



Καινοτόμο εργαστηριακό πρωτόκολλο

**επεξεργασίας παλυνολογικών δειγμάτων από
υψηλού ρυθμού ιζηματογένεσης αποθέσεις**

**Περιβαλλοντικές μεταβολές κατά το Τεταρτογενές στη ηπειρωτική τάφρο του
Κορινθιακού: το αρχείο παλαιοβλάστησης της αποστολής IODP 381**

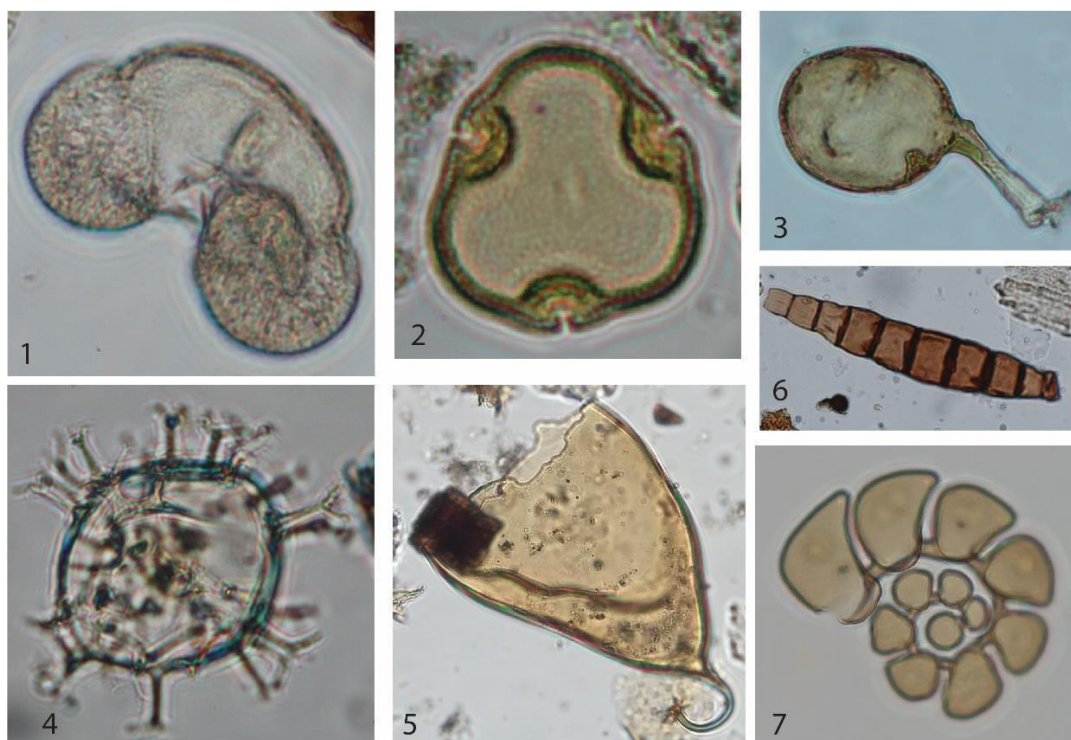
ΑΠ 1026 – Παραδοτέο D1.2

1η Προκήρυξη Ερευνητικών Έργων ΕΛ.ΙΔ.Ε.Κ. για την ενίσχυση των μελών ΔΕΠ και
Ερευνητών/τριών και την Προμήθεια Ερευνητικού Εξοπλισμού Μεγάλης Αξίας



Εισαγωγή

Ο όρος παλυνόμορφα περιλαμβάνει μία ποικιλία από φυτικής ή ζωικής προέλευσης μορφές μικρού μεγέθους και αποτελούνται από κυτταρίνες (π.χ. σποροπολλένη, διανοσπορίνη, χιτίνη), υλικά τα οποία εμφανίζονται εξαιρετικά ανθεκτικά στις περισσότερες μορφές διάβρωσης. Στα πλέον κοινά οργανικής σύστασης μικροαπολιθώματα ή παλυνόμορφα, ανήκουν οι γυρεόκοκκοι και τα σπόρια των αγγειοφύτων, τα ασκοσπόρια ή μέρη του σώματος των μυκήτων, οι οργανικής σύστασης κύστες ανάπαυσης των δινομαστιγωτών, τα χιτινώζωα, καθώς και πολλά άλλα μέρη ή θραύσματα οργανισμών (εικόνα 1). Το μέγεθος τους ποικίλει από 5μm έως και 250-500μm, με τους γυρεόκοκκους που είναι τα συχνότερα παλυνόμορφα, να κυμαίνονται μεταξύ 10 και 140μm. Η διαδικασία απομόνωσης των παλυνόμορφων από το ίζημα είναι σύνθετη και περιλαμβάνει μία σειρά από στάδια τα οποία μπορεί να προσαρμόζονται ή να διαφοροποιούνται ανάλογα με το εκάστοτε υλικό (πέτρωμα, ίζημα, εδαφικός ορίζοντας, φίλτρο) του οποίου γίνεται η επεξεργασία (π.χ. (Faegri and Iversen 1989; Traverse 2007; Riding 2021). Παρόλα αυτά υπάρχουν κάποιες βασικές αρχές που είναι σταθερές σε κάθε μεθοδολογία, όπως η χρήση ισχυρών χημικών αντιδραστηρίων για την απομάκρυνση του ανόργανου κλάσματος ενός δείγματος, ενώ προϋπόθεση για την εφαρμογής τους είναι η ύπαρξη ορθά εξοπλισμένων εργαστηριακών χώρων.



Εικόνα 1. Παλυνόμορφα: 1-2) γυρεόκοκκοι, 3) και 6) ασκοσπόρια μυκήτων, 4) κύστη δινομαστιγωτού, 5) παλυνοθράυσμα – αυγό σκώληκα, 7) χιτινώδης ενδοσκελετός τρηματοφόρου

Εργαστήριο

Η χημική επεξεργασία για παλυνολογικά παρασκευάσματα είναι μία σύνθετη διαδικασία που περιλαμβάνει την χρήση ισχυρών οξέων και βάσεων. Για την ορθή και ασφαλή εφαρμογή των παλυνολογικών πρωτόκολλων είναι απαραίτητη η ύπαρξη ενός καλά εξοπλισμένου εργαστηρίου και η γνώση και τήρηση συγκεκριμένων κανόνων ασφαλείας. Η σχεδίαση ενός παλυνολογικού εργαστηρίου οφείλει να λαμβάνει υπόψιν τρεις βασικούς παράγοντες: α) την υγεία και ασφάλεια του προσωπικού του εργαστηρίου, β) την προστασία του περιβάλλοντος και γ) την βέλτιστη σχεδίαση της

σειράς εργασιών για την αποτελεσματικότερη χρήση της εργαστηριακής υποδομής, του εξοπλισμού και των αναλώσιμων με στόχο την αποτελεσματική επεξεργασία ποικιλίας δειγμάτων. Επίσης, όπως σε κάθε εργαστηριακό χώρο είναι απολύτως επιτακτικό οι διαδικασίες να συμμορφώνονται με τη σχετική νομοθεσία για την ασφάλεια και την υγιεινή.

Εργαστηριακός εξοπλισμός

Το εργαστήριο όπου γίνεται η χημική προετοιμασία των παλυνολογικών παρασκευασμάτων οφείλει να είναι σύγχρονο και καλά εξοπλισμένο και οργανωμένο με τέτοιο τρόπο ώστε να είναι ασφαλές στη χρήση του από οποιονδήποτε το χρησιμοποιεί (εικόνα 2). Το εργαστήριο πρέπει υποχρεωτικά να διαθέτει τουλάχιστον έναν πάγκο με απαγωγό, δηλαδή θάλαμο που απορροφά τις αναθυμιάσεις των χημικών αντιδραστηρίων μεταφέροντας τις εκτός του χώρου του εργαστηρίου. Ο απαγωγός είναι ο κεντρικός χώρος εργασίας στην παλυνολογική χημική επεξεργασία (εικόνα 2) και οι απαιτούμενες επιδράσεις χημικών αντιδραστηρίων στα δείγματα επιβάλλεται να πραγματοποιούνται σε αυτόν για την αποφυγή των αναθυμιάσεων.



Εικόνα 2 Άποψη του υγρού παρασκευαστηρίου και ο απαγωγός του Εργαστηρίου Ιστορικής Γεωλογίας και Παλαιοντολογίας ΕΚΠΑ όπου υπάρχει η κατάλληλη εργαστηριακή υποδομή για τη χημική επεξεργασία παλυνολογικών παρασκευασμάτων

Η τυπική σειρά χημικής επεξεργασίας απαιτεί, εκτός του απαγωγού, τη χρήση εργαστηριακής φυγοκέντρου, ζυγού ισορροπίας, θερμού λουτρού, λουτρού υπερήχων καθώς και εργαστηριακού ζυγού ακριβείας.

Η φυγοκέντριση των δειγμάτων απαιτείται σε όλα τα στάδια της επεξεργασίας προκειμένου να διαχωριστεί το δείγμα από το εκάστοτε χημικό αντιδραστήριο και να γίνει μετάγγιση και απόρριψη των υπολειμμάτων των αντιδραστηρίων προκειμένου να προχωρήσει η επεξεργασία στο επόμενο στάδιο. Τα περισσότερα παλυνολογικά εργαστήρια έχουν τουλάχιστον δύο διαφορετικές φυγοκέντρους, προκειμένου να επιταχύνεται η διαδικασία φυγοκέντρισης διαφορετικών μεγεθών δοκιμαστικών σωλήνων (εικόνα 3). Επιπλέον, εξαιρετικά σημαντικό για την καλή λειτουργία της φυγοκέντρου είναι να ζυγοσταθμίζονται τα δοχεία με τους δοκιμαστικούς σωλήνες που τοποθετούνται διαγώνια σε αυτή ώστε να έχουν το ίδιο ακριβώς βάρος. Η διαδικασία της φυγοκέντρισης έχει ως αποτέλεσμα να συσσωρευθεί το στερεό υπόλειμμα στον πάτο του δοκιμαστικού σωλήνα διαχωριζόμενο από το υγρό αντιδραστήριο. Η αποκόλληση του στερεού υπολείμματος από το δοκιμαστικό σωλήνα σε κάθε στάδιο επιτυγχάνεται με χρήση συσκευής ανάδευσης με περιδίνηση τύπου Vortex (εικόνα 4). Η ίδια συσκευή χρησιμοποιείται και για την ομογενοποίηση του στερεού υπολείμματος με το εκάστοτε αντιδραστήριο σε κάθε στάδιο της επεξεργασίας. Ειδικά για το στάδιο επίδρασης με υδροφθορικό οξύ, η διαδικασία επιταχύνεται σημαντικά με χρήση συσκευής τροχιακής ανάδευσης (εικόνα 4) καθώς με αυτό τον τρόπο οι κόκκοι του δείγματος βρίσκονται διαρκώς «εν αιωρήσει» και συνεπώς σε διαρκή επαφή με το οξύ.



Εικόνα 3 Φυγόκεντροι, υποδοχείς φυγόκεντρου για διαφορετικά μεγέθη σωλήνων και ζυγός ισορροπίας του υγρού παρασκευαστηρίου του Εργαστηρίου Ιστ. Γεωλογίας και Παλαιοντολογίας ΕΚΠΑ

διάφορες αντλίες οξέων οι οποίες συμβάλλουν στην ασφαλή μετάγγιση των αντιδραστηρίων.

Ο εργαστηριακός εξοπλισμός (απαγωγός, φυγόκεντροι, λουτρά, μηχανές ανάδευσης), θα πρέπει να συντηρούνται συστηματικά από καταρτισμένο προσωπικό ούτως ώστε να επισκευάζονται τυχόν φθορές από τη χρήση των χημικών αντιδραστηρίων. Η καλή κατάσταση λειτουργίας του εξοπλισμού διασφαλίζει την ασφάλεια και την αποτελεσματικότητα της χημικής επεξεργασίας. Επιπλέον, είναι σημαντικό όλα τα χρησιμοποιημένα χημικά αντιδραστήρια να απομακρύνονται με ασφάλεια. Για αυτό το λόγο τα χρησιμοποιημένα οξέα (υδροχλωρικό, υδροφθορικό οξύ κ.α.) και άλλα αντιδραστήρια (βάσεις, αιθανόλη κ.α.) μεταγγίζονται σε ειδικά μεγάλα δοχεία τα οποία απομακρύνονται και καταστρέφονται στο πλαίσιο την γραμμής αποκομιδής εργαστηριακών αποβλήτων.

Ασφάλεια στο εργαστήριο

Το εργαστήριο όπου γίνεται η χημική προετοιμασία των παλυνολογικών παρασκευασμάτων έχει σχεδιαστεί με τέτοιο τρόπο, ώστε να είναι ασφαλές στη χρήση του από οποιονδήποτε το χρησιμοποιεί με τη δέουσα προσοχή. Η παλυνολογική χημική επεξεργασία περιλαμβάνει την χρήση πυκνών ισχυρών οξέων όπως υδροχλωρικό ή υδροφθορικό καθώς και άλλων επικίνδυνων, διαβρωτικών ή/και

Η επίδραση ορισμένων αντιδραστηρίων στο ίζημα και η ακετόλυση (βλ. παρακάτω) απαιτεί θέρμανση των δοκιμαστικών σωλήνων. Αυτό επιτυγχάνεται με τη χρήση του θερμού λουτρού (εικόνα 4) πάντοτε εντός του απαγωγού προκειμένου να απομακρύνονται οι αναθυμιάσεις. Το στάδιο της απομάκρυνσης του μικρότερου κλάσματος ενός δείγματος απαιτεί τη χρήση λουτρού υπερήχων (εικόνα 4) και κόσκινο από νάιλον με διάμετρο σπής 7-10μm ανάλογα με το αντικείμενο της εκάστοτε έρευνας. Η απομάκρυνση μεγαλύτερων ανόργανων και οργανικών υπολειμμάτων επιτυγχάνεται με τη χρήση μεταλλικού κόσκινου με μέγεθος πλέγματος 150-250 μm.

Τέλος ο απαιτούμενος εξοπλισμός συμπληρώνεται από εργαστηριακό ζυγό ακριβείας, φούρνο ξήρανσης και

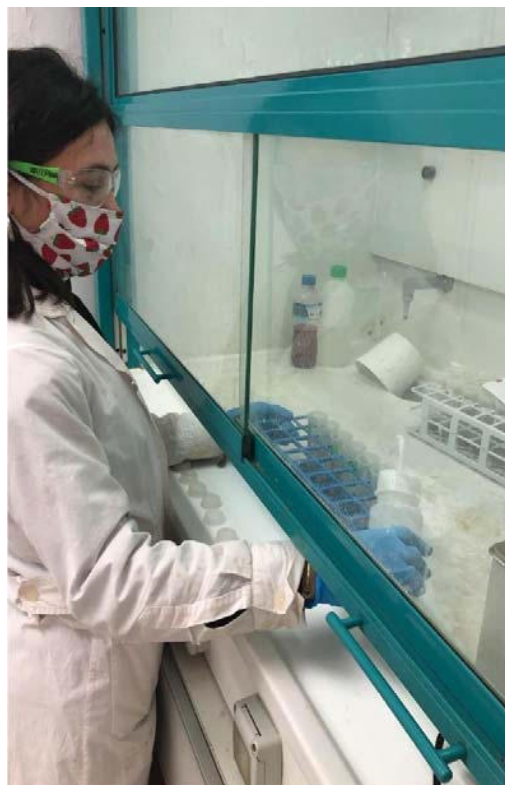


Εικόνα 4 Θερμό λουτρό, λουτρό υπερήχων, συσκευής ανάδευσης με περιδίνηση και συσκευή τροχιακής ανάδευσης, του υγρού παρασκευαστηρίου του Εργαστηρίου Ιστ. Γεωλογίας και Παλαιοντολογίας ΕΚΠΑ

εύφλεκτων αντιδραστηρίων. Η χρήση του καθενός από αυτά οφείλει να γίνεται με μεγάλη προσοχή και πάντοτε ακολουθώντας τους κανόνες ασφαλείας, ενώ κατά τη διάρκεια σταδίων της χημικής επεξεργασίας που περιλαμβάνει ισχυρά οξέα, επιβάλλεται η παρουσία δύο ατόμων στο εργαστήριο. Κατά τη διάρκεια παραμονής στο παρασκευαστήριο είναι υποχρεωτική η χρήση του απαραίτητου προστατευτικού εξοπλισμού (εργαστηριακή ρόμπα, γάντια νιτριλίου μίας χρήσης, ειδικά γυαλιά προστασίας, εικόνα 5). Όταν το στάδιο της επεξεργασίας περιλαμβάνει τη χρήση οξέων είναι απαραίτητη η χρήση των ειδικών βαρέως τύπου εργαστηριακών προστατευτικών γαντιών, τα οποία εφαρμόζουν πάνω από τα γάντια μιας χρήσης, καθώς και της αντίστοιχης ποδιάς.

Τα χημικά αντιδραστήρια αποθηκεύονται σε χωριστά ερμάρια εκτός του χώρου του παρασκευαστηρίου, ενώ φέρουν ενημερωτικές ετικέτες σχετικά με την επικινδυνότητά τους. Το κόκκινο χρώμα αναφέρεται στο πόσο εύφλεκτο είναι το κάθε χημικό, το μπλε στο πόσο επικίνδυνο είναι για την υγεία, το κίτρινο στο πόσο πιθανό είναι να αντιδρά με άλλα χημικά αντιδραστήρια και το λευκό σε κάθε άλλο κίνδυνο. Κάθε χρήστης του εργαστηρίου οφείλει να γνωρίζει τα χαρακτηριστικά όλων των αντιδραστηρίων και όχι μόνο εκείνων που χρησιμοποιεί. Επιπλέον, είναι σημαντικό να γνωρίζει τους κανόνες αποθήκευσης των αντιδραστηρίων και τους κανόνες ασφαλείας του εργαστηρίου.

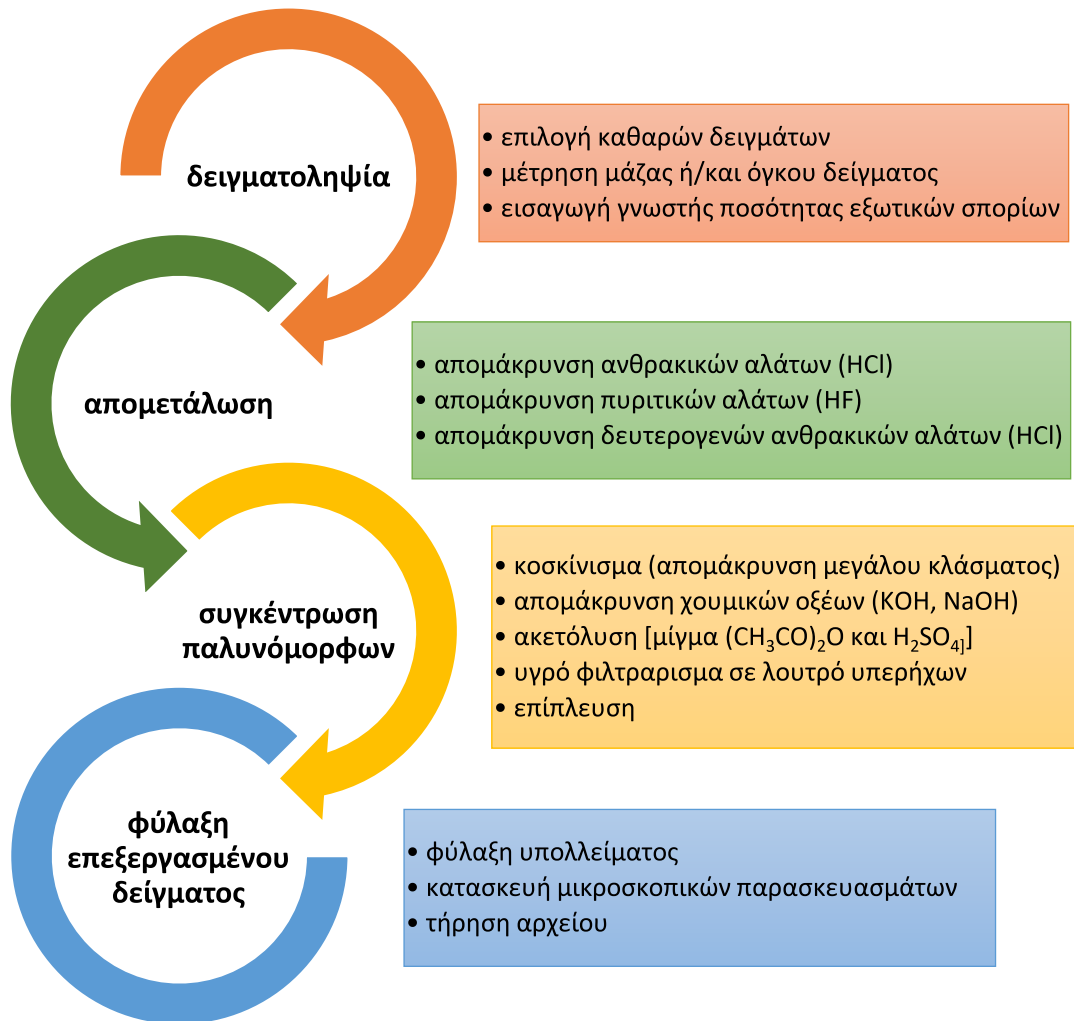
Τέλος, είναι εξαιρετικά σημαντικό η διαδικασία απομόνωσης των παλυνόμορφων από το ίζημα να γίνεται σε ένα καθαρό περιβάλλον εργασίας. Όλες οι επιφάνειες του εργαστηρίου, τα γυαλικά και άλλα αντικείμενα που χρησιμοποιούνται οφείλουν να καθαρίζονται σχολαστικά και να ξεπλένονται με απεσταγμένο νερό προκειμένου να αποφευχθεί η μόλυνση των δειγμάτων είτε με σύγχρονο υλικό που βρίσκεται στον αέρα ή το νερό, είτε με υλικό που έχει παραμείνει από την επεξεργασία προηγούμενων δειγμάτων.



Εικόνα 5 Χρήση μέσω ατομικής προστασίας στο υγρό παρασκευαστήριο του Εργαστηρίου Ιστ. Γεωλογίας και Παλαιοντολογίας ΕΚΠΑ

Χημική επεξεργασία για παλυνολογική ανάλυση

Τα κύρια στάδια της χημικής επεξεργασίας δειγμάτων για παλυνολογική ανάλυση αναλύονται παρακάτω και παρουσιάζονται διαγραμματικά στην εικόνα 6. Ανάλογα με το σκοπό της έρευνας, το υλικό μελέτης και τη διαθεσιμότητα πόρων και υλικού η χημική επεξεργασία διαφοροποιείται, ενσωματώνοντας ή αφαιρώντας βήματα και διαδικασίες. Κάθε παλυνολογικό εργαστήριο εφαρμόζει τα δικά του τροποποιημένα πρωτόκολλα και η παλυνολογική βιβλιογραφία έχει καταγράψει πλήθος διαφοροποιήσεων και προσαρμογών στο βασικό παλυνολογικό πρωτόκολλο (π.χ. Faegri and Iversen 1989; Traverse 2007; Riding 2021).



Εικόνα 6. Διαγραμματική περιγραφή των βασικών σταδίων χημικής επεξεργασίας

Δειγματοληψία

Η επιλογή του υλικού, η δειγματοληψία και η σωστή προετοιμασία αποτελεί βασικό στάδιο της διαδικασίας της χημικής επεξεργασίας. Το δείγμα που λαμβάνεται είναι σημαντικό να προέρχεται από καθαρή επιφάνεια του ιζήματος ή πετρώματος προκειμένου αποφευχθεί τυχόν μόλυνση από σύγχρονα παλυνόμορφα. Η ποσότητα του δείγματος που λαμβάνεται κάθε φορά ποικίλει ανάλογα με το υλικό μελέτης, σε κάθε περίπτωση όμως καταγράφεται συστηματικά η μάζα ή/και ο όγκος του. Εφόσον το δείγμα είναι συμπαγές σε αυτό το στάδιο θρυμματίζεται σε μικρά θραύσματα για να επιταχυνθεί η επίδραση των αντιδραστηρίων και στη συνέχεια τοποθετείται στα ειδικά δοχεία (π.χ. δοκιμαστικοί σωλήνες) για την έναρξη της χημικής επεξεργασίας. Ο θρυμματισμός γίνεται με τη χρήση σφυριού σε καθαρό περιβάλλον και με μεγάλη προσοχή για να μην υπάρξει μόλυνση του δείγματος. Το μέγεθος των θραυσμάτων δεν πρέπει να είναι μικρότερο των 1-2mm, καθώς μικρότερο μέγεθος ή κονιορτοποίηση του δείγματος είναι πιθανό να προκαλέσει ζημιά στα περιεχόμενα παλυνόμορφα. Το ζύγισμα του δείγματος σε εργαστηριακό ζυγό ακριβείας είναι απαραίτητο μέρος της διαδικασίας της δειγματοληψίας, καθώς επιτρέπει την τελική ποσοτικοποίηση των αποτελεσμάτων της μικροσκοπικής έρευνας (εικόνα 7). Για τον



Εικόνα 7 Δειγματοληψία ιζήματος για παλυнологική χημική επεξεργασία στο Εργαστήριο Ιστ. Γεωλογίας και Παλαιοντολογίας ΕΚΠΑ

ίδιο λόγο σε πολλές περιπτώσεις, στο αρχικό αυτό στάδιο της επεξεργασίας προστίθεται σε κάθε δείγμα γνωστή ποσότητα εξωτικού σπορίου, συνήθως ταμπλέτες με *Lycorodium*. Μετά τη δειγματοληψία, η ποσότητα του δείγματος που μένει αρχειοθετείται και αποθηκεύεται σε καθαρό, σκοτεινό, στεγνό και ασφαλές χώρο με ελεγχόμενη θερμοκρασία.

Απομετάλλωση

Η διαδικασία της απομετάλλωσης αφορά στην απομάκρυνση των ανόργανων στοιχείων του πετρώματος ή ιζήματος και επιτυγχάνεται με τη χρήση ισχυρών χημικών οξέων σε διαδοχικά βήματα. Οι εργασίες γίνονται στον ειδικά εξοπλισμένο εργαστηριακό χώρο, εντός του απαγωγού, με τα απαραίτητα μέτρα ασφάλειας και προφύλαξης που αναφέρθηκαν παραπάνω λόγω της επικινδυνότητας των χημικών αντιδραστηρίων (εικόνα 8).

Επίδραση με Υδροχλωρικό Οξύ (HCl)

Στη βασική παλυнологική μέθοδο χημικής επεξεργασίας η διαδικασία ξεκινά με την επίδραση στα δείγματα με υδροχλωρικό οξύ (HCl) με στόχο την απομάκρυνση των ανθρακικών αλάτων. Σε αυτά περιλαμβάνονται τυχόν κελύφη μικροοργανισμών από ανθρακικό ασβέστιο, όπως στην περίπτωση των θαλάσσιων ή λιμναίων ιζημάτων. Το υδροχλωρίο διαλύει το ανθρακικό ασβέστιο σύμφωνα με την ακόλουθη αντίδραση:



Η πυκνότητα του υδροχλωρικού οξέος που χρησιμοποιείται σε αυτό το στάδιο ποικίλει (10-39%), η δε διαδικασία μπορεί, ή όχι, να περιλαμβάνει θέρμανση του παρασκευάσματος για επιτάχυνσή της,

ανάλογα με την εκάστοτε φύση του δείγματος και τα εφαρμοζόμενα πρωτόκολλα ανά εργαστήριο. Η προσθήκη υδροχλωρικού οξέος στο δείγμα είναι εξαιρετικά πιθανό να προκαλέσει έντονη αντίδραση/βρασμό του δείγματος λόγω της παραγωγής διοξειδίου του άνθρακα (CO₂). Η αντίδραση είναι δυνατό να ελεγχθεί με την προσθήκη μικρής ποσότητας αιθυλικής αλκοόλης σε αυτό. Η αντίδραση των ανθρακικών αλάτων με το υδροχλώριο είναι σύντομη και το υγρό υπόλειμμα μπορεί να αφαιρεθεί από το δείγμα μετά την ολοκλήρωση της διαδικασίας με φυγοκέντριση ή αφήνοντας το στερεό υπόλειμμα να καθιζήσει για τουλάχιστον 12 ώρες.

Επίδραση με Υδροφθορικό Οξύ (HF)

Τα πυριτικά ορυκτά και ενώσεις είναι από τα πιο άφθονα και επίμονα ανόργανα κλάσματα των περισσότερων δειγμάτων. Ο συνηθέστερος και πλέον αποτελεσματικός τρόπος απομάκρυνσής τους είναι η επίδραση με πυκνό υδροφθορικό οξύ (HF). Το υδροφθορικό οξύ είναι ένα εξαιρετικά διαβρωτικό αντιδραστήριο, για αυτό είναι απολύτως απαραίτητο να ληφθούν όλα τα απαραίτητα μέτρα προφύλαξης τόσο του εκάστοτε χρήστη, όσο και εκείνων που θα χρησιμοποιήσουν το εργαστήριο στη συνέχεια. Εκτός των τακτικών μέτρων προστασίας σε έναν εργαστηριακό χώρο (εργαστηριακή ρόμπα, γάντια μιας χρήσεως, προστατευτικά γυαλιά, παρουσία δύο ατόμων στο χώρο) η χρήση του συγκεκριμένου οξέος απαιτεί τη χρήση των ειδικών βαρέως



Εικόνα 8 Διαδικασία διάλυσης ανθρακικών αλάτων στο υγρό παρασκευαστήριο του Εργαστηρίου Ιστ. Γεωλογίας και Παλαιοντολογίας ΕΚΠΑ

τύπου εργαστηριακών προστατευτικών γαντιών και της αντίστοιχης ποδιάς. Εξαιρετικά σημαντικό, τέλος, είναι να χρησιμοποιούνται αποκλειστικά δοκιμαστικοί σωλήνες και δοχεία από PP ή PVC, ενώ η χρήση γυάλινων εργαστηριακών ειδών απαγορεύεται καθώς το υδροφθορικό οξύ διαλύει το γυαλί.

Το υδροφθορικό οξύ αντιδρά και διαλύει το οξείδιο του πυριτίου με βάση τις παρακάτω αντιδράσεις:



Η αντίδραση είναι εξώθερμη και αργή και τα δείγματα παραμένουν στο διάλυμα του υδροφθορικού οξέος για τουλάχιστον ένα πλήρες εικοσιτετράωρο. Τη διαδικασία διάλυσης των πυριτικών αλάτων με τη βοήθεια του υδροφθορικού οξέος ακολουθεί ένα επιπλέον στάδιο εφαρμογής υδροχλωρικού οξέος στα δείγματα για τη διάλυση τυχόν δευτερογενών αλάτων (π.χ. φθοριούχου ασβεστίου) που προήλθαν από την απελευθέρωση στοιχείων από το πλέγμα των πυριτικών ορυκτών. Τέλος, εφόσον στο δείγμα περιέχονται θειικά άλατα αυτά διαλύονται με την χρήση νιτρικού οξέος (HNO₃).

Συγκέντρωση παλυνόμορφων

Το στερεό υπόλειμμα που παραμένει από την απομετάλλωση συνίσταται σε ποικίλα οργανικά και, σε ορισμένες περιπτώσεις, σε αδιάλυτα ανόργανα κλάσματα. Προκειμένου να διευκολυνθεί και να επιταχυνθεί η μικροσκοπική παρατήρηση εφαρμόζεται κατά περίπτωση μια σειρά από στάδια τα οποία έχουν ως στόχο τη συγκέντρωση των παλυνομόρφων και την απομάκρυνση των υπόλοιπων κλασμάτων. Σε αυτά περιλαμβάνεται υγρό κοσκίνισμα, συνήθως με τη βοήθεια λουτρού υπερήχων, για την απομάκρυνση των μεγαλύτερων και μικρότερων αδιάλυτων σωματιδίων οργανικής ή ανόργανης προέλευσης.

Η απομάκρυνση χουμικών οξέων από το δείγμα επιτυγχάνεται με τη χρήση βασικών διαλυμάτων (συνήθως KOH ή NaOH) και μπορεί να οδηγήσει σε σημαντική συγκέντρωση γυρεόκοκκων από δείγματα πλούσια σε οργανική ύλη όπως τύρφες ή σαπροπηλούς. Συνήθως προστίθεται διάλυμα υδροξειδίου του καλίου (KOH) ή του νατρίου (NaOH) πυκνότητας 10% και το δείγμα τοποθετείται σε θερμό λουτρό με συνεχή ανάδευση για τουλάχιστον 15 λεπτά. Η διαδικασία διαλύει το περιβάλλον ίζημα και τις χουμικές ενώσεις, παράγοντας ένα σκούρο καφέ διάλυμα το οποίο αποτελείται σε μεγάλο βαθμό από οργανικά κολλοειδή. Εφόσον το χρώμα του διαλύματος είναι σκούρο το στάδιο αυτό μπορεί να επαναληφθεί αρκετές φορές προκειμένου να καταστεί εφικτή η πλήρης διάλυση των χουμικών οξέων.

Εμβληματικό στάδιο της παλυνολογική χημικής επεξεργασίας είναι η ακετόλυση, κατά την οποία απομακρύνονται ανεπιθύμητα οργανικής σύστασης στοιχεία, όπως φυτικά υπολείμματα από κυτταρίνη, ημικυτταρίνη και λιγνίνη. Για την επίδραση αυτή παρασκευάζεται κάθε φορά το ειδικό διάλυμα ακετόλυσης το οποίο αποτελείται από ένα μέρος θεικού οξέος (H₂SO₄) και εννέα μέρη οξικού ανυδρίτη [(CH₃CO)₂O]. Κατά την ακετόλυση λαμβάνονται αυξημένα μέτρα προστασίας καθώς, αφενός τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιούνται είναι διαβρωτικά και αφετέρου το μίγμα της ακετόλυσης αντιδρά έντονα με το νερό. Πριν την εφαρμογή της ακετόλυσης το δείγμα αφυδατώνεται με χρήση οξικού οξέος (CH₃COOH), ενώ τα υλικά με τα οποία έρχεται σε επαφή το διάλυμα οφείλουν να είναι απόλυτα στεγνά. Το διάλυμα ακετόλυσης επιδρά στο δείγμα με βάση την παρακάτω αντίδραση:



Τέλος, στις περιπτώσεις που στο στερεό υπόλειμμα του δείγματος παραμένουν αδιάλυτα ανόργανα κλάσματα, αυτά είναι δυνατό να απομακρυνθούν με τη χρήση βαρέων υγρών και επίπλευση. Πρόκειται για μία διαδικασία που εφαρμόζεται μόνο σε εξαιρετικές περιπτώσεις καθώς είναι χρονοβόρα, ακριβή και υπάρχει σημαντικός κίνδυνος απώλειας παλυνόμορφων.

φύλαξη επεξεργασμένου δείγματος

Μετά το πέρας της διαδικασίας το στερεό υπόλειμμα συγκεντρώνεται σε γλυκερίνη ή έλαιο σιλικόνης και αποθηκεύεται σε μικρά σωληνάκια με πώμα. Από το στερεό αυτό υπόλειμμα λαμβάνεται μικρή ποσότητα η οποία τοποθετείται μεταξύ αντικειμενοφόρου και καλυπτρίδας για να κατασκευαστεί το μικροσκοπικό παρασκεύασμα. Τα παλυνολογικά παρασκευάσματα μπορούν να είναι μόνιμα, δηλαδή τα παλυνόμορφα να βρίσκονται μόνιμα κολλημένα μέσα σε σταθερό μέσο παρατήρησης, ή κινητά. Στα κινητά παρασκευάσματα τα παλυνόμορφα βρίσκονται «εν αιωρήσει» σε κάποιο υγρό μέσο (συνήθως γλυκερίνη ή έλαιο σιλικόνης) και μπορούν να μετακινηθούν και να αλλάξουν θέση επιτρέποντας την παρατήρηση τους από όλες τις πλευρές. Κάθε εργαστήριο εφαρμόζει τις δικές του μεθόδους παρασκευής δειγμάτων.

Βιβλιογραφία

- Faegri K, Iversen J (1989) Textbook of Pollen Analysis, 4th editio. John Wiley & Sons Ltd.
- Riding JB (2021) A guide to preparation protocols in palynology. Palynology 45:1–110.
- Traverse A (2007) Palynological Laboratory Techniques. In: Paleopalynology. Springer, pp 616–772

Πίνακας περιεχομένων

Εισαγωγή.....	2
Εργαστήριο.....	2
Εργαστηριακός εξοπλισμός.....	3
Ασφάλεια στο εργαστήριο	4
Χημική επεξεργασία για παλυνολογική ανάλυση	6
Δειγματοληψία.....	7
Απομετάλλωση.....	7
Συγκέντρωση παλυνόμορφων.....	8
φύλαξη επεξεργασμένου δείγματος.....	9
Βιβλιογραφία	9
Καινοτόμα χημική επεξεργασία για παλυνολογική ανάλυση	10
Δειγματοληψία (1ο Στάδιο)	10
Διάλυση ανθρακικών αλάτων (2° Στάδιο).....	11
Διάλυση πυριτικών αλάτων (3° Στάδιο).....	11
Διάλυση δευτερογενών ανθρακικών αλάτων (4° Στάδιο)	12
Κοσκίνισμα – Φιλτράρισμα (5° Στάδιο)	12
Αποθήκευση σε Eppendorf tubes (6° Στάδιο).....	12
Κατασκευή μικροσκοπικών παρασκευασμάτων (7° Στάδιο).....	12
Παραρτημα.....	15



Η ερευνητική εργασία υποστηρίχθηκε από το Ελληνικό Ίδρυμα Έρευνας και Καινοτομίας (ΕΛ.ΙΔ.Ε.Κ.) στο πλαίσιο της Δράσης “1η Προκήρυξη Ερευνητικών Έργων ΕΛ.ΙΔ.Ε.Κ. για την ενίσχυση των μελών ΔΕΠ και Ερευνητών/τριών και την Προμήθεια Ερευνητικού Εξοπλισμού Μεγάλης Αξίας” (Αριθμός Έργου: 1026)