

ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ ΚΡΗΤΗΣ
ΤΜΗΜΑ
ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ



«Τύχη μικρο-ποσοτήτων Endosulfan
α- και β- στο νερό»

Διπλωματική διατριβή
Che Franklin N.

ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ:
Επικ. Καθ. ΨΥΛΛΑΚΗ Ε. (επιβλέπουσα)
Καθ. ΔΙΑΜΑΝΤΟΠΟΥΛΟΣ Ε.
Καθ. ΝΙΚΟΛΑΪΔΗΣ Ν.

Χανιά 2006

Ευχαριστίες

Θα ήθελα να ευχαριστήσω την κα. Ψυλλάκη Ελευθερία για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε για την ανάθεση του θέματος και για τις υποδείξεις και συμβουλές της, καθώς και τους κυρίους Νικολαΐδη Νικόλαο και Ευάγγελο Διαμαντόπουλο οι οποίοι αποτελούσαν τα μέλη της εξεταστικής μου επιτροπής.

Ευχαριστώ ιδιαιτέρως την Γιαντζή Ευαγγελία, την Καστανάκη Ελένη, την Χαραλαμπίκι Μάγδα και όλο το προσωπικό του εργαστηρίου «Υδατικής Χημείας» για την πολύτιμη βοήθεια και συνεργασία. Θερμές ευχαριστίες επίσης στο προσωπικό του εργαστηρίου «Υδρογεωχημικής Μηχανικής και Αποκατάστασης Εδαφών».

Επίσης, θέλω να ευχαριστήσω τους φίλους μου για την ηθική και όχι μόνο υποστήριξη που μου παρείχαν κατά την διάρκεια της διπλωματικής μελέτης.

Ευχαριστώ την Ε1 Διεύθυνση Μορφωτικών και Πολιτιστικών Υποθέσεων του Υπουργείου Εξωτερικών για την υποτροφία που μου κατέβαλλαν για τις σπουδές μου στην Ελλάδα.

Τέλος δεν θα μπορούσα να μην ευχαριστήσω την οικογένεια μου για την ηθική και οικονομική υποστήριξη τους καθ' όλη την διάρκεια των σπουδών μου.

Περίληψη

Στην παρούσα διπλωματική εργασία μελετάται η τύχη των ισομερών α και β του (εντομοκτόνου) Endosulfan σε νερό με χρήση της μεθόδου μικροεκχύλισης στερεής φάσης (SPME) σε συνδυασμό με την αέρια χρωματογραφία- ανιχνευτή σύλληψης ηλεκτρονίων (GC-ECD).

Το Endosulfan είναι ένα χλωριωμένο φυτοφάρμακο και ακαριοκτόνο της ομάδας cyclodiene και η παρουσία του στο περιβάλλον οφείλεται κυρίως στη χρήση του ως εντομοκτόνο. Το Endosulfan έχει ανιχνευτεί σε δείγματα εδάφους, νερού, αέρα και τροφίμων, λόγω της άφθονης χρήσης του και της ευκολίας με την οποία μεταφέρεται στο περιβάλλον. Χαρακτηρίζεται ως ιδιαίτερα επικίνδυνο και η περιβαλλοντική τύχη του προκαλεί ανησυχία, επειδή είναι εξαιρετικά τοξικό για τα ψάρια και τα υδρόβια ασπόνδυλα. Για το λόγο αυτό κρίνεται σκόπιμο να εξεταστεί η δυνατότητα απομάκρυνσης της ένωσης αυτής από μηχανισμούς που κατέχει το ίδιο το περιβάλλον. Οι μηχανισμοί που εξετάστηκαν ήταν η φωτόλυση, η υδρόλυση και η προσρόφηση.

Για την μελέτη της τύχης των ισομερών Endosulfan στο νερό και της εφαρμογής της μεθόδου που αναπτύχθηκε με τη τεχνική της SPME, πραγματοποιήθηκαν δύο σειρές πειραμάτων. Στην πρώτη σειρά μελετήθηκε ο κύριος μηχανισμός διάσπασης ή απομάκρυνσης του Endosulfan (10 µg/l) από διάφορα (4) είδη δειγμάτων νερού ενώ στη δεύτερη σειρά πειραμάτων ερευνήθηκε ο μηχανισμός απομάκρυνσης του Endosulfan σε δείγματα νερού - ιζήματος. Για την διεξαγωγή της δεύτερης σειράς πειραμάτων, χρησιμοποιήθηκαν δυο διαφορετικά δείγματα εδάφους.

Από την πειραματική ανάλυση των δεδομένων και για τα δείγματα που περιείχαν μόνο το νερό, παρατηρήθηκε ότι η υδρόλυση είναι σημαντικότερος μηχανισμός διάσπασης του Endosulfan στα νερά από την φωτόλυση. Επίσης, η γρηγορότερη υδρόλυση του ρύπου γίνεται στο δείγμα με το θαλασσίνο νερό ($t_{1/2}=1\text{days}$) και μετά ακολουθούν τα δείγματα με το νερό βρύσης ($t_{1/2}=2\text{days}$), το νερό πηγαδιού ($t_{1/2}=3\text{days}$), και το απιονισμένο νερό ($t_{1/2}=16\text{days}$).

Από την πειραματική ανάλυση των δεδομένων για τα δείγματα που περιείχαν νερό και ίζημα παρατηρήθηκε ότι, η προσρόφηση είναι ο πιο σημαντικός μηχανισμός απομάκρυνσης του Endosulfan στο δείγμα με απιονισμένο νερό και ίζημα. Στο δείγμα με

νερό πηγαδιού και αμμώδη πηλό η προσρόφηση είναι τόσο σημαντική όσο και η υδρόλυση. Τέλος, η υδρόλυση είναι ο σημαντικότερος μηχανισμός απομάκρυνσης του Endosulfan στο σύστημα με θαλασσινό νερό και άμμος.

Τελικά, αποδέχτηκε ότι η SPME σε σύζευξη με αέριο χρωματογράφο – ανιχνευτής σύλληψης ηλεκτρονίου (GC-ECD). είναι κατάλληλη μέθοδος για την ανίχνευση του Endosulfan καθώς και η μελέτη του μηχανισμού διάσπασης του σε υδατικά δείγματα

Περιεχόμενο

Ευχαριστίες	i
Περίληψη	ii
Περιεχόμενο	iv
1.Εισαγωγή	1
2. Βιβλιογραφική ανασκόπηση	3
2.1 Endosulfan	3
2.2 Φυσικές και χημικές ιδιότητες του Endosulfan:	3
2.3 Χρήσεις του Endosulfan	5
2.4 Παρουσία και παραμονή Endosulfan στο περιβάλλον	7
2.5 Τύχη Endosulfan στο περιβάλλον	8
2.6 Τοξικότητα του Endosulfan	10
2.6.1 Οξεία τοξικότητα	10
2.6.2 Χρόνια τοξικότητα	11
2.6.3 Τοξικότητα του Endosulfan στη φύση	12
2.7 Υδρόλυση	15
2.8 Αντιδράσεις Φωτοχημικών Μετασχηματισμών	17
2.9 Αντιδράσεις ρόφησης	17
3. Τεχνικές προετοιμασίας δείγματος	19
3.1 Γενικά	19
3.2 Μέθοδος υγρής-υγρής εκχύλισης - Liquid-liquid extraction (LLE)	19
3.3 Μικροεκχύλιση μικροσταγόνας (SDME)	20
3.4 Η μικροεκχύλιση υγρής φάσης(liquid phase microextraction, LPME)	21
3.4.1 Διατάξεις της ίνας για τις LPME δύο και τριών φάσεων	23
3.5 Μικροεκχύλιση στερεής φάσης (Solid Phase Microextraction)	24
3.5.1 Διαδικασία SPME	26
3.5.2 Παράγοντες που επηρεάζουν την εκχύλιση:	27
3.5.3 Η διαδικασία εκρόφησης	32
3.5.4 Εφαρμογές της SPME	33
4 Αέρια χρωματογραφία	35
4.1 Εισαγωγή	35
4.2 Διάταξη Αερίου Χρωματογράφου	35
4.3 Ανιχνευτής σύλληψης ηλεκτρονίων-Electron-Capture Detector (ECD)	37
4.4 Εφαρμογές της αέριας χρωματογραφίας	38
5 Πειραματικό μέρος	40
5.1 Αντιδραστήρια και οργανολογία:	40
5.2 Κατασκευή προτύπου διαλύματος	41
5.3 Περιγραφή της μεθόδου	41
5.4 Πειράματα προσδιορισμού του κυρίου μηχανισμού διάσπασης Endosulfan σε νερό	41
5.5 Πειράματα με χώμα:	42
5.6 Εφαρμογή της μικροεκχύλισης στερεής φάσης (SPME)	42
5.7 Χρωματογραφική ανάλυση με αέριο χρωματογράφο - Ανιχνευτής σύλληψης ηλεκτρονίων (GC-ECD)	43
6. Συζήτηση αποτελεσμάτων	44

6.1 Συνθήκες εκχύλισης με την τεχνική μικροεκχύλισης στερεής φάσης (SPME)	44
6.1.1 Καθορισμός της ίνας SPME	44
6.1.2 Επιλογή του χρόνου εκχύλισης.....	44
6.1.3 Εκτίμηση της μεθόδου SPME.....	46
6.2 Εφαρμογή της προτεινόμενης μεθόδου SPME σε φυσικά δείγματα:	47
6.2.1 Τύχη Endosulfan στο νερό.....	47
6.2.2 Κατανομή και απομάκρυνση του Endosulfan σε σύστημα ιζήματος-νερού ..	55
7. Συμπεράσματα	62
Βιβλιογραφία	vi

1.Εισαγωγή

Πολλές εκατοντάδες φυτοφάρμακα με διαφορετικές χημικές συνθέσεις χρησιμοποιούνται ευρέως αυτήν την περίοδο για γεωργικούς σκοπούς ανά όλο τον κόσμο. Η εκτεταμένη τους χρήση έχει προκαλέσει τις ανησυχίες πολλών ερευνητών δεδομένου ότι η συμπεριφορά και τα χαρακτηριστικά των φυτοφαρμάκων αυτών στο περιβάλλον είναι αιτία οικολογικών κινδύνων καθώς είναι εξαιρετικά τοξικό για τους φυτικούς και ζωϊκούς οργανισμούς. Πιο συγκεκριμένα, παρουσιάζουν πολύ μεγάλη τοξικότητα στα ψάρια και στα υδρόβια ασπόνδυλα. Τα φυτοφάρμακα που εφαρμόζονται στο έδαφος μπορούν να υποβληθούν στη μικροβιακή αποσύνθεση (βιοδιάσπαση), στη φωτοδιάσπαση, στη χημική διάσπαση, στη αεριοποίηση, ή στην απορρόφηση από φυτά. Μπορούν επίσης να μεταφερθούν στις επιφανειακές απορροές και μέσω ιζημάτων. Οι δυσμενέστερες επιπτώσεις των φυτοφαρμάκων (παρουσιάζονται όταν μολύνεται το υδρολογικό σύστημα) μπορούν να παρουσιαστούν μέσω της μόλυνσης του υδρολογικού συστήματος. Το νερό είναι ένα πολύ σημαντικό μέσο για τη μεταφορά των φυτοφαρμάκων από το σημείο χρήσης τους στα αλλά περιβαλλοντικά διαμερίσματα. Τα επιφανειακά νερά είναι ιδιαίτερα ευπρόσβλητα στη μόλυνση από φυτοφάρμακα όπως το Endosulfan, επειδή τα φυτοφάρμακα των περισσότερων αστικών και γεωργικών περιοχών καταλήγουν σε αυτά. Το Endosulfan χρησιμοποιείται εκτενώς, παγκοσμίως στον έλεγχο των γεωργικών εντομών και των παρασίτων.

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι να μελετηθεί η τύχη των ισομερών α και β του (εντομοκτόνου) Endosulfan σε νερό με χρήση της μεθόδου Μικροεκχύλισης στερεής φάσης (SPME) σε συνδυασμό με την αέρια χρωματογραφία- ανιχνευτής σύλληψης ηλεκτρονίων- (GC-ECD). Θα εξεταστεί ο μηχανισμός διάσπασης του Endosulfan μέσα σε διαφορά δείγματα νερού καθώς και την απομάκρυνση του από διαφορά συστήματα νερού-ιζήματος.

Το αντικείμενο της διπλωματικής εργασίας καλύπτεται από 6 κεφάλαια από τα οποία θα πραγματεύεται συγκεκριμένες θεματικές ενότητες. Το κεφάλαιο 1 είναι η εισαγωγή. Στο κεφάλαιο 2 δίνονται γενικά στοιχεία για το Endosulfan ως προς τις φυσικοχημικές ιδιότητες, και τις χρήσεις του καθώς και την τοξικότητα του στην πανίδα και χλωρίδα και ιδιαίτερα στους ανθρώπους. Στο κεφάλαιο 3, γίνεται αναφορά για τις

τεχνικές μικροεκχύλισης δείγματος και συγκεκριμένα για την μικροεκχύλιση στερεής φάσης ενώ το κεφάλαιο 4 περιγράφει την χρωματογραφική ανάλυση των δειγμάτων με έμφαση στην αέρια χρωματογραφία. Στο κεφάλαιο 5 περιγράφεται η πειραματική διάταξη που χρησιμοποιείται κατά την διεξαγωγή των πειράματος καθώς και η πειραματική διαδικασία που ακολουθήθηκε ενώ το κεφάλαιο 6 περιλαμβάνει την ανάλυση των πειραματικών δεδομένων που προέκυψαν από τα πειράματα καθώς και την συζήτηση των αποτελεσμάτων αυτών. Τέλος το κεφάλαιο 7 αναφέρεται στα τελικά συμπεράσματα που προέκυψαν κατά την ανάλυση των δεδομένων και της μεθόδου που χρησιμοποιήθηκε.

2. Βιβλιογραφική ανασκόπηση

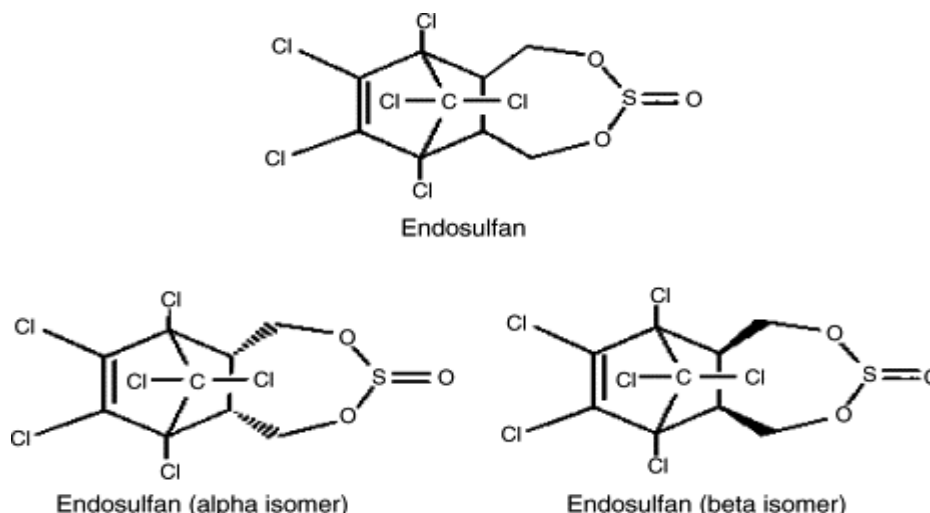
2.1 Endosulfan

Το Endosulfan (**6,7,8,9,10,10-hexachloro-1,5,5a,6,9,9a-hexahydro-6,9-methano-2,3,4-benzodioxathiepin-3-oxide**, CAS No. 115-29-7) είναι ένα χλωριωμένο φυτοφάρμακο και ακαριοκτόνο της ομάδας cyclodiene . Εισήχθηκε στην αγορά στη μέση της δεκαετίας των 50 και από τότε χρησιμοποιείται εκτενώς, παγκοσμίως στον έλεγχο των γεωργικών εντομών και των παρασίτων (όπως είναι τα ακάρια) που υπάρχουν σε μια μεγάλη ποικιλία φρούτων και λαχανικών.

Το Endosulfan στο περιβάλλον έχει ανιχνευτεί σε δείγματα εδάφους, νερού, αέρα και τροφίμων, λόγω της άφθονης χρήσης του και της δυνατότητας που έχει για περιβαλλοντική μεταφορά. Δεν υπάρχει καμία γνωστή φυσική πηγή για την ένωση. Η τρέχουσα παγκόσμια παραγωγή του Endosulfan υπολογίζεται σε περισσότερους από 10000 μετρικούς τόνους το χρόνο και ένα πολύ μεγάλο ποσοστό αυτού του όγκου εξάγεται για χρήση στις τροπικές και υποτροπικές περιοχές, όπως η λατινική Αμερική, Καραϊβική και η Νοτιοανατολική Ασία.[6]

2.2 Φυσικές και χημικές ιδιότητες του Endosulfan:

Το τεχνικό Endosulfan είναι μια κρυστάλλινη ουσία χρώματος καφέ, η οποία αποτελείται από δύο ισομερή: το άλφα και το βήτα (α - και β -) Endosulfan, τα οποία είναι στερεοϊσομερή σε αναλογία 7:3 (**Σχήμα 2.1**). Το Endosulfan διατίθεται στην αγορά με διαφορές εμπορικές ονομασίες όπως, Thiodan, Cyclodan, Thimol, Thiofar και Malix. Σε αντίθεση με το α - Endosulfan που είναι ασύμμετρο, το β -Endosulfan είναι συμμετρικό και μετατρέπεται εύκολα σε α - ισομερές[1].



Σχήμα 2.1 Μοριακή δομή του Endosulfan και των δύο στερεοϊσομερών του[1]

Το Endosulfan διασπάται σε δύο κύρια προϊόντα, τα όποια διασπώνται περαιτέρω όπως φαίνεται και στο **σχήμα 2.2**. Το θειικό άλας του Endosulfan (Endosulfan sulfate), που είναι προϊόν βιολογικής διάσπασης, είναι τόσο τοξικό στα ψάρια όσο η αρχική ένωση. Το Endosulfan diol σχηματίζεται μέσω χημικής ή βιολογικής υδρόλυσης και είναι σχετικά μη τοξικό. Το θειικό άλας σχηματίζεται πιθανότατα στα ιζήματα, όπου το επίπεδο των βακτηριακών πληθυσμών είναι υψηλό. Το diol μπορεί να σχηματιστεί οπουδήποτε υπάρχει υγρασία[9].

Στον παρακάτω πίνακα, παρουσιάζονται τα χαρακτηριστικά και οι κυριότερες χημικές ιδιότητες του Endosulfan και του θειικού του άλατος:

Όνομα	Μοριακός τύπος	Μοριακό βάρος(g/mol)	CAS number
α-Endosulfan	C ₉ H ₆ Cl ₆ O ₃ S	406.95	959-98-8
β-Endosulfan	C ₉ H ₆ Cl ₆ O ₃ S	406.95	33213-65-9
Endosulfan sulfate	C ₉ H ₆ Cl ₆ O ₄ S	422.9	1031-07-8

Πίνακας 2.1: Ονομασία, μοριακός τύπος και μοριακό βάρος των Endosulfan [6]

Όνομα	Διαλυτότητα στο νερό (25 °C, mg/l)	Σημείο τήξης (°C)	Πίεση ατμών (25 °C)	Σταθερά Henry(25°C, atm.m ³ /mol)	logK _{ow}	logK _{oc}
α-Endosulfan	0.33	109.2	1.9×10^{-3}	1×10^{-5}	3.83	3.55
β-Endosulfan	0.32	213.3	9.2×10^{-5}	1.91×10^{-5}	3.52	3.83
Endosulfan sulfate	0.22	181	2.3×10^{-5}	2.61×10^{-5}	3.66	-
Πηγή	[6]	[2]	[6]	[2]	[2]	[2]

Πίνακας2.1 Κυριότερες χημικές ιδιοτήτων των Endosulfan [2, 6]

2.3 Χρήσεις του Endosulfan

Μια μεγάλη ποσότητα του Endosulfan χρησιμοποιείται ως ενεργό συστατικό στα προϊόντα φυτό-προστασίας, πράγμα που σημαίνει ότι εφαρμόζεται σκόπιμα πάνω σε μεγάλες εκτάσεις . Οι διατυπώσεις του Endosulfan περιλαμβάνουν τα συμπυκνωμένα γαλακτώματα (emulsifiable concentrate), τις υγροποιημένες σκόνες (wetttable powder), τα υγρά υπερβολικά χαμηλού όγκου (ultra-low volume (ULV) liquid) και τις ταμπλέτες καπνού (smoke tablets). Είναι συμβατό και βρίσκεται συνήθως στις διατυπώσεις με πολλά αλλά ενεργά συστατικά όπως το μαλαθείο, και άλλα εντομοκτόνα. Παρ' όλα αυτά, δεν είναι συμβατό με τα αλκαλικά υλικά λόγω της υδρολυτικής διάσπασής του[11].

Το Endosulfan ελέγχει ένα ευρύ φάσμα από απομύζοντα και μασώντα παράσιτα και έντομα, όπως, οι κάνθαροι, οι προνύμφες, τα ακάρια, τα ζώφια, και τα τζιτζίκια.. Χρησιμοποιείται στις μη φαγώσιμες συγκομιδές, όπως το βαμβάκι και τον καπνό, αλλά και στις φαγώσιμες, όπως τα λαχανικά, τα φρούτα, το καλαμπόκι, τα δημητριακά, τις πατάτες, το τσάι, τον καφέ, το κακάο και τα φασόλια σόγιας . Επίσης ιστορικά έχει χρησιμοποιηθεί για να ελέγξει τους τερμίτες και τη μύγα Tsetse . Έχει αναφερθεί και η μη-γεωργική χρήση του Endosulfan ως συντηρητικό ξύλου[11].

ΚΑΛΙΕΡΓΕΙΕΣ	ΣΤΟΧΟΣ	ΔΟΣΟΛΟΓΙΑ ΑΝΑ ΕΠΕΜΒΑΣΗ			ΧΡΟΝΟΣ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ
		κιά δ. ο. / εκατόλιτρο	λίτρα ψεκ. υγρού / εκτάριο	κιά δ.ο. / εκτάριο	
ΜΗΛΟΕΙΔΗ Μηλιά Αχλαδιά	<ul style="list-style-type: none"> Οπλοκάμπη (<i>Hoplocampa brevis</i>) Ψύλλα (<i>Psylla pyri</i>) Εριόσομα (<i>Eriosoma lanigerum</i>) Υπονομευτής (<i>Hyponomeuta malinellus</i>) Τίγρης (<i>Stephanitis pyri</i>) Φυτόπτες (<i>Eriophyes pyri</i>, <i>E. Schlechtendali</i>) Λιθοκολέτης (<i>Lithocolettis blancardella</i>) 	0,053	1000-2000	0,710-1,050	Οι ψεκάσμοι αρχίζουν με την εμφάνιση των πρώτων εντόμων και επαναλαμβάνονται κάθε 15-20 ημέρες, εφόσον οι συνθήκες ευνοούν την επανεμφάνιση των εντόμων
ΑΜΠΕΛΙ Επιτραπέζια και οиноποίσιμα σταφύλια	<ul style="list-style-type: none"> Φυτόπτης (<i>Phyllocoptes vitis</i>) Ευδεμίδα (<i>Polychrosis botrana</i>) Σκαθάρι (<i>Otiorynchus sulcatus</i>) 	0,070	500-1500	0,355-1,050	Οι ψεκάσμοι αρχίζουν με την εμφάνιση των πρώτων εντόμων και επαναλαμβάνονται κάθε 15-20 ημέρες, εφόσον οι συνθήκες ευνοούν την επανεμφάνιση των εντόμων

ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ	ΣΤΟΧΟΣ	ΔΟΣΟΛΟΓΙΑ ΑΝΑ ΕΠΕΜΒΑΣΗ			ΧΡΟΝΟΣ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ
		κιλά δ. ο. / εκατόλιτρο	λίτρα ψεκ. υγρού / εκτάριο	κιλά δ.ο. / εκτάριο	
ΛΑΧΑΝΙΚΑ					
Ριζωματούδη και κονδυλώδη Τεύτλα	<ul style="list-style-type: none"> Κλεονός (<i>Bothynoderes punctiventris</i>) Λύξος (<i>Lixus</i> sp.) Καραφατμέ (<i>Agrotis</i> sp.) 	0,063	500-1000	0,355-0,630	Οι ψεκασμοί αρχίζουν με την εμφάνιση των πρώτων εντόμων και επαναλαμβάνονται κάθε 15-20 ημέρες, εφόσον οι συνθήκες ευνοούν την επανεμφάνιση των εντόμων
Σολανώδη Τομάτα υπαίθρου Τομάτα θερμοκηπίου Πιπεριά	<ul style="list-style-type: none"> Αφίδες (<i>Myzus persicae</i>) Πράσινο σκουλήκι (<i>Heliothis armigera</i>) Δορυφόρος (<i>Leptinotarsa decemlineata</i>) Θρίπες (<i>Thrips</i> spp.) Κάμπιες (<i>Heliothis</i> spp.) 	0,053 0,040 0,071-0,1	500-1000 500-2000 500-1000	0,355-0,530 0,355-0,800 0,355-1	Οι ψεκασμοί αρχίζουν με την εμφάνιση των πρώτων εντόμων και επαναλαμβάνονται κάθε 20 ημέρες, εφόσον οι συνθήκες ευνοούν την επανεμφάνιση των εντόμων
Κολοκυνθοειδή με μη βρώσιμο φλοιό (υπαίθρου) Πεπόνι Καρπούζι	<ul style="list-style-type: none"> Αφίδες (<i>Aphis</i> spp.) Θρίπες (<i>Thrips</i> spp.) Πράσινο σκουλήκι (<i>Heliothis armigera</i>) Κάμπιες (<i>Heliothis</i> spp.) 	0,053	500-1000	0,355-0,530	Οι ψεκασμοί αρχίζουν με την εμφάνιση των πρώτων εντόμων και επαναλαμβάνονται κάθε 15-20 ημέρες, εφόσον οι συνθήκες ευνοούν την επανεμφάνιση των εντόμων
ΠΑΤΑΤΕΣ	<ul style="list-style-type: none"> Δορυφόρος (<i>Leptinotarsa decemlineata</i>) Φθοριμαία (<i>Phthorimea operculella</i>) Αφίδες (<i>Myzus persicae</i>) 	0,053	500-1000	0,355-0,530	Οι ψεκασμοί αρχίζουν με την εμφάνιση των πρώτων εντόμων και επαναλαμβάνονται κάθε 15-20 ημέρες, εφόσον οι συνθήκες ευνοούν την επανεμφάνιση των εντόμων.
ΜΗΛΙΚΗ ΚΑΙ ΤΡΙΦΥΛΛΙ ΣΠΟΡΟΠΑΡΑΓΩΓΗΣ	<ul style="list-style-type: none"> Φυτονόμος (<i>Phytonomus variabilis</i>) Λύγκος (<i>Lygus pratensis</i>) Αφίδες (<i>Aphis</i> spp.) Κονταρίνια (<i>Contarinia medicaginis</i>) Σιτόνια (<i>Sitonia</i> spp.) Προντένια (<i>Prodenia</i> spp.) 	0,071-0,100	500-1000	0,355-1	Οι ψεκασμοί αρχίζουν με την εμφάνιση των πρώτων εντόμων και επαναλαμβάνονται κάθε 15-20 ημέρες, εφόσον οι συνθήκες ευνοούν την επανεμφάνιση των εντόμων

ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ	ΣΤΟΧΟΣ	ΔΟΣΟΛΟΓΙΑ ΑΝΑ ΕΠΕΜΒΑΣΗ			ΧΡΟΝΟΣ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ
		κιλά δ. ο. / εκατόλιτρο	λίτρα ψεκ. υγρού / εκτάριο	κιλά δ.ο. / εκτάριο	
BAMBAKI	<ul style="list-style-type: none"> Πράσινο σκουλήκι (<i>Heliothis</i> spp.) Ακανθώδες σκουλήκι (<i>Earias insulana</i>) Αφίδες (<i>Aphis gossypii</i>) Ανθονόμος (<i>Anthonomus grandis</i>) Λύγκος (<i>Lygus</i> spp.) Θρίπες (<i>Trips tabaci</i>) 	0,071-0,100	500-800	0,355-0,800	Οι ψεκασμοί αρχίζουν με την εμφάνιση των πρώτων εντόμων και επαναλαμβάνονται κάθε 15-20 ημέρες, εφόσον οι συνθήκες ευνοούν την επανεμφάνιση των εντόμων
ENTOMA ΕΔΑΦΟΥΣ (για τις προαναφερόμενες καλλιέργειες)	<ul style="list-style-type: none"> Αγρότιδα (<i>Agrotis</i> spp.) Υλέμνια (<i>Hylemyia antiqua</i>) Κλεονός (<i>Botryoderes punctinervis</i>) Μυρμήγκια (<i>Formicidae</i>) Ακρίδες (<i>Acrididae</i>) Noctuidae 	0,05 κιλά δ.ο. για κάθε 1 κιλό δολώματος			

Πίνακας 2.2 Χρήση Endosulfan στη Ελλάδα.[32]

Στην Ελλάδα, **απαγορεύεται** η χρήση των φυτοπροστατευτικών προϊόντων που περιέχουν τη δραστική ουσία Endosulfan στις καλλιέργειες: αγγούρι, κολοκύθι, μελιτζάνα, ελιά, βυσσινιά και κερασιά .[32]

2.4 Παρουσία και παραμονή Endosulfan στο περιβάλλον

Η παρουσία του Endosulfan στο περιβάλλον οφείλεται κυρίως στη χρήση του ως εντομοκτόνο. Η σημαντική μόλυνση περιορίζεται στις περιοχές όπου το Endosulfan κατασκευάζεται, διατυπώνεται, εφαρμόζεται ή διατίθεται. Η ουσία κατανέμεται στη ατμόσφαιρα και στα εδάφη και ιζήματα. Το Endosulfan μπορεί να μεταφερθεί πέρα από μεγάλες αποστάσεις στην ατμόσφαιρα, αλλά η ένωση είναι σχετικά ακίνητη στα χώματα. Μετασχηματίζεται από την υδρόλυση στο diol και από τους μικροοργανισμούς σε διάφορους μεταβολίτες. Βίο-συγκεντρώνεται μόνο σε χαμηλά επίπεδα και δεν βιο-μεγεθύνεται στις επίγειες ή υδρόβιες τροφικές αλυσίδες[11].

2.5 Τύχη Endosulfan στο περιβάλλον

Η τύχη του Endosulfan όταν απελευθερώνεται στο περιβάλλον είναι διαφορετική για τα δύο ισομερή και εξαρτάται επίσης από το μέσο στον οποίο γίνεται η εναπόθεση.[12]

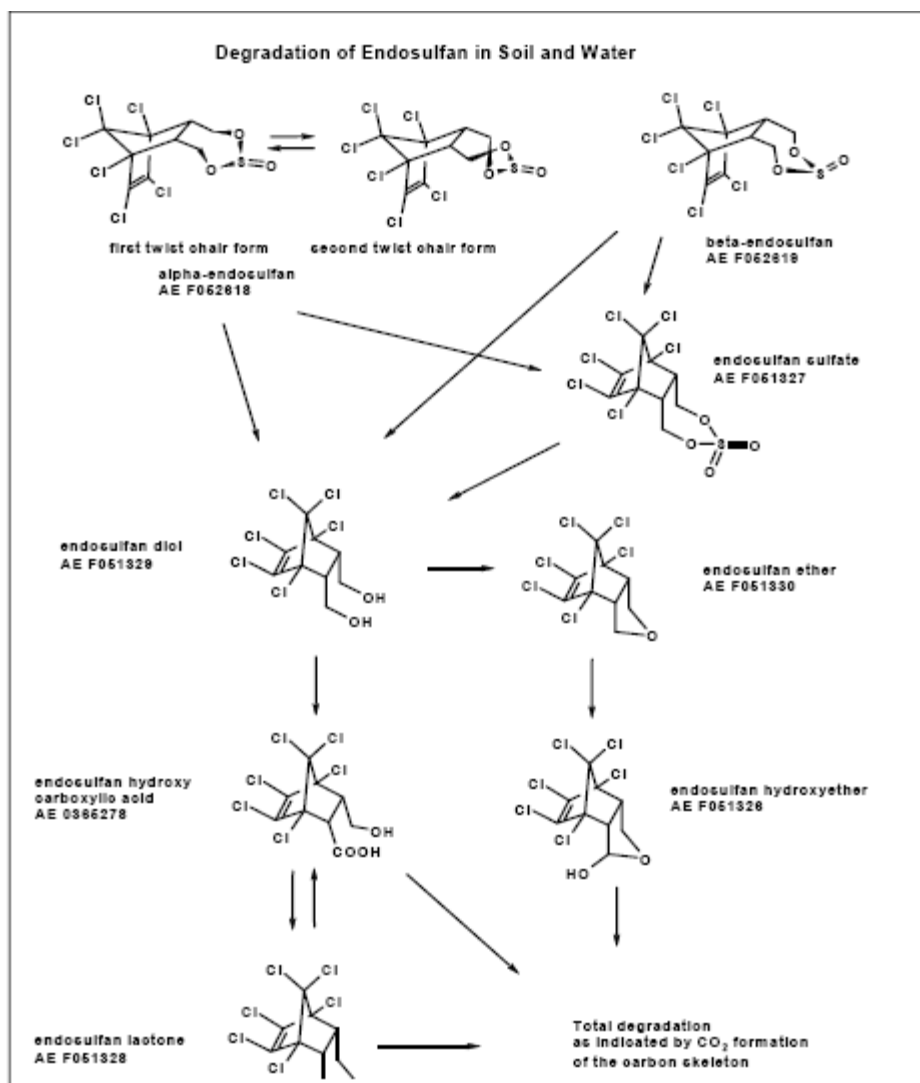
Το β-Endosulfan είναι πιο επίμονο από το α-ισομερές. Το θεικό άλας του Endosulfan, που είναι το κύριο προϊόν της διάσπασης των δυο ισομερών, είναι εξίσου τοξικό και το ίδιο επίμονο στο περιβάλλον με την αρχική ένωση. Το Endosulfan μπορεί να διασπασθεί με φωτόλυση, υδρόλυση και βίο-διάσπαση. Το Endosulfan diol, το Endosulfan lactone (λακτόνη), το Endosulfan ether (αιθέρας) κλπ είναι μερικά από τα άλλα υποπροϊόντα αυτής της διάσπασης. Αν και τα ισομερή είναι αρκετά ανθεκτικά στη φωτόλυση, τα προϊόντα διάσπασης είναι ευαίσθητα.[12]

Στις επιφάνειες των φυτών, το Endosulfan διασπάται γρήγορα στους μεταβολίτες του. Το Endosulfan δεν παρουσιάζει μεγάλη κινητικότητα στα χώματα και είναι ιδιαίτερα επίμονος ρύπος. Σημαντικά προϊόντα στο έδαφος είναι το Endosulfan diol, το θεικό άλας Endosulfan και το Endosulfan lactone (λακτόνη). Η παράγωγη του θεικού άλατος Endosulfan αυξάνεται με την αύξηση της θερμοκρασίας. Το Endosulfan εμμένει περισσότερο σε όξινα περιβάλλοντα και κάτω από την επιφάνεια του εδάφους. Ο χρόνος ημιζωής του Endosulfan ποικίλλει από 60 (α-Endosulfan) σε 800 ημέρες (β-Endosulfan). Εισάγεται στον αέρα μέσω της αεριοποίησης από τις επιφάνειες των φυτών και των υδάτων. Ρύπανση παρουσιάζεται επίσης και από τη μεταφορά των σωματιδίων[12].

Η εφαρμογή του χημικού αυτού με « υπερβολικά χαμηλό όγκο (ULV-Ultra Low Volume)» μπορεί να το παρασύρει σε αποστάσεις μερικών χιλιομέτρων από το αρχικό σημείο. Έχει ανιχνευθεί σε απομακρυσμένες περιοχές όπως η Αρκτική, σε δείγματα αέρα, νερού-χιονιού και νερού λιμνών, σε δείγματα βροχοπτώσεων και χιονιού στα Καλιφορνέζικα βουνά και στις μακρινές ευρωπαϊκές λίμνες βουνών. Το β-Endosulfan είναι πιο σταθερό στον αέρα. Έχει αποδειχθεί ότι, κατά τη διάρκεια παρατήρησης ενός έτους, το Endosulfan απελευθερώνεται από τα συντηρητικά ξύλου στην ατμόσφαιρα δωματίου[12].

Στα νερά, το Endosulfan έχει χρόνο ημιζωής μεταξύ 35 και 150 ημερών. Δεν διαλύεται εύκολα στο νερό και μπορεί να συσσωρευτεί στους οργανισμούς των ψαριών και άλλων υδρόβιων οργανισμών. Τα προϊόντα διάσπασης στο νερό είναι το Endosulfan diol και το θεικό άλας Endosulfan. Το Endosulfan δεν φτάνει εύκολα στα υπόγεια νερά

εάν και έχει ανιχνευτεί σε αυτά σε συγκεντρώσεις που κυμαίνονται από 0.009 έως 0.053 $\mu\text{g/L}$, 20 μέρες μετά από τον τελευταίο ψεκασμό. Η USEPA συστήνει ότι τα επίπεδα Endosulfan στους ποταμούς, στις λίμνες και στα ρυάκια, δεν πρέπει να είναι μεγαλύτερα από 74 ppb ($\mu\text{g/L}$). Δυστυχώς, αυτό το όριο είναι 15 φορές περισσότερο από τη συγκέντρωση που απαιτείται για να προκληθεί αναπαραγωγική ζημία στο είδος red spotted newt[12].



Σχήμα 2.2: Διαδρομές της διάσπασης Endosulfan στο χώμα και στο νερό[6].

2.6 Τοξικότητα του Endosulfan

Η περιβαλλοντική τύχη του Endosulfan προκαλεί ανησυχία, επειδή είναι εξαιρετικά τοξικό για τα ψάρια (πχ. 96 ώρες LC_{50} 1,2μg/L για *Fundulus heteroclitus*¹ [9]) και τα υδρόβια ασπόνδυλα. Η δράση του έχει συσχετιστεί επίσης με τοξικότητα σε γονίδια και νευροτοξικότητα σε θηλαστικά [8]. Η έκθεση σε Endosulfan μπορεί να γίνει μέσω της εισπνοής, της κατάποσης και της επαφής με τα μάτια και το δέρμα. Το Endosulfan είναι υπεύθυνο για διαφορές επιδράσεις στο κεντρικό νευρικό σύστημα, στα νεφρά, και στο συκώτι των ζώων, όπως επίσης και στο κεντρικό νευρικό και αναπνευστικό σύστημα του ανθρώπου[4]. Η κατά εκτίμηση θανατηφόρα δόση του Endosulfan στους ανθρώπους είναι 50-500 mg kg⁻¹

Τα κριτήρια ποιότητας νερού της EPA για το Endosulfan είναι 56 ng l⁻¹ για τα επιφανειακά ύδατα και 0.1-0.2 mg l⁻¹ για τα γεωργικά προϊόντα[5], ενώ η Ευρωπαϊκή Ένωση έχει θέσει μια μέγιστη αποδεκτή συγκέντρωση του 1.0 μg/l για κάθε φυτοφάρμακο (άλφα και βήτα Endosulfan) στα επιφανειακά νερά και 0.1μg/l στο πόσιμο νερό [3].

2.6.1 Οξεία τοξικότητα

Το Endosulfan είναι ιδιαίτερα τοξικό και μπορεί να είναι μοιραίο εάν εισπνευσθεί, καταπωθεί ή απορροφηθεί μέσω του δέρματος. Τα στοιχεία για οξεία τοξικότητα είναι επαρκώς διαθέσιμα στη βιβλιογραφία. Ο ρυθμός απορρόφησης και τοξικότητας αυξάνονται παρουσία διαλυτών όπως είναι οι αλκοολικοί και οι αρωματικοί[12].

Διάφορες περιπτώσεις οξείας δηλητηρίασης έχουν αναφερθεί. Η κατάποση και η εισπνοή υψηλών ποσοτήτων Endosulfan μπορεί να οδηγήσει σε σπασμό και σε θάνατο. Το Endosulfan έχει επιπτώσεις άμεσα στο κεντρικό νευρικό σύστημα και επίσης, επαναλαμβανόμενες επιληπτικές συλλήψεις έχουν αναφερθεί. Απορροφάται μέσω του δέρματος και μπορεί επίσης να οδηγήσει σε ερεθισμό των ματιών. Τα συμπτώματα της δηλητηρίασης περιλαμβάνουν την υπερδραστηριότητα, την δύσπνοια (δυσκολία αναπνοής), την άπνοια (διακοπή της αναπνοής), την σαλιάση (salivation), την αναισθησία, τη διάρροια, την αναιμία, τη ναυτία, τον εμετό, την αϋπνία, την θαμπή

όραση, την κυάνωση (γαλαζωπός αποχρωματισμός του δέρματος λόγω έλλειψης οξυγόνου) τον αφρισμό στο στόμα, τις τρεμούλες, το ξηρό στόμα, την ανορεξία, την οξυθυμία, τον πονοκέφαλο, τη μείωση της αναπνοής, την απώλεια μνήμης, την αιματοουρία, τη λευκωματοουρία, τη σύγχυση, τον ίλιγγο, τη δυσαναλογία και την έλλειψη συντονισμού. Τα άτομα που πάσχουν από ασθματικές και σπασμωδικές αναταραχές διατρέχουν το μεγαλύτερο κίνδυνο[12].

Η εξέταση αυτοψίας μιας σκόπιμης περίπτωσης κατάποσης (αυτοκτονία) έχει αποκαλύψει ζημιά στο συκώτι, στον πνεύμονα και στον εγκέφαλο[12].

2.6.2 Χρόνια τοξικότητα

Υπάρχουν πειραματικά στοιχεία των δυσμενών αποτελεσμάτων του Endosulfan στο αρσενικό αναπαραγωγικό σύστημα. Καθυστερεί τη σεξουαλική ωριμότητα και παρεμποδίζει τη σύνθεση της ορμόνης φύλου (sex-hormone synthesis). Το Endosulfan είναι ένας αποδεδειγμένος ενδοκρινικός διαταρακτή (endocrine disruptor). Έχει την ικανότητα να προκαλέσει υποθυρεοειδισμό. Οι μακροχρόνιες επιπτώσεις στην υγεία δεν έχουν κατάλληλα μελετηθεί, πειραματιστεί ή τεκμηριωθεί παγκοσμίως[12].

Το Endosulfan φανερώνει οιστρογονικές (estrogenic) ιδιότητες, συγκρίσιμες με αυτό του DDT. Ανταγωνίζεται την οιστραδιόλη (estradiol) για τη δέσμευση στους δέκτες οιστρογόνου (estrogen), εμποδίζοντας με τον τρόπο αυτό την ορθή ορμονική λειτουργία. Η οιστρογονική (estrogenic) δυνατότητα του Endosulfan αυξάνεται παρουσία άλλων οιστρογονικών (estrogenic) οργανοχλωρίων. Προκαλεί τον πολλαπλασιασμό των ευαίσθητων στο οιστρογόνο κύτταρων MCF7 των ανθρώπινων στήθων (human breast estrogen sensitive MCF7 cells) , (invitro) με αποτέλεσμα να αυξάνεται ο κίνδυνος εμφάνισης καρκίνου του μαστού[12].

Επιπρόσθετα, κάνει ζημιά στο αναπαραγωγικό σύστημα, και πιο συγκεκριμένα, επηρεάζει την ποιότητα του σπέρματος, το σπερματικό επίπεδο, τα σπερματογόνα κύτταρα, τη μορφολογία σπέρματος και άλλες ατέλειες στις αρσενικές ορμόνες φύλων. Το Endosulfan έχει την ικανότητα να αλλάζει τα γενετικά υλικά ιδιαίτερα τα χρωμοσώματα στους μαστοφόρους πολιτισμούς. Έχει βρεθεί ότι εμποδίζει την ορχική βιοσύνθεση ανδρογόνων στα πειραματόζωα και επιδεικνύει σημαντικό κίνδυνο στη νεφρική και ορχική περιοχή[12].

Μπορεί να έχει δυσμενή αποτελέσματα στο κεντρικό νευρικό σύστημα με την παρεμπόδιση της ακετυλικής χολινεστεράσης (acetyl cholinesterase) του εγκεφάλου με αποτέλεσμα την πρόκληση ανεξέλεγκτης έκκρισης της ακετυλικής χολίνης (acetyl choline). Η κατάποση του Endosulfan γνωρίζεται να έχει επιπτώσεις στα νεφρά και στο συκώτι. Ακόμη, εμποδίζει τη μετανάστευση λευκών αιμοσφαιρίων και μακροφάγων (πράγμα που σημαίνει παρεμπόδιση του φυσικού ανοσοποιητικού συστήματος με την αναστάτωση της προστασίας αντισωμάτων) προκαλώντας με τον τρόπο αυτό, δυσμενή αποτελέσματα σε χυμώδη και στο κυτταρικό-μεσολαβηθέντος άνοσος σύστημα . Είναι επίσης ένας πιθανός υποστηρικτής όγκων[12].

Πολλές μελέτες σχετικές με την οξεία και χρόνια τοξικότητά του Endosulfan στα πειραματόζωα είναι διαθέσιμες . Το Endosulfan είναι ιδιαίτερα τοξικό στους αρουραίους και στα ποντίκια. Μερικές μελέτες συμπεραίνουν ότι έχει τερατογενετικές και καρκινογόνες ιδιότητες στα παραπάνω πειραματόζωα. Επίσης, Έχει επιπτώσεις άμεσα στο κεντρικό νευρικό σύστημα, και προκαλεί ζημία συκωτιού και νεφρών. Εξασθενίζει επίσης το αναπαραγωγικό σύστημα των αρουραίων. Έχουν παρατηρηθεί επίσης και νευρολογικές αλλαγές. Η ζημία θυρεοειδή θυλακοειδούς (Thyroid follicular) στα ποντίκια έχει αναφερθεί. Το Endosulfan είναι γνωστό ότι βλάπτει το ενδοκρινικό σύστημα, το νευρικό σύστημα, το κυκλοφοριακό, το αναπαραγωγικό, το αναπνευστικό, και τα απεκκριτικά συστήματα και την ανάπτυξη των εμβρύων[12].

2.6.3 Τοξικότητα του Endosulfan στη φύση

Υπάρχουν πολλές αναφορές σχετικά με την τοξικότητα του Endosulfan στη χλωρίδα και την πανίδα. Η εθνική ομοσπονδία άγριας φύσης των ΗΠΑ (NWF-USA) αναφέρει ότι το Endosulfan είναι εξαιρετικά τοξικό για τους φυτικούς και ζωικούς οργανισμούς και παρουσιάζει έντονη τοξικότητα στις μέλισσες. Είναι επίσης έντονα τοξικό στα πουλιά, όπως η πάπια πρασινολαίμης (mallard ducks), τα ορτύκια και τους φασιανούς. Η τοξική δόση, για κατάποση, του Endosulfan σε λάδι (LD50) είναι 200-275 mg/kg για τον πρασινολαίμη και 622 mg/kg για τους δαχτυλιδιολαίμηδες φασιανούς (ring necked pheasants).[13] Το α-ισομερές είναι πιο νεύρο-τοξική ουσία και η οξεία τοξικότητά του εναντίον στα θηλαστικά είναι τουλάχιστον τριπλάσια από αυτήν του β-ισομερούς. Είναι

γενετοξικό και αποτελεί ένα γνωστό ενδοκρινικό διαταράκτη για τα επίγεια και υδρόβια είδη[12].

Το Endosulfan είναι ιδιαίτερα τοξικό στους υδρόβιους οργανισμούς ακόμη και στα συνιστώμενα επίπεδα εφαρμογής. Επίσης, είναι ιδιαίτερα τοξικό στα ψαριά και η θανατηφόρα συγκέντρωση (LC_{50}) κυμαίνεται από 1 έως 10 ppm σε νερό. Δεδομένου ότι αυτό το εντομοκτόνο είναι τοξικό για τα ψαριά, πρέπει να καταβληθεί κάθε προσπάθεια για να αποτραπεί η μόλυνση των υδρόβιων περιβαλλόντων[13]. Το Endosulfan προκαλεί προβλήματα στο ενδοκρινικό σύστημα, μείωση της πρωτεΐνης στους ιστούς καθώς και άλλες επιπτώσεις στην υγεία. Επίσης είναι υπεύθυνο για πολλούς θανάτους ψαριών που είχαν αναφερθεί από πολλές χώρες. Έχει επιπτώσεις στο μεταβολισμό των ψαριών του γλυκού νερού. Είναι γνωστό ότι εξασθενίζει τα φερομονικά (pheromonal) συστήματα, γεγονός που οδηγεί στη δυσκολία της επιλογής των αρσενικών και στη μικρή επιτυχία ζευγαρώματος στο θηλυκό (female red spotted newt). Παρουσιάζει αντί-οιστρογονικές επιπτώσεις στα γατόψαρα (catfish) του γλυκού νερού και αναπαραγωγικά προβλήματα στο θηλυκό teleostfish και opercoidfish. Το Endosulfan βιοσυγκεντρώνεται επίσης στους υδρόβιους οργανισμούς. Οι εκθέσεις/αναφορές από τη Νοτιοανατολική Ασία και το νότιο Ειρηνικό αποδεικνύουν ότι το Endosulfan έχει καταστρεπτικά αποτελέσματα στον υδρόβιο βίοκοσμο. Οι εκθέσεις αποδεικνύουν την υψηλή τοξικότητά του στους βατράχους, annelids, στα σαλιγκάρια, στα υδρόβια έντομα (πχ. μύγες δεσποινιδίων, midges, κάνθαροι κλπ...), στα καρκινοειδή (καβούρι, γαρίδες κλπ.), στα ψάρια και στα μαλάκια. Το Endosulfan έχει επιπτώσεις στο ποσοστό εκκόλαψης και στη επιβίωση της κάμπιας του κοινού ινδικού βατράχου. Επηρεάζει επίσης τη λαρβική (προ-νυμφική) επιβίωση, το ρυθμό ανάπτυξης, την αναπνοή και προκαλεί παραμορφώσεις των άκρων στη σαλαμάνδρα (streamline salamander). Οι μελέτες από την Αργεντινή και τη Νότια Αφρική αναφέρουν ότι το Endosulfan έχει επιπτώσεις στους υδρόβιους πληθυσμούς εντόμων και μακρο-ασπόνδυλων στα ρυάκια και στους ποταμούς.[12]

Όχι μόνο είναι τοξικό στις προνύμφες καβουριών αλλά αναστατώνει το μάδημα των καβουριών και των υδρόβιων ασπόνδυλων. Το Endosulfan λειτουργεί ως ενδοκρινικός διαταράκτης στους αμερικανικούς αλιγάτορες και έχει ανιχνευθεί στα μη βιώσιμα (non viable) αυγά ενός κροκόδειλου του Morelet. Επίσης, επηρεάζει την γεννά αυγών των γαρίδων χλόης (grass shrimps) και έχει ανιχνευθεί ως ένα από τα κυρίαρχα

οργανοχλωρικά φυτοφάρμακα στα ψάρια Silverfish στην Αργεντινή. Έχει συνδεθεί με τη δραστική μείωση του πληθυσμού των αμφιβίων Anuran στις δυτικές ΗΠΑ κατά τη διάρκεια των τελευταίων 10-15 ετών. Έχει ανιχνευτεί σε κατάλοιπα στο συκώτι της χελώνας Eastern box. Η συγκέντρωση του στα μύδια βρίσκεται να είναι 600 φορές μεγαλύτερη από την αντίστοιχη στο νερό.[12]

Το Endosulfan βρέθηκε ότι παρουσιάζει τοξικότητα στους γαιοσκώληκες, προκαλώντας σημαντική μείωση του ρυθμού ανάπτυξης και της περιεκτικότητας σε συνολική πρωτεΐνη. Το Endosulfan είναι ιδιαίτερα τοξικό στα μικρό-αρθρόποδα, στους μικροοργανισμούς, στο ζωοπλαγκτόν, στο φυτοπλαγκτόν, στα εδαφικά άλγη, στους ακτινομύκητες και στις βακτηριακές αποικίες κλπ, που βρίσκονται στο έδαφος. Προκαλεί χρωμοσωματικές μεταλλάξεις στις μύγες (δροσόφylla). Είναι επίσης τοξικό στα θηλαστικά, όπως είναι τα κουνέλια και οι αρουραίοι. Είχε αναφερθεί στην περιοχή Kasaragod στη νότια Ινδία, όπου το Endosulfan είχε ψεκάστεί εναερίως, η εξαφάνιση των γατών, των βατράχων, των μελισσών, των ψαριών γλυκού νερού κ.λπ. [12]

Το Endosulfan είναι επίσης ιδιαίτερα δηλητηριώδες στις γάτες (LD_{50} -2mg/kg) και στα σκυλιά (LD_{50} -76.7mg/kg). Η αντιστρέψιμη τύφλωση και η έλλειψη συντονισμού των μυών έχουν αναφερθεί μετά τη βοσκή προβάτων και βοοειδών σε μολυσμένη από Endosulfan χλόη. Η οξεία δηλητηρίαση των βοοειδών και οι θάνατοι τους, λόγω της άμεσης χρήσης του Endosulfan σε αυτά ως μέσο έκτο-παρασιτικού-ελέγχου, αναφέρονται από την Τουρκία και τις ΗΠΑ. Χρόνια έκθεση του Endosulfan οδηγεί σε επιβλαβή αποτελέσματα στο μεταβολισμό και στο ανοσοποιητικό σύστημα του κοτόπουλου Broiler.[12]

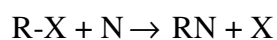
Το Endosulfan έχει και φυτοτοξικές ιδιότητες. Έχουν αναφερθεί τοξικές επιδράσεις στα φυτά, όπως η παρεμπόδιση της αύξησης της ρίζας, το stunting, το κάψιμο των ακρών και των περιθωρίων των φύλλων και η μεταβολή της διαπερατότητας της ρίζας. Είναι ένας σημαντικός ρυπαντικός παράγοντας για τα φυτά Vascular και τη λειχήνα ακόμη και στις απομακρυσμένες περιοχές, όπως η Αρκτική. Είναι τοξικό στα πράσινα άλγη του γλυκού νερού και επίσης στα γαλαζοπράσινα άλγη. Έχει επιπτώσεις επίσης στην παραγωγή των διατόμων, chrysophytes, cryptophytes και dinoflagellates.[12]

Insect species	Host	Insecticidal effectiveness
Thrips tabaei	Cotton	Quite effective
Thrips tabaei	Onion	Quite effective
Agrotis orthogonia	Wheat	Less effective
Myzus persicae	Peach tree	Effective
Buphonella murina	Maize	Not effective
Ascotis selenaria reciprocaria	Coffee	Quite effective
Distracea grandiosella	Corn	Effective
Diacrisia oblique	Soya bean	Highly effective
Cnaphalocrosis medinalis	Rice	Moderate effective
Helocouorpa assulta assulta	Peppers	Moderately effective
Chaleodermus aenus	Cow pea	Highly effective
Glossina morsitans morsitans	Cow pea	Effective
Trichoplusia ni pieris rapae	Cabbage	Effective
Boll worm	Cotton	Highly effective
Trisetacus compnodus	Pine	Highly effective
Culema melanopus	Wheat	Effective
Epitrix hirtipennis	Tobacco	Less effective
Agistemus fleschneri	Apple	Highly effective
Posdesesia Syringae Syringae	Lilac	Effective

Πίνακας2.3 : Επίδραση του Endosulfan σε έντομα [13]

2.7 Υδρόλυση

Η χημική υδρόλυση είναι μια αντίδραση που ελέγχει την τύχη μίας οργανικής ένωσης κατά την οποία η ένωση αντιδρά με το νερό. Συγκεκριμένα, ένα πυρηνόφιλο (υδροξείδιο, νερό ή ιόντα υδρονίου), N, αντικαθιστά απερχόμενη ομάδα, X όπως φαίνεται



Η υδρόλυση δεν περιλαμβάνει αντιδράσεις οξέων-βάσεων, ενυδάτωσης, προσθήκης ή διαγράψης. Η αντίδραση της υδρόλυσης αποτελείται από τη σχάσης ενός μοριακού δεσμού και το σχηματισμού ενός νέου δεσμού με συστατικά του μορίου του νερού (H^+ και OH^-). Συχνά, αποτελεί ισχυρή συνάρτηση του pH.[14] Τα προϊόντα της αντίδρασης υδρόλυσης είναι συνήθως λιγότερη περιβαλλοντική επιβλαβή από τα αρχικά μόρια, επειδή συνήθως μετασχηματίζονται σε πολικές ενώσεις, οι οποίες είναι λιγότερο υδροφοβικές από τα αρχικά μόρια και επομένως συμπεριφέρονται διαφορετικά στο περιβάλλον.[10]

Η υδρόλυση μπορεί να καθορίζεται συνήθως από μια απλή αντίδραση ψευδούς πρώτης τάξεως:

$$-\frac{d[C]}{dt} = k_{obs}[C] \quad (1)$$

Όπου $[C]$: η μοριακή συγκέντρωση της ενώσεως και k_{obs} : είναι ο παρατηρούμενος ρυθμός της ψευδούς πρώτης τάξεως αντίδρασης. Αυτή η σταθερά ρυθμού μπορεί να περιέχει συνεισφορές από υδρόλυση καταλυμένη από οξύ, αλκαλική υδρόλυση, και ουδέτερη υδρόλυση. Άρα

$$k_{obs} = k_a[H^+] + k_b[HO^-] + k_n \quad (2)$$

Όπου k_a , k_b και k_n είναι η συγκεκριμένη σταθερά ρυθμού για την υδρόλυση καταλυμένη από οξύ, αλκαλική υδρόλυση, και ουδέτερη υδρόλυση, αντίστοιχα.

Όταν μια αντίδραση ακολουθεί την κινητική πρώτης τάξης, η συγκέντρωση μειώνεται εκθετικά με το χρόνο. Σύμφωνα με την εξίσωση (1), μια γραφική παράσταση του $\ln[C]$ ενάντια στο χρόνο θα είναι γραμμική, με κλίση k_{obs} .

Η ημιζωή υδρόλυσης, είναι ο χρόνος που απαιτείται για να εξαφανιστεί το 50% της ένωσης και καθορίζεται από τη παρακάτω εξίσωση:

$$t_{1/2} = \frac{\ln(2)}{k_{obs}} \quad (3)$$

Στα υδρόβια περιβάλλοντα η υδρόλυση του endosulfan αναμένεται να είναι ταχύτερη στις αλκαλικές συνθήκες, από ότι στις όξινες συνθήκες. Επιπλέον, οι αντιδράσεις παρουσιάζουν ευαισθησία στη θερμοκρασία. Οι χημικοί ρυθμοί αντίδρασης

αυξάνονται γενικά με την θερμοκρασία. Η εξάρτηση της σταθεράς χρόνου από την θερμοκρασία εκφράζεται από την εξίσωση Arrhenius. [10]

2.8 Αντιδράσεις Φωτοχημικών Μετασχηματισμών

Η άμεση φωτόλυση, μία αντίδραση μετασχηματισμού η οποία αρχίζει με την επίδραση του φωτός, είναι μια συνάρτηση της ενέργειας πρόσπτωσης στο μόριο και την κβαντική απόδοσης της χημικής ένωσης.

Όταν το φώς “χτυπά” το μόριο του ρυπαντή, το ενεργειακό περιεχόμενο του μορίου αυξάνεται και το μόριο φτάνει σε μια διεγερμένη ηλεκτρονική κατάσταση. Η διεγερμένη αυτή κατάσταση είναι ασταθής και το μόριο φτάνει ένα επίπεδο κανονικής (χαμηλότερης) ενεργείας μέσω δύο δρόμων: (1) χάνει το “επιπλέον” του ενεργείας μέσω εκπομπής ενέργειας, δηλαδή φθορισμό ή φωσφορισμό, ή (2) μετατρέπεται σε ένα διαφορετικό μόριο μέσω της νέας κατανομής ηλεκτρονίων, που υπήρχαν στη διεγερμένη κατάσταση. Συνήθως η οργανική ένωση οξειδώνεται.

Η φωτόλυση μπορεί να είναι άμεση ή έμμεση. Η έμμεση φωτόλυση λαμβάνει χώρα όταν ένα ενδιάμεσο μόριο ενεργοποιείται, το οποίο στη συνέχεια αντιδρά με τη χημική ένωση που ενδιαφέρει. Η βασική εξίσωση για την άμεση φωτόλυση είναι του τύπου:

$$\frac{dC}{dt} = -k_p C$$

Όπου C είναι η συγκέντρωση της οργανικής ένωσης, και k_p είναι η σταθερά ταχύτητας της φωτόλυσης. Οι σταθερές ταχύτητες της φωτόλυσης μπορούν να μετρηθούν στο πεδίο με το ηλιακό φώς ή κάτω από εργαστηριακές συνθήκες.[14]

2.9 Αντιδράσεις ρόφησης

Το Endosulfan στο φυσικό νερό, μπορεί να προσροφηθεί στην αιωρούμενη σωματιδιακή ύλη ή στα ιζήματα. Ο μηχανισμός και οι διεργασίες με τις οποίες λαμβάνει χώρα το φαινόμενο αυτό είναι οι εξής:

- (1) φυσική προσρόφηση που οφείλεται σε δυνάμεις Van der Waals,

- (2) χημειορόφηση, που οφείλεται σε ένα χημικό δεσμό ή σε επιφανειακή αντίδραση συντονισμού και
- (3) διαχωρισμός της οργανικής ένωσης στη φάση του οργανικού άνθρακα των σωματιδίων.

Η φυσική ρόφηση είναι καθαρά ένα επιφανειακό ηλεκτροστατικό φαινόμενο. Οι επιφανειακές αντιδράσεις συντονισμού έχουν ως αποτέλεσμα τη δημιουργία δεσμού ανάμεσα στην πλευρά του σωματιδίου που μπορεί να δημιουργήσει δεσμό και το διαλυμένο οργανικό μόριο. Ο διαχωρισμός, που αναφέρεται στη διάχυση των υδρόφοβων οργανικών ενώσεων στην οργανική φάση της σωματιδιακής ύλης, είναι περισσότερο ένα φαινόμενο απορρόφησης παρά μια επιφανειακή αντίδραση και μπορεί να συμβεί αργά, από λεπτά έως μέρες. Η προσρόφηση –εκρόφηση στα φυσικά νερά είναι, στις περισσότερες περιπτώσεις, μια αντιστρέψιμη αντίδραση. Η ρόφηση των τοξικών ουσιών στα αιωρούμενα σωματίδια και τα ιζήματα αποτελεί ένα σημαντικό μηχανισμό μεταφοράς. Ο διαχωρισμός μίας χημικής ενώσεως ανάμεσα στη σωματιδιακή ύλη και τη διαλυμένη φάση δεν αποτελεί μία διαδρομή μετασχηματισμού, απλά συσχετίζει τη συγκέντρωση της διαλυμένης και ροφημένης κατάστασης της χημικής ένωσης.

Ο συντελεστής διαχωρισμού οκτανόλης/νερού, K_{ow} , σχετίζεται με τη διαλυτότητα μίας χημικής ένωσης στο νερό. Όσο λιγότερο διαλύτη είναι μια χημική ένωση στο νερό, τόσο περισσότερο πιθανό είναι να ροφηθεί στις επιφάνειες των ιζημάτων ή των αιωρούμενων σωματιδίων.[14]

3. Τεχνικές προετοιμασίας δείγματος

3.1 Γενικά

Τα τελευταία χρόνια η ανάγκη να αναπτυχθούν γρήγορα ακριβείς και ευαίσθητες μεθοδολογίες ανάλυσης, οδήγησε στην ανάπτυξη πολλών αναλυτικών τεχνικών και μεθόδων και σε μεγάλες τεχνολογικές προόδους στα αναλυτικά όργανα. Ωστόσο, ένα μειονέκτημα αυτών των τεχνικών είναι ότι απαιτείται ένα στάδιο προετοιμασίας του δείγματος, αφού δεν μπορούν να αντιμετωπιστούν άμεσα οι ρύποι που βρίσκονται στις διαφορές συνθέτες μήτρες (όπως τα εκχυλίσματα φυτών, τα ιζήματα και τα βιολογικά υγρά). Για ανάλυση μικρό-ποσοτήτων οργανικών ενώσεων το στάδιο αυτό περιλαμβάνει την εκχύλιση, η οποία χρησιμεύει στην απομόνωση της ένωσης από την μήτρα του δείγματος. Τελικά η συγκέντρωση των ενώσεων ενισχύεται (εμπλουτισμός) και η παρουσία των ενώσεων στη μήτρα μειώνεται (καθαρισμός δειγμάτων).[15]

3.2 Μέθοδος υγρής-υγρής εκχύλισης - Liquid-liquid extraction (LLE)

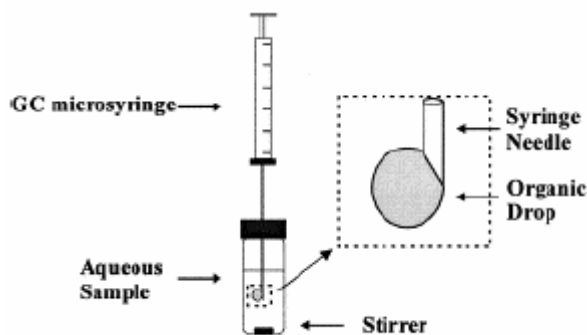
Η LLE είναι η παραδοσιακή τεχνική για την εκχύλιση των οργανικών αναλυτών από δείγματα ύδατος. Βασίζεται στη κατανομή των διαλυμένων αναλυτών συμφώνα με τους συντελεστές κατανομής τους, μεταξύ δυο φάσεων που αναμιγνύονται ελάχιστα μεταξύ τους. Συνήθως η μια από τις δύο φάσεις είναι ένα υδατικό διάλυμα, ενώ η άλλη ένας οργανικός διαλύτης. Η μετατόπιση της ισορροπίας προς την οργανική φάση που επιφέρει σε αυτή, αυξημένο εμπλουτισμό μπορεί να επιτευχθεί με την προσθήκη ενός άλατος στην υδατινή φάση. Παρόλο που έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως, η LLE θεωρείται ως μια χρονοβόρα με πολλά στάδια λειτουργίας τεχνική, η οποία λόγω σχηματισμού γαλακτώματος εμποδίζει τη δυνατότητα αυτοματισμού της. Επίσης χρησιμοποιούνται μεγάλες ποσότητες τοξικών διαλυτών, οι οποίοι θέτουν σε κίνδυνο την υγεία του προσωπικού και συντελούν στην παραγωγή επικίνδυνων εργαστηριακών αποβλήτων, γεγονός που προσθέτει επιπλέον κόστος στην διαχείριση αυτών.[15]

Λόγω της ανάγκης να εξαλειφθούν αυτά τα μειονεκτήματα, έχουν αναπτυχθεί καινούργιες τεχνικές προετοιμασίες τις τελευταίες δεκαετίες, όπως είναι η μικρο-εκχύλιση στερεής φάσης (solid phase microextraction, SPME), η μικροεκχύλιση μικροσταγόνας (single drop microextraction, SDME) και η μικροεκχύλιση υγρής φάσης(

liquid phase microextraction, LPME) . Κύρια χαρακτηριστικά των νέων μεθόδων είναι η ταχύτητα, η αποτελεσματικότητα, η ευαισθησία, το μικρό κόστος και η δυνατότητα χρήσης όσο το δυνατόν μικρότερου όγκου τοξικού διαλύτη.[15]

3.3 Μικροεκχύλιση μικροσταγόνας (SDME)

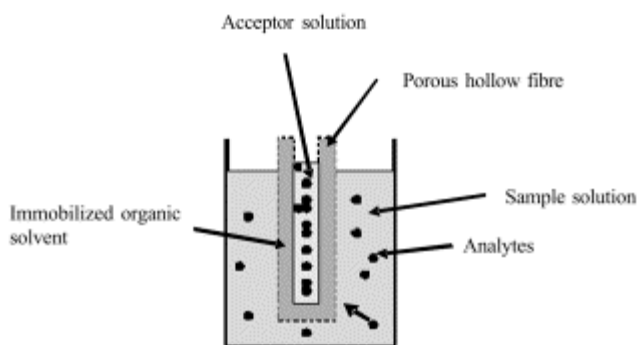
Μια σημαντική μέθοδος που αναπτύχθηκε από την μικροεκχύλιση με διαλύτη είναι η μικροεκχύλιση μικροσταγόνας (SDME), όπου το ρόλο του δέκτη έχει μια μικροσταγόνα οργανικού διαλύτη, μη αναμίξιμου με το νερό, η οποία κρέμεται πάνω από υδατικό διάλυμα (δότης). Αυτό είναι το σύστημα δύο φάσεων. Όταν η μικροσταγόνα έρθει σε επαφή με το υδατικό δείγμα, οι οργανικές ενώσεις μεταφέρονται στην φάση του οργανικού και έτσι επιτυγχάνεται προσυγκέντρωση των ουσιών προς ανάλυση. Μετά από ορισμένο χρονικό διάστημα, το οποίο έχει καθοριστεί κατά την διάρκεια της βελτιστοποίησης της μεθόδου, η μικρο-σταγόνα αποσύρεται μέσα στην μικροσύριγγα και μεταφέρεται στον θάλαμο εισαγωγής δειγμάτων ενός GC ή HPLC για ανάλυση. Η SDME, αν και είναι μια γρήγορη και οικονομική μέθοδος εκχύλισης, παρουσιάζει και κάποια σημαντικά μειονεκτήματα όπως το γεγονός ότι η εφαρμογή εκτεταμένων χρόνων δειγματοληψίας και μεγάλων ταχυτήτων ανάδευσης έχουν ως αποτέλεσμα πιθανή μετατόπιση και απώλεια της μικροσταγόνας.[15]



Σχήμα 3.1: Σχηματική αναπαράσταση συστήματος μικροεκχύλισης σταγόνας χωρίς επανεκχύλιση. [23]

3.4 Η μικροεκχύλιση υγρής φάσης(liquid phase microextraction, LPME)

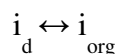
Ο όρος μικροεκχύλισης υγρής φάσης εισήχθη αρχικά για να περιγράψει το διαφασικό σύστημα στην μικροεκχύλιση διαλυτών. Στην συνέχεια επικράτησε να χρησιμοποιείται στις διατάξεις που ανέπτυξαν οι Rasmussen και Pedersen-Bjergaard. Χρησιμοποιεί πορώδεις, υδροφοβικές, κοίλες ίνες, που περιέχουν τον οργανικό διαλυτή (Σχήμα 2). Αυτή η νέα μέθοδος εκχύλισης αποτελεί μια ελκυστική εναλλακτική έναντι των υπόλοιπων τεχνικών εκχύλισης, επειδή πέρα από το ότι είναι απλή, οικονομική, γρήγορη και σχεδόν χωρίς χρήση διαλύτη, έχει αυξημένη ευαισθησία και λόγω της απορριπτέας φύσης της ίνας, ελαχιστοποιεί το σφάλμα λόγω μεταφοράς των αναλύσεων.[15]



Σχήμα 3.2 βασική αρχή της εκχύλισης στην LPME [10]

Υπάρχουν δύο διατάξεις που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την LPME: η διάταξη δύο φάσεων και η διάταξη τριών φάσεων.[15]

Στην διάταξη δύο φάσεων, ο αναλύτης i εκχυλίζεται από ένα υδατικό δείγμα (δότης) μέσω ενός αδιάλυτου στο νερό διαλύτη ο οποίος βρίσκεται στους πόρους της ίνας και μεταφέρεται στο εσωτερικό της ίνας, όπου περιέχεται ο ίδιος διαλύτης (δέκτης). Η διαδικασία μπορεί να παρουσιαστεί ως εξής:



αυτή η διαδικασία χαρακτηρίζεται από την σταθερά (ή θερμοδυναμικό συντελεστή) κατανομής $K_{org/d}$ που ορίζεται ως ο λόγος των συγκεντρώσεων του αναλύτη i στην οργανική και στη φάση του δότη, σε κατάσταση ισορροπίας. [15]

Για να είναι πετυχημένη η εφαρμογή της LPME δύο φάσεων, απαιτούνται μεγάλες τιμές σταθερών κατανομής για τους αναλύτες-στόχους. Τέτοιες τιμές $K_{org/d}$ αντιστοιχούν σε μέτρια ή πολύ υδροφοβικές ενώσεις που έχουν όξινες ή βασικές ομάδες ή σε ουδέτερες ενώσεις με ισοδύναμη υδροφοβικότητα. [15]

Θα πρέπει να αναφερθεί ότι η LPME δύο φάσεων δίνει εκχύλισμα σε οργανική φάση, συμβατό με αναλυτικές τεχνικές όπως η GC και η HPLC .[15]

Στην LPME τριών φάσεων, ο αναλύτης i, εκχυλίζεται από την υδατική φάση (διάλυμα δότη) μέσω οργανικού διαλύματος που είναι σταθεροποιημένο μέσα στους πόρους κοίλης ίνας (οργανική φάση), σε άλλη υδατική φάση (διάλυμα δέκτης), στο εσωτερικό της ίνας. Στην περίπτωση αυτή, η οργανική φάση αποτελεί ένα φράγμα μεταξύ των δύο φάσεων, δότη και δέκτη, έτσι ώστε να μην υπάρχει ανάμιξή τους. Αφού το τελικό διάλυμα είναι υδατικό, η τριών φάσεων LPME, συνδυάζεται συνήθως με HPLC ή με σύστημα τριχοειδούς ηλεκτροφόρησης (capillary electrophoresis, CE).[15]

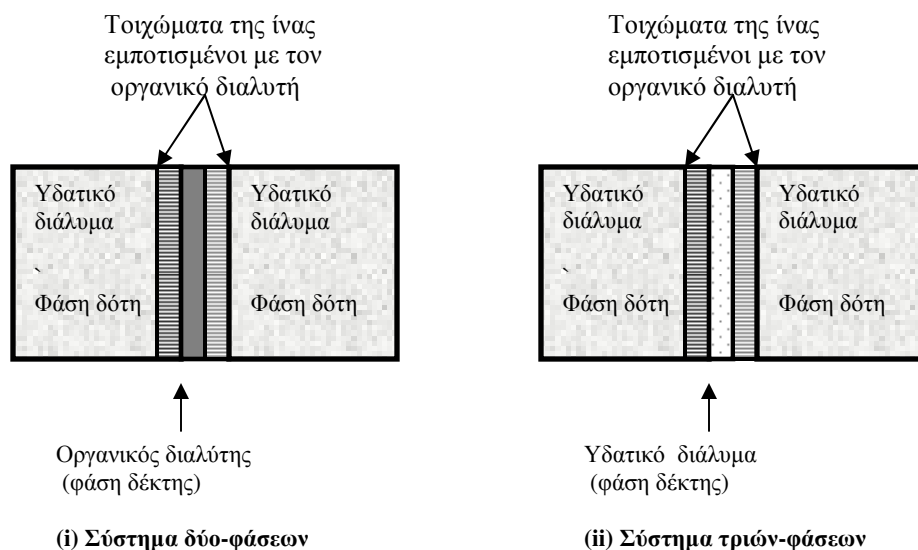
Σε γενικές γραμμές, η διεργασία εκχύλισης τριών φάσεων μπορεί να περιγραφεί από την παρακάτω σχέση:

$$i_d \leftrightarrow i_{org} \leftrightarrow i_a$$

Η διεργασία αυτή χαρακτηρίζεται από δύο σταθερές κατανομής, την $K_{org/d}$ και την $K_{a/org}$, οι οποίες είναι αντίστοιχα οι σταθερές μεταξύ της οργανικής φάσης και του δότη και μεταξύ του δέκτη και της οργανικής φάσης. Η συνολική σταθερά κατανομής βρίσκεται από το γινόμενο των επιμέρους σταθερών, δηλαδή:

$$K_{a/d} = K_{org/d} \cdot K_{a/org}$$

Η κατάλληλη ρύθμιση της σύνθεσης των φάσεων του δέκτη και του δότη, είναι πολύ σημαντική για να πετύχει η LPME τριών φάσεων. Μεγάλες τιμές $K_{a/d}$ ($>>1$), μπορούν να επιτευχθούν, όταν οι αναλύτες στη φάση του δέκτη εμπλέκονται σε αντιδράσεις, όπως η πρωτονίωση και η συμπλοκοποίηση δίνοντας ενώσεις που έχουν μικρή συγγένεια με την οργανική φάση[15].



Σχήμα 3.3 Τομή του εσωτερικού της κοίλης ίνας στο υδατικό διάλυμα στη (i) δύο φάσεων και (ii) τριών φάσεων LPME.[15]

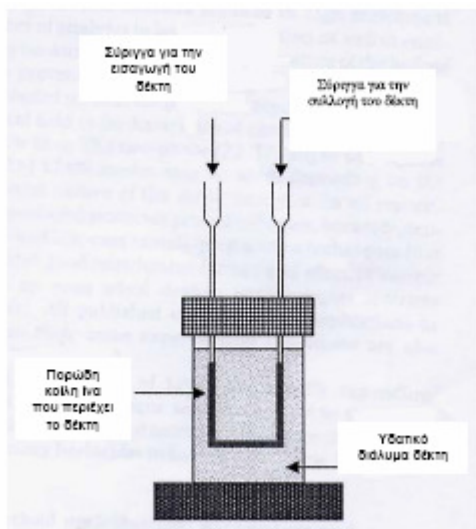
3.4.1 Διατάξεις της ίνας για τις LPME δύο και τριών φάσεων

Υπάρχουν δύο τρόποι για να χρησιμοποιηθεί η ίνα στην μέθοδο LPME δύο ή τριών φάσεων.

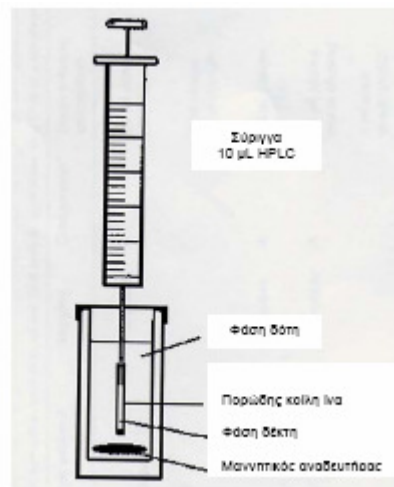
Στην πρώτη περίπτωση δύο συνηθισμένες ιατρικές βελόνες από σύριγγες σταθεροποιούνται σε ένα ελαστικό πώμα (septum) και συνδέονται στις άκρες με ένα κομμάτι ίνας το μήκος της οποίας ποικίλει από 4-8 cm ή και περισσότερο. Η ίνα βυθίζεται για λίγα δευτερόλεπτα στον οργανικό διαλύτη για να εμποτιστεί με αυτόν. Ακολούθως ο σχηματισμός ίνας-βελονών βυθίζεται στο υδατικό διάλυμα του δότη που βρίσκεται μέσα σε γυάλινο δοχείο και ακινητοποιείται με κάποιο υλικό στο στόμιο του γυάλινου δοχείου (Σχήμα 4). Με τη βοήθεια μιας μικροσύριγγας το διάλυμα του δέκτη εισάγεται στο κοίλο χώρο της ίνας και αφού η μικροεκχύλιση ολοκληρωθεί, το πλέον εμπλουτισμένο με τον αναλύτη διάλυμα του δέκτη συλλέγεται και υποβάλλεται σε ανάλυση[15].

Στην δεύτερη περίπτωση μια βελόνα ιατρικής σύριγγας στερεοποιείται σε ένα ελαστικό πώμα (septum) και στην άκρη της συνδέεται ένα κομμάτι πορώδους κοίλης ίνας ενώ το άλλο άκρο της ίνας είναι ελεύθερο (Σχήμα 5). Αφού όπως και παραπάνω οι

πόροι της ίνας τροφοδοτηθούν με τον κατάλληλο οργανικό διαλύτη, εισάγεται το διάλυμα του δέκτη στην βελόνα μέσω μιας μικροσύριγγας. Μετά την ολοκλήρωση της εκχύλισης το διάλυμα του δέκτη επανααρροφάται και υποβάλλεται σε ανάλυση[15].



Σχήμα 3.4 Σχηματική αναπαράσταση της διάταξης της ίνας, όταν δύο σύριγγες συνδέονται σε κάθε άκρο της κοίλης ίνας[15].



Σχήμα 3.5: Διάταξη με μικροσύριγγα για την στήριξη της ίνας, εισαγωγή και συλλογή του διαλύτη-δέκτη και την εισαγωγή δείγματος σε αναλυτικά όργανα[15].

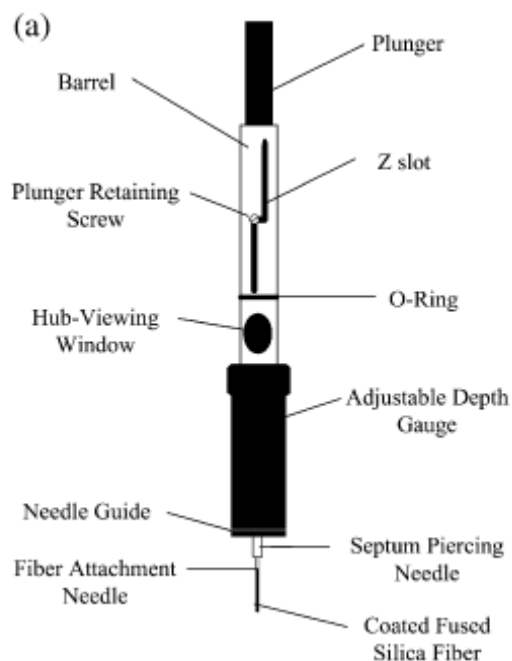
3.5 Μικροεκχύλιση στερεής φάσης (Solid Phase Microextraction)

Η SPME προτάθηκε από τους Arthur και Pawliszyn πριν από αρκετά χρόνια σε μια προσπάθεια να επανορθώσουν τους περιορισμούς που ήταν έμφυτοι στο SPE και LLE. Κέρδισε γρήγορα την ευρεία αποδοχή, επειδή σε ένα μόνο βήμα, χωρίς την χρήση διαλύτη, γίνεται δειγματοληψία, εκχύλιση, συγκέντρωση και εισαγωγή δειγμάτων στο αναλυτικό όργανο, με αποτέλεσμα να βελτιώνεται το όριο ανίχνευσης του δείγματος σε μικρότερο χρόνο προετοιμασίας [17].

Η τεχνική αυτή μοιάζει με την εκχύλιση στερεής φάσης (Solid Phase Extraction, SPE). Διαφέρει με την SPE στο ότι το προσροφητικό υλικό βρίσκεται στην επιφάνεια ίνας και όχι πακεταρισμένο σε στήλη ή τοποθετημένο πάνω σε επίπεδο δίσκο. Επίσης, ενώ η SPE είναι μέθοδος εξαντλητικής εκχύλισης και χρησιμοποιείται σε υγρά δείγματα, η SPME βασίζεται στην επίτευξη ισορροπίας, δηλαδή δεν είναι εξαντλητική και μπορεί να χρησιμοποιηθεί και για αέρια και στερεά δείγματα[18].

Η SPME είναι μια μέθοδος κατά την οποία μικρή ποσότητα από τον διαλυτή για την εκχύλιση, στηριζόμενη σε στερεή φάση (ίνα), εκτίθεται στο δείγμα. Στη συνέχεια και μετά από κατάλληλο χρονικό διάστημα, γίνεται η ανάλυση σε αέρια χρωματογραφία(GC) ή σε υγρή χρωματογραφία υψηλής πίεσης(HPLC)[15].

Η μεταφορά των αναλυτών από τη μήτρα του δείγματος στο μέσο εκχύλισης ξεκινά από τη στιγμή εισαγωγής της καλυμμένης ίνας στο δείγμα. Στις περισσότερες περιπτώσεις ,η εκχύλιση SPME, θεωρείται ότι τελειώνει με την επίτευξη συγκέντρωσης ισορροπίας για την υπό ανάλυση ουσία, μεταξύ του δείγματος και της επικάλυψης της ίνας. Στην πράξη, αυτό σημαίνει ότι μόλις επιτευχθεί η ισορροπία, το ποσό που εκχυλίζεται είναι σταθερό, μέσα στα όρια του πειραματικού σφάλματος, και είναι ανεξάρτητο από τις περαιτέρω αυξήσεις στο χρόνο εκχύλισης[18].



Σχήμα 3.6 η εμπορικά διαθέσιμη συσκευή SPME[18].

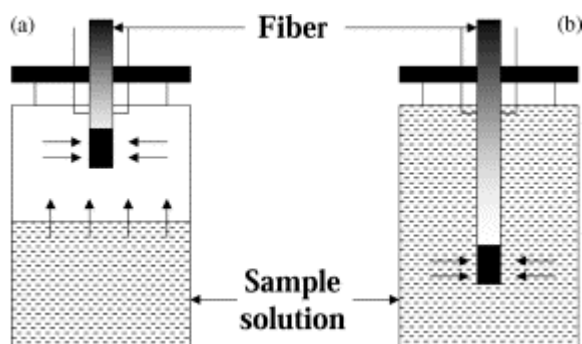
Η SPME αριθμεί ως σήμερα μεγάλη ποσότητα αναφορών σε ευρύ φάσμα εφαρμογών, όπως οι περιβαλλοντικές αναλύσεις, η ανάλυση τροφίμων, οι κλινικές έρευνες και οι εγκληματολογικές αναλύσεις. Το κύριο πλεονέκτημα της SPME είναι η καλή αναλυτική συμπεριφορά της, σε συνδυασμό με την απλότητα και το χαμηλό της κόστος. Τα κύρια προβλήματα που αντιμετωπίζονται συνήθως με SPME, περιλαμβάνουν

την περιορισμένη διάρκεια ζωής των ινών SPME, την σχετικά εύθραυστη φύση τους και τη δυνατότητα της μεταφοράς μεταξύ των αναλύσεων.[15,17]

3.5.1 Διαδικασία SPME

Η διαδικασία της SPME, περιλαμβάνει δυο βήματα: καταρχάς, ο αναλυτής-στόχος εκχυλίζεται από μια μήτρα δειγμάτων, με την έκθεση μιας επικαλυμμένης ίνας στο δείγμα για έναν προκαθορισμένο χρόνο. Η ίνα αφαιρείται από το δείγμα και ο αναλυτής εκροφάται έπειτα σε ένα αναλυτικό όργανο, προκειμένου να χωριστεί και να ποσοτικοποιηθεί. Το βήμα εκρόφησης πραγματοποιείται συνήθως με την τοποθέτηση της ίνας στον καυτό εγχυτήρα της συσκευής αέριας χρωματογραφίας (θερμική εκρόφηση)[22].

Η SPME μπορεί να γίνει είτε με εμβάπτιση (DI- SPME) της ίνας στο δείγμα ή με σύλληψη από τον υπερκείμενο χώρο (HS- SPME). Στην εμβάπτιση, η ίνα βυθίζεται άμεσα στο υγρό ή στο αεριώδες δείγμα, ενώ σε HS-SPME η ίνα κρεμίζεται στο χώρο πάνω από το δείγμα όπως φαίνεται και στο **Σχήμα 2.7**. Η εμβάπτιση (DI- SPME) μπορεί να εφαρμοστεί στην ανάλυση των αεριωδών και σχετικά καθαρών υγρών δειγμάτων. Η HS- SPME είναι καλύτερη για την ανάλυση των πιο βρώμικων υγρών δειγμάτων και μπορεί επίσης να εφαρμοστεί στα στερεά δείγματα[22].



Σχήμα 3.7 Τύποι εκχύλισης: headspace(αριστερά) και immersion (δεξιά)[18].

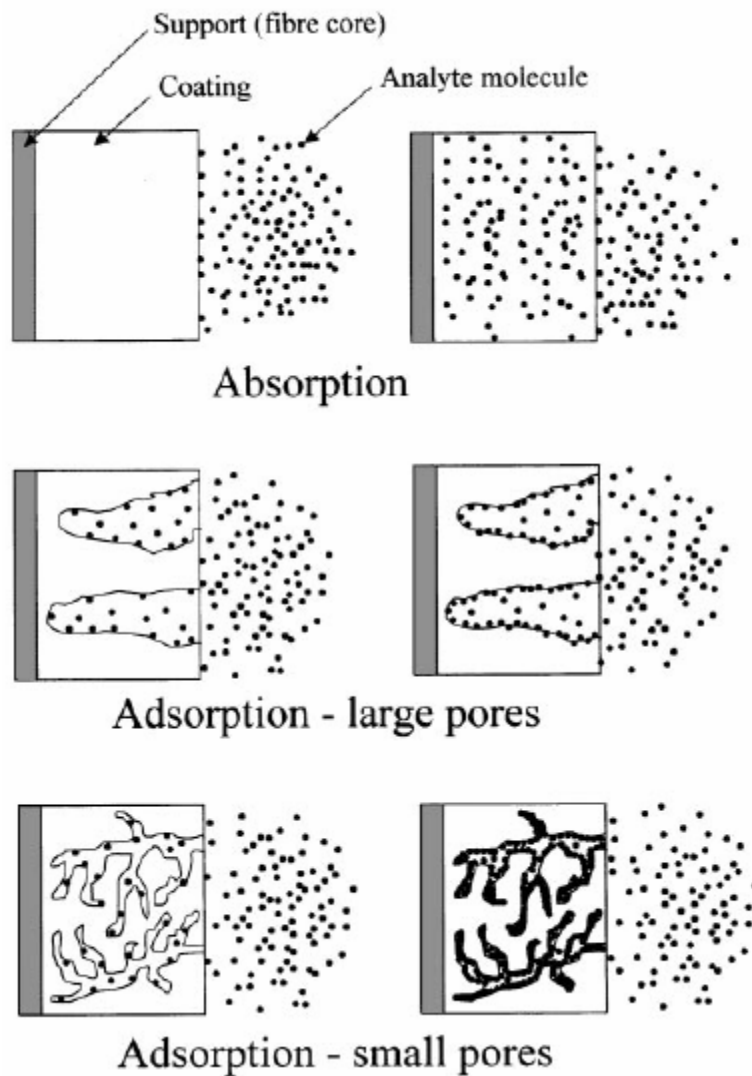
3.5.2 Παράγοντες που επηρεάζουν την εκχύλιση:

Οι πιο σημαντικοί παράγοντες που επηρεάζουν την ακρίβεια στην SPME παρουσιάζονται παρακάτω:

- **Η ίνα**

Η χημική φύση των αναλυτών καθορίζει τον τύπο του πολυμερούς που θα χρησιμοποιηθεί για την εκχύλιση. Η επιλογή στηρίζεται συνήθως στην πολικότητα και την πτητικότητα του αναλύτη-στόχου. Ο απλός κανόνας «το όμοιο διαλύει το όμοιο» μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την περίπτωση του υγρού πολυμερούς περιβλήματος. [18] Υπάρχουν διαφορετικοί τύποι καλύμματος SPME διαθέσιμα στο εμπόριο. Το πολυδιμεθυλοσιλοξάνιο (polydimethylsiloxane, PDMS) που είναι το πιο συχνά χρησιμοποιούμενο κάλυμμα, είναι ένα υγρό κάλυμμα. Αν και μοιάζει με στερεό, είναι στη πραγματικότητα ένα ελαστικό υγρό με υψηλό ιξώδους. Το PA είναι ένα στερεό κρυστάλλινο κάλυμμα που μετατρέπεται σε υγρό στις θερμοκρασίες εκρόφησης. Τόσο το PDMS όσο και το PA, εκχυλίζουν (τις αναλύτες) μέσω της διαδικασίας της απορρόφησης (absorbtion). Τα υπόλοιπα καλύμματα- το PDMS–DVB (divinylbenzene), το Carbowax–DVB, το Carbowax–TR (template resin—DVB με ομοιόμορφα μεγέθη πόρων) και το Carboxen είναι μικτά καλύμματα. Η βασική φάση εκχύλισης στα αυτά τα μικτά καλύμματα είναι ένα πορώδες στερεό που εκχυλίζει τους αναλύτες μέσω της διαδικασίας της προσρόφησης (adsorbtion).[31]

Το **σχήμα 3.8** παρουσιάζει την αρχική κατάσταση και την κατάσταση ισορροπίας της διαδικασίας εκχύλισης για τα κατά ‘απορρόφησης και προσρόφησης’ –τύπων καλυμμάτων SPME.



Σχήμα 3.8 Σύγκριση των -απορροφητικής και προσροφητικής- μηχανισμών εκχύλισης (διατομές των καλυμμένων ινών). Τα διαγράμματα στο αριστερό παρουσιάζουν τα αρχικά στάδια της διαδικασίας. Τα διαγράμματα στη δεξιά παρουσιάζουν την κατάσταση ισορροπίας.

Παχύτερα καλύμματα απαιτούν μεγαλύτερους χρόνους ισορροπίας και έτσι, το κάλυμμα θα πρέπει να είναι όσο το δυνατό λεπτότερο, για να παρέχει ικανοποιητική ευαισθησία για την ανίχνευση. [18] Στον **πίνακα 3.1** φαίνονται τα εμπορικά διαθέσιμα καλύμματα για την SPME.

Στερεή Φάση	Συνιστώμενη Χρήση
<i>Polydimethylsiloxane (PDMS)</i>	
100μm/non bonded	Πτητικά
30μm/non bonded	Μη πολικά ημι-πτητικά
7μm/bonded	Μέσης πολικότητα έως μη πολικά ημι-πτητικά
<i>Polydimethylsiloxane/divinylbenzene (PDMS/DVB)</i>	
65μm/ partially crosslinked	Πολικά πτητικά
65μm/ partially crosslinked	Γενικής χρήσης (μόνο για HPLC)
<i>Polydimethylsiloxane/Carboxen(PDMS/Carboxen)</i>	
75μm/ partially crosslinked	Πτητικά ιχνοποσότητες
<i>Carbowax/divinylbenzene(CW/DVB)</i>	
65μm/ partially crosslinked	Πολικοί αναλύτες
<i>Carbowax/templated resin(CW/TRP)</i>	
50μm/ partially	Απορρυπαντικά (μόνο για HPLC)
<i>Polyacrylate</i>	
85μm/ partially crosslinked	Πολικά ημι-πτητικά

Πίνακας 3.1: Εμπορικά διαθέσιμες ίνες για την (SPME) (Supelco, Bellefonte, PA)[18].

- **Χρόνος εκχύλισης**

Δεδομένου ότι η SPME βασίζεται σε μια διαδικασία ισορροπίας, το μέγιστο ποσό του αναλυτή θα εκχυλιστεί στο χρόνο ισορροπίας. Το ανακάτωμα (η ανάδευση) του δείγματος μειώνει το χρόνο που απαιτείται για να επιτευχθεί η ισορροπία επειδή ενισχύει τη διάχυση του αναλυτή προς την ίνα. Ενώσεις με χαμηλούς συντελεστές κατανομής έχουν συνήθως μεγάλους χρόνους ισορροπίας, έτσι μπορεί να επιλεγεί ένας χρόνος εκχύλισης μικρότερος από τον χρόνο ισορροπίας. Όμως σε αυτήν την περίπτωση, ο χρόνος έκθεσης πρέπει να ελεγχθεί πολύ καλά για να εξασφαλιστούν καλά στοιχεία, που να μπορούν να αναπαραχθούν[22].

- **Θερμοκρασία εκχύλισης**

Αύξηση στην θερμοκρασία εκχύλισης προκαλεί αύξηση στο ρυθμό εκχύλισης, δεδομένου ότι ενισχύει την διάχυση του αναλυτή προς την ίνα. Επιπλέον, στον τρόπο δειγματοληψίας HS-SPME, η θερμοκρασία βοηθά στη μεταφορά του αναλυτή στον

υπερκεείμενο χώρο. Αυτή η αύξηση στη θερμοκρασία, μειώνει τον συντελεστή κατανομής του αναλυτή, επειδή το βήμα απορρόφησης είναι μια εξωθερμική διαδικασία. Ο Pawliszyn et al. εισήγαγαν μια τροποποίηση SPME, η αποκαλούμενη εσωτερικά δροσισμένη ίνα SPME, για να λύσουν αυτό το πρόβλημα. Αυτή η συσκευή επιτρέπει στο δείγμα να θερμαίνεται καθώς η ίνα δροσιζεται ταυτόχρονα, καθιστώντας κατά συνέπεια τη διαδικασία εκχύλισης αποδοτικότερη[22].

- **Ρύθμιση pH και προσθήκη άλατος**

Η ρύθμιση του pH του δείγματος μπορεί να βελτιώσει την ευαισθησία της μεθόδου για βασικούς και όξινους αναλύτες. Αυτό σχετίζεται με το γεγονός ότι η SPME μπορεί να εκχυλίσει μόνο ουδέτερα (μη ιονικά) είδη από το νερό, εκτός και αν χρησιμοποιείται κάλυμμα ιονταλλαγής. Με κατάλληλη ρύθμιση του pH, τα ασθενή οξέα και οι βάσεις μπορούν να μετατραπούν στην ουδέτερή τους μορφή για την εκχύλιση με την ίνα SPME. Για να εξασφαλιστεί ότι τουλάχιστο το 99% του όξινου συστατικού είναι σε ουδέτερη μορφή, το pH θα πρέπει να είναι τουλάχιστο δυο μονάδες χαμηλότερο από την pK_a του αναλύτη. Για βασικούς αναλύτες, το pH θα πρέπει να είναι μεγαλύτερο από την pK_b κατά δύο μονάδες[18].

Οι περισσότερες μελέτες έχουν δείξει ότι η κατακράτηση του αναλυτή στη επικάλυψη της ίνας αυξάνεται με τη προσθήκη ενός άλατος, συνήθως χλωριούχο νάτριο. Παραδείγματος χάριν για πολικούς αναλύτες όπως οι τριαζίνες, η ευαισθησία μπορεί να αυξηθεί από έναν παράγοντα μέχρι δέκα. Αυτή η προσθήκη άλατος αυξάνει συνήθως την ιονική ισχύ του δείγματος. Αυτό μειώνει τη διαλυτότητα των αναλυτών με αποτέλεσμα να κατακρατούνται ευκολότερα. Αυτή η επίδραση δεν είναι γενική και εξαρτάται από την πολικότητα του αναλυτή, τη συγκέντρωση του άλατος και τη μήτρα δειγμάτων[22].

- **Προσθήκη διαλυτή**

Η παρουσία ενός οργανικού διαλυτή στα δείγματα νερού μειώνει συνήθως τη ποσότητα του αναλύτη που εκχυλίζεται. Παραδείγματος χάριν, έχει αποδειχθεί ότι η αύξηση της περιεκτικότητας σε μεθανόλη μέχρι 20%, μειώνει τις κορυφές των ενώσεων τριαζίνης κατά δυο παράγοντες. Σε αντίθεση, στα χώματα και στις λάσπες, η προσθήκη του νερού ή των οργανικών διαλυτών στη μήτρα δειγμάτων βοηθά στην αφαίρεση των

κατάλοιπων από τη μήτρα και ενισχύει τη διάχυση τους από το δείγμα προς το επίστρωμα ινών[22].

- **Ανάδευση του δείγματος**

Η αναταραχή (ανάδευση) του δείγματος χρησιμοποιείται προκειμένου να ενισχυθεί την ανάκτηση της εκχύλισης με το χρόνο ή για να μειώσει το χρόνο ισορροπίας. Οι μέθοδοι ανάδευσης που χρησιμοποιούνται, περιλαμβάνουν: την ανάδευση με μαγνήτη, το sonification, τη δόνηση ινών και τη ροή μέσω των κυττάρων. Οι σκληροί τρόποι ανάδευσης όπως το sonification μπορούν να έχουν επιπτώσεις στην επικάλυψη, άρα πρέπει να εφαρμοστούν με πολύ προσοχή[21].

- **Όγκος δείγματος**

Η ευαισθησία που επιτυγχάνεται με τη μέθοδο της SPME εξαρτάται από τον αριθμό των mol του αναλύτη που εκχυλίζονται από το δείγμα. Όταν ο όγκος του δείγματος είναι πολύ μεγαλύτερος από τον όγκο του καλύμματος της ίνας, η ποσότητα του αναλύτη που εκχυλίζεται είναι ανεξάρτητη από τον όγκο του δείγματος σε περίπτωση ισορροπίας. Εάν ο διαθέσιμος όγκος δείγματος δεν είναι σημαντικά μεγαλύτερος από τον όγκο του καλύμματος, χρειάζεται προσοχή στη μέτρηση του όγκου δείγματος. Επίσης, πρέπει να αποφεύγονται και οι απώλειες λόγω εξάτμισης, προσρόφησης ή μικροβιακής δραστηριότητας[18]. Το πόσο του αναλύτη που εκχυλίζεται είναι ανάλογο μόνο προς το συντελεστή κατανομής, τη συγκέντρωση δείγματος και τον όγκο της ίνας. Οι συντελεστές κατανομής (k_{fs}) των δειγμάτων μεταξύ της μήτρας δείγματος και της ίνας πρέπει να εξεταστούν επειδή ενώσεις με μεγάλο k_{fs} επηρεάζονται περισσότερο από τις αλλαγές στον όγκο δειγμάτων σε σύγκριση με τις ενώσεις με μικρές συγγένειες στην ίνα. Για αυτόν τον λόγο, ένα καλό κριτήριο για την επιλογή του καλύτερου όγκου δειγμάτων χρησιμοποιεί την τιμή k_{fs} για τους αναλυτές.[21].

- **Οι επιδράσεις της μήτρας**

Οι έρευνες που έγιναν για τον καθορισμό της επίδρασης της μήτρας στην αποδοτικότητα εκχύλισης των αναλυτών έδειξαν ότι οι οργανικές ουσίες όπως τα χουμικά και φουλβικά οξέα που βρίσκονται στα δείγματα νερού, μπορούν να μειώσουν

το ποσό του αναλυτή που εκχυλίζεται εξαιτίας της αλληλεπίδρασης μεταξύ της διαλυμένης οργανικής ουσίας (dissolved organic matter, DOM) και των αναλυτών[21].

3.5.3 Η διαδικασία εκρόφησης

Τα κατάλοιπα που διατηρούνται στο επίστρωμα ινών μπορούν να εκροφηθούν από το GC ή το HPLC. Οι περισσότερες εφαρμογές SPME εκτελούνται χρησιμοποιώντας το GC επειδή ο συνδυασμός είναι πολύ απλός.

- **SPME-GC**

Η SPME μπορεί να συνδεθεί εύκολα με το GC επειδή ο εγχυτήρας του αέριου χρωματογράφου μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη θερμική εκρόφηση των καταλοίπων από την ίνα. Καθώς αυξάνεται η θερμοκρασία, μειώνεται η συγγένεια των καταλοίπων προς την ίνα με αποτέλεσμα να ελευθερώνονται. Επιπλέον, η ροή του φέροντος αερίου μέσα στον εγχυτήρα βοηθά επίσης στη αφαίρεση των καταλοίπων από την ίνα και στη μεταφορά τους στην χρωματογραφική στήλη. Για τις περισσότερες ενώσεις, η εκρόφηση επιτυγχάνεται συνήθως σε χρόνο λιγότερο από δύο λεπτά. Η θερμική εκρόφηση στην GC επηρεάζεται από διάφορες παραμέτρους όπως η θερμοκρασία του εγχυτήρα και η ροή του φέροντος αερίου, η οποία καθορίζει και το χρόνο εκρόφησης της διαδικασίας SPME. Γενικά, η θερμοκρασία εγχυτήρων τίθεται στη μέγιστη θερμοκρασία για τη σταθερότητα του επιστρώματος ινών. Εντούτοις, οι ενώσεις με υψηλό μοριακό βάρος χρειάζονται κανονικά υψηλότερες θερμοκρασίες εκρόφησης από αυτή του εγχυτήρα. Συνεπώς, αυτές οι ενώσεις μπορούν να διατηρηθούν στο επίστρωμα της ίνας και να εμφανιστούν στις επόμενες αναλύσεις (carry-over effect). Η επίδραση αυτή περιορίζεται με την εφαρμογή υψηλής διάρκειας εκρόφησης.[21]

- **SPME-HPLC**

Η σύζευξη SPME-HPLC εισήχθηκε σχετικά πρόσφατα και αποδείχθηκε πιο σύνθετη από την σύζευξη SPME-GC επειδή χρειάζεται ειδική συσκευή σύζευξη για να εκροφήσει τους αναλύτες. Οι αναλύτες που διατηρούνται στη ίνα εκροφώνται με την προσθήκη ενός οργανικού διαλύτη στην ίνα καθώς αυτή βρίσκεται στο θάλαμο εκρόφησης. Εν συνεχεία, οι αναλύτες εισάγονται στη αναλυτική στήλη της HPLC από

την κινητή φάση. Οι παράγοντες που επηρεάζουν τη διαδικασία εκρόφησης στη HPLC, είναι η επιλογή του καταλληλότερου διαλύτη και η θέρμανση της διεπαφής. Δεδομένου ότι οι οργανικοί διαλύτες μπορούν να προκαλέσουν ζημία στην επικάλυψη της ίνας, δεν μπορούν όλες οι ίνες SPME να χρησιμοποιηθούν για τις εφαρμογές HPLC. Οι νέες ίνες SPME, όπως 65 μm PDMS-DVB και CW-TPR, οι οποίες έχουν συνδεδεμένες φάσεις (bonded phases) και αντιστέκονται στην προσθήκη των οργανικών διαλυτών, αναπτύχθηκαν ειδικά για τη χρήση HPLC. [21]

3.5.4 Εφαρμογές της SPME

Υπάρχει ένας μεγάλος αριθμός εφαρμογών που χρησιμοποιεί την SPME για προετοιμασία δειγμάτων, για την ανάλυση περιβαλλοντικών ρυπαντών σε μια ποικιλία υλικών, όπως εδάφη, νερά και αέρας. Η ανάλυση περιλαμβάνει το συνδυασμό της SPME με HPLC.[25]

Όπως και σε πολλές άλλες εφαρμογές, η SPME χρησιμοποιήθηκε σε συνδυασμό με το GC για την ανάλυση ουσιών σε βιολογικά υγρά. Ένα παράδειγμα είναι η ανάλυση SPME-GC-MS για την ανίχνευση μεθυλιωμένων ειδών αρσενικού στην ανθρώπινη ουρά.[25]

Διάφοροι ρυπαντές έχουν ανιχνευτεί σε υδατικά δείγματα με την SPME, χρησιμοποιώντας αέρια χρωματογραφία. Η δυνατότητα αυτής της μεθόδου φαίνεται από την ανίχνευση ενενήντα παρασιτοκτόνων και σχετικών συστατικών σε νερό ποταμού.[25]

Η SPME, έχει χρησιμοποιηθεί επίσης και για τοξικολογικές αναλύσεις, στις περισσότερες από τις οποίες ακολουθεί ανάλυση με GC. Ενδιαφέρουσα εφαρμογή αποτελεί η ανάλυση τριχών για ανίχνευση φαρμάκων ή ναρκωτικών. Η ανάλυση αλογονομένων διαλυτών στο ανθρώπινο σώμα είναι ακόμη μια περιοχή ενδιαφέροντος, με χρήση SPME και GC-FID ή GC-MS για τη ανάλυση των βιολογικών υγρών. Τέλος, τα εκρηκτικά αποτελούν μια μεγάλη περιοχή τοξικολογικής ανάλυσης, για την οποία έχει χρησιμοποιηθεί η SPME[25].

Στα πρόσφατα παραδείγματα της ανάλυσης τροφίμων για πτητικά συστατικά χρησιμοποιείται ιδιαίτερα ο συνδυασμός SPME-GC. Τυπικά παραδείγματα αποτελούν οι αναλύσεις μονοτερπενίου σε αιθέριο έλαιο από μέντα, πτητικών συστατικών σε ακτινίδια, συστατικά αρώματος και πτητικών στα κρασιά. Μια άλλη σημαντική ομάδα αποτελεί και η ανάλυση για ρυπαντές, όπως είναι τα παρασιτοκτόνα και τα ζιζανιοκτόνα ή οι πιθανές επικίνδυνες ουσίες. Στα παραδείγματα περιλαμβάνεται και η ανάλυση PCBs και χλωριωμένων παρασιτοκτόνων σε μύδια φράουλες και άλλα φρούτα[25].

Η ανάλυση αερίων δειγμάτων μπορεί να χωριστεί σε δύο υποκατηγορίες, την ανάλυση των πτητικών συστατικών και της σωματιδιακή ύλης. Για τα πτητικά οργανικά, είναι ιδιαίτερα δημοφιλής η μέθοδος SPME-GC και πιο συγκεκριμένα έχει γίνει ανάλυση πτητικών συστατικών υδρογονανθράκων, πτητικών οργανικών ενώσεων του θείου, ανάλυση πεδίου και παρακολούθηση του αέρα για πτητικά οργανικά συστατικά (VOCs), φορμαλδεΰδη και σωματιδιακή ύλη όπως επίσης και παρακολούθηση ποιότητας εσωτερικού αέρα για επιλεγμένα VOCs[25].

Τέλος, με την τεχνική SPME-GC έχουν ανιχνευθεί και διάφοροι ρυπαντές στο έδαφος και τα διασταλάγματα, όπως είναι οι υδρογονάνθρακες, οι πολυκυκλικοί αρωματικοί υδρογονάνθρακες, οι πολυκυκλικοί αρωματικοί υδρογονάνθρακες, φαινολικά συστατικά, χλωροφαινόλες, πολυχλωριωμένα διφαινύλια, ζιζανιοκτόνα και παρασιτοκτόνα, μεταλλικά ιόντα κ.α[25].

4 Αέρια χρωματογραφία

4.1 Εισαγωγή

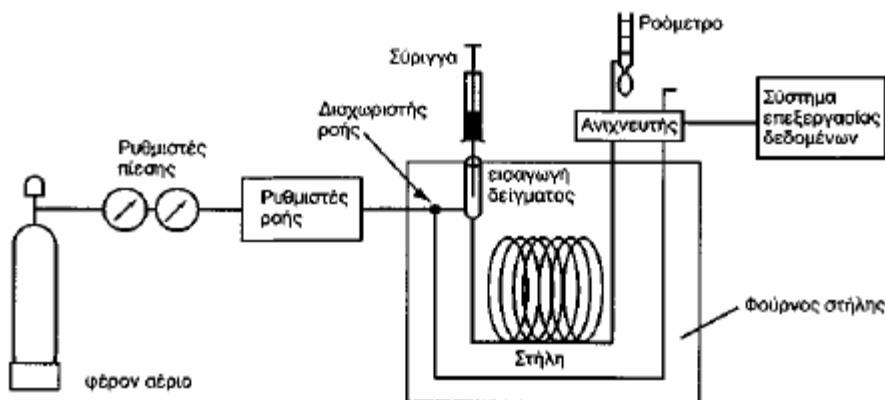
Η χρωματογραφική ανάλυση περιλαμβάνει μια σειρά μεθόδων διαχωρισμού μιγμάτων ανόργανων ή οργανικών ουσιών στα συστατικά τους, με διαδοχικές εκλεκτικές δεσμεύσεις και αποδεσμεύσεις αυτών από επιφάνεια στερεής ή στατικής υγρής φάσης με τη βοήθεια ρευστού κινούμενου κατά μια διεύθυνση (κινητή φάση). Η κινητή φάση καθώς διέρχεται από την στατική προκαλεί διαφορετική μετατόπιση των συστατικών του μίγματος.[26]

Στην αέρια χρωματογραφία, η κινητή φάση είναι αέρια και ανάλογα με τη στατική φάση διακρίνεται είτε στην αέρια-στερεή είτε στην αέρια-υγρή. Η αέρια-στερεή χρωματογραφία χρησιμοποιείται σε αναλύσεις αερίων δειγμάτων σε στήλες προσρόφησης, ενώ υγρά και πτητικά στερεά διαχωρίζονται με την αέρια-υγρή χρωματογραφία σε στήλες κατανομής[26].

Στην αέρια-υγρή χρωματογραφία, ο διαχωρισμός οφείλεται στην κίνηση των συστατικών μέσα από τη στήλη με διαφορετικές ταχύτητες που εξαρτώνται από τις τάσεις ατμών των συστατικών και από τις αλληλεπιδράσεις τους με την υγρή στατική φάση. Η παραπάνω τεχνική αναφέρεται ως χρωματογραφία έκλουσης[26].

4.2 Διάταξη Αερίου Χρωματογράφου

Το φέρον αέριο (συνήθως άζωτο, αργό, υδρογόνο) οδηγείται από τη φιάλη υψηλής πίεσης μέσα από ρυθμιστές παροχής στη στήλη. Η εισαγωγή του δείγματος γίνεται με μικροσύριγγα στη βαλβίδα εισαγωγής του δείγματος στην κορυφή της στήλης[26].



Σχήμα 4.1: Σχηματική αναπαράσταση των βασικών τμημάτων ενός αέριου χρωματογράφου[26].

Τα συστατικά του δείγματος συμπαράσύρονται από το φέρον αέριο κατά μήκος της στήλης και διαχωρίζονται. Τα κλάσματα στη συνέχεια ανιχνεύονται από τον ανιχνευτή και τα σήματα της ανίχνευσης καταγράφονται από το καταγραφικό ή οδηγούνται σε μικροϋπολογιστή. Σε ορισμένες περιπτώσεις υπάρχει μια διάταξη όπου συλλέγονται τα διαφορά κλάσματα και τέλος ένα ροόμετρο για τον έλεγχο της ταχύτητας ροής του φέροντος αερίου[26].

Ο αέριος χρωματογράφος αποτελείται από δύο τμήματα: (1) το φέρον αέριο και το κύριο μέρος του χρωματογράφου όπου γίνεται ο διαχωρισμός και (2) το σύστημα ανίχνευσης, καταγραφής και αποτίμησης του σήματος[26].

Ως φέρον αέριο μπορεί να χρησιμοποιηθεί κάθε αέριο σε υπερκάθαρη κατάσταση, το οποίο μπορεί να διαχωριστεί στον ανιχνευτή από τα διάφορα συστατικά του μίγματος. Μπορούμε να χρησιμοποιήσουμε: ήλιο, αργό, άζωτο και υδρογόνο. Το φέρον αέριο πρέπει να είναι αδρανές και απαλλαγμένο από προσμίξεις. Δεν πρέπει να υπάρχει οξυγόνο, γιατί οξειδώνει τη στατική φάση και αυτό σημαίνει καταστροφή της στήλης, ιδιαίτερα όταν αυτή είναι τριχοειδής και η ποσότητα της στατικής φάσης είναι ελάχιστη. Ίχνη υγρασίας επίσης απενεργοποιούν τη στατική φάση, γι' αυτό το φέρον αέριο πρέπει να είναι τελείως απαλλαγμένο από υγρασία. Η επιλογή του φέροντος αερίου εξαρτάται κυρίως από τον τύπο του ανιχνευτή που χρησιμοποιούμε. Η παροχή του ρυθμίζεται με ειδικές βαλβίδες και ροόμετρα[26].

Το κύριο μέρος του χρωματογράφου, είναι η στήλη. Οι στήλες που χρησιμοποιούνται στη χρωματογραφία είναι συνήθως γυάλινες ή χαλύβδινες στήλες

γεμισμένες με διάφορα υλικά ανάλογα με τα συστατικά που θέλουμε να διαχωρίσουμε (στήλες υλικού πλήρωσης, packed columns). Το σχήμα τους έχει τη μορφή έλικας και η διάμετρος τους είναι πάρα πολύ μικρή. Σήμερα χρησιμοποιούνται τριχοειδείς γυάλινες στήλες μήκους μέχρι 25 m, οι οποίες εσωτερικά είναι καλυμμένες με διάφορα υλικά (coated capillary glass columns)[26].

Το δείγμα όγκου της τάξης μL , εισάγεται στο ρεύμα του φέροντος αερίου στην αρχή της στήλης με μια μικροσύριγγα, διαμέσου μιας ελαστικής πλακέτας ή ενός διαφράγματος ή μιας βαλβίδας. Η ταχύτητα και η ικανότητα διαχωρισμού εξαρτώνται από τη θερμοκρασία. Για το λόγο αυτό η στήλη βρίσκεται μέσα σε ένα φούρνο ακριβείας ο οποίος δίνει αυστηρά επαναλήψιμες συνθήκες[26].

Ο διαχωρισμός επιτυγχάνεται εξαιτίας των διαφορών δυνάμεων συγκράτησης και έκλυσης ανάμεσα στα συστατικά του μίγματος, το υλικό πλήρωσης της στήλης ή το υλικό κάλυψης του εσωτερικού της στήλης και της ροής του φέροντος αερίου[26].

Το δεύτερο μέρος του χρωματογράφου περιλαμβάνει τον ανιχνευτή, ο οποίος τοποθετείται στο τέλος της στήλης, ανιχνεύει τα διάφορα συστατικά και δίνει ηλεκτρικά σήματα. Τα σήματα ενισχύονται και καταγράφονται στο καταγραφικό σύστημα, το οποίο είναι συνδεδεμένο με μικροϋπολογιστή.[26]

4.3 Ανιχνευτής σύλληψης ηλεκτρονίων-Electron-Capture Detector (ECD)

Στον ανιχνευτή αυτό, το αέριο έκλυσης ιονίζεται με ένα ρεύμα σωματιδίων που προέρχονται από μια ραδιενεργό πηγή, όπως το ^3H ή το ^{43}Ni . Έτσι, το φέρον αέριο προσφέρει μία σταθερή παροχή θετικών ιόντων και ελεύθερων ηλεκτρονίων, που μπορούν να μετρηθούν με μορφή ρεύματος μεταξύ δύο φορτισμένων ηλεκτροδίων. Όταν μέσα από τον ανιχνευτή διέρχονται τα συστατικά του δείγματος, το ρεύμα διαταράσσεται. Τα συστατικά που περιέχουν πολύ ηλεκτραρνητικά άτομα, συλλαμβάνουν ελεύθερα ηλεκτρόνια και ανιχνεύονται με την ελάττωση του ρεύματος. Αυτό οφείλεται στο γεγονός, ότι η ταχύτητα επανασύνδεσης των θετικών και αρνητικών ιόντων και των ηλεκτρονίων. Άλλα χημικά είδη έχουν πολύ μικρότερη επίδραση στο ρεύμα ιονισμού και συνεπώς, ο ανιχνευτής σύλληψης ηλεκτρονίων είναι αρκετά εκλεκτικός και πολύ ευαίσθητος για ενώσεις που περιέχουν αλαγόνα, φωσφόρο,

μόλυβδο, νιτροομάδες και πολυπυρηνικά συστήματα αρωματικών δακτυλίων. Ο ανιχνευτής αυτός είναι ιδανικός για την ανίχνευση ιχνών παρασιτοκτόνων.[27]

4.4 Εφαρμογές της αέριας χρωματογραφίας

Η αέρια χρωματογραφία είναι μια μέθοδος ενόργανης ανάλυσης ικανή να δίνει πληροφορίες τόσο για την ποιοτική όσο και για την ποσοτική σύνθεση δειγμάτων. Χρησιμοποιείται ευρέως κυρίως για την ανίχνευση, την ταυτοποίηση και τον προσδιορισμό οργανικών ουσιών σε πολύπλοκα δείγματα, μέχρι και τον προσδιορισμό διάφορων φυσικοχημικών μεγεθών[26].

Η ποιοτική ανάλυση γίνεται σε δείγματα γνωστών ή και αγνώστων συστατικών, με σύγκριση του χρόνου ανάσχεσης και απόκρισης από το χρωματογράφημα μετά από τον διαχωρισμό τους. Πιο συχνά γίνεται σύζευξη με φασματογράφο μάζας (mass spectrometer), για την ποιοτική ανάλυση[26].

Η συνολική ποσότητα ενός εκκλύμενου συστατικού συνήθως υπολογίζεται από την επιφάνεια της κορυφής με ολοκλήρωση, με την βοήθεια ηλεκτρονικών ολοκληρωτών. Για την ποσοτική ανάλυση το σχήμα της κορυφής δεν έχει καμία επίδραση στην ακρίβεια της ανάλυσης, με την προϋπόθεση ότι δεν υπάρχει αλληλοεπικάλυψη κορυφών. Η ποσοτική ανάλυση μπορεί να γίνει και με σύγκριση του ύψους κορυφής. Αν οι κορυφές είναι στενές και οξείες, το ύψος της κορυφής είναι ανάλογο της ποσότητας της ουσίας. Πρακτικά στις αναλυτικές τεχνικές στο εργαστήριο, η εκτίμηση του ύψους της κορυφής δεν εφαρμόζεται αφού εξαρτάται κυρίως από τους συντελεστές ανάσχεσης και χάνει την αναλογία του με την συγκέντρωση ή τη μάζα του συστατικού που εκλύεται, ενώ το εμβαδόν της κορυφής είναι ανεξάρτητο από τους συντελεστές ανάσχεσης[26].

Η αέρια χρωματογραφία χρησιμοποιείται σήμερα για την ανάλυση πτητικών ουσιών σε:

- τρόφιμα (λιπίδια, πρωτεΐνες, συντηρητικά, αρωματικές ύλες κ.α.),
- φάρμακα
- προϊόντα πετρελαίου
- βιομηχανίες αρωματοποιίας,

- περιβαλλοντικά δείγματα (PCB's, DDT, καρβαμιδικές ενώσεις, οργανοχλωριωμένες ενώσεις, παρασιτοκτόνα, PAH's),
- τοξικολογία, δικονομική ανάλυση (π.χ. αιθανόλη στο αίμα οδηγών, ναρκωτικά σε βιολογικά υγρά, αίμα, ούρα, υγρά στομάχου)[26].

5 Πειραματικό μέρος

5.1 Αντιδραστήρια και οργανολογία:

Τα αντιδραστήρια και τα όργανα που χρησιμοποιήθηκαν κατά τη διάρκεια των πειραμάτων παρουσιάζονται παρακάτω:

- Endosulfan α και Endosulfan β (assay GC 99.9% και 99.6% αντίστοιχα) –Sigma Aldrich Chemie
- Μεθανόλη (99.9%) merck
- Απιονισμένο νερό, από το σύστημα EASYpure RF της Barnstead/Thermolyne (Dubuque, USA)
- Σύριγγα 10μL Hamilton Gastight (Hamilton Bonaduz, Switzerland), Model 1701RNR,
- SPME συσκευή με ίνα πολυδιμεθυλοσιλοξάνιου (PDMS) (supelco, Sigma-Aldrich Chemie)
- Σύστημα GC-ECD (Shimadzu GC-17A version 3, QP-5050A). Τριχοειδής στήλη 30mm×0.25mm HP-5MS (Agilent Technologies)
- Ελαστικό πώμα για το GC, Thermogreen LB-2 (Supelco)
- He(>99.999% pure) ως φέρον αέριο και N₂ ως αέριο αντίχνευσης.
- Γυάλινα φιαλίδια των 7 mL (Supelco, Bellefonte, USA)
- Μαγνητικός αναδευτήρας με επικάλυψη PTFE (8mm×3mm)
- Συσκευή ανάδευση Heidolph MR3001K, 800W
- Συσκευή υπερήχων Ultrasonic Branson 2516 (LabPlant, UK)
- Μπουκάλι PYREX 100 και 250ml (Storage bottle)
- Shaker (labrut orbit 1000)

5.2 Κατασκευή προτύπου διαλύματος

Το πρότυπο διάλυμα αποτελεί μίγμα των ισομερών α- και β- Endosulfan (1000 mg/l) σε μεθανόλη. Η προετοιμασία έγινε με το ζύγισμα ποσότητας 0.01g του κάθε αναλύτη (του α- και β- Endosulfan) αντίστοιχα και στη συνέχεια, σε μια ογκομετρική φιάλη των 10 ml πραγματοποιήθηκε διάλυση σε μεθανόλη. Λόγω μεγάλης συγκέντρωσης ισομερών στο αρχικό πρότυπο διάλυμα, έγινε περαιτέρω αραιώση σε τελική συγκέντρωση 200 mg/l. Τα πρότυπα διαλύματα αποθηκεύτηκαν σε σκοτεινό μέρος σε θερμοκρασία 4°C.

5.3 Περιγραφή της μεθόδου

Διάλυμα συγκέντρωσης 200 mg/l από Endosulfan α και β σε μεθανόλη χρησιμοποιήθηκε για την προετοιμασία υδατικών διαλυμάτων επιμολυσμένων με το μίγμα Endosulfan α, β στη επιθυμητή συγκέντρωση (10 µg/l). Για την εκχύλιση, 5 ml από τα υδατικά αυτά διαλύματα, που περιέχουν 10 µg/l (10ppb) μίγματος Endosulfan α και β, τοποθετούνται κάθε φορά σε καθαρό γυάλινο φιαλίδιο των 7 ml. Σε αυτά εφαρμόζεται ανάδευση με τη χρήση μικρού μαγνητικού αναδευτήρα επικαλυμμένου με PTFE στις 1000rpm κατά την εφαρμογή μικροεκχύλισης στερεής φάσης (SPME), σε θερμοκρασία δωματίου.

5.4 Πειράματα προσδιορισμού του κυρίου μηχανισμού διάσπασης Endosulfan σε νερό

Ο στόχος αυτών των πειραμάτων είναι να προσδιοριστεί ποίος μηχανισμός ανάμεσα στην υδρόλυση και την φωτόλυση είναι τελικά ο πιο σημαντικός για την διάσπαση της Endosulfan σε νερό. Για την αποθήκευση των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκαν γυάλινα κυλινδρικά δοχεία αποθήκευσης (μπουκάλια PYREX), τα στόμια των οποίων ήταν καλά καλυμμένα καθ' όλη τη διάρκεια των πειραμάτων, ώστε να μην υπάρξουν σημαντικές απώλειες λόγω εξάτμισης. Κάθε φορά, ίσες ποσότητες δειγμάτων (διαλυμάτων) νερού επιμολυσμένων με Endosulfan συγκέντρωσης 10 ppb σε δίδυμα δοχεία τοποθετήθηκαν, το ένα σε ντουλάπι (σκοτεινό μέρος- θερμοκρασία δωματίου) για τη μελέτη της υδρόλυσης και το άλλο στην ταράτσα εκτεθειμένο σε αληθινές καιρικές συνθήκες για τη

μελέτη της ταυτόχρονης φυσικής υδρόλυσης και φωτόλυσης. Το δείγμα στο σκοτεινό μέρος τυλίχθηκε επιπλέον με φύλλα αλουμινίου, για να μην υπάρχει απολύτως καμία αλληλεπίδραση με το φως (εξασφαλίζοντας έτσι μόνο η υδρόλυση σαν διαδικασίας διάσπασης). Τα δείγματα νερού που εξεταστήκαν ήταν: απιονισμένο νερό, νερό βρύσης, νερό πηγαδιού (γεώτρηση) και θαλασσινό νερό. Το πείραμα με απιονισμένο νερό διήρκησε περίπου τρεις εβδομάδες με την δειγματοληψία να γίνεται τρεις φορές την εβδομάδα (Δεύτερα, Τέταρτη και Παρασκευή). Για τα υπόλοιπα δείγματα, η δειγματοληψία γινόταν καθημερινά για πέντε εργάσιμες μέρες.

5.5 Πειράματα με χόμα:

Σε αυτά τα πειράματα στόχος είναι ο προσδιορισμός του ρυθμού προσρόφησης του Endosulfan από τα ιζήματα. Η διαδικασία του πειράματος περιγράφεται από τα εξής βήματα:

- Σε μπουκάλια PYREX 250 ml τοποθετούνται 50 gr εδάφους και σε αυτό ρίχνεται 250 ml διαλύματος νερού, επιμολυσμένο σε συγκέντρωση 10 $\mu\text{g/l}$ με Endosulfan. Η πρώτη δειγματοληψία η οποία αντιστοιχεί στο χρόνο μηδέν γίνεται πριν μετατραπεί το μίγμα σε διάλυμα νερού- χόματος.
- Στη συνέχεια το μίγμα στη κωνική φιάλη τοποθετείται στο Shaker (150 rpm και θερμοκρασία δωματίου) και λαμβάνονται δείγματα σε χρόνους 20, 300, 1680 και 2880 min (δηλαδή 0, 0.33, 28, 48 hrs). Τα δείγματα αποθηκεύονται σε σκοτεινό μέρος σε θερμοκρασία 4°C .
- Πριν γίνει εκχύλιση, τα δείγματα υποβάλλονται σε φυγοκέντρωση (3500 rpm για 7 min), για την απομάκρυνση των μικρών σωματιδίων και την προστασία της ίνας.

5.6 Εφαρμογή της μικροεκχύλισης στερεής φάσης (SPME)

Για την ανίχνευση των Endosulfan σε υδατικά διαλύματα, αναπτύχθηκε η μέθοδος εφαρμογής της μικροεκχύλισης στερεής φάσης. Σε καθαρό φιαλίδιο 7 mL εισάγονται 5 mL του υδατικού διαλύματος προς ανάλυση. Η εκχύλιση πραγματοποιήθηκε σε θερμοκρασία δωματίου, κάτω από έντονη ανάδευση με μαγνητικό αναδευτήρα επικαλυμμένου με PTFE. Για την εκχύλιση χρησιμοποιήθηκε συσκευή SPME με ίνα

100μm από πολυδιμεθυλοσιλοξάνιου (PDMS). Πριν από την πρώτη χρήση, ακολουθήθηκε η διαδικασία που προτείνεται από τον κατασκευαστή. Ανά τακτικά χρονικά διαστήματα (2 με 3 μέρες) πραγματοποιούνταν λευκή ανάλυση (blank run) για να διαπιστωθεί η απουσία υπολειμμάτων Endosulfan στην ίνα. Κατά την εκχύλιση η συσκευή SPME ήταν στερεωμένη σε στάτορα και ακουμπούσε στο πώμα του φιαλιδίου. Η ίνα εκτίθεται στην υδατική φάση για δειγματοληψία 30 λεπτών, μετά αποσυρόταν και μεταφερόταν στο σύστημα εισαγωγής του GC-ECD για εκρόφησης, όπου παρέμενε για 5 min.

5.7 Χρωματογραφική ανάλυση με αέριο χρωματογράφο - Ανιχνευτής σύλληψης ηλεκτρονίων (GC-ECD)

Σε όλες τις αναλύσεις χρησιμοποιήθηκε το μηχάνημα GC-ECD που έχει προαναφερθεί. Το σύστημα εισαγωγής του δείγματος λειτουργεί στους 270°C. Αρχικά η λειτουργία Splitless του εισαγωγέα τεθόταν σε λειτουργία για 5 min, εν συνεχεία η λειτουργία split με αναλογία 20:1 ενεργοποιώταν. Το ήλιο (He) με μια επικεφαλή πίεση στηλών 80 kPa και το άζωτο (N₂) με 80 kPa χρησιμοποιήθηκαν ως φέρον αέριο και αέριο ανίχνευσης αντίστοιχα. Η θερμοκρασία του ανιχνευτή ήταν 300 °C.

Ανά τακτά χρονικά διαστήματα (δύο με τρεις μέρες) αντικαθιστούσαμε το ελαστικό πώμα στον εισαγωγέα του δείγματος με καινούριο, αφού αυτό είχε διατηρηθεί, για να αποφευχθούν διαρροές του φέροντος αερίου εξαιτίας της χρήσης της SPME. Το φέρον αερίου (He) διοχετευόταν με ρυθμό 1.2mL/min. Ο φούρνος αρχικά βρισκόταν στους 60°C για 1 min και προγραμματιζόταν να φτάνει τους 150°C με ρυθμό 10°C/min, ενώ η θερμοκρασία αυξανόταν στους 280°C με ρυθμό 5°C/min όπου έμενε σταθερή για 1 λεπτό.

6. Συζήτηση αποτελεσμάτων

6.1 Συνθήκες εκχύλισης με την τεχνική μικροεκχύλισης στερεάς φάσης (SPME)

Λαμβάνοντας υπόψη ότι τα δείγματα νερού δεν εμπεριέχουν παρεμποδιστές και ότι το α- και β- Endosulfan έχουν πολύ χαμηλή διαλυτότητα στο νερό και δεν είναι πτητικά, η μέθοδος δειγματοληψίας με την εμβάπτιση της ίνας (immersion) SPME επιλέχθηκε ως αποτελεσματικότερος τρόπος εκχύλισης σε σχέση με την μικροεκχύλιση στερεάς φάσης με υπερκείμενο χώρο (HS-SPME).

Προκειμένου να αναπτυχθεί μια διαδικασία immersion-SPME για την ανάλυση Endosulfan στα ύδατα, μια σειρά από πειραματικές παραμέτρους σχετικές με την εκχύλιση εκλεχθήκαν και βελτιστοποιήθηκαν

6.1.1 Καθορισμός της ίνας SPME

Όπως έχει ήδη αναφερθεί σε προηγούμενο κεφάλαιο, η επιλογή της επικάλυψης της ίνας καθορίζεται από την πολικότητα και την πτητικότητα του αναλύτη. Για την επιλογή της κατάλληλης ίνας, πραγματοποιήθηκαν πειράματα με δύο διαφορετικά υλικά (PDMS, PDMS/DVB). Σε δείγματα 5 mL που περιείχαν 10 µg/l από το μίγμα Endosulfan, εφαρμόστηκε ανάδευση 1000 rpm κατά τη διάρκεια της δειγματοληψίας (30 min). Από τα παραπάνω υλικά, επιλέχθηκε το PDMS, λόγω καλύτερης απόδοσης κατά την ανάλυση. Επίσης, το PDMS/DVB εμφάνισε προβλήματα όπως το carry-over λόγω ισχυρής κατακρατήσεων των ενώσεων μεταφέροντας μέρος αυτών από ανάλυση σε ανάλυση (carry over).

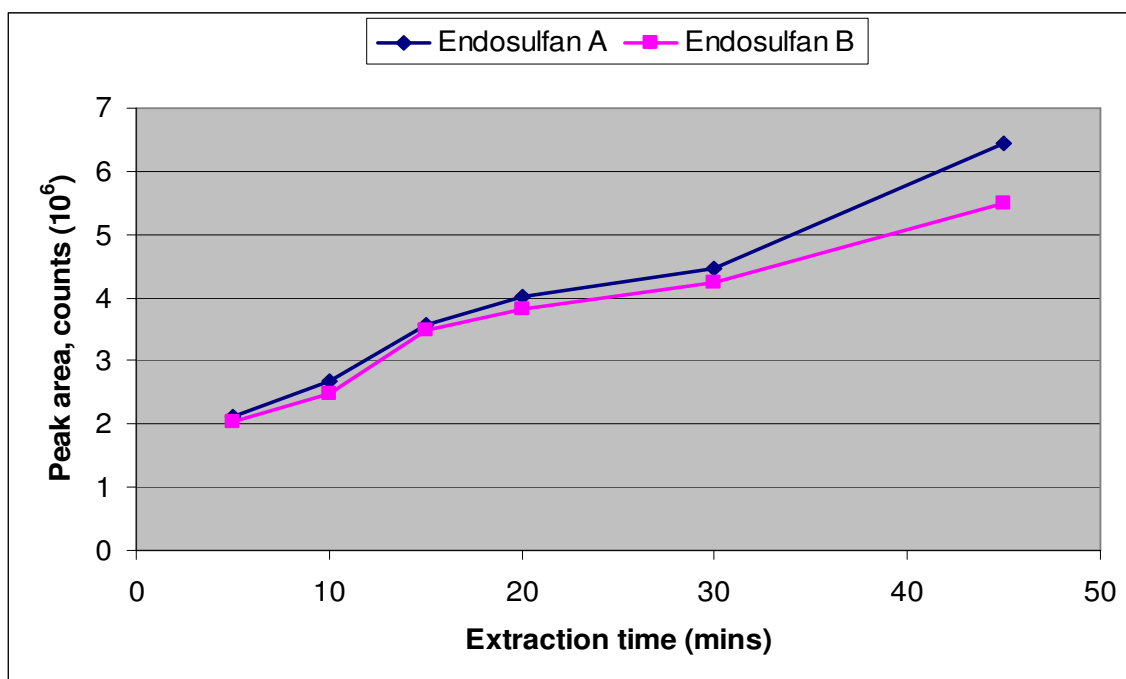
6.1.2 Επιλογή του χρόνου εκχύλισης

Η μικροεκχύλιση στερεάς φάσης βασίζεται στη μεταφορά μάζας από την υδατική φάση στην ίνα και η διαδικασία αυτή εξαρτάται από τον χρόνο. Όσο το σύστημα πλησιάζει σε συνθήκες ισορροπίας, ο ρυθμός μεταφοράς μάζας ελαττώνεται. Πλήρη

ισορροπία επιτυγχάνεται όταν έχει περάσει μεγάλο χρονικό διάστημα (θεωρητικά σε άπειρο χρόνο).

Κατά την πειραματική διερεύνηση του χρόνου, μελετήθηκαν οι χρόνοι εκχύλισης 5 , 10 , 15, 20 , 30 και 45 λεπτών σε δείγματα επιμολυσμένα σε συγκέντρωση 10 $\mu\text{g/l}$ μείγματος Endosulfan, με ανάδευση 1000rpm και χρόνο εκχύλισης 30 λεπτά. Στο διάγραμμα 6.1 φαίνεται η επίδραση του χρόνου εκχύλισης για κάθε ένωση για τις συνθήκες που περιγράφηκαν παραπάνω .

Όπως φαίνεται και από τον πίνακα, όσο μεγαλύτερος είναι ο χρόνος της εκχύλισης, τόσο μεγαλύτερη είναι και η ποσότητα των συστατικών που εισέρχεται στην οργανική φάση. Ακόμα και με πραγματοποίηση της εκχύλισης για 45 λεπτά το σύστημα δεν φάνηκε να φτάνει σε συνθήκες ισορροπίας. Στην SPME (ποσοτικές αναλύσεις) όμως δεν είναι απαραίτητο το σύστημα να φτάσει σε συνθήκες ισορροπίας , εφόσον εφαρμόζεται ο ίδιος χρόνος σε όλες τις αναλύσεις. Στην παρούσα μελέτη ο χρόνος εκχύλισης ορίστηκε στα 30 λεπτά μίας και η ευαισθησία της μεθόδου ήταν ικανοποιητική και ο χρόνος ταίριαζε στον χρόνο χρωματογραφική ανάλυση, επιτυγχάνοντας έτσι βέλτιστο αριθμό αναλύσεων ανά ημέρα



Διάγραμμα 6.1 Επίδραση χρόνου εκχύλισης στην απόκριση του μηχανήματος

6.1.3 Εκτίμηση της μεθόδου SPME

Η εκτίμηση της απόδοσης της μεθόδου έγινε διερευνώντας τη γραμμικότητα αυτής (με την δημιουργία της καμπύλης βαθμονόμησης) καθώς επίσης και με την διερεύνηση της επαναληψιμότητας της μεθόδου.

Πραγματοποιήθηκε μελέτη βαθμονόμησης σε δείγματα απιονισμένου (DI) νερού ‘επιμολυσμένα’ με το μίγμα Endosulfan σε συγκεντρώσεις 0.1 µg/l, 0.5 µg/l, 1 µg/l, 10 µg/l και 30µg/l. Η καμπύλη βαθμονόμησης που προέκυψε εμφάνισε πολύ καλή γραμμικότητα με τον συντελεστή συσχέτισης r^2 να ισούται με 0,9961 και 0.9951 για το endosulfan α- και β- αντίστοιχα .

Η επαναληψιμότητα της μεθόδου εκφράζεται με τη σχετική τυπική απόκλιση (Relative Standard Deviation, RSD). Η εκτίμηση της επαναληψιμότητας έγινε με την ανάλυση πέντε διαδοχικών πανομοιότυπων δειγμάτων DI νερού με συγκέντρωση μίγματος Endosulfan 10ppb και βρέθηκε τιμή RSD 6,2 και 5,0 % για το endosulfan α- και β- αντίστοιχα όπως φαίνεται και στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 6.1 Επαναληψιμότητα της μεθόδου.

Αναλύτης	Επαναληψιμότητα (RSD%)
Endosulfan –α	6,2
Endosulfan –β	5,0

6.2 Εφαρμογή της προτεινόμενης μεθόδου SPME σε φυσικά

δείγματα:

Για την μελέτη της τύχης των Endosulfan και της ικανότητας της μεθόδου που αναπτύχθηκε με τη τεχνική της SPME, πραγματοποιήθηκαν δύο σειρές πειραμάτων. Στην πρώτη σειρά μελετήθηκε ο κύριος μηχανισμός διάσπασης ή απομάκρυνσης του Endosulfan (10 $\mu\text{g/l}$) από διάφορα είδη δειγμάτων νερού ενώ στη δεύτερη σειρά πειραμάτων ερευνήθηκε ο μηχανισμός απομάκρυνσης του Endosulfan σε δείγματα νερού- ιζήματος. Για την διεξαγωγή των πειραμάτων, χρησιμοποιήθηκαν δυο διαφορετικά είδη χωμάτων.

6.2.1 Τύχη Endosulfan στο νερό

Στον πίνακα 6.2 παρουσιάζονται τα δείγματα νερού που χρησιμοποιήθηκαν. Το δείγμα του θαλασσινού νερού λήφθηκε από τη παραλία του Καλαθά, ενώ το νερό πηγαδιού λήφθηκε από το πηγάδι της οικίας Χαριτάκη¹. Τα υπόλοιπα δείγματα ήταν το απιονισμένο νερό και το νερό βρύσης που λήφθηκαν από τα συστήματα του εργαστηρίου.

Πίνακας 6.2 Χαρακτηριστικά των δειγμάτων νερού

Δείγματα νερού	Αγωγιμότητα	pH	Θερμοκρασία (° C)
Απιονισμένο (DI) νερό	7,8 μs	7,22	25,6
Νερό βρύσης (Tap)	323 μs	7,77	22,8
Νερό πηγαδιού(Well)	927 μs	7,16	23,2
Νερό θάλασσας (Sea)	573 ms	7,86	23

Όπως προαναφέρθηκε και στο προηγούμενο κεφάλαιο, για την επίτευξη αυτών των πειραμάτων, ετοιμάστηκαν κάθε φορά και για όλα τα δείγματα νερού, ταυτόχρονα δύο ξεχωριστές φιάλες με όμοια διαλύματα επιμολυσμένα με το μίγμα Endosulfan σε συγκέντρωση 10 $\mu\text{g/L}$. Οι φιάλες τοποθετήθηκαν η μία σε σκοτεινό μέρος και σε θερμοκρασία δωματίου για τη μελέτη της υδρόλυσης και η άλλη στην ταράτσα εκτεθειμένη στη θερμοκρασία περιβάλλοντος για τη μελέτη της διπλής δράσης της

υδρόλυσης και της φωτόλυσης. Το δείγμα στο σκοτεινό μέρος τυλίχθηκε πολύ καλά με φύλλο αλουμινίου, για να μην υπάρχει απολύτως καμία αλληλεπίδραση με το φως εξασφαλίζοντας έτσι την μελέτη της υδρόλυσης μόνο.

Το ποσοστό διάσπασης ή υδρόλυσης του Endosulfan υπολογίζεται από τον τύπο:

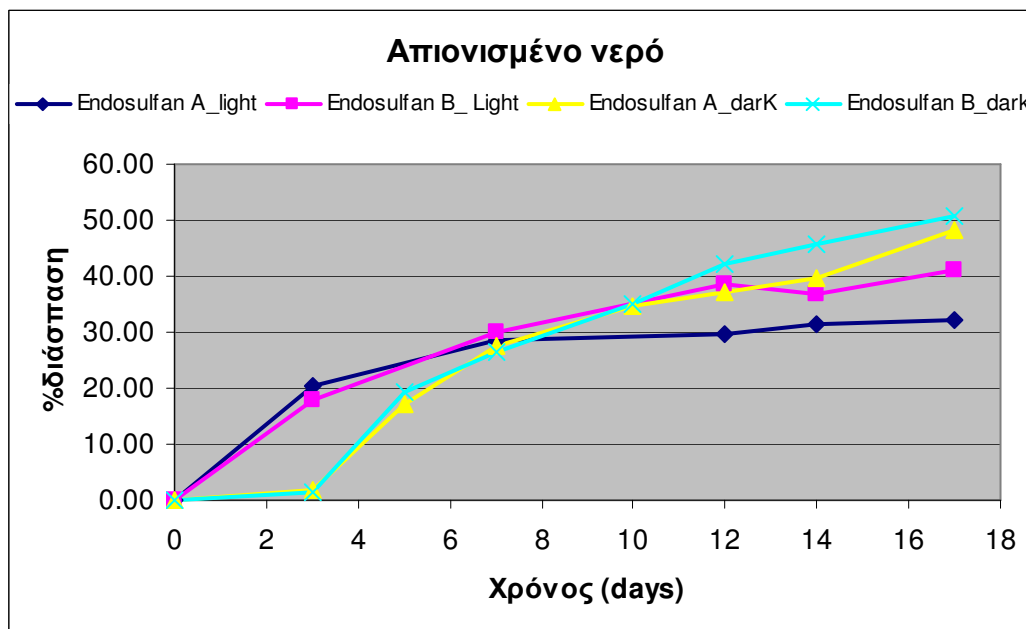
$$\% \text{ υδρόλυση ή διάσπασης} = \frac{[A_0] - [A_t]}{[A_0]} * 100$$

Όπου $[A_0]$ είναι η αρχική ποσότητα του Endosulfan στο νερό και $[A_t]$ είναι η ποσότητα του Endosulfan στο νερό σε χρόνο t.

Τα διαγράμματα 6.2 – 6.5 δείχνουν την επί τοις εκατόν (%) διάσπαση του α- και β- Endosulfan στα διαφορά δείγματα νερών.

- **Διάσπαση Endosulfan σε απιονισμένο νερό:**

Αυτό το πείραμα διήρκησε περίπου τρεις εβδομάδες και η δειγματοληψία γινόταν τρεις φορές την εβδομάδα (Δεύτερα, Τέταρτη και Παρασκευή).



Διάγραμμα 6.2 Διάσπαση Endosulfan σε Απιονισμένο νερό

Παρατηρούμε ότι:

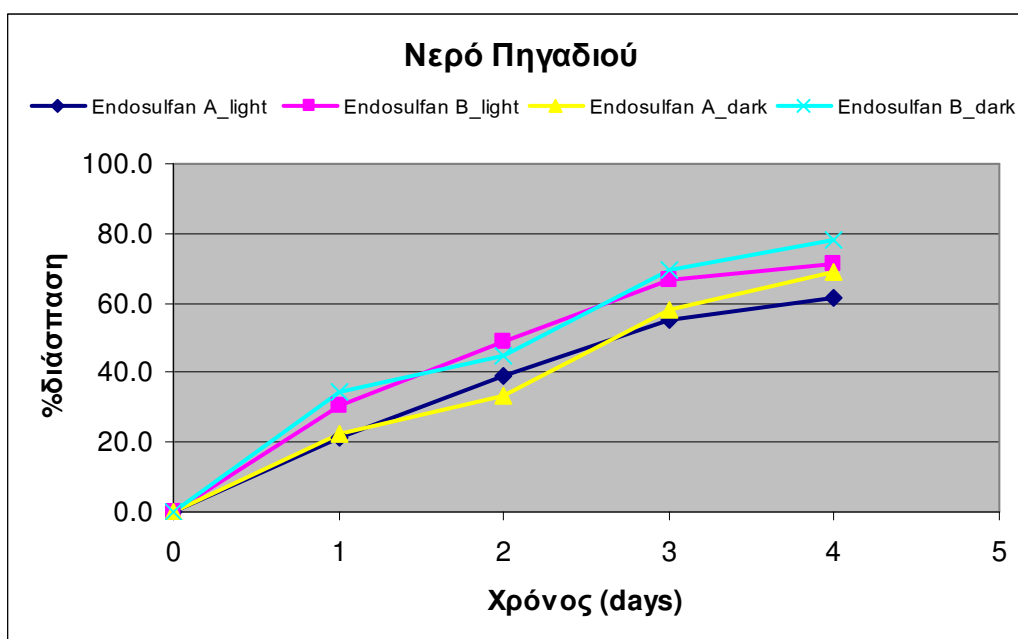
- Η διάσπαση των ισομερών είναι πολύ αργή στα δύο δείγματα.

- Το ποσοστό διάσπαση στο δείγμα που τοποθετήθηκε στο φως για τις πρώτες 7 μέρες είναι μεγαλύτερο από αυτό στο δείγμα στο σκοτάδι. Όμως, η διάσπαση του Endosulfan στο δείγμα σε σκοτεινό μέρος, μακρόχρονα είναι ελαφρώς ταχύτερη από αυτήν του δείγματος στο φως.

Συμπεραίνουμε ότι η υδρόλυση είναι πιο σημαντική από τη φωτόλυση στη διάσπαση του Endosulfan στο απιονισμένο νερό

• Διάσπαση σε νερό πηγαδιού

Η δειγματοληψία σε αυτό το πείραμα γινόταν καθημερινά για πέντε εργάσιμες μέρες .



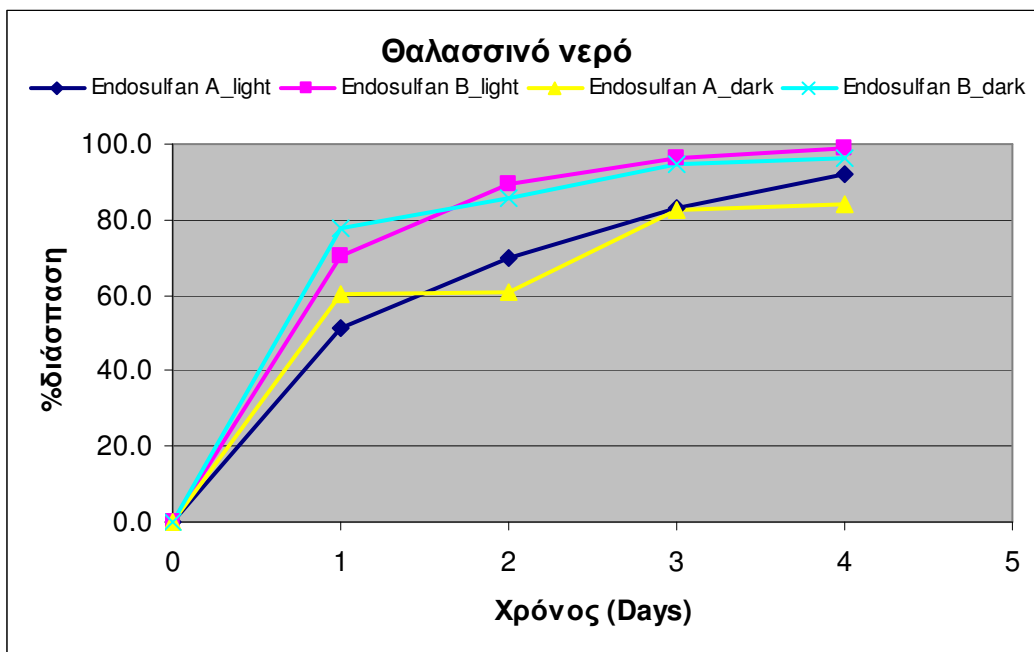
Διάγραμμα 6.3 Διάσπαση Endosulfan σε νερό πηγαδιού

Παρατηρούμε ότι:

- Δεν υπάρχει σημαντική διαφορά μεταξύ του ποσοστού διάσπασης του Endosulfan (A και B) στα δύο δείγματα (στο σκοτάδι και στο φως, αντίστοιχα), γεγονός που σημαίνει ότι η υδρόλυση είναι ο κύριος μηχανισμός διάσπασης.
- Ο ρυθμός διάσπασης των ισομερών είναι πολύ μεγάλος αφού εντός 4 ημερών διασπάται ένα πολύ μεγάλο μέρος του αρχικού ποσού.

- Διάσπαση σε θαλασσινό νερό

Η δειγματοληψία σε αυτό το πείραμα γινόταν καθημερινά για πέντε εργάσιμες μέρες .



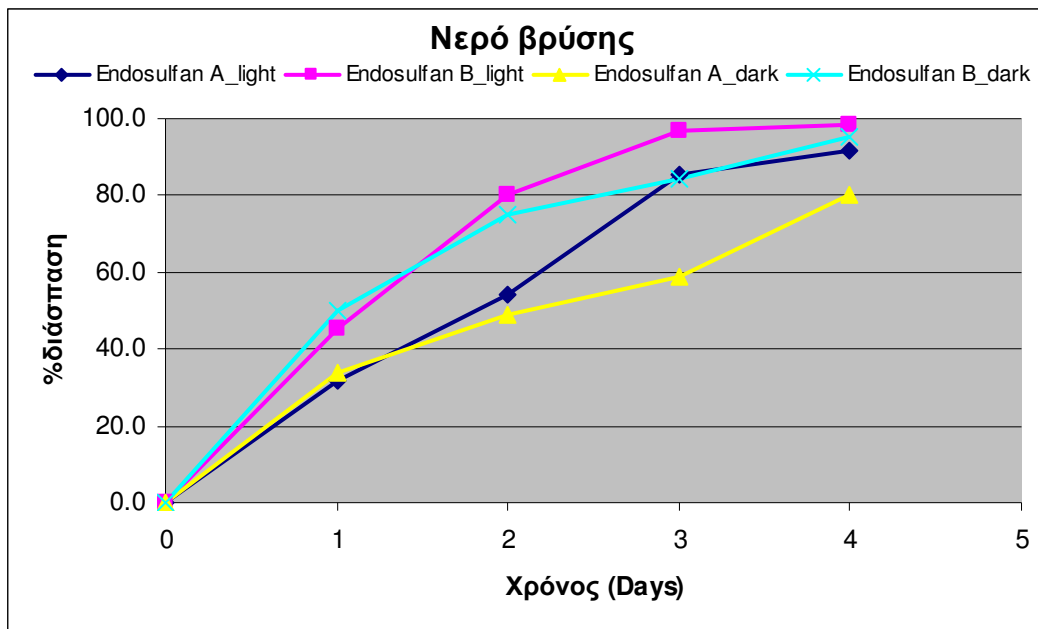
Διάγραμμα 6.4 Διάσπαση Endosulfan σε θαλασσινό νερό

Παρατηρούμε ότι:

- Δεν φαίνεται να υπάρχουν σημαντικές διαφορές μεταξύ της διάσπασης του Endosulfan στα δείγματα στο φως και στο σκοτάδι, πράγμα που σημαίνει ότι και σε αυτό το δείγμα η υδρόλυση είναι πιο σημαντική στη διάσπαση από τη φωτόλυση.
- Η διάσπαση γίνεται πολύ γρήγορα αφού πραγματοποιείται σχεδόν πλήρης διάσπαση σε διάστημα 4 ημερών.
- Έχουμε περίπου πλήρη διάσπαση του β-Endosulfan

- **Διάσπαση σε νερό βρύσης**

Η δειγματοληψία σε αυτό το πείραμα γινόταν καθημερινά για πέντε εργάσιμες μέρες .



Διάγραμμα 6.5 Διάσπαση Endosulfan σε νερό βρύσης

Παρατηρούμε ότι:

- Η διάσπαση του Endosulfan στα δυο δείγματα γίνεται με τον ίδιο ρυθμό μέχρι τη δεύτερη μέρα.
- Μετά από τη δεύτερη μέρα, το Endosulfan που περιέχεται στο δείγμα στο φως διασπάται πιο γρήγορα, πράγμα που μπορεί να οφείλεται στις υψηλές θερμοκρασίες που σημειώθηκαν εκείνες τις μέρες. (μέσες ημερήσιες θερμοκρασίες από 22°C (day 0) αυξήθηκαν σε 27°C(day 2).
- Γίνεται πλήρης διάσπαση του β-Endosulfan.

Συμπεράνουμε ότι μεταβολές στη θερμοκρασία επηρεάζει την διάσπαση του Endosulfan στο νερό. Και σε αυτό το πείραμα, προκύπτει ότι η υδρόλυση είναι πιο σημαντική από την φωτόλυση.

Συμπεράνουμε λοιπόν ότι η φωτόλυση δεν συμβάλλει στη περιβαλλοντική διάσπαση του Endosulfan στο νερό. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι το Endosulfan έχει ένα ασθενές φάσμα απορρόφησης UV και δεν απορροφά την ηλιακή ακτινοβολία της

τροπόσφαιρας (μήκη κύματος > 290 nm) [9]. Έχει αναφερθεί ότι χρειάζεται κάποια μορφή ευαισθητοποίησης (όπως η παρουσία χουμικών οξέων) για να γίνει η φώτο-διάσπαση του στο νερό.[7]

Χρησιμοποιώντας τα δείγματα που ήταν στα σκοτεινά, υπολογίζουμε το ποσοστό υδρόλυσης του Endosulfan από τον τύπο:

$$\% \text{ υδρόλυση} = \frac{[A_0] - [A_t]}{[A_0]} * 100$$

Όπου $[A_0]$ είναι η αρχική ποσότητα του Endosulfan στο νερό και $[A_t]$ είναι η ποσότητα του Endosulfan στο νερό σε χρόνο t.

Το Endosulfan ανιχνεύτηκε σε όλα τα δείγματα νερού, στη μορφή των ισομερών α- και β- από την ημέρα της εφαρμογής.

Πίνακας 6. 3 Ποσοστό υδρόλυσης του Endosulfan Α σε διάφορα δείγματα νερού

% Υδρόλυσης Endosulfan Α					
Ημέρες	Νερό πηγαδιού	Θαλασσινό νερό	Νερό βρύσης	Ημέρες	Απιονισμένο νερό
0	0	0	0	0	0
1	22.5	60.2	33.9		
2	33.1	60.9	49.0		
3	57.9	82.8	58.6	3	1.8
4	68.7	84.0	80.0		
				5	17.0
				7	27.4
				10	34.8
				12	37.2
				14	39.6
				17	48.2

Η ταχύτερη διάσπαση (υδρόλυση) του α-Endosulfan για τις 4 μέρες σημειώθηκε στο δείγμα με το θαλασσινό νερό (84.0%). Αυτό αναμένεται αφού το θαλασσινό νερό είναι το πιο αλκαλικό δείγμα [6]. Η υδρόλυση στο δείγμα με απιονισμένο νερό ήταν πολύ πιο αργή, αφού μετά από 17 ημέρες είχε γίνει μόνο 48,2% απομάκρυνση του α- Endosulfan

από το δείγμα. Όσον αφορά τα δείγματα με νερό πηγαδιού και νερό βρύσης, για τις πρώτες 4 μέρες σημειώθηκε ποσοστό υδρόλυσης 68.7% και 80.0% αντίστοιχα.

Πίνακας 6. 4 Ποσοστό υδρόλυσης του Endosulfan B σε διάφορα δείγματα νερού

% Υδρόλυσης Endosulfan B					
Ημέρες	Νερό πηγαδιού	Θαλασσινό νερό	Νερό βρύσης	Ημέρες	Απιονισμένο νερό
0	0	0	0	0	0
1	34.7	77.9	50.1		
2	44.6	85.6	74.9		
3	69.6	94.7	84.2	3	1.5
4	78.2	96.4	95.4		
				5	19.4
				7	26.3
				10	35.1
				12	42.2
				14	45.6
				17	50.6

Όπως και στην περίπτωση του α- Endosulfan, το β-Endosulfan παρουσίασε υψηλότερο ποσοστό υδρόλυσης στο νερό της θάλασσας(96.4% σε 4 μέρες) από ότι στο απιονισμένο νερό(50.6% σε 17μέρες).

Παρατηρήθηκε σε όλα τα πειράματά ότι το β-Endosulfan υδρολύεται ταχύτερα από το α-ισομερές. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, αυτό οφείλεται στα λιγότερα στερικά εμπόδια που εμφανίζονται λόγω του δεσμού S=O της δομής των β-ισομερών, που οδηγεί σε περισσότερη ευαισθησία προς τα πυρηνόφιλα ιόντα (OH⁻) που κάνουν επίθεση στο άτομο του S. [6] Το α-Endosulfan διασπάται πιο γρήγορα από το β-ισομερές όταν έχουμε μικροβιακή υδρόλυση αντίθετα το β-Endosulfan διασπάται πιο γρήγορα όταν γίνεται χημική υδρόλυση.[9]

Όπως αναφέρθηκε και στο 1^ο κεφάλαιο, η υδρόλυση του Endosulfan θα μπορούσε να περιγραφτεί με τη αντίδραση κινητικής πρώτης τάξεως:

$$\ln A_t = \ln A_0 - kt$$

Όπου A_0 και k δείχνει την τιμή της συντεταγμένης y και την κλίση της γραμμής διάσπασης, αντίστοιχα, A_t , είναι η ποσότητα του εντομοκτόνου στο νερό και t είναι ο χρόνος. Ο παρακάτω πίνακας δείχνει τις τιμές αυτών των παραμέτρων υπολογισμένα για τους δύο ισομερές.

Πίνακας 6. 5 Κινητική 1^{ης} τάξεως του α- και β Endosulfan (EDS) για τα δείγματα νερού στο σκοτάδι.

	Απιονισμένο νερό		Νερό πηγαδιού		Θαλασσινό νερό		Νερό βρύσης	
Παράμετρος	EDS-α	EDS-β	EDS-α	EDS-β	EDS-α	EDS-β	EDS-α	EDS-β
r^2	0.964	0.975	0.973	0.970	0.906	0.952	0.950	0.976
$A_0 (10^6)$	5.331	4.593	4.533	3.624	4.172	3.106	3.925	3.116
k	0.040	0.045	0.294	0.381	0.451	0.810	0.369	0.729
$t_{1/2}$ (days)*	17.2	15.3	2.4	1.8	1.5	0.9	1.9	1.0

$$*t_{1/2} = \frac{0.693}{k} \text{ (χρόνος ημιζωής για αντίδραση πρώτης τάξεως)}$$

Η διάσπαση του Endosulfan στο νερό είναι μια σύνθετη διαδικασία που εξαρτάται από τον τύπο του νερού, τους μικροοργανισμούς, το pH και τη περιεκτικότητα σε οξυγόνο του ύδατος [30]. Το Endosulfan υφίσταται (υποβάλλεται) στην υδρόλυση σε Endosulfan diol στα νερά επιφάνειας και στα υπόγεια νερά. Ο ρυθμός (το ποσοστό) της υδρόλυσης επηρεάζεται επίσης από το pH. Όπως φαίνεται και στο παρακάτω πίνακα, οι τιμές ημιζωής που αναφέρονται στη βιβλιογραφία ποικίλλουν.

Πίνακας 6.6 Χρόνος ημιζωής του α- και β- Endosulfan σε νερό

Δείγμα	Συνθήκες	Χρόνος ημιζωής		Πηγή
		α-Endosulfan	β-ndosulfan	
Απιονισμένο νερό	pH 5.5 & 8	11.3 και 5.3 μέρες αντ.		[11]
	pH 7.3	1.2 ώρες	0.96 ώρες	
Φυσικό νερό	pH 5	>200 μέρες		[29]
	pH 7	11 μέρες	19 μέρες	
	pH 9	4 ώρες	6 ώρες	
Θαλασσινό νερό	pH 8, βιοτικές δοκιμές	5 μέρες	2 μέρες	[11]
	pH 8, αποστειρωμένες	2-3 μέρες	1-2 μέρες	
Νερό βρύσης		68 ώρες		[11]

6.2.2 Κατανομή και απομάκρυνση του Endosulfan σε σύστημα ιζήματος-νερού

Στη δεύτερη σειρά πειραμάτων, ερευνήθηκε ο μηχανισμός απομάκρυνσης του Endosulfan από διαφορά δείγματα νερού-ιζήματος. Τα χώματα (ιζήματα) αυτά που χαρακτηρίζονται στον πίνακα 3, λήφθηκαν από τις περιοχές των λιμνών Κουρνά και Φαλάσσαρνα.

Πίνακας 6.7 Χαρακτηρισμός του ιζήματος με βάση το τρίγωνο ταξινόμησης εδαφών (USDA Soil Textural Triangle).[28]

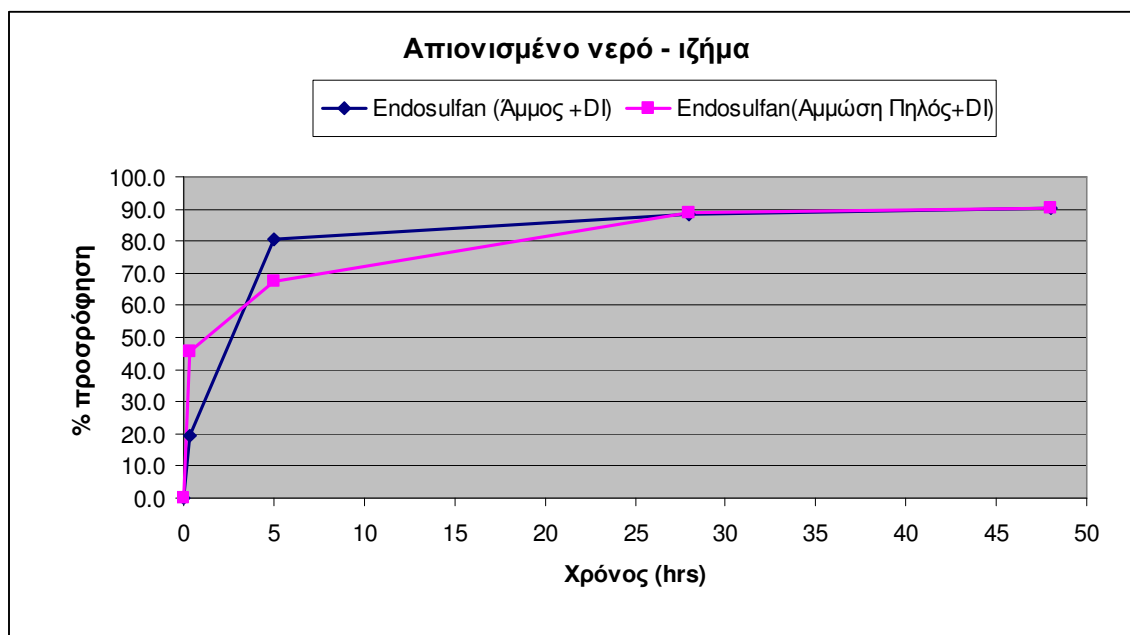
Ταυτότητα Λιμνίου	Χαρακτηρισμός του Ιζήματος
Κουρνάς Λιμνίο	Αμμόδης πηλός (sandy loam)
Φαλάσσαρνα Λιμνίο	Άμμος (sand)

Τα δείγματα αυτού του πειράματος ετοιμαστήκαν όπως περιγράφεται στα παρακάτω βήματα

- Σε κωνικές φιάλες 250 ml τοποθετήθηκε 50 gr εδάφους και σε αυτό ρίχθηκε 250 ml διαλύματος νερού, επιμολυσμένο σε συγκέντρωση 10 $\mu\text{g/l}$ με Endosulfan .Η πρώτη δειγματοληψία η οποία αντιστοιχούσε στο χρόνο μηδέν έγινε πριν μετατραπεί το μίγμα σε διάλυμα νερού- χώματος.
- Στη συνέχεια το μίγμα στη κωνική φιάλη τοποθετήθηκε στο Shaker (150 rpm και θερμοκρασία δωματίου) και έγινε δειγματοληψία σε χρόνους 20, 300, 1680 και 2880 min (δηλαδή 0, 0.33, 28, 48 hrs). Τα δείγματα αποθηκεύθηκαν σε σκοτεινό μέρος σε θερμοκρασία 4°C μέχρι να αναλυθούν.
- Πριν γίνει εκχύλιση, τα δείγματα υποβλήθηκαν σε φυγοκέντριση (3500 rpm για 7 min), για να γίνει απομάκρυνση των μικρών σωματιδίων και την προστασία της ίνας .

Δεδομένου ότι η τύχη των δύο ισομερών (α - και β - Endosulfan) στο νερό δεν διαφέρει σημαντικά, αποφασίστηκε για τα επόμενα πειράματα να μετριέται η συνολική απόκριση του μηχανισμού που ισούται με το άθροισμα των κορυφών των δύο ρύπων.

- Κατανομή του Endosulfan σε δείγμα απιονισμένου νερού – ιζήματος (άμμος και αμμώδη πηλός)



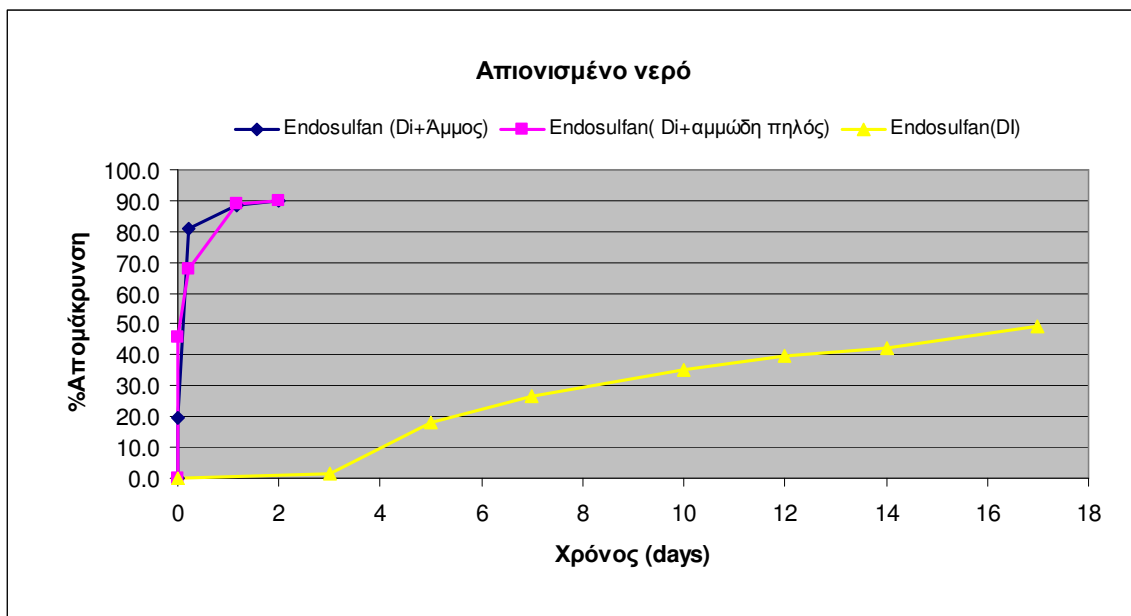
Διάγραμμα 6.6 Προσρόφηση του Endosulfan στο σύστημα απιονισμένου νερού - ιζήματος

Παρατηρούμε από τον παραπάνω διάγραμμα ότι μετά από χρόνο έκθεσης 28 ώρες, το ποσοστό προσρόφησης του Endosulfan (σε απιονισμένο νερό) στην άμμο και στο αμμώδη πηλός γίνεται περίπου το ίδιο. Στα πρώτα 20 λεπτά της έκθεσης, ο αμμώδης πηλός προσροφά 45.6% του Endosulfan ενώ η άμμος προσροφά μόνο 19.6%. Μετά από 5 ώρες έκθεσης των ιζημάτων σε Endosulfan, η μεγαλύτερη προσρόφηση σημειώνεται στο δείγμα με την άμμο (80.8%) εναντία 67.7% για τον αμμώδη πηλό. Ο αμμώδης πηλός πιθανόν να περιέχει μικρές συγκεντρώσεις χουμικών, τα οποία στα πρώτα λεπτά της έκθεσης προσροφά το Endosulfan από το διάλυμα νερού. Συμπεραίνουμε λοιπόν ότι οι τάξεις (το μέγεθος της) προσρόφησης του Endosulfan από την άμμος και τον αμμώδη πηλός είναι περίπου την ίδια.

Στα διαγράμματα που ακολουθούν κάνουμε σύγκρισης μεταξύ της υδρόλυσης του Endosulfan στα διάφορα νερό-μόνο δείγματα και της απομάκρυνσης του από ένα δείγμα που περιέχεται από το ιζήμα και το νερό. Αυτό έχει σκοπό να προσδιορίσουμε το πιο

σημαντικό μηχανισμό (μεταξύ της υδρόλυσης και της προσρόφησης) στο οποίο ευθύνεται η απομάκρυνση του Endosulfan από τα διάφορα δείγματα νερού- ιζήματος.

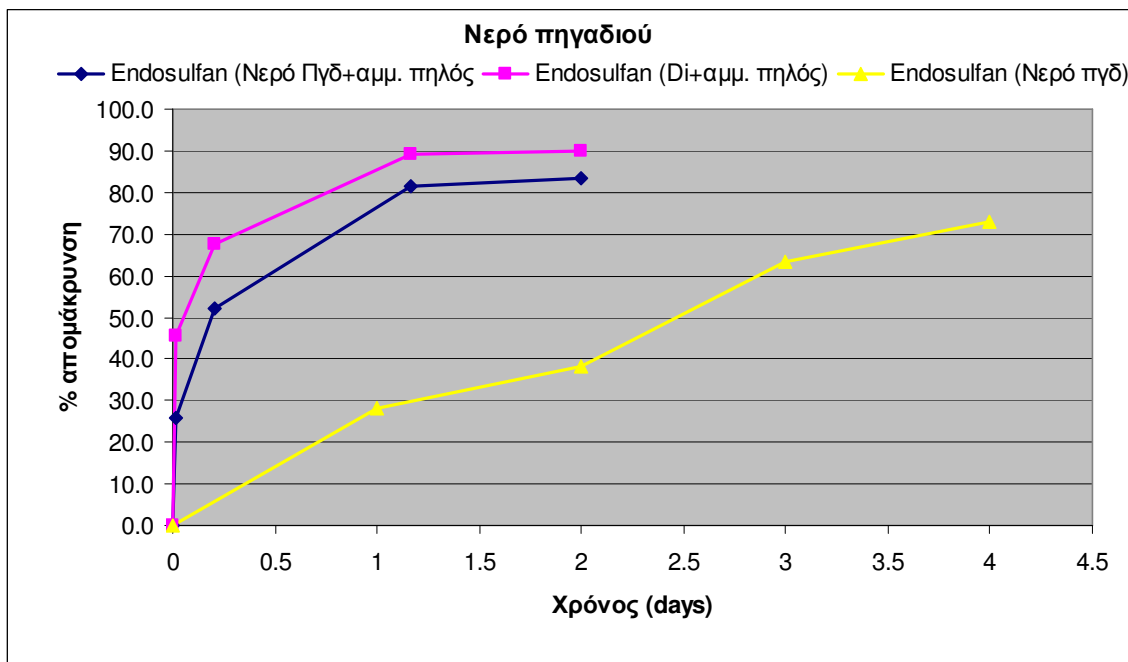
- Μηχανισμός απομάκρυνση του Endosulfan από δείγμα απιονισμένου νερό – ιζήματος(άμμος και αμμώδη πηλός)



Διάγραμμα 6.7 Απομάκρυνση του Endosulfan (δείγμα απιονισμένου νερό)

Στον παραπάνω διάγραμμα, κάνουμε μια σύγκριση μεταξύ της υδρόλυσης του Endosulfan σε απιονισμένου νερού και της απομάκρυνσης του από ένα δείγμα που περιέχεται από το ιζήμα και το απιονισμένο νερό. Παρατηρούμε ότι μετά από δύο μέρες απομακρύνεται περίπου 90% του Endosulfan από το δείγμα (απιονισμένο νερό + ιζήμα) ενώ στο ίδιο χρονικό διάστημα η υδρόλυση είναι υπεύθυνη μόνο για 1.7% απομάκρυνση της ένωσης από το απιονισμένο νερό. Συμπεράνουμε λοιπόν ότι η προσρόφηση είναι ο πιο σημαντικός μηχανισμός απομάκρυνσης του Endosulfan στο δείγμα με απιονισμένο νερό και ιζήμα.

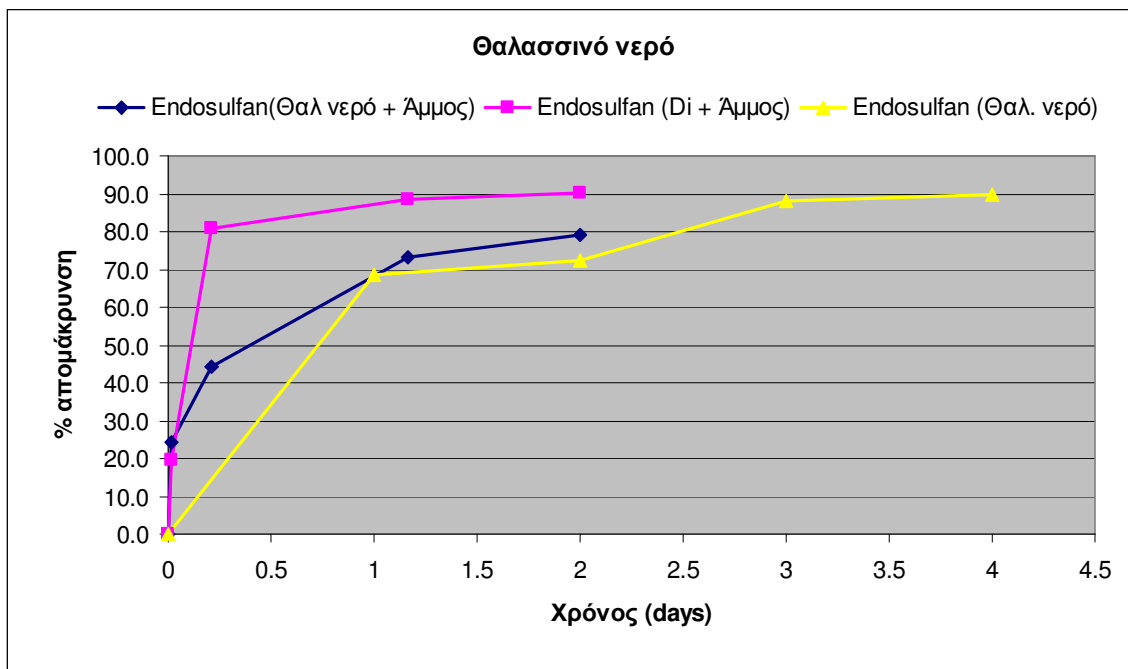
- Μηχανισμός απομάκρυνση του Endosulfan από το δείγμα νερό πηγαδιού – αμμώδη πηλός



Διάγραμμα 6.8 Απομάκρυνση του Endosulfan (νερό πηγαδιού)

Παρατηρούμε από το παραπάνω διάγραμμα ότι εντός δυο ημερών απομακρύνεται μέσω υδρόλυσης μόνο 38.3% του αρχικού Endosulfan που βρίσκεται στο δείγμα με νερό πηγαδιού. Αντίθετα, στο σύστημα με νερό πηγαδιού και αμμώδης πηλός, η απομάκρυνση στον ίδιο χρονικό διάστημα της ένωσης είναι 83.5%. Γεγονός που σημαίνει ότι η προσρόφηση είναι τόσο σημαντική όσο και η υδρόλυση (έχουν περίπου το ίδιο μέγεθος) στη απομάκρυνση του Endosulfan στο δείγμα με νερό πηγαδιού και αμμώδης πηλός. Παρατηρείται επίσης ότι στο δείγμα με απιονισμένο νερό-αμμώδη πηλός όπου γίνεται μόνο προσρόφηση, η απομάκρυνση του Endosulfan (90.1% σε δύο μέρες) είναι μεγαλύτερη σε σχέση με τη απομάκρυνση που γίνεται στο δείγμα με νερό πηγαδιού και αμμώδης πηλός (83.5% σε δύο μέρες) όπου γίνεται προσρόφηση και υδρόλυση.

- Μηχανισμός απομάκρυνση του Endosulfan από το δείγμα θαλασσινό νερό – άμμος



Διάγραμμα 6.9 Απομάκρυνση του Endosulfan (θαλασσινό νερό)

Από το παραπάνω διάγραμμα παρατηρείται ότι μετά από δύο μέρες απομακρύνεται 79.0% του Endosulfan που βρισκόταν αρχικά στο δείγμα με θαλασσινό νερό και άμμος ενώ στο ίδιο χρονικό διάστημα η απομάκρυνση του εντομοκτόνου μέσω υδρόλυσης είναι 72.3% από το δείγμα θαλασσινό-μόνο νερό. Συμπεράνουμε ότι η υδρόλυση σε αντίθεση με τη προσρόφηση είναι το πιο σημαντικό μηχανισμό απομάκρυνσης του Endosulfan στο σύστημα με θαλασσινό νερό και άμμος. Παρατηρούμε επίσης ότι στο δείγμα με απιονισμένο νερό-άμμος όπου γίνεται μόνο προσρόφηση, η απομάκρυνση του Endosulfan (90.1% σε δύο μέρες) είναι μεγαλύτερη από τη απομάκρυνση που γίνεται στο δείγμα με θαλασσινό νερό και άμμος (79.0% σε δύο μέρες) όπου η υδρόλυση είναι σημαντική.

Η σύνθεση του νερού στα δείγματα με το θαλασσινό νερό και το νερό πηγαδιού, είναι τέτοια που ευνοεί την υδρόλυση του Endosulfan μειώνοντας ενδεχομένως το ποσοστό που προσροφείται στην άμμο. Αντίθετα, η σύνθεση του απιονισμένου νερού ενθαρρύνει την προσρόφηση του Endosulfan στα ιζήματα. Άρα στο δείγμα με το απιονισμένο νερό, ένα μεγάλο μέρος του Endosulfan αναμένεται να παραμένει στο ιζήμα

ενώ στα δείγματα με το θαλασσινό νερό και το νερό πηγαδιού, το μεγαλύτερο ποσοστό διασπάται.

Το ποσοστό προσρόφησης του Endosulfan υπολογίζεται από τον τύπο:

$$\% \text{ προσρόφηση} = \frac{[A_0] - [A_t]}{[A_0]} * 100$$

Όπου $[A_0]$ είναι η αρχική ποσότητα του Endosulfan στο νερό και $[A_t]$ είναι η ποσότητα του Endosulfan στο νερό σε χρόνο t .

Πίνακας 6.8 Ποσοστό προσρόφησης του Endosulfan σε σύστημα νερού-ιζήματος(άμμος και αμμώδη πηλός)

% προσρόφησης	Απιονισμένο νερό + άμμος		Απιονισμένο νερό + αμμώδης πηλός		Θαλασσινό νερό + Άμμος		Νερό πηγαδιού+ αμμώδης πηλός	
Χρόνος (ώρες)	EDS-α	EDS-β	EDS-α	EDS-β	EDS-α	EDS-β	EDS-α	EDS-β
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
0.3333	18.3	21.4	41.6	51.3	20.0	29.1	21.8	31.0
5	73.3	91.1	60.0	78.4	39.6	49.8	48.2	57.1
28	85.3	93.1	87.5	91.1	67.4	79.7	78.1	85.9
48	87.5	93.7	88.4	92.4	74.4	84.0	80.6	87.1

Παρατηρούμε από τον παραπάνω πίνακα ότι το β- Endosulfan απομακρύνεται πιο γρήγορα από το α-Endosulfan σε όλα τα δείγματα νερού- ιζήματος. Οι μεγαλύτερες απομακρύνσεις (93.7% και 92.4% αντίστοιχα) του β- Endosulfan σημειώνονται στα δείγματα με απιονισμένου νερού –ιζήματος (άμμος και αμμώδης πηλός) όπου υπερिशύει η προσρόφηση. Ακολουθούν τα δείγματα με νερό πηγαδιού –αμμώδης πηλός (87.1%) και θαλασσινό νερό-άμμος (84.0%).

Η προσρόφηση του Endosulfan θα μπορούσε να περιγραφεί με τη αντίδραση κινητικής δεύτερης τάξεως [14]:

$$\frac{1}{A_t} - \frac{1}{A_0} = k_2 t$$

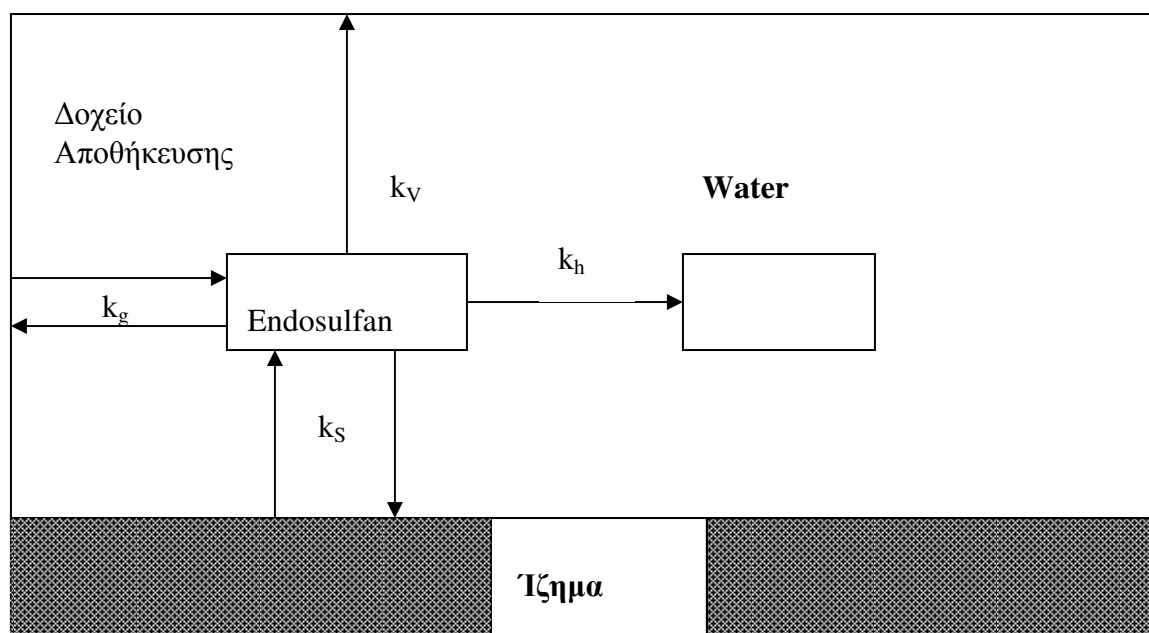
Όπου A_0 και k_2 δείχνει την τιμή της συντεταγμένης y και την κλίση της γραμμής διάσπασης, αντίστοιχα, A_t , είναι η ποσότητα του εντομοκτόνου στο νερό και t είναι ο

μετά – εφαρμογής χρόνος (χρόνος επώασης) για τις δύο ενώσεις. Ο παρακάτω πίνακας δείχνει τις τιμές αυτών των παραμέτρων υπολογισμένα για τους δύο ισομερές.

Πίνακας 6.9 Κινητική 2^{ης} τάξεως του α- και β Endosulfan για τα δείγματα με σύστημα νερού – ιζήματος

	Απιονισμένο νερό + άμμος		Απιονισμένο νερό + αμμώδης πηλός		Θαλασσινό νερό + Άμμος		Νερό πηγαδιού+ αμμώδης πηλός	
Παράμετρος	α	β	α	β	α	β	α	β
r ²	0.904	0.921	0.919	0.93	0.98	0.976	0.941	0.927
t _{1/2} (hrs)*	12.5	7	10	9	15	10	30	10

* $t_{1/2} = \frac{1}{k[A]_0}$ (χρόνος ημιζωής για αντίδραση δεύτερης τάξεως)



Σχήμα 6.1: Μοντέλο για τη συμπεριφορά endosulfan σε έναν απλό μικρόκοσμο. k_v = σταθερά αεριοποίησης, k_h = σταθερά υδρόλυσης, k_s = συντελεστής κατανομής ιζημάτων, k_g = συντελεστής κατανομής γυαλιού.[6]

Οι συγκεντρώσεις του Endosulfan diol, αυξάνονται με το πέρασμα του χρόνου. Το Endosulfan diol δεν ανιχνεύτηκε όμως στα δείγματα μας πιθανόν λόγω της χαμηλής ικανότητας ρόφησης στη ίνα SPME [29]

7. Συμπεράσματα

Τα αποτελέσματα που προέκυψαν από την πειραματική διαδικασία, όπως περιγράφηκαν στα προηγούμενα κεφάλαια είναι συνοπτικά τα εξής:

Πειράματα προσδιορισμού του κυρίου μηχανισμού διάσπασης Endosulfan σε νερό

- Σύμφωνα με τα πειραματικά αποτελέσματα της υδρόλυσης, στα διάφορα δείγματα που αναλύθηκαν εντοπίστηκε ότι η διαφορά μεταξύ του ρυθμού διάσπασης (υδρόλυσης) στα δείγματα νερού που τοποθετηθήκαν στο σκοτάδι και σε αυτά στο φως δεν ήταν σημαντική. Γεγονός που σημαίνει ότι η υδρόλυση είναι κύριος μηχανισμός διάσπασης του Endosulfan στα νερά.
- Όσον αφορά τον ρυθμό υδρόλυσης του Endosulfan στα διάφορα δείγματα νερού, παρατηρήθηκε ότι η γρηγορότερη υδρόλυση γίνεται στο δείγμα με το θαλασσινό νερό($t_{1/2}=1$ day) και μετά ακολουθούν τα δείγματα με νερό βρύσης ($t_{1/2}=2$ days), νερό πηγαδιού($t_{1/2}=3$ days), απιονισμένο νερού($t_{1/2}=16$ days).
- Το β-Endosulfan διασπάστηκε πιο γρήγορα από το α- Endosulfan σε όλα τα δείγματα νερού πράγμα που σημαίνει ότι είχαμε χημική υδρόλυση
- Το Endosulfan diol δεν ανιχνεύθηκε σε κανένα από τα δείγματα πιθανόν λόγω της μικρής διαρκείας των πειραμάτων[3]

Πειράματα με ιζήματα

- Στην αξιολόγηση της ικανότητας που έχουν τα ιζήματα (άμμος και αμμώδης πηλός) να προσροφούν, πρόκυψε ότι το ποσοστό προσρόφησης του Endosulfan στα δείγματα απιονισμένου νερού-άμμος και απιονισμένου νερού-αμμώδη πηλός είναι περίπου το ίδιο. Να σημειώσουμε όμως ότι στα πρώτα λεπτά της έκθεσης η προσρόφηση του Endosulfan στο δείγμα απιονισμένου νερού-αμμώδης πηλός ήταν αρκετά μεγαλύτερη από αυτή στο δείγμα απιονισμένου νερού-άμμος.
- Η προσρόφηση είναι ο πιο σημαντικός μηχανισμός απομάκρυνσης του Endosulfan στο δείγμα με απιονισμένο νερό και ίζημα.
- Η προσρόφηση είναι τόσο σημαντική όσο και η υδρόλυση στη απομάκρυνση του Endosulfan στο δείγμα με νερό πηγαδιού και αμμώδης πηλό

- Η υδρόλυση (σε αντίθεση με την προσρόφηση) είναι ο πιο σημαντικός μηχανισμός απομάκρυνσης του Endosulfan στο σύστημα με θαλασσινό νερό και άμμος.
- Το β- Endosulfan απομακρύνεται πιο γρήγορα από το α-Endosulfan σε όλα τα δείγματα νερού- ιζήματος.
- Όσον αφορά τον ποσοστό απομάκρυνσης του Endosulfan από τα διάφορα δείγματα νερού, το μεγαλύτερο ποσοστό (90.1%) σημειώθηκε στα δείγματα απιονισμένου νερού-ιζήματος (άμμος και αμμώδη πηλός) όπου η προσρόφηση ήταν ο κύριος μηχανισμός απομάκρυνσης. και μετά ακολουθηθήκαν τα δείγματα με νερό πηγαδιού-αμμώδης πηλός με ποσοστό 83.5% και με μηχανισμούς απομάκρυνσης την προσρόφηση και την υδρόλυση. Τέλος, το ποσοστό στο δείγμα θαλασσινό νερό-άμμος όπου η υδρόλυση ήταν κύριος μηχανισμός απομάκρυνσης ήταν μόνο 79%.

Η παρουσία εργασία αποδεικνύει επίσης ότι είναι δυνατή η ανίχνευση ιχνοποσοτήτων Endosulfan καθώς και η μελέτη μηχανισμού διάσπασης αυτού σε υδατικά δείγματα με τη μέθοδο της SPME σε σύζευξη με αέριο χρωματογράφο – ανιχνευτή σύλληψης ηλεκτρονίου (GC-ECD). Αυτή η μέθοδος παρουσιάζει πλεονεκτήματα έναντι των παλαιότερα χρησιμοποιούμενων, όπως είναι η μεγάλη ευαισθησία, ταχύτητα, η ελαχιστοποίηση του χρησιμοποιημένου διαλύτη και η ακρίβεια.

Βιβλιογραφία

- [1] Mathava kumar and Ligy Philip, 'Bioremediation of **endosulfan** contaminated soil and water—Optimization of operating conditions in laboratory scale reactors', (2006), Journal of Hazardous Materials, 136, Issue 2, Pages 354-364
- [2] Ahmed Hussen, Rikard Westbom, Negussie Megersa, Lennart Mathiasson and Erland Björklund, 'Development of a pressurized liquid extraction and clean-up procedure for the determination of α -**endosulfan**, β -**endosulfan** and **endosulfan** sulfate in aged contaminated Ethiopian soils', (2006) Journal of Chromatography A, 1103, Issue 2, Pages 202-210
- [3] M. C. López-Blanco, S. Blanco-Cid, B. Cancho-Grande and J. Simal-Gándara, 'Application of single-drop microextraction and comparison with solid-phase microextraction and solid-phase extraction for the determination of α - and β -**endosulfan** in water samples by gas chromatography–electron-capture detection', (2003), Journal of Chromatography A, 984, Issue 2, Pages 245-252
- [4] Department of Health and Human Services and US Department of Labor, 1995. Occupational Safety and Health Guideline for Endosulfan
- [5] NATIONAL RECOMMENDED WATER QUALITY CRITERIA FOR PRIORITY TOXIC POLLUTANTS, EPA, 2006
- [6] ENDOSULFAN, German Federal Environment Agency –Umweltbundesamt, Berlin September 2004
- [7] <http://www.inchem.org/documents/hsg/hsg/hsg017.htm>, IPCS INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY, Health and Safety Guide No. 17
- [8] Niranjana Awasthi, Rajiv Ahuja and Ashwani Kumar, 'Factors influencing the degradation of soil-applied endosulfan isomers', (2000), Soil Biology and Biochemistry, 32, Issues 11-12, Pages 1697-1705
- [9] S. M. Peterson and G. E. Batley, 'The **fate of endosulfan** in aquatic ecosystems' (1993), Environmental Pollution, 82, Issue 2, 1993, Pages 143-152
- [10] Sarunya Hengprapon and Cindy Lee, Hydrolysis of Endosulfan, Environmental Engineering and Science, Clemson University
- [11] TOXICOLOGICAL PROFILE FOR ENDOSULFAN, U.S. DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES, Public Health Service, Agency for Toxic Substances and Disease Registry, September 2000
- [12] Usha S. and Harikrishnan V. R. Endosulfan - Fact sheet and Answers to Common, September 2005
- [13] P.K. GUPTA and R.C. GUPTA, PHARMACOLOGY, TOXICOLOGY AND DEGRADATION OF ENDOSULFAN, Toxicology, 13 (1979) 115-130
- [14] Jerald L. Schnoor, 'Περιβαλλοντικά Μοντέλα', Τύχη και Μεταφορά Ρύπων στον Αέρα, Νερό και Έδαφος, ΕΚΔΟΣΕΙΣ ΤΖΙΟΛΑ

- [15] E. Psillakis, N. Kalogerakis , Developments in liquid-phase microextraction, Trends in Analytical Chemistry.
- [16] Luke Chimuka, Ewa Cukrowska, and Jan Åke Jönsson , Why liquid membrane extraction is an attractive alternative in sample preparation .Pure Appl. Chem.
- [17] György Vas and Karoly Vekey, Solid-phase microextraction: a powerful Sample preparation tool prior to mass spectrometric analysis. Journal of mass spectrometry
- [18] Zoltan Mester, Ralph Sturgeon, Janusz Pawliszyn, Solid phase microextraction as a tool for trace element speciation. Spectrochimica Acta Part B 56Z2001.233_260
- [19]Tung Si Ho, Stig Pedersen-Bjergaard, Knut Einar Rasmussen, Recovery, enrichment in LPME, comparison with conventional LLE. Journal of Chromatography A, 963(2002)3-17
- [20] Stig Pedersen-Bjergaard and **Knut Einar Rasmussen** ,Bioanalysis of drugs by liquid-phase microextraction coupled to separation techniques • Journal of Chromatography B, Volume 817, Issue 1, 5 March 2005, Pages 3-12
- [21]Solid-phase microextraction for the analysis of biological samples Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications, Volume 745, Issue 1, 4 August 2000, Pages 49-82 **G. Theodoridis**, E. H. M. Koster and G. J. de Jong
- [22]A. Peñalver, E. Pocurull, F. Borrull and R. M. Marcé ,Trends in solid-phase microextraction for determining organic pollutants in environmental samples • TrAC Trends in Analytical Chemistry, Volume 18, Issue 8, August 1999, Pages 557-568 ,
- [23]Jeannot MA, Cantwell FF. Mass transfer characteristics of solvent extraction into a single drop at a tip of a syringe needle. Analytical chemistry 1997;69:235-239.
- [24]**Knut Einar Rasmussen** and Stig Pedersen-Bjergaard , Developments in hollow fibre-based, liquid-phase microextraction , TrAC Trends in Analytical Chemistry, Volume 23, Issue 1, January 2004, Pages 1-10
- [25]James S. Fritz and Miroslav **Macka** , **Solid-phase trapping of solutes for further chromatographic or electrophoretic analysis** ,Journal of Chromatography A, Volume 902, Issue 1, 24 November 2000, Pages 137-166
- [26]Χαραλαμπάκι Μ. (2004) ‘Προσδιορισμός πολυκυκλικών αρωματικών υδρογονανθράκων σε υδατικά δείγματα με χρήση της τεχνικής LPME-GC/MS: εφαρμογή σε δείγματα εκροής από μονάδες βιολογικού καθαρισμού’ Μεταπτυχιακή διατριβή

[27] Pecsok/Shields/Cairns/McWilliam, Σύγχρονες Μέθοδοι στη Χημική Ανάλυση, Δεύτερη έκδοση, ΕΚΔΟΣΕΙΣ, Γ.Α ΠΝΕΥΜΑΤΙΚΟΣ

[28] Σταμάτη Φωτεινή, 'Υδρολογία και Γεωχημεία των Μεσογειακών Εποχικών Λιμνίων (ΜΕΛ) της Δυτικής Κρήτης' ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ, στα πλαίσια του ΜΔΕ 'Περιβαλλοντική και Υγειονομική Μηχανική, Πολυτεχνείο Κρήτης', Μάιος 2006

[29] **U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY WASHINGTON, DC 20460**, OFFICE OF PREVENTION, PESTICIDES AND TOXIC SUBSTANCES **MEMORANDUM** April 13, 2001

[30] G.A Penuela, D. Barcelo, 'Application of C18 disks followed by gas chromatography techniques to degradation kinetics, stability and monitoring of Endosulfan in water'. J Chromatogr. A 795 (1998) 93-104

[31] Tadeusz Górecki, Xiaomei Yu and Janusz Pawliszyn, 'Theory of analyte extraction by selected porous polymer SPME fibres', *Analyst*, 1999, 124, 643–649

[32] Τροποποίηση εγκρίσεων κυκλοφορίας των φυτοπροστατευτικών προϊόντων που περιέχουν τη δραστική ουσία endosulfan, ως προς το φάσμα δράσης, ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ Αθήνα, 10.06.2003, ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΓΕΩΡΓΙΑΣ, ΓΕΝΙΚΗ Δ/ΝΣΗ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ Αριθ. πρωτ.: 102891