.4).



Σχ. 12.4.
Κεφαλή αυτόματου μετρητή εμμόρφων στοιχείων.

Με την εφαρμογή αρνητικής πίέσεως (ΔP) από την οπή (T) μπαίνει στην κεφαλή (K) της ηλεκτρονικής συσκευής ορισμένη ποσότητα εναιωρήματος σε σταθερό χρονικό διάστημα. Τα έμμορφα στοιχεία του αίματος όταν περνούν μπροστά από την οπή (T) της κεφαλής (K) της συσκευής μετρώνται, είτε φωτομετρικά είτε από τη δημιουργούμενη διαφορά δυναμικού. Η αυτόματη μέτρηση των εμμόρφων στοιχείων του αίματος εκτός από την ταχύτητα εκτελέσεως, έχει και ένα άλλο βασικό πλεονέκτημα, την ακρίβεια, σε σύγκριση με τις κλασικές οπτικές μεθόδους, δημοσιεύεται από τα στοιχεία του πίνακα 12.4.1.

ΠΙΝΑΚΑΣ 12.4.1

Ποσοστό λάθους (%) κατά την αρίθμηση των εμμόρφων στοιχείων του αίματος.

	Αυτόματη μέτρηση	Κλασικές οπτικές μέθοδοι
Ερυθρά	$\pm 2,4$	$\pm 8,8$
Λευκά	$\pm 4,6$	$\pm 12 \div 25$
Αιμοπετάλια	$\pm 7,6$	$\pm 22 \div 33$

Σήμερα, εκτός από τη μέτρηση των εμμόρφων στοιχείων, οι αυτόματοι μετρητές έχουν και άλλες δυνατότητες, μετρούν δηλαδή και άλλες παραμέτρους, π.χ. αιμοσφαιρίνη, αιματοκρίτη, μέσο όγκο ερυθρών, μέση πυκνότητα αιμοσφαιρίνης, μέση κατ' ερυθροκύτταρο περιεκτικότητα σε αιμοσφαιρίνη κλπ.

β) Πρακτικές οδηγίες.

Μερικές από τις πιο πρακτικές οδηγίες κατά την χρησιμοποίηση του αυτόματου μετρητή των εμμόρφων στοιχείων είναι οι ακόλουθες:

- Μετά από κάθε μέτρηση, η κεφαλή της συσκευής πρέπει να ξεπλένεται με διάλυμα NaCl, ελεύθερο σωματιδίων.
- Πρέπει να καταβάλλεται ιδιάτερη προσπάθεια για την αποφυγή σχηματισμού φυσαλίδων κατά την αραίωση του αίματος.
- Υπάρχουν, εκτός από τις παραπάνω, και άλλες πηγές σφάλματος, όπως π.χ. η αιμόλυση, ο μεγάλος αριθμός λευκών αιμοσφαιριών, η παρουσία στο πλάσμα ερυθρών αιμοσφαιρίων κλπ.

12.4.3 Διαχωρισμός και συμπύκνωση ερυθρών.

Ο διαχωρισμός γίνεται με τη βοήθεια έιδικών φίλτρων μιας χρήσεως και ισότονου διαλύματος NaCl, για την απαλλαγή του αίματος από τα αντιγόνα που βρίσκονται στην επιφάνεια των λευκών αιμοσφαιριών και τα οποία γίνονται αιτία αρκετές φορές σοβαρών ανοσοβιολογικών αντιδράσεων.

12.4.4 Διαχωρισμός λευκών.

Ο διαχωρισμός στηρίζεται στις ιστοχημικές διαφορές χρώσεως των διαφόρων κατηγοριών των λευκών αιμοσφαιριών. Γίνεται με τη βοήθεια δύο συνεργαζομένων συσκευών: μία συσκευή διαφοροποιεί τα διάφορα είδη των λευκών, ενώ η άλλη τα επισημαίνει μορφολογικά. Τα αποτελέσματα καταγράφονται αυτόμata, ενώ υπάρχει η παράλληλη δυνατότητα συνδέσεως με τηλέτυπa, ηλεκτρονικούς υπολογιστές κλπ.

12.4.5 Αυτόματος προσδιορισμός ομάδων αίματος.

Στα σύγχρονα αιματολογικά εργαστήρια χρησιμοποιούνται και άλλες αυτόματες συσκευές. Οι πιο συνηθισμένες είναι οι συσκευές προσδιορισμού των ομάδων αίματος. Οι συσκευές αυτές, εκτός από το βασικό φαινότυπo, δηλαδή μέχρι 16 παραμέτρους, δίνουν και άλλες παράμετρες, όπως π.χ. σύφιλης, αυστραλιανού αντιγόνου κλπ.

12.5 Ερωτήσεις.

1. Από πότε χρησιμοποιούνται οι αυτόματοι αναλυτές;
2. Ποια είναι τα βασικά πλεονεκτήματα των αυτομάτων αναλυτών;
3. Σε ποιους βασικούς λόγους οφείλεται η ανάπτυξη της αυτόματης αναλύσεως;
4. Πόσες κατηγορίες οργάνων αυτόματης αναλύσεως υπάρχουν και ποια είναι η αρχή λειτουργίας τους;
5. Ποια είναι τα κύρια μέρη ενός αυτόματου αναλυτή;
6. Ποια είναι τα βασικά στάδια πορείας της αυτόματης αναλύσεως;
7. Ποια είναι τα πιο συνηθισμένα όργανα αυτόματης αναλύσεως στην αιματολογία;
8. Ποια είναι η αρχή λειτουργίας του αυτόματου μετρητή εμμόρφων στοιχείων;
9. Τι πρόσθετες δυνατότητες έχουν οι μετρητές εμμόρφων στοιχείων;
10. Πώς γίνεται ο διαχωρισμός των λευκών αιμοσφαιριών;
11. Τι γνωρίζετε για τον αυτόματο προσδιορισμό των ομάδων αίματος;

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΔΕΚΑΤΟ ΤΡΙΤΟ

ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΚΑΙ ΜΕΤΡΗΣΗ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΩΝ

13.1 Γενικά.

Τα ραδιενέργα στοιχεία που βρίσκονται προς το τέλος του περιοδικού συστήματος, όπως και τα ραδιοϊσότοπα ή τεχνητά ραδιενέργα στοιχεία, εκπέμπουν σωμάτια ή ακτινοβόλα ενέργεια που περιλαμβάνουν:

- Τα σωμάτια α (μεγάλη ταχύτητα, θετικά ιόντα ηλίου He^2).
 - Τα σωμάτια β (μεγάλη ταχύτητα, ηλεκτρόνια).
 - Τα ποζιτρόνια ή θετικά ηλεκτρόνια.
 - Ακτινοβολία γ (ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία πολύ μικρού μήκους κύματος).
- Για τις σχετικές μετρήσεις χρησιμοποιούνται συνήθως ο θάλαμος ιονισμού, ο απαριθμητής Geiger-Muller, ο αναλογικός απαριθμητής, οι ημιαγωγοί και οι σπινθηριστές. Σαν ευαίσθητο μέσο χρησιμοποιείται, στην περίπτωση του θαλάμου ιονισμού, του απαριθμητού Geiger-Muller και του αναλογικού απαριθμητού, αέριο, ενώ στην περίπτωση των ημιαγωγών στερεό και στην περίπτωση των σπινθηριστών στερεό ή υγρό. Σε όλες τις περιπτώσεις τα εκπεμπόμενα ιόντα συλλέγονται και το παραγόμενο σήμα, αφού πολλαπλασιασθεί, καταγράφεται με ειδικές διατάξεις.

13.2 Εφαρμογές.

Στη σπινθηρογραφία, δηλαδή την εργαστηριακή μέθοδο που βοηθά τη διάγνωση παθολογικών καταστάσεων ή επεξεργασιών σε όργανα, που είτε λόγω θέσεως δεν προσφέρονται για τις συνηθισμένες ακτινολογικές έρευνες είτε λόγω λειτουργικών ιδιομορφιών δε δίνουν επαρκή πληροφοριακά στοιχεία στην περίπτωση βλάβης, χρησιμοποιούνται ραδιενέργα ισότοπα τα οποία καθηλούμενα εκλεκτικά σε κάποιο ιστό ή όργανο εκπέμπουν σπινθηρισμούς. Τα ραδιοϊσότοπα που χρησιμοποιούνται περισσότερο και έχουν, ως ραδιοφαρμακευτικά προϊόντα, περιληφθεί σε επίσημες φαρμακοποίες είναι:

- Το ιώδιο 131 (^{131}I), για τον έλεγχο της λειτουργικής ικανότητας του θυρεοειδούς αδένα, των νεφρών κλπ.
- Το κοβάλτιο 57 και 58 (^{57}Co , ^{58}Co), για τη θεραπευτική αντιμετώπιση ορισμένων μορφών καρκίνου κλπ.
- Το χρώμιο 51 (^{51}Cr), για τον προσδιορισμό του όγκου του αίματος, του χρόνου επιβιώσεως των ερυθροκυττάρων κλπ.
- Ο φώσφορος 32 (^{32}P), για τη θεραπευτική αντιμετώπιση ορισμένων νοσημάτων του αίματος, όπως π.χ. είναι η πολυκυτταραιμία:

- Ο χρυσός 198 (198Au) για ορισμένες νεοπλασματικές επεξεργασίες.

Η σπινθηρογραφική μελέτη χρησιμοποιείται σε πολλές περιπτώσεις, γιατί λύνει ανεπίλυτα με άλλες μεθόδους προβλήματα. Χρησιμοποιείται κυρίως:

- Σε μετεγχειριτικές περιπτώσεις καρκινοπαθειών.
- Σε ραδιοανοσοβιολογικούς ελέγχους.
- Σε δυναμικές δοκιμασίες ελέγχου κυκλοφορίας, π.χ. του εγκεφάλου.
- Σε περιπτώσεις εκτιμήσεως της λειτουργικής ικανότητας, π.χ. του θυρεοειδούς αδένα.
- Για την κατασκευή τοπογραφικών διαγραμμάτων των διαφόρων οργάνων.

Τελικά μπορούμε να πούμε ότι η σπινθηρογραφία δε δίνει μόνο πληροφορίες για το μέγεθος, το σχήμα, την υφή, τη θέση των οργάνων, αλλά παράλληλα βοηθά, τόσο στην ανίχνευση όγκων, κύστεων, αποστημάτων κλπ. όσο και στην εκτίμηση της λειτουργικής ικανότητας διαφόρων οργάνων ή συστημάτων.

13.3 Μέθοδοι παρατηρήσεως-μετρήσεως.

Για την ανίχνευση και μέτρηση, τόσο των σωματίων α και β όσο και της ακτινοβολίας γ, έχουν επινοηθεί όργανα τα οποία έχουν ιδιότητες και ικανότητες που εξαρτώνται από διάφορους παράγοντες, όπως π.χ. τύπος προς μέτρηση ακτινοβολίας, ένταση ακτινοβολίας, ικανότητα διαφοροποίησεως των εκπομπών.

Τα όργανα που χρησιμοποιούνται πιο συχνά είναι οι απαριθμητές Geiger-Muller, οι αναλογικοί απαριθμητές και κυρίως οι απαριθμητές σπινθηρισμών ή σπινθηριστές.

13.3.1 Απαριθμητής Geiger-Muller.

Η αρχή λειτουργίας του απαριθμητή Geiger-Muller φαίνεται στο σχήμα 3.3a. Αποτελείται από ένα λεπτό σύρμα που βρίσκεται τεντωμένο κατά τον επιμήκη άξονα ενός μεταλλικού σωλήνα που περιέχει αέριο σε χαμηλή πίεση. Μεταξύ των δύο αυτών καλωδίων εφαρμόζεται τάση 1200 V περίπου, οπότε δημιουργείται ανομοιογενές ηλεκτρικό πεδίο.

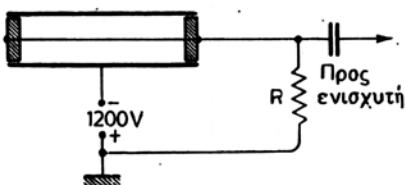
Στην περίπτωση που θα μπουν στο σωλήνα, από άνοιγμα σαν παράθυρο (σχ. 3.3β), σωμάτια κινούμενα με μεγάλες ταχύτητες ή ακτινοβολίες γ και χ, τότε ένα μέρος του αερίου ιονίζεται, ενώ ταυτόχρονα γίνεται εκφόρτωση μεταξύ σωλήνα-καλωδίου και η διαφορά δυναμικού πέφτει στιγμιαία. Η ηλεκτρική αυτή *ώθηση* πολλαπλασιάζεται και εγγράφεται με τη βοήθεια αυτογραφικών διατάξεων.

13.3.2 Αναλογικός απαριθμητές.

Οι αναλογικοί απαριθμητές σε σύγκριση με τους απαριθμητές Geiger-Muller, έχουν το πρόσθετο προσόν ότι μπορούν να αναγνωρίσουν το είδος του σωματίου εξαιτίας της δυνατότητας που έχουν, με ειδική διάταξη, να δίνουν ηλεκτρική *ώθηση* διαφορετικού μεγέθους, που εξαρτάται από το είδος του σωματίου.

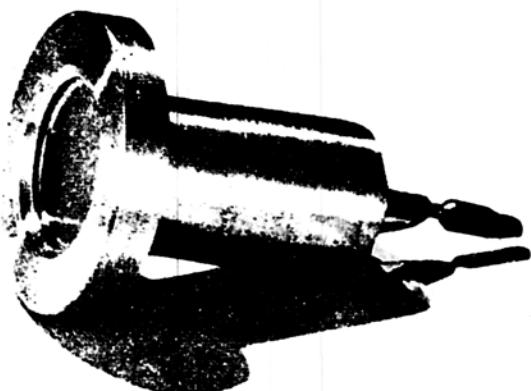
13.3.3 Απαριθμητής σπινθηρισμών ή σπινθηριστής.

Στους απαριθμητές αυτούς (σχ. 13.3γ) τα σωμάτια περνούν μέσα από κατάλλη-



Σχ. 13.3α.

Αρχή λειτουργίας του απαριθμητή Geiger-I



Σχ. 13.3β.

Απαριθμητής με άνοιγμα σαν παράθυρο.

λο φθορίζον υλικό*, οπότε παράγεται φως ή καλύτερα σπινθηρισμός πολύ μικρής διάρκειας και ο παραγόμενος αριθμός φωτονίων, όπως και ο αντίστριχός τους αριθμός των εκπεμπομένων φωτοηλεκτρονίων, είναι μικρός. Η μέτρησή τους με τα συνηθισμένα φωτοκύτταρα δεν είναι δυνατή, γι' αυτό χρησιμοποιούνται φωτοπολλαπλασιαστές μέσα στους οποίους, με ειδική διάταξη, ενισχύεται η ροή των ηλεκτρονίων.

Ο φωτοπολλαπλασιαστής απαντά γραμμικά στην ένταση του φωτισμού και κατά συνέπεια η ανταπόκριση του απαριθμητή είναι ανάλογη με την ακτινοβολία των σωμάτων ή της ακτινοβολίας. Στην περίπτωση που ο αριθμός των κρούσεων ξεπερνά τις 50 κρούσεις/sec, τότε οι μηχανικοί μετρητές είναι ανεπαρκείς και αντικαθίστανται από ειδικά κυκλώματα. Τα κυκλώματα αυτά τροφοδοτούν ηλεκτρομαγνητικούς μετρητές οι οποίοι μπορούν να καταγράψουν 30.000 ή και περισσότερες κρούσεις το sec και οι οποίοι συνήθως συνδέονται με ηλεκτρονικό υπολογιστή.

Με τους απαριθμητές σπινθηρισμών μπορούμε να μετρήσουμε και ακτινοβολία γ, γιατί κατά τη διόδο της από το φθορίζον υλικό, δημιουργεί φωτοηλεκτρόνια, ηλεκτρόνια Compton κλπ. τα οποία δρουν όπως ακριβώς και τα σωμάτια α και β.

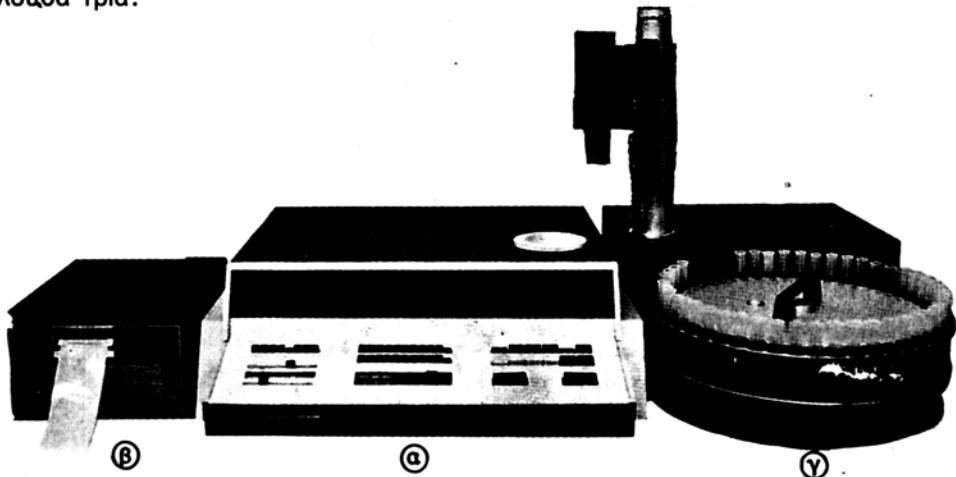
Η χρησιμοποίηση των απαριθμητών σπινθηρισμών για τη μέτρηση της ακτινοβολίας γ παρουσιάζει σοβαρά πλεονεκτήματα σε σύγκριση με τις δυνατότητες που έχουν οι απαριθμητές Geiger-Muller γιατί ενώ αυτοί οι τελευταίοι καταμετρούν πολύ μικρό αριθμό φωτονίων γ, περίπου 1%, οι φθορίζοντες κρύσταλλοι καταμετρούν ποσοστό που υπερβαίνει το 30%. Η εκτέλεση των συνήθων σπινθηρογραφιών με σπινθηριστές α και β ακτινοβολίας τείνει να αντικατασταθεί από τη σπινθηρογραφία γ, που παρουσιάζει μια σειρά από πλεονεκτήματα, όπως π.χ.:

- Μεγάλη πιστότητα αποδόσεως.
- Καλύτερη απεικόνιση.
- Αναπαραγωγικότητα εικόνας.

* Χρησιμοποιούνται συνήθως ανθρακένιο, στιλβένιο, ειδικά πλαστικά και διάλυμα διφαινυλοξαζόλης σε τολουσόλιο για τα σωμάτια α και β, και ιωδιούχο νάτριο με ίχνη ιωδίου για την ακτινοβολία γ.

- Δυνατότητα εκτελέσεως ορισμένων δυναμικών μελετών, όπως π.χ. κυκλοφορίας εγκεφάλου, καρωτίδων, ήπατος (σχήματα 13.3δ και 13.3ε), νεφρών κλπ..
- Ελαχιστοποίηση του απαιτούμενου για τη σπινθηρογραφία χρόνου (από τα $30 \div 120$ min κατεβαίνει ο χρόνος στα $10 \div 20$ min).

Τα κύρια μέρη ενός απαριθμητή σπινθηρισμών γ ή σπινθηριστή γ-ακτινοβολίας, εκτός από το τροφοδοτικό σύστημα, τα πρόσθετα εξαρτήματα κλπ., είναι τα ακόλουθα τρία.



Σχ. 13.3γ.

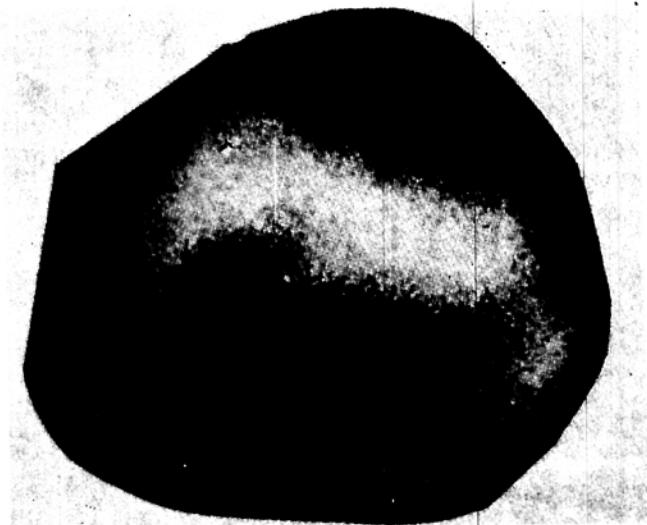
Κύρια μέρη απαριθμητή σπινθηρισμών γ ή σπινθηριστή γ-ακτινοβολίας.

- Κεντρική μονάδα [σχ. 13.3γ (α)] με άλλοτε άλλο αριθμό ανοιγμάτων ή παραθύρων για τη χρησιμοποίηση περισσοτέρων ραδιοϊστόπων, με μνήμη για τη μέτρηση μεγάλου αριθμού δειγμάτων, ψηφιακό ενδείκτη κλπ.
- Αυτόματος καταγραφέας [σχ. 13.3γ (β)] για ενδεξεις, όπως π.χ. αριθμού κρούσεων κατά sec, συντελεστή συγκρατήσεως, συντελεστή διακυμάνσεως κλπ.
- Αυτόματος δειγματολήπτης [σχ. 13.3γ (γ)] με χωρητικότητα 50 ή και περισσοτέρων δειγμάτων κατά δίσκο κλπ.

13.3.4 Πρακτικές οδηγίες.

Εκτός από τις οδηγίες που λεπτομερειακά δίνουν οι κατασκευαστές στα αντίστοιχα **εγχειρίδια** για κάθε όργανο, σημειώνουμε τα ακόλουθα:

- Το κάθε βαθμίδας προσωπικό που θα χρησιμοποιηθεί πρέπει να έχει ειδική εκπαίδευση.
- Η συμμετοχή τουλάχιστον, ενός πυρηνικού ιατρού στη σπινθηρογραφική ομάδα είναι απαραίτητη, ενώ πολύ χρήσιμη είναι και η συμμετοχή ακτινοφυσικού.
- Πρέπει να δοθεί ιδιαίτερη προσοχή τόσο στη δημιουργία **κρύπτης** των ραδιενεργών πηγών όσο και στην τύχη των **καταλοίπων**.
- Ιδιαίτερη επίσης φροντίδα χρειάζεται για το θάλαμο ιονισμού, τα προβλήματα δοσιμετρίας κλπ.

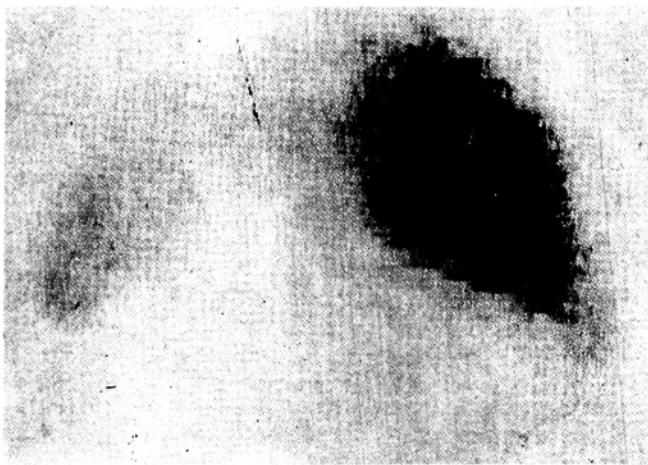
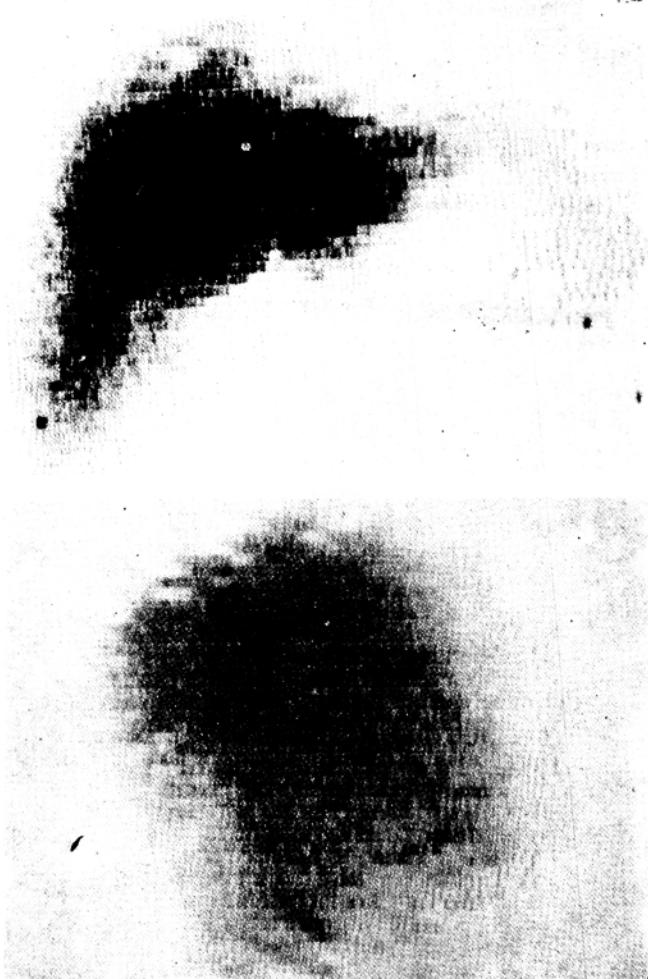


Σχ. 13.36.
Σπινθηρογράφημα ήπατος (φυσιολογικό).

— Είναι τέλος απαραίτητο για την πρόληψη ραδιομολύνσεων να χρησιμοποιείται ανιχνευτής μολύνσεως με μεγάλη επιφάνεια ελέγχου, τουλάχιστον 100 cm^2 .

13.4 Έρωτήσεις.

1. Ποια είναι τα πιο συνηθισμένα όργανα για τη μέτρηση ακτινοβολιών;
2. Πότε καταφεύγουν οι ειδικοί στη σπινθηρογραφική μελέτη;
3. Ποιες είναι οι σπουδαιότερες εφαρμογές της σπινθηρογραφίας;
4. Ποια είναι τα πιο πολύ χρησιμοποιούμενα ραδιοσότοπα;
5. Ποια είναι η αρχή λειτουργίας των απαριθμητων Geiger-Muller;
6. Σε τι διαφέρει βασικά ο αναλογικός απαριθμητής από τον απαριθμητή Geiger-Muller;
7. Ποια είναι η αρχή λειτουργίας του απαριθμητή σπινθηρισμών ή σπινθηριστή;
8. Ποια είναι τα πιο συχνά χρησιμοποιούμενα φθορίζοντα υλικά;
9. Ποια είναι τα βασικά πλεονεκτήματα των σπινθηριστών γ-ακτινοβολίας;
10. Ποια είναι τα κύρια μέρη ενός σπινθηριστή γ-ακτινοβολίας.



Σχ. 13.3ε.

Σπινθηρογράφημα ήπατος.

Ανομαλογενής καθήλωση ραδιοϊσοτόπων σε ένα μικρό και ρικνό ήπαρ



ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΠΡΩΤΟ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΟ

1.1 Γενικά	1
1.2 Αρχή μικροσκοπίου	3
1.3 Είδη μικροσκοπίων	3
1.3.1 Οπτικό μικροσκόπιο	3
1.3.2 Ηλεκτρονικό μικροσκόπιο	11
1.3.3 Πρωτονικό μικροσκόπιο	13
1.4 Κριτήρια επιλογής	14
1.5 Μέθοδοι μικροσκοπήσεως	15
1.5.1 Απλή μικροσκόπηση	15
1.5.2 Μικροσκόπηση σε σκοτεινό πεδίο	15
1.5.3 Μικροσκόπηση με αντίθεση φάσεως	16
1.5.4 Μικροσκόπηση με φθορισμό	16
1.6 Οδηγίες χρήσεως	18
1.7 Οδηγίες συντηρήσεως	18
1.7.1 Ημερήσιος έλεγχος	18
1.7.2 Δεκαπενθήμερος έλεγχος	19
1.7.3 Ετήσιος έλεγχος	19
1.8 Ερωτήσεις	19

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΔΕΥΤΕΡΟ

ΟΡΓΑΝΑ ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΕΩΣ ΤΟΥ ΦΩΤΟΣ

2.1 Γενικά	20
2.2 Φασματοφωτομετρία απορροφήσεως (Absorption Spectrophotometry)	20
2.2.1 Αρχή λειτουργίας φασματοφωτόμετρου απορροφήσεως ορατής-υπεριώδους	23
2.2.2 Τεχνική της μεθόδου	26
2.2.3 Οδηγίες χρήσεως	26
2.2.4 Φωτομετρία	27
2.3 Φασματοφωτόμετρα υπέρυθρης (Infrared Spectrophotometry)	28
2.3.1 Γενικά	28
2.3.2 Οδηγίες χρήσεως	31
2.4 Φασματοφωτομετρία ατομικής απορροφήσεως (Atomic Absorption)	32
2.4.1 Γενικά	32
2.4.2 Αρχή της μεθόδου	32
2.4.3 Πλεονεκτήματα φασματοφωτομετρίας ατομικής απορροφήσεως	34
2.4.4 Οδηγίες χρήσεως	34
2.5 Οδηγίες συντηρήσεως	35

2.6 Κριτήρια επιλογής	35
2.7 Ερωτήσεις	35

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΡΙΤΟ

ΟΡΓΑΝΑ ΜΕΤΡΗΣΕΩΣ ΕΚΠΟΜΠΗΣ ΦΩΤΟΣ (ΦΑΣΜΑΤΟΦΘΟΡΙΟΜΕΤΡΟ, ΦΛΟΓΟΦΩΤΟΜΕΤΡΟ)

3.1 Φθοριομετρία ή φλουορομετρία (Fluorimetry)	36
3.1.1 Αρχή μεθόδου – Όργανα	36
3.1.2 Οδηγίες χρήσεως	37
3.2 Φλογοφωτομετρία (Flame Photometry)	38
3.2.1 Αρχή της μεθόδου – Όργανα	38
3.2.2 Οδηγίες χρήσεως	39
3.3 Ερωτήσεις	40

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΕΤΑΡΤΟ

ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ

4.1 Γενικά	41
4.2 Αρχή της μεθόδου	41
4.3 Είδη χρωματογραφίας	42
4.3.1 Χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας (Thin Layer Chromatography, T.L.C.)	43
4.3.2 Χαρτοχρωματογραφία (Paper Chromatography)	50
4.3.3 Αέριο-υγρο-χρωματογραφία (Gas-Liquid Chromatography, G.L.C.)	50
4.3.4 Υγρή χρωματογραφία με υψηλή πίεση (High Pressure Liquid Chromatography HPLC ή High Performance Liquid Chromatography)	56
4.4 Ερωτήσεις	56

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΠΕΜΠΤΟ

ΘΟΛΟΜΕΤΡΙΑ – ΝΕΦΕΛΟΜΕΤΡΙΑ ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΤΩΝ ΔΙΑΦΟΡΩΝ ΑΝΑΛΥΤΙΚΩΝ ΜΕΘΟΔΩΝ

5.1 Θολομετρία και νεφελομετρία (Turbidimetry and Nephelometry)	59
5.1.1 Τεχνική νεφελομετρίας	59

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΕΚΤΟ

ΦΥΓΟΚΕΝΤΡΗ ΣΥΣΚΕΥΗ

6.1 Γενικά	62
6.2 Αρχή της μεθόδου	62
6.3 Περιγραφή φυγόκεντρης συσκευής	64
6.4 Οδηγίες χρήσεως	70
6.5 Ερωτήσεις	70

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΕΒΔΟΜΟ

ΖΥΓΟΣ

7.1 Γενικά	71
7.2 Λειτουργία ζυγού	71
7.3 Είδη ζυγών	72
7.4 Περιγραφή ζυγού	73
7.4.1 Ζυγοί με δύο δίσκους	73

7.4.2 Ζυγοί με ένα δίσκο	74
7.5 Προϋποθέσεις ζυγίσεως	76
7.6 Σφάλματα ζυγίσεως σε ζυγούς με ισομεγέθεις βραχίονες	78
7.7 Οδηγίες χρήσεως	79
7.8 Ερωτήσεις	81

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΟΓΔΟΟ

ΥΔΑΤΟΛΟΥΤΡΟ

8.1 Γενικά	82
8.2 Περιγραφή υδατόλουτρου	82
8.2.1 Απλό υδατόλουτρο	82
8.2.2 Σύγχρονο υδατόλουτρο	83

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΕΝΑΤΟ

ΚΛΙΒΑΝΟΣ (ΞΗΡΟΣ – ΥΓΡΟΣ – ΕΠΩΑΣΤΙΚΟΣ)

9.1 Γενικότητες	85
9.1.1 Ξηρή θερμότητα	85
9.1.2 Υγρή θερμότητα	85
9.2 Περιγραφή ξηρακλιβάνου	85
9.2.1 Οδηγίες χρήσεως	86
9.2.2 Πρακτικές οδηγίες	87
9.3 Περιγραφή αυτόκαυστου	88
9.3.1 Οδηγίες χρήσεως	89
9.3.2 Πρακτικές οδηγίες	89
9.4 Επωαστικός κλίβανος	89
9.4.1 Περιγραφή επωαστικού κλίβανου	90
9.4.2 Οδηγίες χρήσεως	93
9.5 Ερωτήσεις	93

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΔΕΚΑΤΟ

ΨΥΚΤΙΚΕΣ ΣΥΣΚΕΥΕΣ

10.1 Γενικά	94
10.2 Κοινά ψυγεία	94
10.3 Ψυγεία καταψύξεως	95
10.4 Ψυγεία αιμοδοσίας	95
10.4.1 Τα ψυγεία αιμοδοσίας	95
10.4.2 Τα αυτοκίνητα-ψυγεία αίματος	96
10.4.3 Τα αυτοκίνητα αιμοδοσίας-μεταγγίσεως	96
10.5 Συντηρητές-καταψύκτες	96
10.6 Ερωτήσεις	98

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΕΝΔΕΚΑΤΟ

pΗ-ΜΕΤΡΟ (ΠΕΧΑΜΕΤΡΟ)

11.1 Γενικά	99
11.2 Αρχή λειτουργίας pΗ-μετρού (πεχάμετρου)	100
11.3 Περιγραφή pΗ-μετρού (πεχάμετρου)	101
11.4 Οδηγίες χρήσεως	102
11.5 Ερωτήσεις	103

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΔΩΔΕΚΑΤΟ
ΟΡΓΑΝΑ ΓΙΑ ΑΥΤΟΜΑΤΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΣΤΗΝ ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΑ

12.1 Γενικά	104
12.2 Αυτοαναλυτής	105
12.2.1 Κατηγορίες οργάνων αυτόματης αναλύσεως	105
12.2.2 Περιγραφή του αναλυτή	105
12.3 Πορεία εργασίας	106
12.4 Όργανα αυτόματης αναλύσεως στην αιματολογία	107
12.4.1 Διαχωρισμός εμμόρφων στοιχείων- πλάσματος	107
12.4.2 Αυτόματος μετρητής εμμόρφων στοιχείων	108
12.4.3 Διαχωρισμός και συμπύκνωση ερυθρών	109
12.4.4 Διαχωρισμός λευκών	109
12.4.5 Αυτόματος προσδιορισμός ομάδων αιμάτος	109
12.5 Ερωτήσεις	109

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΔΕΚΑΤΟ ΤΡΙΤΟ
ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΚΑΙ ΜΕΤΡΗΣΗ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΩΝ

13.1 Γενικά	110
13.2 Εφαρμογές	110
13.3 Μέθοδοι παρατηρήσεως-μετρήσεως	111
13.3.1 Απαριθμητής Geiger-Muller	111
13.3.2 Αναλογικοί απαριθμητές	111
13.3.3 Απαριθμητής σπινθηρισμών ή σπινθηριστής	111
13.3.4 Πρακτικές οδηγίες	113
13.4 Ερωτήσεις	114

COPYRIGHT ΙΔΡΥΜΑΤΟΣ ΕΥΓΕΝΙΔΟΥ
