

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ	4
1. ΜΙΚΡΟΕΚΧΥΛΙΣΗ ΥΓΡΗΣ ΦΑΣΗΣ ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΚΟΙΛΗΣ ΜΕΜΒΡΑΝΗΣ (LPME/HF).....	8
1.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ	8
1.2 ΤΡΟΠΟΙ ΠΡΑΓΜΑΤΟΠΟΙΗΣΗΣ ΠΕΙΡΑΜΑΤΩΝ ΜΕ ΜΙΚΡΟΕΚΧΥΛΙΣΗ ΥΓΡΗΣ ΦΑΣΗΣ ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΚΟΙΛΗΣ ΜΕΜΒΡΑΝΗΣ (LPME/HF).....	8
1.2.1 Μικροεκχύλιση υγρής φάσης δύο φάσεων.....	8
1.2.2 Μικροεκχύλιση υγρής φάσης τριών φάσεων.....	10
1.3 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΕΣ ΔΙΑΤΑΞΕΙΣ ΚΟΙΛΗΣ ΜΕΜΒΡΑΝΗΣ ΓΙΑ ΤΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ LPME ΔΥΟ ΚΑΙ ΤΡΙΩΝ ΦΑΣΕΩΝ.....	12
1.4 ΒΕΛΤΙΣΤΟΠΟΙΗΣΗ ΜΕΘΟΔΟΥ	16
• <i>Κοίλη μεμβράνη</i>	<i>16</i>
• <i>Οργανικός διαλύτης</i>	<i>16</i>
• <i>Ρυθμός ανάδευσης</i>	<i>19</i>
• <i>Έλεγχος ιοντικής ισχύος</i>	<i>21</i>
• <i>Διάρκεια εκχύλισης</i>	<i>22</i>
1.5 ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΤΕΧΝΙΚΗΣ	24
✓ <i>ΡΑΗs, Αρωματικοί πολυκυκλικοί υδρογονάνθρακες</i>	<i>24</i>
✓ <i>Φθαλικοί εστέρες (Πλαστικοποιητές).....</i>	<i>25</i>
✓ <i>Οργανοφωσφορικά και Ν-μεθυλοκαρβαμίδια (Εντομοκτόνα)</i>	<i>27</i>
✓ <i>Νιτροαρωματικές ενώσεις (Εκρηκτικά)</i>	<i>27</i>
✓ <i>Αρωματικές αμίνες</i>	<i>28</i>
1.6 ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΗΣ ΤΕΧΝΙΚΗΣ.....	28
2. ΜΙΚΡΟΕΚΧΥΛΙΣΗ ΥΓΡΗΣ ΦΑΣΗΣ ΜΕ ΤΗ ΧΡΗΣΗ ΜΟΝΗΣ ΣΤΑΓΟΝΑΣ (SDME).....	30
2.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ	30
2.2 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΕΣ ΔΙΑΤΑΞΕΙΣ ΚΑΙ ΠΡΩΤΕΣ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ	30
2.3 ΒΕΛΤΙΣΤΟΠΟΙΗΣΗ ΜΕΘΟΔΟΥ	36
• <i>Επιλογή διαλύτη.....</i>	<i>36</i>
• <i>Ρυθμός ανάδευσης</i>	<i>39</i>
• <i>Έλεγχος ιοντικής ισχύος</i>	<i>42</i>

• Διάρκεια εκχύλισης	43
2.4 ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΤΕΧΝΙΚΗΣ	45
✓ Νιτροαρωματικά εκρηκτικά	45
✓ Οργανοχλωριωμένα εντομοκτόνα	45
✓ Προγεστερόνη	46
✓ Χλωροβενζόλια	46
✓ Οργανοφωσφορικά εντομοκτόνα	47
✓ Αλκυλοφαινόλες (Alkylphenols)	48
2.5 ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΕΧΝΙΚΗΣ	48
3. ΜΙΚΡΟΕΚΧΥΛΙΣΗ ΤΟΥ ΥΠΕΡΚΕΙΜΕΝΟΥ ΧΩΡΟΥ ΜΕ ΜΟΝΗ ΣΤΑΓΟΝΑ (HEADSPACE SDME).....	50
3.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ	50
3.2 ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΥΠΟΒΑΘΡΟ	51
3.3 ΟΡΓΑΝΟΛΟΓΙΑ – ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΤΑΞΗ	53
3.4 ΒΕΛΤΙΣΤΟΠΟΙΗΣΗ ΜΕΘΟΔΟΥ	55
• Επιλογή διαλύτη	55
• Ρυθμός ανάδευσης	57
• Έλεγχος ιοντικής ισχύος	60
• Διάρκεια εκχύλισης	62
3.5 ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΤΕΧΝΙΚΗΣ	64
✓ BTEX (βενζόλιο, τολουόλιο, αιθυλοβενζόλιο και ο-ξυλόλιο)	64
✓ VOCs (πτητικές οργανικές ενώσεις)	65
✓ PAHs (πολυκυκλικοί αρωματικοί υδρογονάνθρακες)	65
✓ Υδρίδιο του μεθυλουδραργύρου (MeHgH)	65
✓ Προσδιορισμός αρσενικού As(III), σελούριου Se(IV) και αντιμόνιου Sb(III)	66
✓ Τριαλομεθάνια (Trihalomethanes, THMs)	67
✓ Οργανοκασσιτερικές ενώσεις	67
✓ Μέθυλο- <i>t</i> -βούτυλο αιθέρας (methyl <i>t</i> -butylether, MTBE)	67
✓ Αλειφατικές αμίνες	68
Πίνακας δημοσιευμένων εφαρμογών	69
3.5 ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΗΣ ΤΕΧΝΙΚΗΣ	73

4. ΕΝΑΛΛΑΚΤΙΚΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΣΤΗΝ ΜΙΚΡΟΕΚΧΥΛΙΣΗ ΥΓΡΗΣ ΦΑΣΗΣ 74

4.1 ΜΙΚΡΟΕΚΧΥΛΙΣΗ ΔΙΑΛΥΤΗ ΜΕ ΡΑΒΔΟ (SBME).....	74
4.1.1 Βασική αρχή.....	74
4.1.2 Βελτιστοποίηση μεθόδου.....	76
• Κοίλη μεμβράνη	76
• Οργανικός διαλύτης	77
• Ρυθμός ανάδευσης	79
• Έλεγχος ιοντικής ισχύος	80
• Διάρκεια εκχύλισης	81
4.1.3 Εφαρμογές τεχνικής.....	82
✓ Χλωροφαινοξυ οξικά οξέα (Ζιζανιοκτόνα)	82
✓ Πενταχλώροβενζόλιο (PCB) και εξάχλωροβενζόλιο (HCB).....	82
4.1.4 Αξιολόγηση τεχνικής	82
4.2 ΜΙΚΡΟΕΚΧΥΛΙΣΗ ΥΓΡΗΣ ΦΑΣΗΣ ΣΥΝΕΧΟΥΣ ΡΟΗΣ (CFME)	84
4.2.1 Εισαγωγή.....	84
4.2.2 Πειραματική διάταξη.....	84
4.2.3 Δυνάμεις στην κατάσταση ισορροπίας	86
4.2.4 Βελτιστοποίηση μεθόδου.....	88
• Ρυθμός ροής του διαλύματος του δείγματος	88
• Οργανικός διαλύτης	89
• Έλεγχος ιοντικής ισχύος	89
4.2.5 Εφαρμογές τεχνικής.....	90
✓ Πτητικά αλκυλαλογονίδια, VHHs (CHCl_3 , CCl_4 , C_2HCl_3 και C_2Cl_4) ...	90
4.2.6 Αξιολόγηση τεχνικής	91

5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....93

6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....97

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ρύπανση είναι κάθε αλλοίωση της σύστασης (ποιοτικής και ποσοτικής) ή της μορφής των φυσικών, χημικών και βιολογικών χαρακτηριστικών του περιβάλλοντος με αποτέλεσμα τη διατάραξη της ισορροπίας του οικοσυστήματος, την υποβάθμιση του περιβάλλοντος και την πρόκληση βλαβών στον άνθρωπο [1]. Στην εποχή μας ένα μεγάλο μέρος της περιβαλλοντικής ρύπανσης οφείλεται στις ανθρώπινες δραστηριότητες. Είναι, σήμερα, επιτακτική η ανάγκη ανάπτυξης γρήγορων, αποτελεσματικών και ευαίσθητων αναλυτικών τεχνικών με σκοπό τον εντοπισμό και την αντιμετώπιση των περιβαλλοντικών ρύπων.

Με τη χρήση της όλο και αναπτυσσόμενης τεχνολογίας ο άνθρωπος έχει αναπτύξει αρκετές οργανολογίες για την επίτευξη του παραπάνω στόχου. Ωστόσο, ένα μειονέκτημα αυτών των τεχνικών είναι ότι δεν δύνανται να αντιμετωπίσουν το περιβάλλον του δείγματος άμεσα και ως αποτέλεσμα απαιτείται ένα βήμα προετοιμασίας του δείγματος. Τις περισσότερες φορές το βήμα αυτό περιλαμβάνει εκχυλίσσεις, οι οποίες χρησιμοποιούνται για την απομόνωση των υπό εξέταση ενώσεων από τις υπόλοιπες ουσίες που υπάρχουν στο δείγμα. Ως αποτέλεσμα, πραγματοποιείται εμπλουτισμός του δείγματος, δηλαδή η συγκέντρωση των ενώσεων στόχων αυξάνεται και καθαρισμός του δείγματος καθώς η παρουσία των υπόλοιπων συστατικών στο δείγμα μειώνεται [3].

Η εκχύλιση είναι μια από τις πιο συνηθισμένες τεχνικές διαχωρισμού και βασίζεται στην ισορροπία κατανομής μιας ουσίας μεταξύ δύο φάσεων, που αναμιγνύονται ελάχιστα μεταξύ τους. Η πιο συνηθισμένη περίπτωση διαχωρισμού με εκχύλιση είναι η υγρό-υγρό εκχύλιση (liquid-liquid extraction, LLE), δηλαδή η εκχύλιση ενός διαλύματος ουσιών με ένα υγρό. Η εκχύλιση αυτή με υγρούς διαλύτες βασίζεται στην κατανομή μιας διαλυμένης ουσίας μεταξύ δύο υγρών, τα οποία πρακτικώς δεν αναμιγνύονται μεταξύ τους. Η ουσία κατανέμεται μεταξύ των δύο υγρών φάσεων κατά ορισμένη αναλογία και αποκαθίσταται ισορροπία, όταν η ελεύθερη ενέργεια της διαλυμένης ουσίας είναι ίδια και στις δύο φάσεις. Στην κλασσική υγρό-υγρό εκχύλιση μπορεί να χρησιμοποιηθεί οποιοσδήποτε συνδυασμός δύο διαλυτών, που αναμιγνύονται ελάχιστα μεταξύ τους, συνήθως όμως η μια από τις δύο φάσεις

είναι ένα υδατικό διάλυμα, ενώ η άλλη ένας οργανικός διαλύτης, οπότε τα μεν ανόργανα ιόντα και οι πολικές οργανικές ενώσεις ευρίσκονται κατά κύριο λόγο στην υδατική φάση, ενώ οι μη πολικές οργανικές ενώσεις στην οργανική φάση [2].

Η υγρό-υγρό εκχύλιση (LLE), είναι μια τεχνική προετοιμασίας του δείγματος που επιβάλλεται σε αρκετές βασικές αναλυτικές μεθόδους για τον προσδιορισμό περιβαλλοντικών ρύπων. Ωστόσο, υπάρχουν αρκετά προβλήματα κατά τη χρήση της, όπως για παράδειγμα ότι είναι χρονοβόρα καθώς απαιτεί πολλά στάδια για την εφαρμογή της. Επίσης χρησιμοποιούνται μεγάλες ποσότητες τοξικών διαλυτών, οι οποίοι θέτουν σε κίνδυνο την υγεία του προσωπικού και καταλήγουν στην παραγωγή επικίνδυνων εργαστηριακών αποβλήτων, γεγονός που προσθέτει επιπλέον κόστος στην διαχείριση των αποβλήτων. Τέλος, κατά την κλασσική υγρό-υγρό εκχύλιση δημιουργούνται γαλακτώματα τα οποία εμποδίζουν τον αυτοματισμό της μεθόδου [3].

Με σκοπό την αντιμετώπιση των παραπάνω προβλημάτων που προκύπτουν κατά την κλασσική υγρό-υγρό εκχύλιση, πραγματοποιείται συνεχής έρευνα για την θεμελίωση καινοτόμων αναλυτικών τεχνικών για τον προσδιορισμό των περιβαλλοντικών ρύπων. Κύρια χαρακτηριστικά των νέων μεθόδων αποτελούν η ταχύτητα, η αποτελεσματικότητα, η ευαισθησία, το μικρό κόστος και η δυνατότητα χρήσης όσο το δυνατόν μικρότερου όγκου τοξικού διαλύτη. Το αποτέλεσμα συνεχούς αναζήτησης νέων τεχνικών προετοιμασίας δείγματος αποτελεί ένα σύνολο αναλυτικών τεχνικών που βασίζονται στην αρχή της κλασσικής υγρό-υγρό εκχύλισης (LLE), απαλλαγμένων όμως από τα σημαντικότερα μειονεκτήματά της. Οι τεχνικές αυτές αποτελούν μικρογραφία της τυπικής υγρής-υγρής εκχύλισης (LLE) και η γενική ιδέα αυτών των νέων τεχνικών είναι η μεγάλη μείωση της αναλογίας των όγκων στις φάσεις του δέκτη και του δότη. Η μείωση πραγματοποιείται με δύο τρόπους: είτε με τη χρήση μη αναμίξιμων υγρών φάσεων (μικροεκχύλιση διαλύτη) είτε με μια μεμβράνη για το διαχωρισμό των φάσεων του δέκτη και του δότη (εκχύλιση μεμβράνης) [3,13].

Η μικροεκχύλιση υγρής φάσης (LPME) περιλαμβάνει δύο βασικές μεθοδολογίες οι οποίες χρησιμοποιούνται ανάλογα τον υπό εξέταση αναλύτη. Η μία κατηγορία αυτών περιλαμβάνει την μικροεκχύλιση υγρής φάσης μονής

σταγόνας (SDME) και την μικροεκχύλιση υγρής φάσης του υπερκείμενου χώρου μονής σταγόνας (headspace SDME). Στις δύο τεχνικές, οι οποίες αποτελούν σύστημα δύο φάσεων, η φάση του δέκτη είναι μια μικροσταγόνα, στην άκρη μιας μικροσύριγγας, ενός μη-αναμίξιμου με το νερό οργανικού διαλύτη που αιωρείται είτε μέσα στο υδατικό διάλυμα του δότη (SDME), είτε πάνω από αυτό για τον προσδιορισμό μικρών ποσοτήτων πτητικών αναλυτών (headspace SDME) [13].

Η δεύτερη κατηγορία περιλαμβάνει την υγρή-υγρή μικροεκχύλιση (σύστημα δύο φάσεων) και την υγρή-υγρή-υγρή μικροεκχύλιση LLLME (σύστημα τριών φάσεων), η αποτελεσματικότητα των οποίων βασίζεται στην χρήση μη αναμίξιμων υγρών. Επίσης, μια άλλη μορφή της υγρής-υγρής μικροεκχύλισης είναι η εκχύλιση μεμβράνης. Σε αυτή την περίπτωση είτε τα διαλύματα του δέκτη και του δότη και στις δύο πλευρές της μεμβράνης είναι σε επαφή διαμέσου των πόρων της μεμβράνης, είτε η μεμβράνη σχηματίζει μια ξεχωριστή φάση (πολυμερές ή υγρό) ανάμεσα στα διαλύματα του δέκτη και του δότη. Κατά την τελευταία περίπτωση, η οποία ονομάστηκε 'υποστηριζόμενη με υγρό μεμβράνη' (SLM), χρησιμοποιούνται οι πόροι της πολυμερικής μεμβράνης ως στήριγμα για έναν οργανικό διαλύτη δημιουργώντας έτσι ένα σύστημα τριών φάσεων, με την οργανική φάση να βρίσκεται ανάμεσα στα υδατικά διαλύματα του δέκτη και του δότη. Στις περιπτώσεις όπου μια από τις φάσεις (συνήθως του δέκτη) είναι επίσης ένας οργανικός διαλύτης, χρησιμοποιείται η λεγόμενη 'υγρή-υγρή εκχύλιση με μικροπορώδη μεμβράνη' (MMLLE), που αποτελεί σύστημα δύο φάσεων. Η χρήση των μεμβρανών, η οποία μπορεί να είναι είτε επίπεδη είτε κοίλη, παρουσιάζει τα πλεονεκτήματα υψηλής εκλεκτικότητας, σχηματισμού καθαρού εκχυλίσματος και υψηλό βαθμό εμπλουτισμού. Η ανάλυση δείγματος διευκολύνεται με την επιπρόσθετη μείωση της κατανάλωσης διαλυτών. Οι περισσότερες από τις παραπάνω τεχνικές περιλαμβάνουν κάποιου είδους on-line σύνδεσης του εκχυλίσματος από την μεμβράνη με τα όργανα ανάλυσης [3].

Ωστόσο, λόγω αρκετών προβλημάτων που έχουν ανακύψει κατά τον αυτοματισμό των συσκευών αυτών, που είναι κυρίως προβλήματα στην μνήμη, αναπτύχθηκαν μερικές off-line συσκευές. Μια από αυτές τις off-line διατάξεις αναπτύχθηκε από τους Pedersen-Bjergaard και Rasmussen και

ονομάστηκε και αυτή μικροεκχύλιση υγρής φάσης (LPME) [4]. Σε αυτή την διάταξη χρησιμοποιούνται πορώδεις, υδροφοβικές, κοίλες μεμβράνες διαποτισμένες με μια οργανική φάση έτσι ώστε να καλύπτονται και τα δύο συστήματα SLM και MMLE. Η προκύπτουσα μέθοδος θεωρείται μια εξέλιξη των μεθόδων μικροεκχύλισης διαλύτη, καθώς προσθέτει ένα προστατευτικό στοιχείο στα συστήματα μικροσταγόνας και βοηθά στην δημιουργία μη αναμίξιμων υγρών. Αυτή η νέα μεθοδολογία εκχύλισης αποδείχτηκε ότι είναι μια ενδιαφέρουσα εναλλακτική άλλων μεθόδων μικροεκχύλισης, γιατί εκτός του ότι είναι απλή, φθηνή, γρήγορη και ουσιαστικά αποδίδει χωρίς τη χρήση διαλύτη, έχει υψηλή ευαισθησία και λόγω της διαθεσιμότητας των κοίλων μεμβρανών εξαλείφει επίσης την πιθανότητα συμπαράσυρσης μεταξύ των αναλύσεων [3].

Η συνεχής έρευνα για την βελτίωση των αναλυτικών τεχνικών που χρησιμοποιούνται για τον προσδιορισμό μικρών ποσοτήτων περιβαλλοντικών ρύπων οδήγησε στην χρησιμοποίηση άλλων δυο εναλλακτικών τεχνικών, οι οποίες βασίζονται στην γενική αρχή της εκχύλισης υγρού-υγρού. Οι τεχνικές αυτές είναι η μικροεκχύλιση υγρής φάσης με χρήση ράβδου (SBME) και η μικροεκχύλιση υγρής φάσης συνεχούς ροής (CFME). Η πρώτη τεχνική περιλαμβάνει μια διάταξη κατά την οποία ο οργανικός διαλύτης περιορίζεται σε μια μικρού μήκους κοίλη μεμβράνη, σφραγισμένη και από τις δύο άκρες, η οποία τοποθετείται σε ένα αναδευόμενο υδατικό διάλυμα του δείγματος. Η ελεύθερη κίνηση της ράβδου εκχύλισης μέσα στο διάλυμα του δείγματος διευκολύνει την εκχύλιση των αναλυτών στόχων [43,44]. Στη δεύτερη τεχνική το διάλυμα του δείγματος ρέει συνεχώς μέσα από έναν σωλήνα όπου υπάρχει η μικροσταγόνα του διαλύτη και με αυτό τον τρόπο πραγματοποιείται η εκχύλιση. Με την μέθοδο αυτή επιτυγχάνεται υψηλότερος συντελεστής συγκέντρωσης από ότι στην στατική μικροεκχύλιση υγρής φάσης (LPME), γιατί η σταγόνα του διαλύτη βρίσκεται συνεχώς σε επαφή με το διάλυμα του δείγματος [45, 46].

1. Μικροεκχύλιση υγρής φάσης με χρήση κοίλης μεμβράνης (LPME/HF)

1.1 Εισαγωγή

Πρόσφατα η μικροεκχύλιση υγρής φάσης με τη χρήση κοίλης μεμβράνης (LPME) εφαρμόζεται σε αρκετές μελέτες ανάλυσης περιβαλλοντικών δειγμάτων [4-12]. Η χρήσης μιας πορώδους κοίλης μεμβράνης, η οποία συνδέεται από τη μια άκρη με μια μικροσύριγγα, προσθέτει ένα προστατευτικό χαρακτηριστικό στην οργανική φάση και χρησιμεύει ως μια μεσεπιφάνεια μεταξύ των φάσεων του δότη και του δέκτη. Η δυνατότητα χρήσης μεγαλύτερων όγκων της φάσης του διαλύτη 'δέκτη', οδηγεί στην αύξηση της ευαισθησίας της τεχνικής. Επίσης, λόγω του μικρού κόστους της ανάλυσης ανά δείγμα, η μεμβράνη μπορεί να αντικαθίσταται συχνά και έτσι να περιορίζεται κατά πολύ η πιθανότητα συμπαράσυρσης των ουσιών μεταξύ των αναλύσεων [6].

Σήμερα, η μικροεκχύλιση υγρής φάσης με τη χρήση κοίλης μεμβράνης (LPME) αντιπροσωπεύει μια ενδιαφέρουσα εναλλακτική ως προς άλλες τεχνικές μικροεκχύλισης, καθώς έχει το πλεονέκτημα ότι είναι απλή, φθηνή, με μεγάλη ευαισθησία, γρήγορη και πραγματοποιείται με χρήση ελάχιστων ποσοτήτων διαλύτη [6].

1.2 Τρόποι πραγματοποίησης πειραμάτων με μικροεκχύλιση υγρής φάσης με χρήση κοίλης μεμβράνης (LPME/HF)

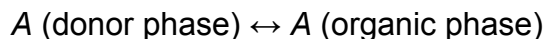
Υπάρχουν δύο τρόποι διεξαγωγής πειραμάτων με μικροεκχύλιση υγρής φάσης (LPME):

- ✓ δύο φάσεων και
- ✓ τριών φάσεων.

1.2.1 Μικροεκχύλιση υγρής φάσης δύο φάσεων

Στην μικροεκχύλιση δύο φάσεων, ο αναλύτης Α εκχυλίζεται από το υδατικό δείγμα (φάση δότη) μέσω ενός μη αναμίξιμου με το νερό διαλύτη, ο οποίος είναι ακινητοποιημένος στους πόρους μιας κοίλης μεμβράνης, μέσα στον ίδιο

οργανικό διαλύτη (φάση δέκτη) που υπάρχει στην κοίλη μεμβράνη (εικόνα 1.1, (i)). Η διαδικασία εκχύλισης σε μια μικροεκχύλιση LPME δύο φάσεων για έναν αναλύτη A παρουσιάζεται παρακάτω:

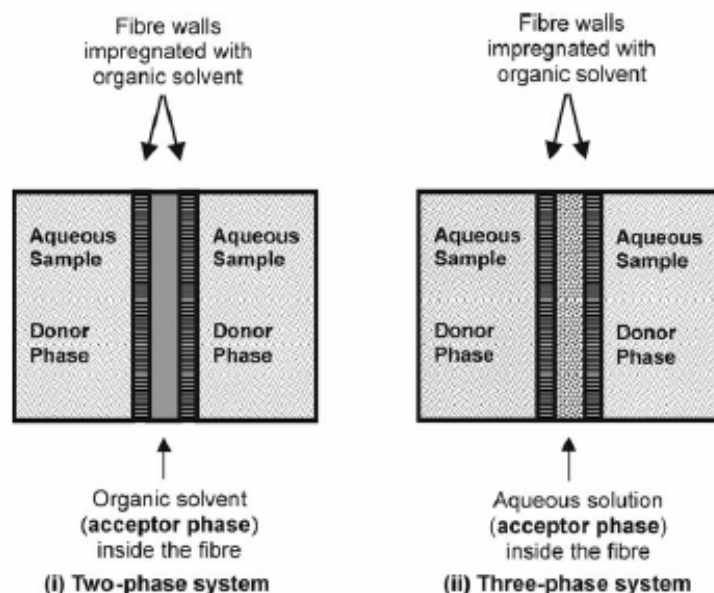


και χαρακτηρίζεται από τον συντελεστή κατανομής $K_{\text{org/d}}$, ο οποίος ορίζεται ως ο λόγος των συγκεντρώσεων του αναλύτη A στην οργανική φάση ($C_{\text{eq.org}}$) και στη φάση του δότη ($C_{\text{eq.d}}$), δηλαδή στην υδατική φάση, σε συνθήκες ισορροπίας [3].

$$K_{\text{org/d}} = C_{\text{eq.org}}/C_{\text{eq.d}} \quad (1)$$

Μια επιτυχής μικροεκχύλιση LPME δύο φάσεων απαιτεί μεγάλες αναλογίες κατανομών για τον υπό εξέταση αναλύτη. Τέτοιες τιμές $K_{\text{org/d}}$ αντιστοιχούν σε μέτρια ή αρκετά υδροφοβικές ενώσεις με όξινες ή βασικές ομάδες, ή ουδέτερες ενώσεις παραπλήσιας υδροφοβικότητας [3].

Οφείλουμε να αναφέρουμε σε αυτό το σημείο ότι στην μικροεκχύλιση LPME δύο φάσεων το τελικό εκχύλισμα είναι μια οργανική φάση, συμβατή με διάφορες αναλυτικές τεχνικές, όπως για παράδειγμα η αεριοχρωματογραφία (GC) και η υγροχρωματογραφία 'υψηλής απόδοσης' (HPLC) [3].



Εικόνα 1.1 Κάθετη διατομή της κοίλης μεμβράνης μέσα στο υδατικό διάλυμα κατά τη διάρκεια μικροεκχύλισης LPME (i) δύο-φάσεων και (ii) τριών-φάσεων [3].

1.2.2 Μικροεκχύλιση υγρής φάσης τριών φάσεων

Στην μικροεκχύλιση LPME τριών φάσεων, ο αναλύτης *A* εκχυλίζεται από το υδατικό διάλυμα (φάση δότη) μέσω ενός οργανικού διαλύτη, ο οποίος είναι ακινητοποιημένος στους πόρους μιας κοίλης μεμβράνης (οργανική φάση), μέσα σε μια άλλη υδατική φάση (φάση δέκτη) η οποία υπάρχει μέσα στην κοιλότητα της κοίλης μεμβράνης (εικόνα 1.1, (ii)). Η οργανική φάση σε αυτή την περίπτωση αποτελεί ένα φράγμα ανάμεσα στα υδατικά διαλύματα του δέκτη και του δότη, αποτρέποντας την μίξη των δύο αυτών φάσεων. Η μικροεκχύλιση LPME τριών φάσεων συνδυάζεται συνήθως με υγροχρωματογραφία 'υψηλής απόδοσης' (HPLC) ή με σύστημα τριχοειδούς ηλεκτροφόρησης (CE), καθώς η φάση του δέκτη είναι υδατική [3].

Γενικά, η μικροεκχύλιση LPME τριών φάσεων ενός αναλύτη *A* παρουσιάζεται παρακάτω [3,10,11]:



Η αρχική ποσότητα του αναλύτη, n , είναι ίση με το άθροισμα μεμονωμένων ποσοτήτων του αναλύτη που υπάρχει σε όλες τις φάσεις κατά την ολική διάρκεια της εκχύλισης. Έτσι, ισχύει:

$$n_i = n_d + n_{org} + n_a \quad (2)$$

όπου:

n_d : είναι η ποσότητα του αναλύτη στη φάση του δότη (δείγμα),

n_{org} : είναι η ποσότητα του αναλύτη στην οργανική φάση και

n_a : είναι η ποσότητα του αναλύτη στη φάση του δέκτη

Στην ισορροπία η παραπάνω σχέση γράφεται:

$$C_i V_d = C_{eq,d} V_d + C_{eq,org} V_{org} + C_{eq,a} V_a \quad (3)$$

όπου:

C_i η αρχική συγκέντρωση του αναλύτη, $C_{eq,d}$, $C_{eq,org}$, $C_{eq,a}$ οι συγκεντρώσεις του αναλύτη στην φάση του δότη, στην οργανική φάση και στην φάση του δέκτη σε κατάσταση ισορροπίας αντίστοιχα. Όπου V_d , V_{org} και V_a , οι όγκοι της

φάσης του δότη, της οργανικής φάσης και της φάσης του δέκτη αντίστοιχα [10].

Η διαδικασία μικροεκχύλισης LPME τριών φάσεων χαρακτηρίζεται από τους $K_{org/d}$ και $K_{org/a}$ οι οποίοι είναι οι συντελεστές κατανομής στην κατάσταση ισορροπίας μεταξύ της οργανικής φάσης και της φάσης του δότη, και του διαλύματος δέκτη και της οργανικής φάσης αντίστοιχα [3,10].

$$K_{org/d} = C_{eq.org}/C_{eq.d} \quad (4)$$

$$K_{org/a} = C_{eq.org}/C_{eq.a} \quad (5)$$

Ο ολικός συντελεστής κατανομής $K_{a/d}$ μεταξύ της φάσης του δέκτη και της φάσης του δότη μπορεί να υπολογιστεί ως εξής:

$$K_{a/d} = C_{eq.a}/C_{eq.d} = K_{org/d}/K_{org/a} \quad (6)$$

Ή

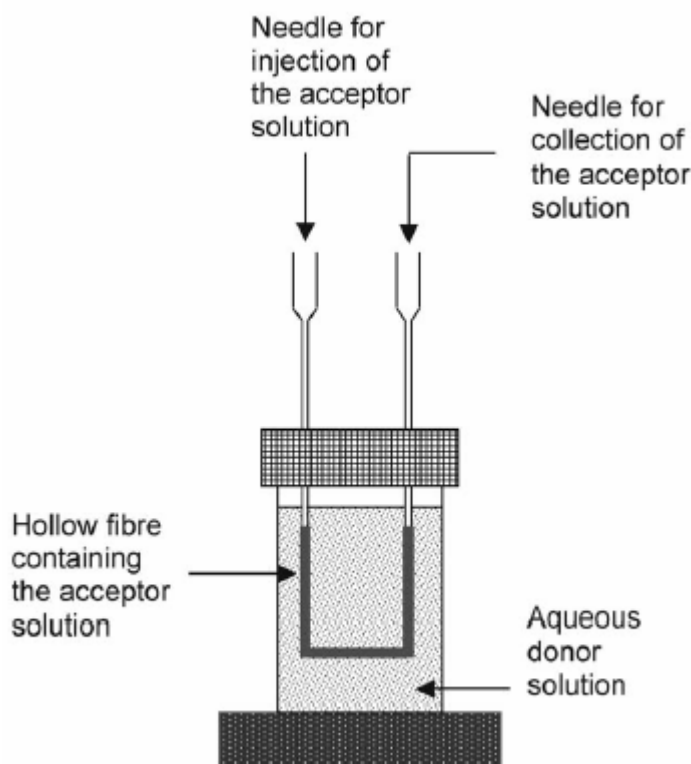
$$K_{a/d} = K_{org/d} \cdot K_{a/org} \quad (7)$$

Η προσαρμογή της σύνθεσης των φάσεων του δότη και του δέκτη είναι ένας σημαντικός παράγοντας που επηρεάζει την επιτυχή διεξαγωγή της μικροεκχύλισης LPME τριών φάσεων. Μεγάλες τιμές $K_{a/d}$ ($\gg 1$) μπορούν να επιτευχθούν όταν οι αναλύτες στην φάση του δέκτη μετατρέπονται μέσω αντιδράσεων, όπως για παράδειγμα μέσω πρωτονίωσης ή συμπλοκοποίησης, σε είδη τα οποία έχουν πολύ μικρή συγγένεια με την οργανική φάση. Με αυτό τον τρόπο, αποτρέπεται η εκχύλιση των αναλυτών προς την αντίθετη κατεύθυνση δηλαδή από το διάλυμα του δέκτη στο διάλυμα του δότη [3,10].

Ως αποτέλεσμα αυτών, το σύστημα τριών φάσεων μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την εκχύλιση όξινων ή βασικών ενώσεων με χαμηλό $K_{org/d}$, αρκεί να έχουν υψηλό $K_{a/org}$, έτσι ώστε να διατηρείται η προϋπόθεση για έναν ολικό υψηλό συντελεστή κατανομής. Με αυτόν τον τρόπο διευρύνεται το πεδίο εφαρμογής της τεχνικής σε ιονισμένους αναλύτες με χαμηλό $K_{org/d}$, απλά χρησιμοποιώντας την μικροεκχύλιση LPME τριών φάσεων αντί αυτή των δύο φάσεων [3].

1.3 Πειραματικές διατάξεις κοίλης μεμβράνης για τα συστήματα LPME δύο και τριών φάσεων

Υπάρχουν ουσιαστικά δύο διαφορετικές διατάξεις (**A** και **B**, εικόνα 1.2,1.3) διαμόρφωσης της μεμβράνης κατά την εκχύλιση με το σύστημα LPME των δύο ή των τριών φάσεων.

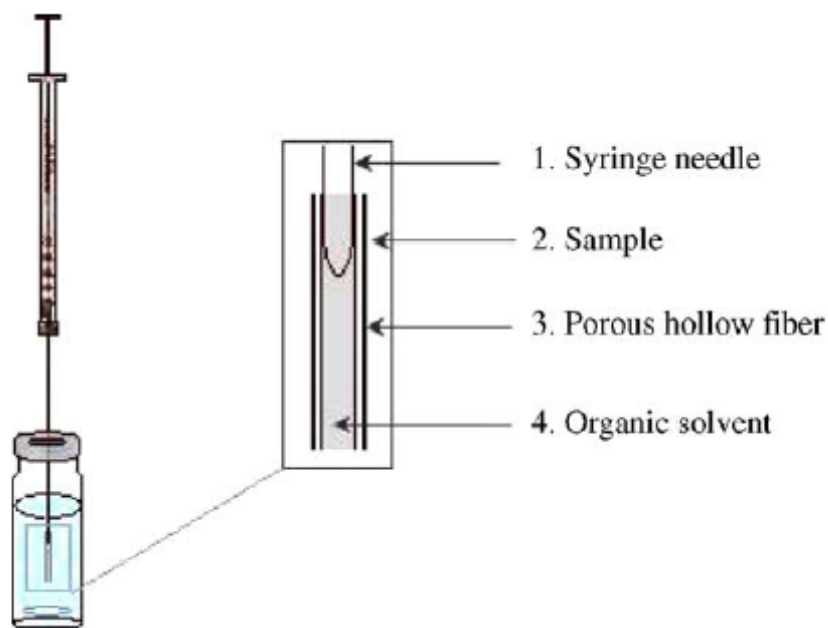


Εικόνα 1.2 Σχηματική αναπαράσταση της διάταξης κοίλης μεμβράνης (διάταξη **A**), όπου οι βελόνες από δύο σύριγγες συνδέονται μεταξύ τους με μια κοίλη μεμβράνη. Πρώτα ανακαλύφθηκε από τους S. Pedersen-Bjergaard και K. E. Rasmussen [4].

Στην διάταξη **A**, δύο συνηθισμένες βελόνες ιατρικής σύριγγας εισάγονται διαμέσου ενός ελαστικού διαφράγματος μέσα στο διάλυμα και οι δύο άκρες συνδέονται με ένα κομμάτι κοίλης μεμβράνης. Το μήκος της μεμβράνης συνήθως ποικίλει από 4 cm σε 8 cm. Μπορούν επίσης να χρησιμοποιηθούν μεμβράνες μεγαλύτερου μήκους (μέχρι 27 cm), οι οποίες τυλίγονται γύρω από μια στερεή βάση. Κατά την χρήση της τεχνικής δύο φάσεων είτε της τεχνικής τριών φάσεων, η κοίλη μεμβράνη αρχικά βυθίζεται στον οργανικό διαλύτη για

μερικά λεπτά έτσι ώστε να ακινητοποιηθεί ο διαλύτης στους πόρους της. Μετά τον εμποτισμό, η κοίλη μεμβράνη βυθίζεται στο διάλυμα του δέκτη. Το διάλυμα του δέκτη εισάγεται στην κοιλότητα της κοίλης μεμβράνης με τη βοήθεια της μικροσύριγγας και όταν ολοκληρωθεί η εκχύλιση το διάλυμα του δέκτη συλλέγεται σε μικροφιαλίδια εφαρμόζοντας μια υπερκείμενη πίεση στην είσοδο της βελόνας ή απομακρύνεται με τη βοήθεια της μικροσύριγγας και υπόκειται σε ανάλυση [3].

Στην διάταξη **B**, μόνο η μία άκρη της κοίλης μεμβράνης χρησιμοποιείται για εισαγωγή / συλλογή του διαλύματος του δέκτη και η άλλη αιωρείται στο δείγμα διαλύματος του δότη. Αυτό πραγματοποιείται χρησιμοποιώντας την άκρη της βελόνας της μικροσύριγγας ως στήριγμα για την μεμβράνη (εικόνα 1.3).



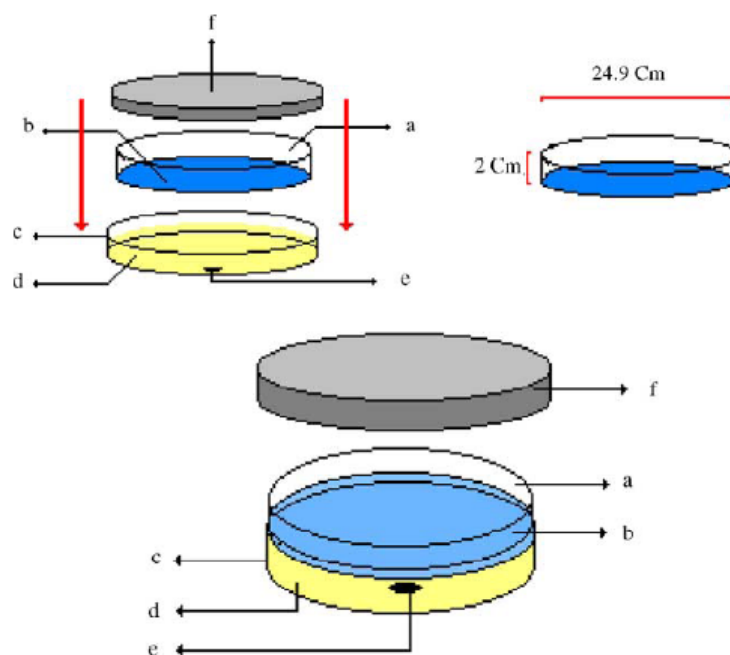
Εικόνα 1.3 Σχηματική παρουσίαση της διάταξης **B** κατά την οποία μια μικροσύριγγα χρησιμοποιείται για την στήριξη της κοίλης μεμβράνης, συλλέγοντας το διάλυμα του δέκτη και η οποία χρησιμεύει και ως συσκευή εισαγωγής δείγματος για περαιτέρω ανάλυση [8].

Η μικροσύριγγα σε αυτή την περίπτωση χρησιμοποιείται για την στήριξη της κοίλης μεμβράνης, συλλέγοντας το διάλυμα του δέκτη και ως συσκευή

εισαγωγής δείγματος για επακόλουθες αναλύσεις. Ένας άλλος τρόπος πραγματοποίησης αυτής της διάταξης είναι με τη χρήση ενός φιαλιδίου με πώμα για στήριξη της κοίλης μεμβράνης. Σε αυτή την περίπτωση, ένας μεταλλικός σωλήνας εφαρμόζεται στο κέντρο του πώματος για να βοηθήσει το δέσιμο της μεμβράνης στο πώμα. Η συλλογή του διαλύματος του δέκτη πραγματοποιείται με την βοήθεια της μικροσύριγγας. Γενικά, όταν χρησιμοποιείται η διάταξη **B**, το ελεύθερο άκρο της κοίλης μεμβράνης μπορεί να σφραγίζεται με φλόγα. Πριν την βύθιση στο διάλυμα του δότη, η μεμβράνη θα πρέπει να βυθιστεί στον οργανικό διαλύτη για να διαποτιστεί [3].

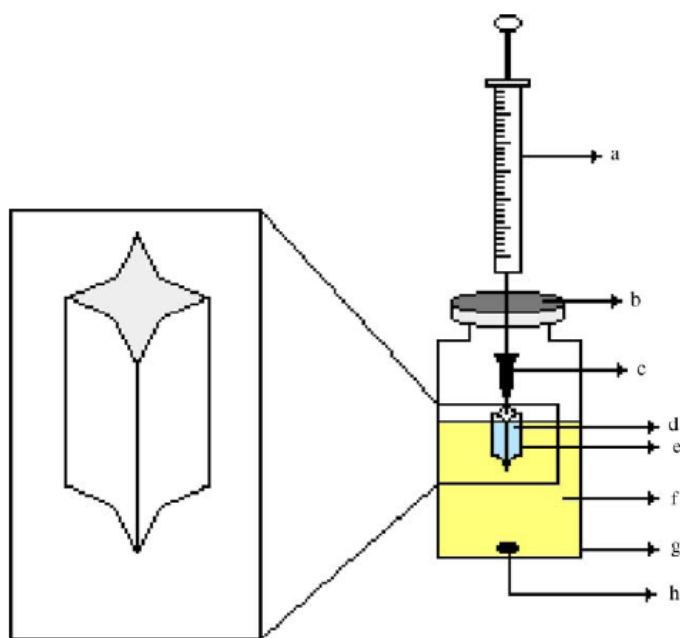
Πρόσφατα αναφέρθηκε και μια άλλη μεθοδολογία για την πραγματοποίηση μικροεκχύλισης υγρής-υγρής-υγρής φάσης (LLLME), που είναι ουσιαστικά μια μικροεκχύλιση τριών φάσεων [10]. Εφαρμόστηκε για την ανίχνευση αρωματικών αμινών σε δείγματα νερού και η διαδικασία πραγματοποιήθηκε σε δύο στάδια:

Στο πρώτο βήμα, χρησιμοποιήθηκε ένα στρογγυλό πιάτο από πολυπροπυλένιο με μεγάλη επιφάνεια επαφής και μικρό βάθος (εικόνα 1.4).



Εικόνα 1.4 Πρώτο βήμα για την μικροεκχύλιση υγρής-υγρής-υγρής φάσης (LLLME). a) πιάτο πολυπροπυλενίου, b) φάση δέκτη ($\text{pH} = 2.0$), c) γυάλινο πιάτο, d) φάση δότη ($\text{pH} = 13.0$), e) μαγνητικός αναδευτήρας, f) κάλυμμα από αργίλιο [9].

Στο δεύτερο βήμα της ανάλυσης χρησιμοποιήθηκε μια μεμβράνη πολυπροπυλενίου, με σχήμα αστεριού (εικόνα 1.5), με σκοπό την αύξηση της επιφάνειας επαφής της κοίλης μεμβράνης με τα διαλύματα του δότη και του δέκτη. Μειώνοντας τον όγκο της μεμβράνης μειώθηκε και το μήκος της σε 1.50 cm για 5 μl του διαλύτη δέκτη, γεγονός που βελτίωσε τη συμβατότητα με μικρούς όγκους δείγματος, οι οποίοι σχετίζονται σε μεγάλο βαθμό με κάποιους αναλύτες σε περιβαλλοντικές εφαρμογές. Η παραπάνω τεχνική συνδυάστηκε στη συνέχεια με την υγρή χρωματογραφία για την τελική ανάλυση των υπό εξέταση ουσιών [9].



Εικόνα 1.5 Δεύτερο βήμα στην LLLME μικροεκχύλιση των αρωματικών αμινών. a) HPLC σύριγγα, b) κάλυμμα φιαλιδίου, c) κωνικός οδηγός, d) φάση δέκτη (pH = 2.0), e) κοίλη μεμβράνη με σχήμα αστεριού, f) φάση δότη (pH = 13.0), g) γυάλινο φιαλίδιο, h) μαγνητικός αναδευτήρας [10].

1.4 Βελτιστοποίηση μεθόδου: παράμετροι και πρακτικοί παράγοντες που επηρεάζουν την μικροεκχύλιση υγρής φάσης με χρήση κοίλης μεμβράνης (LPME/HF)

- *Κοίλη μεμβράνη*

Η κοίλη μεμβράνη που χρησιμοποιείται στη μικροεκχύλιση υγρής φάσης (LPME) πρέπει να είναι υδρόφοβη και συμβατή με τον οργανικό διαλύτη που χρησιμοποιείται. Η κοίλη μεμβράνη είναι υδρόφοβη, έτσι ώστε τα κανάλια της μεμβράνης να συγκρατούν τον οργανικό διαλύτη κατά τον εμποτισμό της στο διάλυμα του [8]. Σχεδόν σε όλες τις δημοσιευμένες εργασίες χρησιμοποιούνται τριχοειδείς μεμβράνες πολυπροπυλενίου (PP). Ο πιο γνωστός τύπος αυτών των μεμβρανών έχει μια εσωτερική διάμετρο της τάξης των 600 μm, συμβατή με τους όγκους της τάξης των μl του διαλύματος του δέκτη που απαιτείται για την μικροεκχύλιση. Το πάχος των τοιχωμάτων της (200μm) παρέχει άριστη μηχανική σταθερότητα και απλοποιεί την προετοιμασία των μονάδων εκχύλισης. Τέλος, η ονομαστική τιμή και το μέγιστο μέγεθος των πόρων (0.2 μm και 0.64 μm, αντίστοιχα) αυτών των τριχοειδών μεμβρανών εγγυάται αποτελεσματικό μικροφιλτράρισμα, επιτρέποντας την διείσδυση των μικρών μόνο μορίων (αναλύτες στόχοι) διαμέσου των πόρων της κοίλης μεμβράνης [3].

- *Οργανικός διαλύτης*

Ένα σημαντικό βήμα στην μέθοδο βελτιστοποίησης τόσο για την δύο-φάσεων μικροεκχύλιση υγρής φάσης όσο και για την τριών-φάσεων μικροεκχύλιση υγρής φάσης (LPME), είναι η επιλογή των καταλληλότερων οργανικών διαλυτών που θα χρησιμοποιηθούν [3,6,7,9]. Η βασική αρχή για την επιλογή του κατάλληλου διαλύτη είναι η ίδια που ισχύει στην κλασσική εκχύλιση υγρού-υγρού, σύμφωνα με την οποία: *‘τα όμοια διαλύουν όμοια’*, δηλαδή για να διαλύσει ο διαλύτης μια χημική ένωση θα πρέπει να έχει παρόμοια χημική δομή με αυτή [7]. Έτσι ο πολικός διαλύτης διαλύει πολικές ενώσεις, ενώ ο άπολος διαλύτης άπολες ενώσεις. Γενικά, θα πρέπει να εξεταστούν διάφοροι αδιάλυτοι-στο-νερό διαλύτες οι οποίοι θα διαφέρουν ως προς την πολικότητα και την διαλυτότητα τους στο νερό. Η χρήση ενός μίγματος οργανικών διαλυτών είναι επίσης εφικτή [3] .

Για την τελική επιλογή του οργανικού διαλύτη θα πρέπει να ληφθούν υπόψη αρκετοί παράγοντες. Κατά πρώτον, ο διαλύτης θα πρέπει να έχει: μικρή διαλυτότητα στο νερό, έτσι ώστε να ελαχιστοποιείται η διάλυσή του στην υδατική φάση και χαμηλή πτητικότητα για να περιορίζεται η εξάτμιση του κατά τη διάρκεια της εκχύλισης, ιδίως σε περιπτώσεις όπου χρησιμοποιούνται υψηλοί ρυθμοί ανάδευσης ή μεγάλος χρόνος εκχύλισης [3,7,9]. Στην περίπτωση όπου χρησιμοποιείται η διάταξη δύο-φάσεων LPME, ο οργανικός διαλύτης θα πρέπει να παρέχει υψηλή διαλυτότητα για τους αναλυτές στόχους και σε περίπτωση που συνδυάζεται με τη χρήση αεριοχρωματογραφίας (GC), θα πρέπει να είναι επίσης συμβατός με τη διάταξη αεριοχρωματογραφίας (GC) [3,7,9]. Όπως προαναφέρθηκε, στην διάταξη τριών-φάσεων LPME, ο διαλύτης που θα επιλεγεί θα πρέπει να εξασφαλίζει υψηλές τιμές $K_{org/d}$ αλλά κυρίως $K_{a/org}$. Τέλος, ο οργανικός διαλύτης θα πρέπει να έχει πολικότητα που να ταιριάζει με αυτή της μεμβράνης από πολυπροπυλένιο, έτσι ώστε να μπορεί να ακινητοποιηθεί μέσα στους πόρους της κοίλης μεμβράνης με σκοπό να βελτιώνει την μεταφορά των αναλυτών στην οργανική φάση [7,9]. Ο διαποτισμός του διαλύτη είναι μεγάλης σημασίας για τη μικροεκχύλιση υγρής φάσης (LPME), καθώς η εκχύλιση πραγματοποιείται στην επιφάνεια του ακινητοποιημένου διαλύτη [3,7,9].

Κατά τον προσδιορισμό των πολυκυκλικών αρωματικών υδρογονανθράκων εξετάστηκαν οι διαλύτες: τολουόλιο, διχλωρο μεθάνιο και εξάνιο. Από τους παρακάτω διαλύτες, το τολουόλιο ακινητοποιήθηκε εύκολα και γρήγορα (μέσα σε λίγα δευτερόλεπτα) στους πόρους της κοίλης μεμβράνης, παρουσίασε μικρή απώλεια διαλύτη κατά τη διάρκεια της εκχύλισης και τέλος έδειξε μεγάλη επιλεκτικότητα και αυξημένη εκχυλιστική ικανότητα για όλους τους υπό εξέταση αναλύτες. Για τους παραπάνω λόγους, το τολουόλιο επιλέχτηκε ως ο βέλτιστος διαλύτης για τα επόμενα πειράματα [6].

Για τον προσδιορισμό των φθαλικών ενώσεων σε δείγματα νερού εξετάστηκε η αποτελεσματικότητα στην εκχύλιση τριών οργανικών διαλυτών: τολουόλιο, εξάνιο και κυκλοεξάνιο. Τα πειραματικά αποτελέσματα έδειξαν ότι το τολουόλιο είναι ο πιο κατάλληλος διαλύτης καθώς έδωσε την μεγαλύτερη απόκριση του οργάνου ανάλυσης. Επίσης, το τολουόλιο συνδύασε μικρή απώλεια διαλύτη κατά την εκχύλιση και συγκριτικά με τους άλλους υπό

εξέταση διαλύτες, παρουσίασε καλύτερη ικανότητα στην σταθεροποίηση στους πόρους της κοίλης μεμβράνης μέσα σε λίγα δευτερόλεπτα [7].

Εξετάστηκαν τρεις διαλύτες για την επιλογή του καταλληλότερου στην εκχύλιση των οργανοφωσφορικών και των Ν-μεθυλοκαρβαμιδίων: το τολουόλιο, το ισοοκτάνιο και το εξάνιο. Σύμφωνα με τα πειραματικά δεδομένα η εκχυλιστική ικανότητα των διαλυτών μειώνονταν κατά τη σειρά: τολουόλιο, ισοοκτάνιο και εξάνιο. Επίσης το τολουόλιο παρουσίασε καλή εκλεκτικότητα για όλους τους αναλύτες, μικρή απώλεια κατά την εκχύλιση και γρήγορη σταθεροποίηση στους πόρους της μεμβράνης. Για τους παραπάνω λόγους ως βέλτιστος διαλύτης χρησιμοποιήθηκε το τολουόλιο [8].

Για τον προσδιορισμό των νιτροαρωματικών ενώσεων, μελετήθηκαν οι εξής μη αναμείξιμοι με το νερό διαλύτες: τολουόλιο, διχλωρομεθάνιο και εξάνιο. Στις συνθήκες που πραγματοποιήθηκαν τα πειράματα, το διχλωρομεθάνιο δεν εκχύλισε αποτελεσματικά κανέναν από τους υπό εξέταση αναλύτες, ενώ το εξάνιο οδήγησε στην έκλυση μικρών ποσοτήτων από τρία ισομερή του νιτροτολουολίου και του 2,4-DNT. Αντίθετα, το τολουόλιο έδωσε τα καλύτερα αποτελέσματα, συνδυάζοντας την καλύτερη απόδοση στην εκχύλιση, με την ελάχιστη απώλεια κατά τη διάλυση και τη γρήγορη σταθεροποίηση στους πόρους της μεμβράνης. Σύμφωνα, ωστόσο, και με παλαιότερες μελέτες, ο διαλύτης αυτός δεν είναι ο κατάλληλος για τον προσδιορισμό του νιτροβενζολίου, γιατί ο αναλύτης εκλύεται ταυτόχρονα με το τολουόλιο για την ανάλυση GC-MS. Κάτω από τις συγκεκριμένες συνθήκες περιορίστηκε, επίσης, η ανάλυση και άλλων δύο ενώσεων των RDX (κυκλωνίτης) και HMX [9]. Οι τελευταίες ενώσεις είναι εκρηκτικές ουσίες εξαιρετικής ισχύος και συγκεκριμένα η HMX, γνωστή και ως octogen, χρησιμοποιείται σχεδόν αποκλειστικά για στρατιωτικούς σκοπούς και θεωρείται ως η ισχυρότερη εκρηκτική ύλη παραγόμενη σε μεγάλες ποσότητες.

Στην ανάλυση δειγμάτων νερού για τον προσδιορισμό αρωματικών αμινών, εξετάστηκαν οι εξής διαλύτες: n-εξάνιο, ισοοκτάνιο, κυκλοεξάνιο, οξικός βουτυλεστέρας, οξικός αιθυλεστέρας και βενζυλική αλκοόλη. Από τα αποτελέσματα των πειραματικών δεδομένων βρέθηκε ότι το μείγμα βενζυλικής αλκοόλης και οξικού αιθυλεστέρα (80% v/v βενζυλική αλκοόλη) αποτελεί το βέλτιστο οργανικό διαλύτη [10].

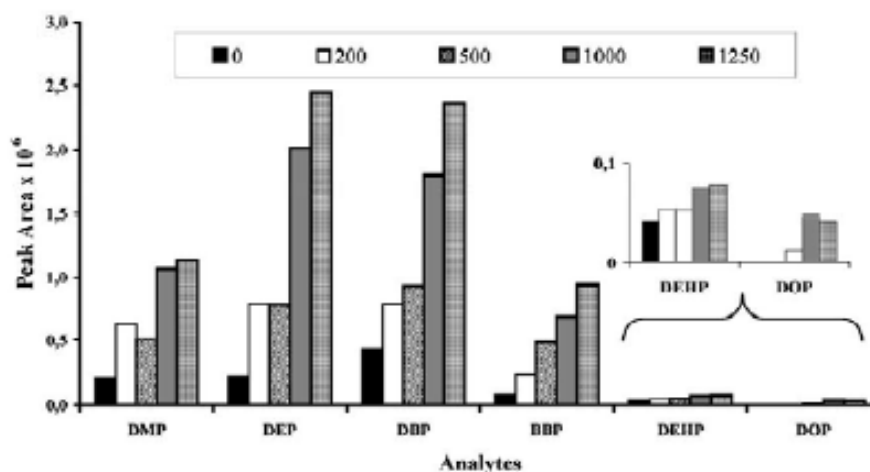
- *Ρυθμός ανάδευσης*

Η ανάδευση του δείγματος χρησιμοποιείται συνήθως για την αύξηση της κινητικής στην εκχύλιση. Αυξάνοντας τον ρυθμό ανάδευσης στο διάλυμα του δότη αυξάνεται και η απόδοση της εκχύλισης, καθώς διευκολύνεται η διάχυση των αναλυτών διαμέσου της διεπιφάνειας της κοίλης μεμβράνης, βελτιώνεται την επαναληψιμότητα της μεθόδου εκχύλισης και μειώνεται ο χρόνος για την αποκατάσταση της θερμοδυναμικής ισορροπίας [3,7,8].

Στην μέθοδο μικροεκχύλιση υγρής φάσης (LPME), το διάλυμα του δέκτη περιορίζεται, δηλαδή προστατεύεται, μέσα στην μεμβράνη και έτσι επιτρέπει τη χρήση υψηλών ταχυτήτων ανάδευσης, σε αντίθεση με την τεχνική μικροεκχύλισης σε μονή σταγόνα (SDME) [7,8,9]. Η εφαρμογή ανάδευσης (μαγνητικά ή δονητικά) του δείγματος, τόσο στην δύο-φάσεων όσο και στην τριών-φάσεων μικροεκχύλιση υγρής φάσης (LPME), αυξάνει πολύ την αποτελεσματικότητα της εκχύλισης. Η δόνηση του δείγματος έχει το πλεονέκτημα ότι εξαλείφει την πιθανότητα μόλυνσης του δείγματος κατά τη χρήση μαγνητικών αναδευτήρων επικαλυμμένων με Teflon. Σε περιπτώσεις που χρησιμοποιήθηκε μαγνητική ανάδευση βρέθηκε ότι η εφαρμογή της μέγιστης ταχύτητας ανάδευσης οδηγούσε στην δημιουργία φυσαλίδων αέρα οι οποίες έτειναν να προσκολλώνται στην επιφάνεια της κοίλης μεμβράνης [8]. Το γεγονός αυτό είχε ως αποτέλεσμα την διευκόλυνση της εξάτμισης του διαλύτη και συνεπώς και την ανακρίβεια στις μετρήσεις κατά τη διάρκεια του πειράματος [3].

Στην ανίχνευση των πολυκυκλικών αρωματικών υδρογονανθράκων χρησιμοποιήθηκε ρυθμός ανάδευσης ίσος με 1000 rpm. Σε υψηλότερες ταχύτητες ανάδευσης με τον μαγνητικό αναδευτήρα (1250 rpm), η απόκριση του οργάνου μειώνεται. Το γεγονός αυτό οφείλεται πιθανότατα, στη διάλυση του διαλύτη κατά τη διάρκεια της εκχύλισης [6].

Για την ανάλυση των φθαλικών ενώσεων εξετάστηκαν ρυθμοί ανάδευσης από 0-1250 rpm (εικόνα 1.6). Τα αποτελέσματα επιβεβαιώνουν ότι η απόδοση της εκχύλισης αυξάνεται με την αύξηση του ρυθμού ανάδευσης. Ωστόσο, στο μέγιστο ρυθμό ανάδευσης (1250 rpm), ήταν δύσκολη η αναπαραγωγή των αποτελεσμάτων λόγω της διάλυσης του διαλύτη. Έτσι, χρησιμοποιήθηκε ως βέλτιστος ρυθμός ανάδευσης τα 1000 rpm [7].



Εικόνα 1.6 Επίδραση της ανάδευσης του διαλύματος σε διαφορετικούς ρυθμούς για την ανάλυση των φθαλικών ενώσεων με τη μικροεκχύλιση υγρής φάσης κοίλης μεμβράνης [7].

Χρησιμοποιήθηκε ένα εύρος ρυθμών ανάδευσης από 400-800 rpm, για την ανάλυση εντομοκτόνων (οργανοφωφορικών και *N*-καρβαμιδίων) σε δείγματα νερού. Ωστόσο, δεν μελετήθηκαν υψηλότεροι ρυθμοί ανάδευσης, γιατί θα δημιουργούσαν πολλές φυσαλίδες αέρα στην επιφάνεια της κοίλης μεμβράνης, γεγονός που θα μπορούσε να οδηγήσει σε μειωμένη ακρίβεια ή και σε αποτυχία του πειράματος. Έτσι, χρησιμοποιήθηκε ρυθμός ανάδευσης ίσος με 800 rpm [8].

Στην ανάλυση νιτροαρωματικών ενώσεων φαίνεται ότι η αύξηση του ρυθμού ανάδευσης οδηγεί και σε αύξηση των επιφανειών κορυφής για κάθε αναλύτη. Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν για ρυθμούς ανάδευσης από 0-1250 rpm. Ωστόσο, στα 1250 rpm ευνοούνταν η διάλυση του διαλύτη, μειώνοντας με αυτόν τον τρόπο τον όγκο του οργανικού διαλύτη που εισάγονταν στο όργανο ανάλυσης με αποτέλεσμα της μείωση του σήματος για κάθε αναλύτη. Έτσι, χρησιμοποιήθηκε ρυθμός ανάδευσης μικρότερος από 1250 rpm και ίσος με 1000 rpm [9].

Στην ανάλυση των αρωματικών αμινών, χρησιμοποιήθηκε ρυθμός ανάδευσης ίσος με 900 rpm και στα δύο στάδια της διαδικασίας εκχύλισης (LLLME) [10].

- Έλεγχος ιοντικής ισχύος

Ανάλογα με τη φύση των αναλυτών στόχων, η προσθήκη ανόργανων αλάτων στο διάλυμα του δείγματος μπορεί να μειώσει τη διαλυτότητα ενός μη ηλεκτρολύτη με αποτέλεσμα τη βελτίωση της εκχύλισης των πιο πολικών ενώσεων λόγω του φαινομένου της εξαλάτωσης (salting-out effect) [2,6,7,9]. Σύμφωνα με το φαινόμενο αυτό λιγότερα μόρια νερού είναι ελεύθερα να διαλύσουν τα μόρια του αναλύτη, καθώς προτιμούν να σχηματίζουν σφαίρες ύδατος γύρω από τα ιόντα του άλατος [9].

Η επίδραση της προσθήκης άλατος στο διάλυμα του δότη πριν από την εκχύλιση, τόσο στην δύο-φάσεων όσο και στην τριών-φάσεων μικροεκχύλιση υγρής φάσης (LPME), έχει μελετηθεί. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι, ανάλογα με τη φύση του αναλυτή στόχου, μια αύξηση στην ιοντική ισχύ του υδατικού διαλύματος μπορεί να έχει διαφορετικά αποτελέσματα στην εκχύλιση: μπορεί να την αυξήσει, να μην την επηρεάσει ή να την περιορίσει [3,9].

Σύμφωνα με πρόσφατες μελέτες για την εκχύλιση των πολυκυκλικών αρωματικών υδρογονανθράκων από δείγματα νερού, η αύξηση της ιοντικής ισχύος του μέσου οδηγούσε σε μικρή αύξηση της εκχυλιστικής ικανότητας. Έτσι η συγκέντρωση του άλατος που χρησιμοποιήθηκε στα πειράματα για τον προσδιορισμό των PAHs σε εκροές βιομηχανικών αποβλήτων ήταν 2.5%w/v NaCl [6].

Στην ανάλυση των φθαλικών ενώσεων τα πειράματα έδειξαν ότι η προσθήκη άλατος περιόριζε την εκχυλιστική ικανότητα των αναλυτών, εκτός από την περίπτωση του πιο πολικού DMP. Τελικά, δεν μεταβλήθηκε η συγκέντρωση του άλατος των διαλυμάτων των δειγμάτων στις επόμενες εκχυλίσεις [7].

Τα πειραματικά αποτελέσματα για τον προσδιορισμό των οργανοφωσφορικών και των Ν-καρβαμιδίων έδειξαν ότι για τις ενώσεις με χαμηλή ή και μέτρια διαλυτότητα στο νερό η εκχύλισή τους γίνονταν μέγιστη για 5% w/v συγκέντρωση του NaCl και μετά μειώνονταν. Αντίθετα, στις σχετικά πολικές ενώσεις με υψηλή διαλυτότητα στο νερό η εκχύλιση αυξάνονταν μέχρι 15% w/v συγκέντρωση του NaCl. Για τους λόγους αυτούς χρησιμοποιήθηκε συγκέντρωση 5% w/v NaCl για τα επόμενα πειράματα [8].

Κατά την ανάλυση των νιτροαρωματικών ενώσεων, χρησιμοποιήθηκαν διαλύματα με διαφορετικές συγκεντρώσεις άλατος, από 0 έως 30% w/v NaCl. Σύμφωνα με τα πειραματικά αποτελέσματα, η παρουσία του άλατος άλλοτε περιορίζει και άλλοτε προκαλεί ασήμαντες αλλαγές στην αποτελεσματικότητα της εκχύλισης. Καθώς δεν παρατηρήθηκε μεγάλη αύξηση στην εκχύλιση με την προσθήκη άλατος στη μήτρα του δείγματος, δεν πραγματοποιήθηκε καμία αλλαγή στην συγκέντρωση του άλατος στα επόμενα πειράματα. Οι μελετητές κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι παράλληλα με το φαινόμενο εξαλάτωσης, η παρουσία του άλατος προκαλεί και ένα δεύτερο φαινόμενο, αντίθετο από την εκχύλιση, κατά το οποίο άλλαζαν οι φυσικές ιδιότητες του φιλμ εκχύλισης μεταξύ του υδατικού και του οργανικού διαλύτη με αποτέλεσμα την αποτροπή διάχυσης των αναλυτών στην σταγόνα τολουολίου [9].

Η ανάλυση των αρωματικών αμινών πραγματοποιήθηκε σε δύο στάδια, όπως προαναφέρθηκε. Σύμφωνα με αυτή την μέθοδο, το διάλυμα του δέκτη (οξιτισμένο με HCl) που χρησιμοποιήθηκε στο πρώτο βήμα, μεταφέρθηκε σε φιαλίδιο δείγματος και προστέθηκε NaOH για να προσαρμοστεί το pH του διαλύματος σε $\text{pH} = 13$. Το τελευταίο διάλυμα χρησιμοποιήθηκε ως διάλυμα δότη για το δεύτερο βήμα της εκχύλισης. Με αυτόν τον τρόπο, το χλωριούχο νάτριο σχηματίζεται με φυσικό τρόπο στο νέο διάλυμα του δότη και οδήγησε στην αύξηση της εκχύλισης χάρη στο φαινόμενο εξαλάτωσης [10].

- *Διάρκεια εκχύλισης*

Η μεταφορά μάζας είναι μια διαδικασία που εξαρτάται από τον χρόνο και ο ρυθμός της μειώνεται όσο πλησιάζει το σύστημα σε συνθήκες ισορροπίας. Είτε η εκχύλιση είναι πλήρης είτε λειτουργεί ως τεχνική προ-συγκέντρωσης, η ισορροπία ολοκληρώνεται μόνο όταν το διάλυμα του δέκτη εκτεθεί στο δείγμα για ένα ‘μεγάλο’ χρονικό διάστημα. Για τη μέθοδο βελτιστοποίησης είναι σημαντικό να συνιστώνται τα προφίλ του χρόνου εκχύλισης των ενώσεων στόχων έτσι ώστε να διαμορφωθεί ο χρόνος που απαιτείται για την επίτευξη ισορροπίας στην πράξη. Παρόλο που ο μεγαλύτερος χρόνος έκθεσης του διαλύματος του δέκτη οδηγεί γενικά σε αύξηση της εκχυλιστικής ικανότητας, δεν είναι ωστόσο πρακτικό να εφαρμόζουμε πάντα παρατεταμένους χρόνους εκχύλισης [3]. Η μέθοδος βασίζεται στην κατανομή του αναλύτη μεταξύ της οργανικής και της υδατικής φάσης και για αυτό το λόγο δεν είναι απαραίτητο

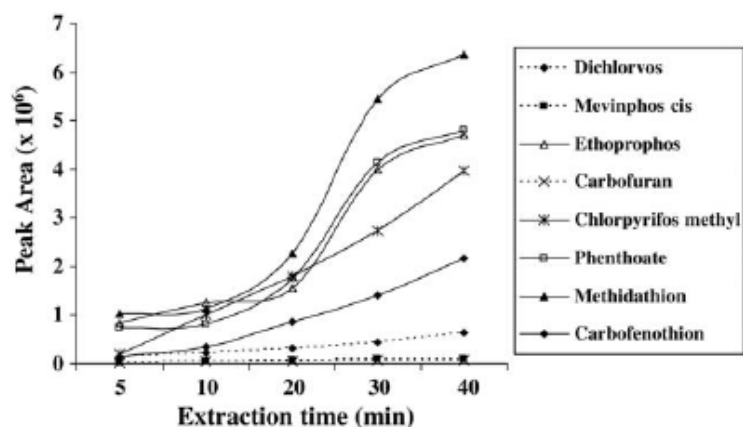
να ταυτίζεται ο χρόνος εκχύλισης με τον χρόνο που απαιτείται για την αποκατάσταση της θερμοδυναμικής ισορροπίας, καθώς η διάλυση του διαλύτη αυξάνεται με το πέρασμα του χρόνου. Επίσης, ο χρόνος αποκατάστασης της ισορροπίας δεν είναι απαραίτητος σε μια αναλυτική τεχνική, όταν ο χρόνος εκχύλισης, ο ρυθμός ανάδευσης και ο όγκος του δείγματος παραμένουν σταθεροί [8].

Συχνά χρησιμοποιούνται χρόνοι ανάλυσης μικρότεροι από τον συνολικό χρόνο της χρωματογραφικής ανάλυσης, έτσι ώστε να εξασφαλίζεται υψηλότερη ταχύτητα ανάλυσης των δειγμάτων με την μέθοδο αυτή. Παρόλα αυτά, θα πρέπει να ληφθεί υπόψη ότι όταν εργαζόμαστε στην αυξανόμενη περιοχή των προφίλ του χρόνου εκχύλισης είναι απαραίτητη η συνεπής και ακριβής χρονομέτρηση. Σε μελέτες που χρησιμοποιήθηκαν παρατεταμένοι χρόνοι εκχύλισης, η ταυτόχρονη εκχύλιση μεγάλου αριθμού δειγμάτων εξασφάλισε την υψηλή ταχύτητα ανάλυσης του δείγματος [3].

Στα πειράματα προσδιορισμού των πολυκυκλικών αρωματικών υδρογονανθράκων σε εκροές βιομηχανικών αποβλήτων, βρέθηκε ότι η απόδοση της εκχύλισης αυξάνονταν με την αύξηση του χρόνου ανάλυσης. Ωστόσο, ακόμα και μετά από 25 λεπτά εκχύλισης κανένας από τους αναλύτες στόχους δεν είχε φτάσει σε ισορροπία. Παρόλα αυτά, στην ποσοτική ανάλυση δεν είναι απαραίτητη η αποκατάσταση ισορροπίας όταν οι συνθήκες εκχύλισης παραμένουν σταθερές και έτσι χρησιμοποιήθηκε χρόνος εκχύλισης ίσος με 15 λεπτά [6].

Στην ανάλυση φθαλικών ενώσεων, χρησιμοποιήθηκε χρόνος εκχύλισης ίσος με 20 λεπτά, καθώς σύμπεπτε με τον χρόνο χρωματογραφικής ανάλυσης και επίσης μεγιστοποιούσε την απόδοση και την ταχύτητα της μεθόδου [7].

Για την ανάλυση των οργανοφωσφορικών και των *N*-καρβαμιδίων, απαιτείται χρόνος μεγαλύτερος από 40 λεπτά για την αποκατάσταση της ισορροπίας (εικόνα 1.7). Καθώς όμως αυτό δεν είναι απαραίτητο χρησιμοποιήθηκε χρόνος εκχύλισης ίσος με 20 λεπτά [8].



Εικόνα 1.7 Επιφάνεια κορυφής προς χρόνο εκχύλισης για επιλεγμένα εντομοκτόνα με τη μικροεκχύλιση υγρής φάσης με κοίλη μεμβράνη (LPME) [8].

Στην ανάλυση των νιτροαρωματικών ενώσεων πραγματοποιήθηκαν πειράματα με διαφορετικούς χρόνους εκχύλισης από 5-30 λεπτά. Πέρα από τα 30 λεπτά παρατηρήθηκε σημαντική διάλυση του τολουολίου καθώς και αδυναμία αποκατάστασης της ισορροπίας για τους αναλύτες. Καθώς η τελευταία δεν είναι απαραίτητη για τις ποσοτικές αναλύσεις, ο χρόνος που χρησιμοποιήθηκε ως βέλτιστος είναι τα 20 λεπτά [9].

Οι χρόνοι εκχύλισης που μελετήθηκαν για την ανάλυση των αρωματικών αμινών ήταν μεταξύ 5-45 λεπτά. Ο συντελεστής εμπλουτισμού αυξάνονταν με την αύξηση του χρόνου εκχύλισης, από 5-30 λεπτά για το πρώτο βήμα και από 5-20 λεπτά για το δεύτερο βήμα της διαδικασίας. Ωστόσο, μετά από τους βέλτιστους χρόνους εκχύλισης η εκχυλιστική ικανότητα μειώθηκε, κυρίως λόγω απώλειας του διαλύτη (οξικού αιθυλεστέρα), εξαιτίας της εξάτμισής του και της συμπλοκοποίησής του στο νερό. Έτσι, οι βέλτιστοι χρόνοι που χρησιμοποιήθηκαν ήταν 30 λεπτά για το πρώτο στάδιο και 20 λεπτά για το δεύτερο στάδιο της εκχύλισης [10].

1.5 Εφαρμογές τεχνικής

✓ PAHs, Αρωματικοί πολυκυκλικοί υδρογονάνθρακες

Οι αρωματικοί πολυκυκλικοί υδρογονάνθρακες ανήκουν στους πιο ευρέως γνωστούς περιβαλλοντικούς ρύπους. Η εισαγωγή τους σε παράκτια και

εσωτερικά ύδατα οφείλεται κυρίως σε εκροές βιομηχανικών αποβλήτων. Παρόλο που η διαλυτότητά τους είναι γενικά αρκετά χαμηλή και συνήθως μειώνεται με την αυξανόμενη σχετική μοριακή μάζα, το δυναμικό επικινδυνότητάς τους είναι ιδιαίτερα υψηλό. Αποτέλεσμα αυτού του γεγονότος είναι η παρουσία τους στον κύκλο του νερού να δύναται να αποτελέσει έναν οξύ και χρόνιο κίνδυνο για την ανθρώπινη υγεία και την περιβαλλοντική ποιότητα. Η μεγάλη οξεία τοξικότητα των αρωματικών πολυκυκλικών υδρογονανθράκων συνδέεται γενικά με τις ενώσεις μικρού μοριακού βάρους και σχετίζεται με την διαλυτότητα στο νερό και τους συντελεστές κατανομής οκτανόλης-νερού. Για παράδειγμα, σε επεξεργασμένα απόβλητα, οι αρωματικοί πολυκυκλικοί υδρογονάνθρακες υψηλού μοριακού βάρους, σε αντίθεση με τους υδρογονάνθρακες χαμηλού μοριακού βάρους, βρέθηκαν σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις, λόγω της απομάκρυνσής τους με προσρόφηση σε σωματίδια. Γενικά, η ανίχνευση των αρωματικών πολυκυκλικών υδρογονανθράκων αποτελεί ένα σημαντικό αναλυτικό πρόβλημα, λόγω των επιβλαβών χαρακτηριστικών τους. Για αυτό το λόγο είναι απαραίτητη η ευαισθησία και η επιλεκτικότητα στην τεχνική προσυγκέντρωσης αυτών των ενώσεων [6].

Η μικροεκχύλιση υγρής φάσης με τη χρήση κοίλης μεμβράνης (LPME/HF) αποτέλεσε αποτελεσματική μέθοδο για την ανίχνευση και τον προσδιορισμό των αρωματικών πολυκυκλικών υδρογονανθράκων σε εκροές βιομηχανικών αποβλήτων. Το συνολικό κόστος, ο χρόνος προετοιμασίας του δείγματος καθώς και η κατανάλωση οργανικών διαλυτών ελαχιστοποιήθηκε χωρίς επιπτώσεις στην ευαισθησία της μεθόδου. Τα αποτελέσματα βρέθηκαν ότι είναι ίδια με αυτά κατά την ανάλυση των ενώσεων με τη μέθοδο της μικροεκχύλισης στερεής φάσης. Τέλος, η ικανότητα της προτεινόμενης μεθόδου να συγκεντρώνει πολλούς οργανικούς διαλύτες σε υδατικά δείγματα επιβεβαιώθηκε με την παρουσία φθαλικών ενώσεων στα υπό εξέταση δείγματα [6].

✓ Φθαλικοί εστέρες (Πλαστικοποιητές)

Οι μηχανικές ιδιότητες του άκαμπτου πολυβινυλοχλωριδίου (PVC, $[-CH_2CHCl-]_n$) δύνανται να τροποποιηθούν με την προσθήκη ενώσεων, μικρής σχετικής μοριακής μάζας, οι οποίες αλληλεπιδρούν με τη μήτρα του

πολυμερούς. Η προσθήκη των ενώσεων αυτών, γνωστές ως πλαστικοποιητές (είναι κυρίως φθαλικά ή αδιπικά), σε διάφορες ποσότητες οδηγούν στη δημιουργία υλικών με ποικίλες ιδιότητες και στη χρήση του πολυβινυλοχλωριδίου (PVC) σε ένα μεγαλύτερο εύρος εφαρμογών [7].

Σήμερα, όλες οι φθαλικές ενώσεις οι οποίες χρησιμοποιούνται ως πλαστικοποιητές σε διάφορες εφαρμογές είναι ευρέως διαδεδομένες στο περιβάλλον. Επειδή οι πλαστικοποιητές συνδέονται με φυσικό και όχι με χημικό δεσμό με την αλυσίδα του πολυμερούς, μπορούν εύκολα να αποκοπούν από την πολυμερική αλυσίδα των πλαστικών συσκευασιών και να μεταφερθούν στα τρόφιμα ή τα ποτά που αυτές περικλείουν. Ομοίως, δύναται να πραγματοποιηθεί η διείσδυση των φθαλικών ενώσεων από πλαστικά απορρίμματα στο οικοσύστημα που περιβάλλει τις περιοχές απόρριψης απορριμμάτων. Κάποιες φθαλικές ενώσεις, καθώς και τα προϊόντα μεταβολισμού και αποδόμησής τους, μπορούν να προκαλέσουν δυσμενείς συνέπειες στην υγεία του ανθρώπου (συγκεκριμένα επιδρούν σε όργανα όπως το ήπαρ και τα νεφρά). Έχουν επίσης αναφερθεί και πιθανές διαταραχές στις ενδοκρινείς ιδιότητες [7].

Στις πιο γνωστές φθαλικές ενώσεις που χρησιμοποιούνται περιλαμβάνονται: ο φθαλικός διεστέρας της 2-αιθυλο εξανόλης (DEHP), ο φθαλικός διβουτυλεστέρας (DBP) και ο butylbenzyl phthalate (BBP). Λόγω των πιθανών κινδύνων που μπορούν να προκαλέσουν οι παραπάνω ενώσεις στην ανθρώπινη υγεία, οι φθαλικές ενώσεις είναι στις πρώτες τρεις λίστες προτεραιότητας για την εκτίμηση επικινδυνότητας σύμφωνα με τον κανονισμό 793/93 της Ευρωπαϊκής Ένωσης.

Η διάταξη που χρησιμοποιήθηκε για την ανίχνευση των φθαλικών ενώσεων φαίνεται στην εικόνα 1.3, κατά την οποία η κοίλη μεμβράνη βρίσκεται μέσα στο διάλυμα και το ένα άκρο της είναι ενωμένο με μια μικροσύριγγα. Η διάταξη αυτή θεωρείται μια εξέλιξη της μικροεκχύλισης μονής σταγόνας, καθώς ο οργανικός διαλύτης προστατεύεται από την κοίλη μεμβράνη [7]. Από τα πειράματα που πραγματοποιήθηκαν βρέθηκε ότι η μικροεκχύλιση υγρής φάσης με τη χρήση κοίλης μεμβράνης (LPME) σε συνδυασμό με τις αναλύσεις GC-MS μπορούν να εφαρμοστούν με επιτυχία για την ανάλυση ίχνων φθαλικών ενώσεων σε δείγματα νερού [7].

✓ **Οργανοφωσφορικά και N-μεθυλοκαρβαμίδια (Εντομοκτόνα)**

Τα οργανοφωσφορικά και τα N-μεθυλοκαρβαμίδια είναι δύο ομάδες εντομοκτόνων τα οποία χρησιμοποιούνται ευρέως έναντι των εύκολα βιοσυσσωρεύσιμων οργανοχλωρικών ενώσεων για την προστασία σοδιών και την θεραπεία δέντρων. Ωστόσο, πολλές από αυτές τις ενώσεις εκδηλώνουν μεγάλη οξεία τοξικότητα και υπάρχει υποψία ότι προκαλούν μεταλλακτικές, καρκινογενετικές συνέπειες καθώς και διαταραχές σε ενδοκρινείς ιδιότητες. Για αυτό το λόγο, υπάρχει μεγάλο ενδιαφέρον και ανάγκη για την ακριβή μέτρηση των υπολειμμάτων των οργανοφωσφορικών και των N-μεθυλοκαρβαμιδίων στο πόσιμο νερό και τα επιφανειακά νερά με σκοπό την αποτίμηση της επικινδυνότητάς τους. Αυτό είναι εφικτό με επιτυχία με τη χρήση της μικροεκχύλισης κοίλης μεμβράνης (LPME), σύμφωνα με τα αποτελέσματα των πειραμάτων που πραγματοποιήθηκαν [8].

✓ **Νιτροαρωματικές ενώσεις (Εκρηκτικά)**

Έρευνες που έχουν πραγματοποιηθεί σε παλαιότερες και σημερινές στρατιωτικές εγκαταστάσεις στις Η.Π.Α. και στην Ευρώπη επιβεβαίωσαν την ύπαρξη νιτροαρωματικών εκρηκτικών και των προϊόντων μεταβολισμού τους που προκλήθηκε από εκτενή χρήση, φύλαξη ή ακόμα και από διαρροή ανεκμετάλλευτου υλικού πολέμου. Τα εκρηκτικά είναι ασθενώς διαλυτά στο νερό και έτσι μπορούν να μεταναστεύουν μέσω των υπόγειων εδαφών και να προκαλέσουν ρύπανση των υπόγειων υδάτων. Όταν εισαχθούν στο περιβάλλον, εκτίθενται σε περιβαλλοντικές και βιολογικές διεργασίες, με αποτέλεσμα την παραγωγή παραπροϊόντων υψηλής δραστηριότητας και συχνά μεγαλύτερης πολικότητας και διαλυτότητας, τα οποία μπορούν να συμβάλλουν σε μεγαλύτερη περιβαλλοντική ρύπανση από ότι οι αρχικές ενώσεις από τις οποίες προήλθαν [9].

Η ύπαρξη αυτών των επικίνδυνων μιγμάτων από απόβλητα, σε ιζήματα και υδροφόρες περιοχές, αποτελεί μια μεγάλη πρόκληση για την ανάπτυξη αποτελεσματικών και ευαίσθητων αναλυτικών μεθόδων για τον προσδιορισμό τους και για την εξυγίανση των ρυπασμένων περιοχών. Σύμφωνα με τα πειράματα που πραγματοποιήθηκαν, η χρήση της μικροεκχύλισης κοίλης μεμβράνης (LPME) σε συνδυασμό με την οργανολογία GC-MS, αποδείχτηκαν αποτελεσματικές επιλογές για τον παραπάνω σκοπό [9].

✓ Αρωματικές αμίνες

Είναι γνωστό ότι οι καρκινογενετικές αρωματικές αμίνες θεωρείται ότι προκαλούν όγκους στους ανθρώπους. Ωστόσο, οι περισσότερες από αυτές χρειάζονται να μεταβολιστούν για να εκδηλώσουν την γενετοξικότητά τους σε συγκεκριμένα όργανα και ιστούς και επίσης, λόγω της αυξημένης χρήσης των ενώσεων αυτών σε διάφορες βιομηχανίες, όπως για παράδειγμα βαφές, καλλυντικά, εντομοκτόνα, φαρμακευτικά προϊόντα και ως ενδιάμεσα σε πολλές χημικές συνθέσεις. Τα υπολείμματα τους αποτελούν πλέον σημαντικούς ρύπους σε περιβαλλοντικά ύδατα, λόγω της τοξικότητάς τους και της βιολογικής δραστηριότητάς τους. Αυτές οι ουσίες απαιτούν το άμεσο ενδιαφέρον μας όταν ελευθερωθούν στο περιβάλλον [10].

Λόγω της μικρής συγκέντρωσης αυτών των αμινών σε περιβαλλοντικά δείγματα η προσυγκέντρωση αυτών είναι ένα απαραίτητο βήμα για τον χαρακτηρισμό μικρών ποσοτήτων αρωματικών αμινών ως περιβαλλοντικοί ρύποι. Για τον προσδιορισμό των ενώσεων αυτών χρησιμοποιήθηκε η μικροεκχύλιση υγρής φάσης σε δύο στάδια, με σκοπό την επίτευξη μεγαλύτερων συντελεστών εμπλουτισμού και χαμηλότερων ορίων ανίχνευσης [10].

1.6 Αξιολόγηση της τεχνικής

Πλεονεκτήματα της τεχνικής

- 1) Γρήγορη, απλή, ακριβής και με μεγάλη ευαισθησία.
- 2) Φθηνή, καθώς δεν χρησιμοποιείται εξειδικευμένη οργάνολογία [8].
- 3) Υπάρχει μεγάλη ποικιλία όσον αφορά στους διαλύτες οι οποίοι μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε κάθε περίπτωση ανάλογα με τον αναλύτη [8].
- 4) Σχεδόν όλοι από τους οργανικούς διαλύτες που χρησιμοποιούνται για την εκχύλιση των αναλυτών μπορούν στη συνέχεια να εισαχθούν στο όργανο GC για περεταίρω ανάλυση, ενώ μόνο ένα μέρος του συμπυκνωμένου οργανικού διαλύτη μπορεί να αναλυθεί στο όργανο GC κατά την κλασσική εκχύλιση υγρής και την εκχύλιση στερεής φάσης [8].
- 5) Υπάρχει ελάχιστη έκθεση του χειριστή σε τοξικούς διαλύτες, γιατί χρησιμοποιούνται πολύ μικρές ποσότητες οργανικών διαλυτών κάθε φορά [8,9].

- 6) Συνδυάζει την πραγματοποίηση της εκχύλισης, της συμπύκνωσης και την εισαγωγή του δείγματος σε ένα μόνο βήμα [8].
- 7) Επιτρέπει τη χρήση υψηλών ρυθμών ανάδευσης, καθώς η κοίλη μεμβράνη λειτουργεί ως ένα προστατευτικό κάλυμμα για την οργανική σταγόνα και αποτρέπει την διάλυση ή την διάσπασή της όπως κατά την μικροεκχύλιση μονής σταγόνας (SDME) [7,9].
- 8) Η δυνατότητα συχνής αντικατάστασης της κοίλης μεμβράνης ελαχιστοποιεί την πιθανότητα συμπαράσυρσης των ουσιών όπως κατά την μικροεκχύλιση στερεής φάσης (SPME) [7].
- 9) Ελαχιστοποιεί την δευτερογενή μόλυνση των αναλυτών, γεγονός πολύ συχνό στην ανάλυση των φθαλικών ενώσεων [7].
- 10) Φιλική προς το περιβάλλον [8].
- 11) Καλή επαναληψιμότητα [8].

Μειονεκτήματα της τεχνικής

- 1) Λόγω του μικρού όγκου οργανικού διαλύτη που χρησιμοποιείται, τόσο στην δύο όσο και στην τριών φάσεων LPME, οι τεχνικές αυτές ουσιαστικά περιορίζονται σε μέτριους ή αρκετά υδροφοβικούς αναλύτες [5].

2. Μικροεκχύλιση υγρής φάσης με τη χρήση μονής σταγόνας (SDME)

2.1 Εισαγωγή

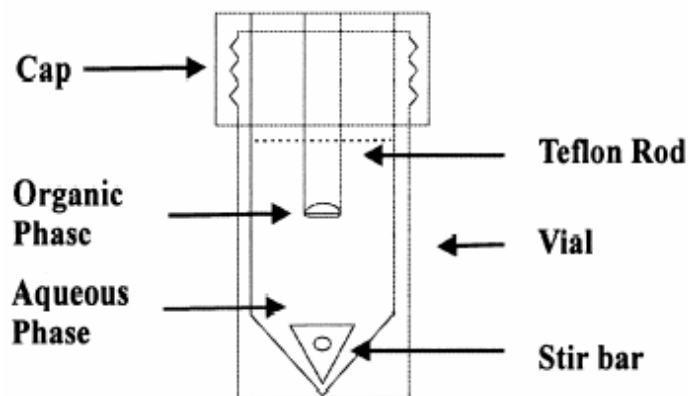
Η μικροεκχύλιση μονής σταγόνας, είναι μια νέα τεχνική προετοιμασίας του δείγματος, η οποία αποτελεί μια πολλά υποσχόμενη εναλλακτική τεχνική της παραδοσιακής εκχύλισης υγρής φάσης και άλλων πιο πρόσφατα αναπτυσσόμενων τεχνικών. Τα πλεονεκτήματα της τεχνικής είναι ότι έχει υψηλές ταχύτητες εκχύλισης, είναι πολύ απλή και ουσιαστικά ελαχιστοποιεί την κατανάλωση διαλύτη. Στην τεχνική αυτή χρησιμοποιούνται φθηνές συσκευές, οι οποίες βρίσκονται τις περισσότερες φορές στα εργαστήρια που διαθέτουν εξοπλισμό για αεριοχρωματογραφία (GC) και υγροχρωματογραφία 'υψηλής απόδοσης' (HPLC). Η ευαισθησία μπορεί να προσαρμοστεί για ένα μεγάλο εύρος τιμών, μεταβάλλοντας τον χρόνο δειγματοληψίας, τον όγκο του δείγματος και ακόμα και τον αριθμό των δειγμάτων. Υπάρχει, ωστόσο, ένας περιορισμός στην ανίχνευση των αναλυτών κατά την αεριοχρωματογραφία (GC), ο οποίος οφείλεται στο γεγονός ότι η κορυφή του διαλύτη μπορεί να εμποδίζει την ανίχνευση των αναλυτών που εκλούνται νωρίς [13].

Σε γενικές γραμμές, η προτεινόμενη τεχνική αντιπροσωπεύει ένα αναδυόμενο πεδίο μελέτης λόγω των πλεονεκτημάτων που διαθέτει, όπως για παράδειγμα ότι είναι γρήγορη, φθηνή και ότι κατά την πραγματοποίησή της δεν καταναλώνονται μεγάλες ποσότητες διαλύτη [13].

2.2 Πειραματικές διατάξεις και πρώτες εφαρμογές

Οι Jeannot και Cantwell πρότειναν μια νέα τεχνική μικροεκχύλισης διαλύτη [17], κατά την οποία μια μικροσταγόνα (8μl) οργανικού διαλύτη, που περιέχει συγκεκριμένη ποσότητα εσωτερικού πρότυπου, αιωρείται από την άκρη ενός σωλήνα από Teflon βυθισμένη σε ένα αναδευόμενο υδατικό διάλυμα που περιέχει 4-μεθυλο ακετοφαινόνη (εικόνα 2.1). Μετά από προκαθορισμένο χρονικό διάστημα, ο σωλήνας απομακρύνεται από το διάλυμα του δείγματος και με τη βοήθεια μιας μικροσύριγγας, μια ποσότητα από την σταγόνα (που περιέχει τον οργανικό διαλύτη) εισάγεται στο όργανο αεριοχρωματογραφίας (GC) για περαιτέρω ανάλυση. Στην μελέτη δίνονται οι απαραίτητες

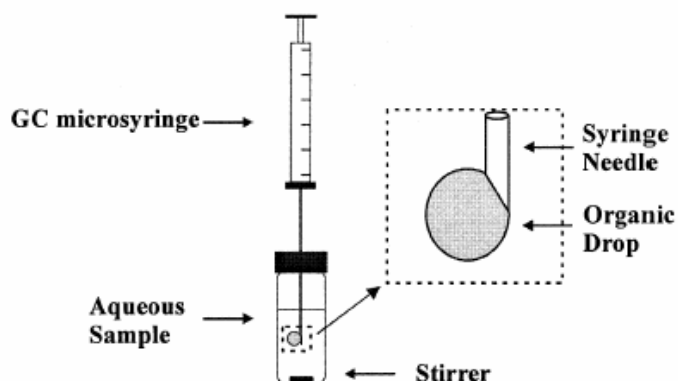
πληροφορίες όσον αφορά στην ισορροπία και στην κινητική της διαδικασίας. Δίνεται μεγάλη έμφαση στην επίδραση της ταχύτητας ανάδευσης στο ποσοστό εκχύλισης, καθώς με αυτόν τον τρόπο επιτυγχάνεται η ομογενοποίηση τόσο της οργανικής όσο και της υδατικής φάσης με αποτέλεσμα την αποτελεσματικότερη εκχύλιση των ουσιών. Αναλυτικά, βρέθηκε ότι η προτεινόμενη μέθοδος είναι γραμμική και η σχετική τυπική απόκλιση ήταν 1.7% μετά από εκχύλιση 5 λεπτών [17].



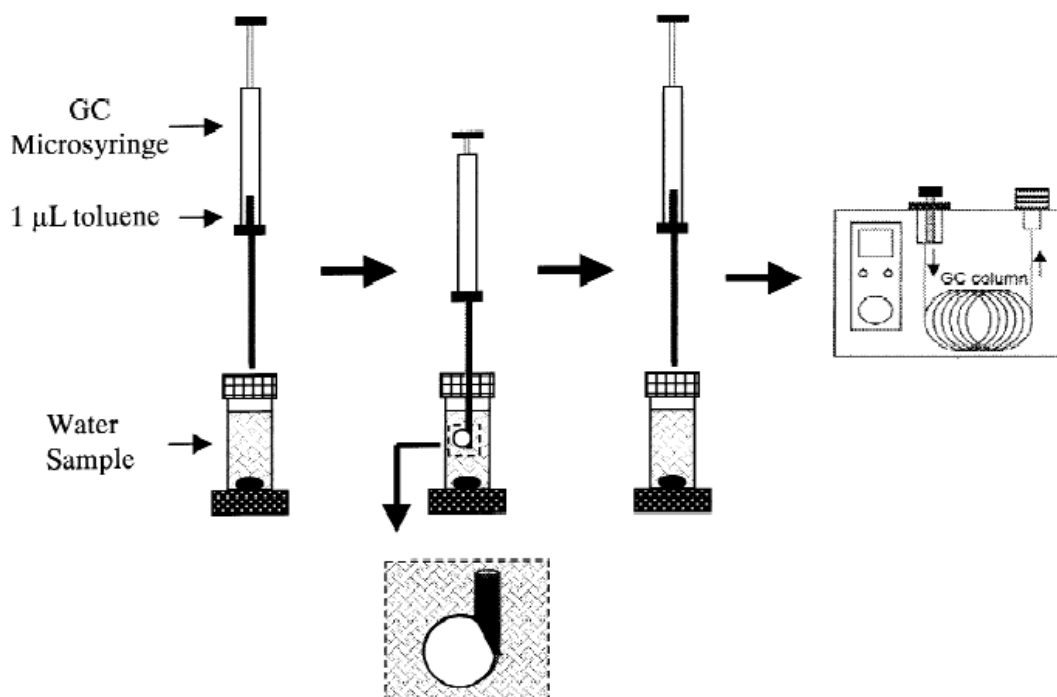
Εικόνα 2.1 Απεικόνιση της διάταξης για την μικροεκχύλιση με μονή σταγόνα που χρησιμοποιήθηκε από τους Jeannot και Cantwell το 1996 [17].

Καθώς βρέθηκε ότι ο σωλήνας από Teflon δεν είναι εύχρηστος, η ίδια ερευνητική ομάδα πρότεινε μια εναλλακτική τεχνική εκχύλισης βασισμένη στη χρήση σταγόνας. Σύμφωνα με αυτή την τεχνική, η μικροεκχύλιση πραγματοποιείται απλά με την αιώρηση μιας σταγόνας 1-μl ακριβώς από την άκρη της βελόνας μιας μικροσύριγγας, η οποία είναι βυθισμένη μέσα σε ένα αναδευόμενο υδατικό διάλυμα που περιέχει malathion, 4-μεθυλο ακετοφαινόνη, 4-νιτροτολουόλιο και προγεστερόνη (εικόνα 2.2). Μετά από προκαθορισμένο χρόνο εκχύλισης, η μικροσταγόνα εισάγεται μέσα στην μικροσύριγγα και στη συνέχεια σε ένα όργανο για αεριοχρωματογραφία (GC) όπου αναλύεται περαιτέρω. Οι καμπύλες ρυθμού εκχύλισης για δεδομένες τιμές ανάδευσης για όλους τους αναλύτες ήταν πρώτης τάξης και τα χαρακτηριστικά μεταφοράς μάζας του συστήματος αξιολογήθηκαν. Ο υδατικός συντελεστής μεταφοράς μάζας βρέθηκε ότι είναι ανάλογος με τον συντελεστή διάχυσης από την υδατική φάση και για αυτό η διαδικασία υποστηρίχθηκε από τη θεωρία του φιλμ για τη μεταφορά και τη διάχυση της μάζας (αντίθετα με τη

θεωρία διείσδυσης). Η σχετική τυπική απόκλιση της 4-μεθυλο ακετοφαινόνης μετά από 1 λεπτό εκχύλισης ήταν 1.5%, γεγονός που αποδεικνύει ότι το προτεινόμενο σύστημα έχει μια πολύ καλή δυναμική για χρήση σε αναλύσεις ρουτίνας [15].



Εικόνα 2.2 Σχηματική αναπαράσταση ενός άλλου συστήματος μικροεκχύλισης μονής σταγόνας, που προτάθηκε για πρώτη φορά από τους Jeannot και Cantwell το 1997 [15], κατά το οποίο η μικροσταγόνα αιωρείται από την άκρη της μικροσύριγγας [13].

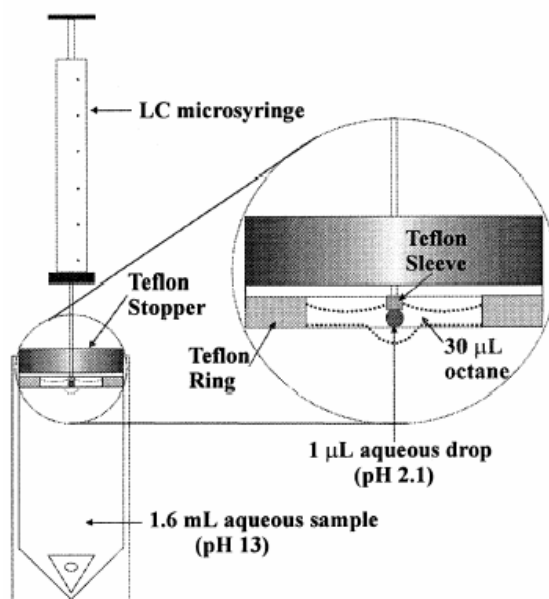


Εικόνα 2.3 Σχηματική αναπαράσταση της διαδικασίας μικροεκχύλισης υγρής φάσης με μονή σταγόνα (SDME) σε συνδυασμό με την αεριοχρωματιγραφική ανάλυση που χρησιμοποιήθηκε για την ανάλυση 11 νιτροαρωματικών εκρηκτικών [14].

εισάγεται στο όργανο αεριοχρωματογραφίας (GC) για περαιτέρω ανάλυση. Σημειώνεται ότι η εκχύλιση στη δυναμική μικροεκχύλιση υγρής φάσης (dynamic LPME) εμφανίζεται πρωταρχικά στο λεπτό οργανικό φιλμ που σχηματίζεται στην εσωτερική πλευρά της μικροσύριγγας και της βελόνας. Η ποσότητα των αναλυτών που εκχυλίζονται με άμεση μεταφορά από την υδατική φάση στην οργανική φάση θεωρείται ότι είναι αμελητέα σχετικά με την έμμεση μεταφορά του οργανικού φίλμ, μετά από σύγκριση των διεπιφανειών που σχετίζονται [22].

Η στατική μικροεκχύλιση υγρής φάσης (static LPME) απέδωσε περίπου 12-fold εμπλουτισμό και καλή αναπαραγωγικότητα (9.7%) μετά από πειραματική διαδικασία 15 λεπτών (σε μη αναδευόμενο υδατικό διάλυμα). Η δυναμική μικροεκχύλιση υγρής φάσης (dynamic LPME) από την άλλη απέδωσε έναν πολύ μεγαλύτερο παράγοντα εμπλουτισμού (~ 27-fold) μέσα σε ένα μικρότερο χρονικό διάστημα εκχύλισης (3 λεπτά), ωστόσο ήταν λιγότερο ακριβής (12.8%). Σήμερα, ο όρος μικροεκχύλιση υγρής φάσης (LPME) χρησιμοποιείται για την περιγραφή μιας πρόσφατα αναπτυσσόμενης τεχνικής μικροεκχύλισης που χρησιμοποιεί μια διαθέσιμη συσκευή [22].

Οι Ma και Cantwell [19] συνδύασαν την μικροεκχύλιση διαλύτη με ταυτόχρονη επανεκχύλιση μέσα σε μια μικροσταγόνα και κατάφεραν τον καθαρισμό του δείγματος και την προσυγκέντρωση των αναλυτών πριν από την ανάλυση υγροχρωματογραφίας 'υψηλής απόδοσης' (HPLC). Όγκος 30-μl κανονικού οκτανίου, το οποίο αποτελούσε την υγρή οργανική μεμβράνη, τοποθετήθηκε μέσα σε ένα δακτυλίδι από Teflon πάνω από ένα υδατικό διάλυμα 1.6-ml με pH = 13. Με τη βοήθεια μιας μικροσύριγγας, μια μικροσταγόνα (1 μl ή 0.5 μl υδατικού διαλύματος με pH = 2.1) αφέθηκε να αιωρείται μέσα στην οργανική υγρή μεμβράνη (εικόνα 2.5).



Εικόνα 2.5 Σχηματική αναπαράσταση της διάταξης για την μικροεκχύλιση σταγόνας που προτάθηκε από τους Ma και Cantwell [19].

Η παραπάνω διάταξη, υδατική σταγόνα-οργανική μεμβράνη, έχει το πλεονέκτημα ότι είναι πολύ σταθερή και ευνοεί τους μεγάλους ρυθμούς ανάδευσης. Οι τέσσερις βασικοί αναλύτες (methamphetamine, mephentermine, 2-phenylethylamine και methoxyphenamine) αρχικά εκχυλίστηκαν στην οργανική υγρή μεμβράνη (ουδέτεροι σε υψηλά pH) και επανεκχυλίστηκαν ταυτόχρονα στην όξινη μικροσταγόνα (πρωτονιωμένοι σε χαμηλά pH). Μετά από εκχύλιση σε προκαθορισμένο διάστημα, η μικροσταγόνα μεταφέρθηκε με τη βοήθεια μιας μικροσύριγγας στο όργανο υγροχρωματογραφίας 'υψηλής απόδοσης' (HPLC) για ανάλυση. Η προτεινόμενη μέθοδος προσφέρει υψηλή προσυγκέντρωση μέσα σε λίγο χρονικό διάστημα και συντελεστές εμπλουτισμού που ποικίλουν από 160-500 για τις υπό μελέτη ουσίες. Αυτό πραγματοποιήθηκε ελαττώνοντας τον όγκο και μειώνοντας το pH της μικροσταγόνας καθώς επίσης και εφαρμόζοντας υψηλούς ρυθμούς ανάδευσης, βελτιώνοντας με αυτόν τον τρόπο την κυκλοφορία στη φάση του κανονικού οκτανίου [19].

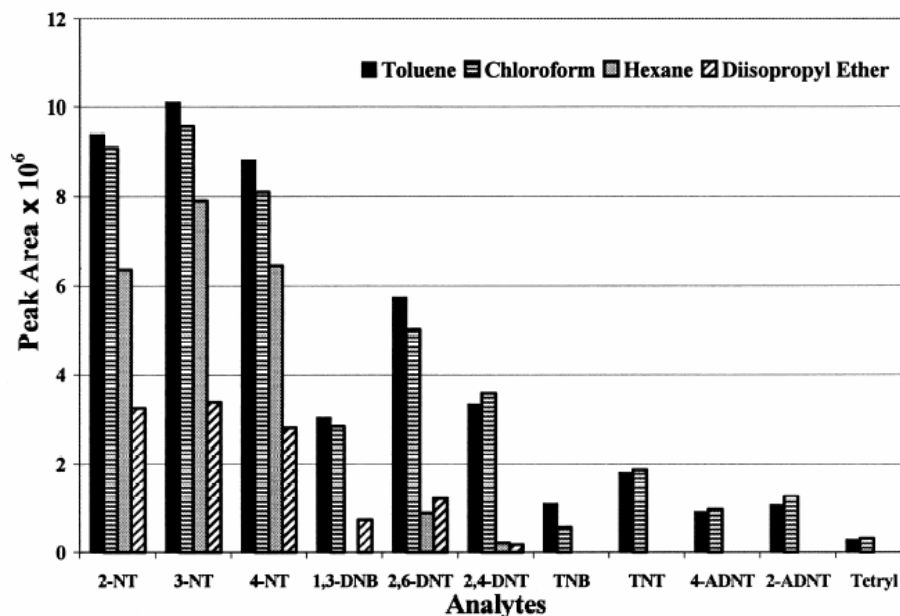
2.3 Βελτιστοποίηση μεθόδου: παράμετροι που επηρεάζουν την μικροεκχύλιση μονής σταγόνας

- *Επιλογή διαλύτη*

Η επιλογή του πιο κατάλληλου διαλύτη εκχύλισης είναι πολύ σημαντική για την επίτευξη καλής εκλεκτικότητας των ενώσεων στόχων [13,23]. Οι τεχνικές εκχύλισης λειτουργούν σύμφωνα με την αρχή *‘τα όμοια διαλύουν όμοια’* και για αυτό στην μικροεκχύλιση μονής σταγόνας εξετάζονται αρκετοί μη αναμίξιμοι με το νερό διαλύτες, οι οποίοι διαφέρουν στην πολικότητα και τη διαλυτότητα.

Ο διαλύτης εκχύλισης θα πρέπει να είναι μη αναμίξιμος με το νερό και θα πρέπει να έχει άριστη συμπεριφορά κατά την χρωματογραφική ανάλυση [23]. Η τελική απόφαση επιλογής του διαλύτη θα πρέπει να πραγματοποιείται μετά από σύγκριση της εκλεκτικότητας, της εκχυλιστικής αποτελεσματικότητας, την πιθανότητα διάσπασης της σταγόνας, του ποσοστού διάλυσης της σταγόνας (ιδιαίτερα για γρήγορους ρυθμούς ανάδευσης και παρατεταμένους χρόνους εκχύλισης) και του επιπέδου τοξικότητας [13].

Η επίδραση του διαλύτη εκχύλισης στην αποτελεσματικότητα της εκχύλισης 11 νιτροαρωματικών εκρηκτικών παρουσιάζεται στην εικόνα 2.6. Εξετάστηκαν τέσσερις μη αναμίξιμοι με το νερό διαλύτες με διαφορετική πολικότητα: τολουόλιο, χλωροφόρμιο, εξάνιο και διισοπρόπυλο αιθέρας. Το μη πολικό εξάνιο εκχύλισε με αποτελεσματικότητα τα NTs, αλλά η εκχυλιστική του ικανότητα μειώθηκε κατά την ανάλυση των πιο πολικών μορίων. Παρόμοια συμπεριφορά παρουσίασε και ο διαλύτης διισοπρόπυλο αιθέρας, ο οποίος εμφάνισε και το φαινόμενο της διάλυσης καθώς έχει την μεγαλύτερη τιμή διαλυτότητας στο νερό συγκριτικά με τους άλλους διαλύτες. Το χλωροφόρμιο παρουσίασε επίσης το φαινόμενο της διάλυσης κατά την εκχύλιση. Τελικά το τολουόλιο παρουσίασε καλή επιλεκτικότητα και μικρή διάλυση κατά την εκχύλιση ακόμα και σε υψηλούς ρυθμούς ανάδευσης. Έτσι, το τολουόλιο επιλέχθηκε ως ο βέλτιστος διαλύτης για την ανάλυση των νιτροαρωματικών εκρηκτικών, γεγονός σύμφωνο με προηγούμενες μελέτες [16].



Εικόνα 2.6 Σχετική αποτελεσματικότητα εκχύλισης μετά από 10 λεπτά πειραματικής διαδικασίας, 5-ml δείγματος νερού με νιτροαρωματικά εκρηκτικά (100 µg/l), χρησιμοποιώντας 1-µl σταγόνων τολουολίου, χλωροφορμίου, εξανίου και διισοπρόπυλο αιθέρα αντίστοιχα [16].

Για τον προσδιορισμό των υπολειμμάτων του ρηoxim στο νερό εξεταστήκαν οι εξής διαλύτες: n-εξάνιο, κυκλοεξάνιο, ισοοκτάνιο, χλωροφόρμιο, τολουόλιο και ξυλόλιο. Το χλωροφόρμιο έδωσε την μικρότερη ικανότητα στην εκχύλιση, λόγω της υψηλής πολικότητάς και διαλυτότητάς του στο νερό. Το ισοοκτάνιο, το τολουόλιο και το ξυλόλιο εκχύλιζαν ικανοποιητικά τους αναλύτες, ωστόσο οι κορυφές τους κάλυπταν αυτές των αναλυτών. Αντίθετα, το n-εξάνιο και το κυκλοεξάνιο, εκχύλισαν με επιτυχία τους αναλύτες, λόγω της χαμηλής τους πολικότητας και διαλυτότητας στο νερό και επιπρόσθετα το n-εξάνιο προσέφερε 1.5 φορές καλύτερη εκχυλιστική ικανότητα από ότι το κυκλοεξάνιο και για αυτό το n-εξάνιο επιλέχτηκε ως βέλτιστος διαλύτης [23].

Για την ανάλυση 10 οργανοφωσφορικών εντομοκτόνων εξετάστηκαν τρεις μη αναμίξιμοι με το νερό διαλύτες: εξάνιο, ισοοκτάνιο και τολουόλιο, οι οποίοι διαφέρουν στην πολικότητα και στην διαλυτότητά τους στο νερό. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το εξάνιο έχει την μικρότερη εκχυλιστική ικανότητα συγκρινόμενο με τους άλλους δύο διαλύτες. Το τολουόλιο και το ισοοκτάνιο έδειξαν παρόμοια εκχυλιστική ικανότητα για την πλειοψηφία των αναλυτών,

εκτός από το fenamithos και το ethyl parathion για τα οποία το τολουόλιο και το ισοοκτάνιο, αντίστοιχα, φάνηκαν αποτελεσματικότεροι διαλύτες. Ως βέλτιστος διαλύτης για τα υπόλοιπα πειράματα χρησιμοποιήθηκε το τολουόλιο [24], για τους ίδιους λόγους που αναλύθηκαν και στον προσδιορισμό των νιτροαρωματικών εκρηκτικών [16].

Οι φυσικοχημικές ιδιότητες όπως η πυκνότητα, το ιξώδες και η διαλυτότητα των διαλυτών εκχύλισης επηρεάζουν σημαντικά την αποτελεσματικότητα της εκχύλισης των αναλυτών στόχων. Για τον προσδιορισμό των αλκυλοφαινόλων εξετάστηκαν τρεις διαλύτες: το $[C_6MIM][PF_6]$, ο τετραχλωράνθρακας και η 1-οκτανόλη. Βρέθηκε ότι η μεγαλύτερη σε όγκο σταγόνα που μπορούσε να σταθεροποιηθεί στην άκρη της σύριγγας, με τη βοήθεια μιας θήκης από PTFE (εικόνα 2.4), ήταν 10 μL από το ιοντικό υγρό και 5 μL από τους άλλους δύο διαλύτες. Για αυτό το λόγο χρησιμοποιήθηκε σταγόνα 5 μL για την μελέτη της ικανότητας εμπλουτισμού των διαλυτών. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, η 1-οκτανόλη κατείχε την μεγαλύτερη επιφάνεια κορυφής για την εκχύλιση και των δύο υπό εξέταση αλκυλοφαινόλων. Κατά την εκχύλιση με το $[C_6MIM][PF_6]$ η επιφάνεια κορυφής του 4-*t*-OP ήταν σχεδόν ίδια με αυτή της 1-οκτανόλης, ενώ για το 4-NP η επιφάνεια επαφής ήταν σχεδόν η μισή από αυτή με τη χρήση της 1-οκτανόλης. Οι συντελεστές κατανομής των δύο αλκυλοφαινόλων μεταξύ του $[C_6MIM][PF_6]$ και του νερού δεν είναι διαθέσιμοι, αλλά αναμένονται να είναι μια τάξης μεγέθους μικρότεροι από αυτούς στο σύστημα 1-οκτανόλης-νερό. Οι συντελεστές κατανομής των αναλυτών μεταξύ δύο φάσεων είναι ένας πολύ σημαντικός παράγοντας εκχύλισης και οι υψηλότεροι συντελεστές κατανομής ευνοούν την απόκτηση μεγαλύτερων παραγόντων εμπλουτισμού και για αυτό το λόγο η 1-οκτανόλη δίνει μεγαλύτερη επιφάνεια κορυφής για τους αναλυτές [25].

Ωστόσο, η μικροεκχύλιση υγρής φάσης δεν είναι μια τεχνική βασισμένη στην αποκατάσταση της ισορροπίας και η αποκτημένη επιφάνεια κορυφής είναι ένα αποτέλεσμα διαφόρων παραγόντων όπως ο συντελεστής κατανομής, ο συντελεστής διάχυσης του αναλύτη, η διαλυτότητα του διαλύτη εκχύλισης, το ιξώδες του διαλύτη και του δείγματος. Λαμβάνοντας υπόψη το γεγονός ότι η μεγαλύτερη σταγόνα του ιοντικού διαλύτη που μπορεί να χρησιμοποιηθεί είναι διπλάσια από αυτή της 1-οκτανόλης, αναμένεται

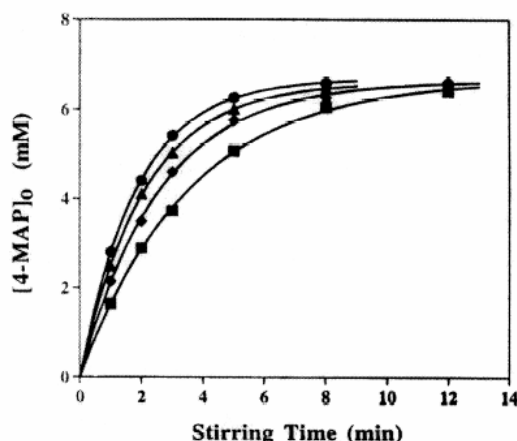
μεγαλύτερη επιφάνεια κορυφής και για τους δύο διαλύτες με τη χρήση της μεγαλύτερης σταγόνας [25].

Έτσι, για την ανάλυση των αλκυλοφαινολών χρησιμοποιήθηκε **ιοντικός διαλύτης** σε θερμοκρασία δωματίου (**RTIL**). Οι διαλύτες αυτοί είναι ιοντικά μέσα που προκύπτουν από τον συνδυασμό οργανικών κατιόντων και διαφόρων ανιόντων όπου είναι υγρά σε θερμοκρασία δωματίου. Ένα τυπικό ιοντικό υγρό είναι το 1-hexyl-3methylimidazolium hexafluorophosphate ($[C_6MIM][PF_6]$), το οποίο έχει μεγάλο ιξώδες, μικρή αναμειξιμότητα στο νερό και μέτρια διαλυτότητα οργανικών ενώσεων. Έτσι, είναι δυνατόν να χρησιμοποιηθεί ένας μεγάλος όγκος από αυτή τη σταγόνα στην μικροεκχύλιση υγρής φάσης και η οποία να μπορεί να αποδώσει και μεγαλύτερη ευαισθησία στην υδροχρωματογραφία 'υψηλής απόδοσης' (HPLC) (εικόνα 2.4) [25].

Έχουν χρησιμοποιηθεί και σε προηγούμενες μελέτες ιοντικά υγρά ως διαλύτες κατά την μικροεκχύλιση υγρής φάσης, όπως για παράδειγμα το $[C_8MIM][PF_6]$ για την ανάλυση πολυκυκλικών αρωματικών υδρογονανθράκων, όπου απέδωσε μεγαλύτερο συντελεστή εμπλουτισμού από ότι οι κοινοί διαλύτες [25].

- *Ρυθμός ανάδευσης*

Η ανάδευση του δείγματος αυξάνει την εκχύλιση και μειώνει τον χρόνο που απαιτείται για να φτάσει το σύστημα σε κατάσταση θερμοδυναμικής ισορροπίας [13,23]. Για τις τεχνικές εκχύλισης με σταγόνα, η ανάδευση με μαγνητικό αναδευτήρα είχε ως αποτέλεσμα την δραματική αύξηση στην αναλυτική απόκριση του οργάνου για όλες τις περιπτώσεις (εικόνα 2.7). Ωστόσο, στις περιπτώσεις όπου η μικροσταγόνα είναι άμεσα εκτεθειμένη στην υδατική φάση υπάρχει ένα ανώτατο όριο, καθώς υψηλοί ρυθμοί ανάδευσης οδηγούν σε διάλυση της σταγόνας ιδιαίτερα σε παρατεταμένους χρόνους εκχύλισης. Για την ακρίβεια των αναλύσεων απαιτείται η χρήση μικρών αναδευτήρων, σταθερή ταχύτητα περιστροφής και βάσεις θερμικά απομονωμένες από το φιαλίδιο του δείγματος [13].

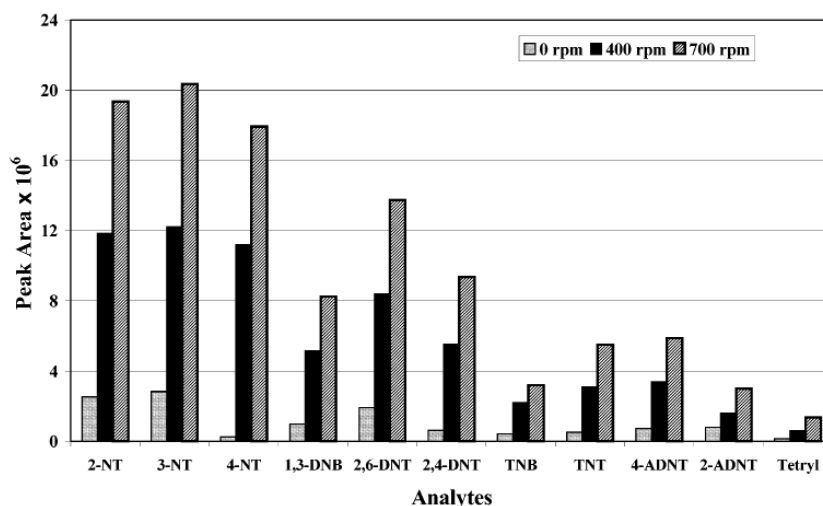


Εικόνα 2.7 Διάγραμμα της συγκέντρωσης της 4-μεθυλοακετοφαινόνης προς τον χρόνο ανάδευσης για διαφορετικές τιμές ρυθμών ανάδευσης. (τετράγωνο) 900, (ρόμβος) 1200, (τρίγωνο) 1500 και (κύκλος) 1800 rpm [15].

Για την ανάλυση των 11 νιτροαρωματικών εκρηκτικών εξετάστηκε η επίδραση της ανάδευσης του δείγματος (0, 400 και 700 rpm) στην αποτελεσματικότητα της εκχύλισης των αναλυτών. Όπως φαίνεται στην εικόνα 2.8, υπάρχει μια δραματική αύξηση της εκχύλισης σε σύγκριση με την μηδενική ανάδευση του διαλύματος. Το γεγονός αυτό είναι σύμφωνο με τις τεχνικές μικροεκχύλισης διαλύτη που βασίζονται στην θεωρία του φιλμ για τη μεταφορά μάζας με διάχυση [16].

Σύμφωνα με αυτή τη θεωρία, η σταθερή, στιγμιαία και πλήρης ανάμιξη πραγματοποιείται σε κάποια απόσταση δ_{aq} (φιλμ διάχυσης του Nernst) από τη διεπιφάνεια υγρού-υγρού. Στην στάσιμη κατάσταση, ο συντελεστής μεταφοράς μάζας της υδατικής φάσης $k_{aq} = D_{aq}/\delta_{aq}$ όπου D_{aq} είναι ο συντελεστής διάχυσης στην υδατική φάση και k_{aq} ο συντελεστής μεταφοράς μάζας. Σε μεγαλύτερους ρυθμούς ανάδευσης το πάχος του φιλμ διάχυσης μειώνεται προκαλώντας αύξηση στον συντελεστή μεταφοράς μάζας ($\downarrow \delta_{aq}$ τότε $\uparrow k_{aq}$) και συνεπώς αύξηση του ποσοστού εκχύλισης των αναλυτών στόχων [15,16].

Ωστόσο, υπάρχει ένας περιορισμός καθώς μεγάλη αύξηση του ρυθμού ανάδευσης μπορεί να οδηγήσει στη διάσπαση της σταγόνας κατά της εκχύλιση. Έτσι, για την ανάλυση των νιτροαρωματικών εκρηκτικών χρησιμοποιήθηκε ρυθμός ανάδευσης ίσος με 700 rpm [16].



Εικόνα 2.8 Σχετική ικανότητα εκχύλισης των αναλυτών στόχων (11 νιτροαρωματικά εκρηκτικά) σε διαφορετικούς ρυθμούς ανάδευσης του δείγματος [16].

Για την μελέτη της επίδρασης του ρυθμού ανάδευσης στην ανάλυση των υπολειμμάτων του ροξιμ, πραγματοποιήθηκαν πειράματα σε πέντε διαφορετικούς ρυθμούς ανάδευσης (0, 300, 600, 1000 και 1200 rpm). Σύμφωνα με τα αποτελέσματα η επιφάνεια κορυφής των αναλυτών αυξάνονταν με την αύξηση του ρυθμού ανάδευσης. Παρόλα αυτά, αυξάνονταν και η αστάθεια της οργανικής σταγόνας, η οποία επηρεάζει την ακρίβεια και την αναπαραγωγικότητα της τεχνικής. Έτσι, ως βέλτιστος ρυθμός ανάδευσης χρησιμοποιήθηκε 600 rpm [23].

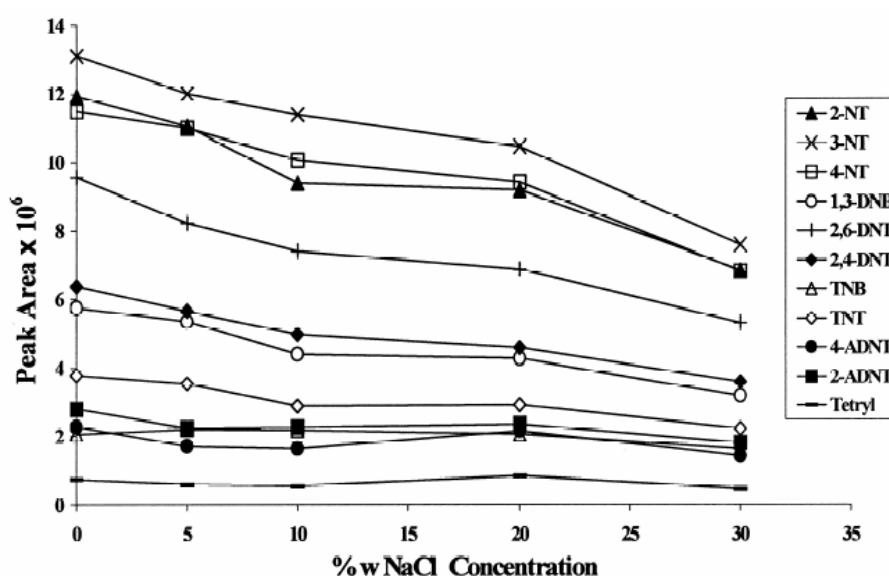
Όσον αφορά στον προσδιορισμό των 10 οργανοφωσφορικών ενώσεων έγιναν πειράματα για τέσσερις διαφορετικούς ρυθμούς ανάδευσης: 400, 600, 800 και 1000 rpm. Βρέθηκε ότι η απόδοση εκχύλισης βελτιώθηκε σημαντικά με την αύξηση του ρυθμού ανάδευσης του διαλύματος με μέγιστη τιμή στα 1000 rpm. Παρόλα αυτά, σε αυτό το ρυθμό ανάδευσης, ευνοήθηκε ο σχηματισμός φυσαλίδων αέρα αυξάνοντας την πιθανότητα για διάλυση ή μετατόπιση της οργανικής σταγόνας. Βρέθηκε, επίσης, ότι σε αυτό το ρυθμό ανάδευσης, ο όγκος της οργανικής σταγόνας μειώθηκε κατά 17%, κατά μέση τιμή, λόγω της διάλυσης του τολουολίου στην υδατική φάση. Με βάση τις παραπάνω παρατηρήσεις χρησιμοποιήθηκε ρυθμός ανάδευσης ίσος με 800 rpm [24].

- Έλεγχος ιοντικής ισχύος

Η προσθήκη άλατος στο δείγμα μπορεί να έχει διάφορες επιδράσεις στην εκχύλιση καθώς αυξάνει την ιοντική ισχύ του διαλύματος. Ανάλογα με την διαλυτότητα των αναλυτών στόχων, η εκχύλιση αυξάνεται συνήθως με την αύξηση της συγκέντρωσης του άλατος και την αυξανόμενη πολικότητα των ενώσεων στόχων (εξαλάτωση) [2].

Ωστόσο, για μια μικροεκχύλιση μονής σταγόνας η παρουσία του άλατος βρέθηκε ότι περιορίζει την εκχύλιση στα χλωροβενζόλια και στην πλειοψηφία των νιτροαρωματικών εκρηκτικών [13,14]. Θεωρείται ότι πέρα από το φαινόμενο της εξαλάτωσης, η παρουσία του άλατος προκαλεί ένα δεύτερο φαινόμενο και οδηγεί στην αλλαγή των φυσικών ιδιοτήτων του φιλμ εκχύλισης, με αποτέλεσμα την ελάττωση του ποσοστού διάχυσης των αναλυτών στην σταγόνα [13,14].

Η επίδραση της συγκέντρωσης του άλατος στην αποτελεσματικότητα της εκχύλισης των νιτροαρωματικών ενώσεων φαίνεται στην εικόνα 2.9 [16].



Εικόνα 2.9 Επίδραση της συγκέντρωσης του άλατος στην αποτελεσματικότητα της εκχύλισης [16].

Η προσαρμογή του pH στο υδατικό δείγμα μπορεί να οδηγήσει στην αύξηση της εκχύλισης των όξινων και βασικών αναλυτών. Για την μικροεκχύλιση διαλύτη, βρέθηκε ότι η προσαρμογή του pH σε τιμές για τις

οποίες οι αναλύτες στόχοι βρίσκονται με την ουδέτερη μορφή τους ευνοεί την μεταφορά μάζας στη σταγόνα. Θα πρέπει να χρησιμοποιηθούν κατάλληλα ρυθμιστικά διαλύματα τα οποία να εξασφαλίζουν την υψηλή αναπαραγωγικότητα. Σε μερικές περιπτώσεις θεωρείται να απαραίτητο να προηγηθεί ένα επιπλέον βήμα φιλτραρίσματος του δείγματος, έτσι ώστε να απομακρυνθούν τα σωματίδια που πιθανόν να υπάρχουν και που μπορεί να προσκολληθούν στην μικροσταγόνα οδηγώντας στην διατάραξή της [13].

Για να μελετηθεί η επίδραση της συγκέντρωσης άλατος στην απόδοση της εκχύλισης για την ανάλυση των υπολειμμάτων του rhoxim, χρησιμοποιήθηκαν διαλύματα με διαφορετικές συγκεντρώσεις σε NaCl από 0-20% w/v. Τα πειράματα έδειξαν ότι οι επιφάνεια κορυφής του αναλύτη μειώνονταν πολύ ακόμα και με την προσθήκη μικρής ποσότητας άλατος στο διάλυμα. Για αυτό το λόγο, δεν προστέθηκε ποσότητα άλατος στα επόμενα δείγματα [23].

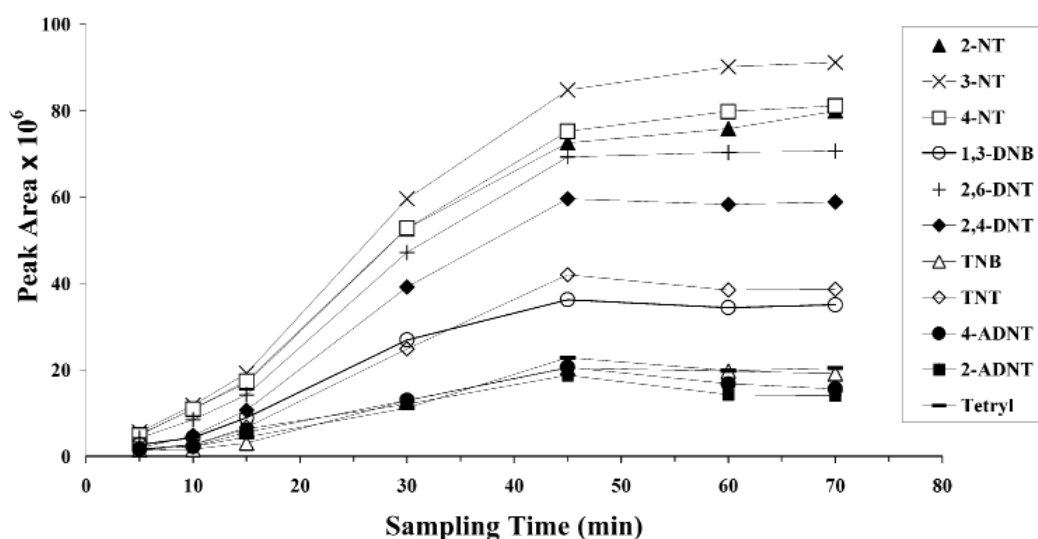
Κατά την ανάλυση 10 οργανοφωσφορικών ενώσεων χρησιμοποιήθηκε διαφορετική συγκέντρωση άλατος (0-10% w/v), για την μελέτη της επίδρασης της ιοντικής ισχύος στην απόδοση της εκχύλισης. Τα αποτελέσματα ήταν διαφορετικά για κάθε αναλύτη. Έτσι, η απόδοση εκχύλισης κάποιων αναλυτών αυξάνονταν με αύξηση της συγκέντρωσης του άλατος, μέχρι μια μέγιστη τιμή και μετά μειώνονταν με περαιτέρω προσθήκη άλατος, ενώ για κάποιες ενώσεις η προσθήκη του άλατος δεν επηρέασε καθόλου την απόδοση εκχύλισής τους. Για αυτό το λόγο χρησιμοποιήθηκε συγκέντρωση άλατος ίση με 2.5% w/v NaCl [24].

- *Διάρκεια εκχύλισης*

Η μικροεκχύλισης μονής σταγόνας δεν είναι μια πλήρης και λεπτομερής τεχνική εκχύλισης [13,14,16]. Παρόλο που η μέγιστη ευαισθησία επιτυγχάνεται στην ισορροπία, δεν απαιτείται να επιτευχθεί η ισορροπία για αποκτήσουμε ακριβείς και καθορισμένες αναλύσεις [13,16]. Για τις ποσοτικές αναλύσεις δεν είναι απαραίτητο να έχει αποκατασταθεί η ισορροπία των αναλυτών, αλλά να έχει μεταφερθεί αρκετή ποσότητα από αυτούς στην οργανική σταγόνα σε συγκεκριμένο χρονικό διάστημα [16]. Ο παρατεταμένος χρόνος εκχύλισης συχνά καταλήγει στην διάλυση ή τη διάσπαση της σταγόνας [13,14,16,23]. Για τους λόγους αυτούς, ο χρόνος εκχύλισης συχνά ταυτίζεται με τον χρόνο χρωματογραφικής ανάλυσης, επιτυγχάνοντας κατά συνέπεια την μέγιστη

απόδοση [13,14,16]. Παρόλα αυτά, όταν η επιλογή του χρόνου εκχύλισης πραγματοποιείται στην αυξανόμενη περιοχή στο προφίλ χρόνου ισορροπίας, ο ακριβής συντονισμός είναι πολύ σημαντικός [13].

Για τον προσδιορισμό 11 νιτροαρωματικών εκρηκτικών παρατηρήθηκε ότι όσο περισσότερο η σταγόνα του τολουολίου εκτείθονταν στο υπό εξέταση δείγμα τόσο μεγαλύτερη ήταν η μεταφορά μάζας των αναλυτών προς αυτήν. Για την αποφυγή διάλυσης της σταγόνας χρησιμοποιήθηκε χρόνος εκχύλισης ίσος με 15 λεπτά, παρόλο που στο χρόνο αυτό δεν είχε αποκατασταθεί η ισορροπία των αναλυτών (εικόνα 2.10) [16].



Εικόνα 2.10 Προφίλ χρόνου εκχύλισης 11 νιτροαρωματικών εκρηκτικών για τον προσδιορισμό του βέλτιστου χρόνου εκχύλισης [16].

Όσον αφορά στην μελέτη των υπολειμμάτων του rhoxim, εξετάστηκαν χρόνοι εκχύλισης από 3-75 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου με ανάδευση του δείγματος. Γενικά, η επιφάνεια επαφής αυξάνονταν με αύξηση του χρόνου εκχύλισης μέχρι τα 60 πρώτα λεπτά. Μετά από αυτό το χρόνο το σύστημα ήταν σε σταθερή κατάσταση και δεν παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση του ποσοστού εκχύλισης με το πέρασμα του χρόνου. Ο χρόνος που χρησιμοποιήθηκε τελικά ήταν 20 λεπτά [23].

Στην ανάλυση των οργανοφωσφορικών ενώσεων βρέθηκε ότι μετά από 45 λεπτά εκχύλισης μόνο σε έναν αναλύτη αποκαταστάθηκε η ισορροπία, ενώ για τους υπόλοιπους δεν αποκαταστάθηκε ισορροπία ακόμα και μετά από 75

λεπτά εκχύλισης. Για την αποφυγή διάλυσης της σταγόνας, χρησιμοποιήθηκε πολύ μικρότερος χρόνος ανάλυσης, ίσος με 15 λεπτά [24].

Για την ανάλυση των δυο αλκυλοφαινολών χρησιμοποιήθηκαν 10 μL $[\text{C}_6\text{MIM}][\text{PF}_6]$ για χρόνο εκχύλισης 40 λεπτά [25].

2.4 Εφαρμογές τεχνικής

✓ Νιτροαρωματικά εκρηκτικά

Ο καθορισμός των εκρηκτικών στα δείγματα νερού περιλαμβάνει ένα αρχικό βήμα προεπεξεργασίας για την απομόνωση των αναλυτών στόχων. Ο προσδιορισμός 11 νιτροαρωματικών εκρηκτικών πραγματοποιήθηκε με επιτυχία με τη μέθοδο μικροεκχύλισης με μονή σταγόνα (SDME) σε συνδυασμό με την τεχνική αεριοχρωματογραφίας (εικόνα 2.3) [14,16].

✓ Οργανοχλωριωμένα εντομοκτόνα

Οι De Jager και Andrews πραγματοποίησαν μια εργασία για τη μικροεκχύλιση διαλύτη στην ανάλυση 11 οργανοχλωριωμένων εντομοκτόνων [21]. Χρησιμοποίησαν μια σταγόνα 2- μL που να αιωρείται από την άκρη της βελόνας μιας μικροσύριγγας βυθισμένη σε ένα αναδευόμενο υδατικό διάλυμα. Όλες οι αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν χρησιμοποιώντας αεριοχρωματογραφία (GC). Πραγματοποιήθηκε έλεγχος για διάφορες παραμέτρους όπως ο διαλύτης, ο όγκος του δείγματος, το μέγεθος της σταγόνας, η ταχύτητα ανάδευσης και ο χρόνος εκχύλισης. Οι συντελεστές συσχέτισης που υπολογίστηκαν για την μέθοδο ήταν ικανοποιητικοί, ωστόσο, μειονεκτούσε στο θέμα της αναπαραγωγικότητας καθώς οι τιμές RDS ήταν κατά μέσο όρο 24.5%. Τα όρια ανίχνευσης ήταν της τάξης των 0.25 $\mu\text{g/l}$. Η προτεινόμενη μέθοδος χρησιμοποιήθηκε επίσης για τον έλεγχο οργανοχλωριωμένων εντομοκτόνων σε εμβολιασμένα δείγματα (δείγματα στα οποία έχει προστεθεί γνωστή ποσότητα της υπό προσδιορισμό ουσίας) νερού [13].

Οι ίδιοι ερευνητές προεκτείνανε την εργασία τους και συνδύασαν την μικροεκχύλιση διαλύτη με γρήγορη ανάλυση αεριοχρωματογραφίας (GC). Προτάθηκε συνολικός χρόνος εκχύλισης μικρότερος από 9 λεπτά και δόθηκε

μια αναλυτική μελέτη βελτιστοποίησης των παραγόντων για γρήγορη ανάλυση GC. Οι καμπύλες προσομοίωσης είχαν καλή γραμμικότητα και αναπαραγωγικότητα (κατά μέσο όρο 17.5%). Αναλύθηκαν δείγματα ποταμιού ρυπασμένα με γνωστές ποσότητες οργανοχλωριωμένων ενώσεων και η παραπάνω τεχνική κατάφερε να διακρίνει ανάμεσα στα ρυπασμένα ή μη δείγματα. Τέλος οι ερευνητές κατέληξαν ότι η προτεινόμενη μέθοδος είναι γρήγορη και φτηνή μέθοδος ανίχνευσης οργανοχλωριωμένων εντομοκτόνων σε υδατικά δείγματα [21].

✓ Προγεστερόνη

Οι Jeannot και Cantwell συνέχισαν την εργασία τους και χρησιμοποίησαν την τεχνική ανάλυσης, η οποία βασίζεται στη χρήση σταγόνας (εικόνα 2), για την εκχύλιση αδέσμευτης προγεστερόνης από ένα υδατικό πρωτεϊνικό διάλυμα. Κατά την εκχύλιση απομακρύνθηκε ένα μικρό κλάσμα προγεστερόνης, καθώς οι αναλογίες των φάσεων ήταν πολύ μικρές, αποτρέποντας, κατά συνέπεια, την διαταραχή της ισορροπίας σύνδεσης στην υδατική φάση. Οι σταθερές ισορροπίας σύνδεσης που μετρήθηκαν τόσο για τις εκχυλίσσεις σε ισορροπία όσο και για εκχυλίσσεις που δεν υπήρχε ισορροπία συμφωνούσαν με προηγούμενες αναφερόμενες τιμές, οι οποίες αποκτήθηκαν κατά την εκχύλιση διαλύτη σε ισορροπία (σε μακροσκοπική κλίμακα) και διάλυση σε ισορροπία. Το ποσοστό εκχύλισης της προγεστερόνης αυξήθηκε παρουσία της πρωτεΐνης και κατά συνέπεια θεωρήθηκε ότι οι διαδικασίες διάχυσης, προσρόφησης και εκρόφησης της προγεστερόνης στο πρωτεϊνικό φιλμ που σχηματίστηκε στην διεπιφάνεια υγρού-υγρού αύξανε τη μεταφορά μάζας της προγεστερόνης [18].

✓ Χλωροβενζόλια

Η δυναμική μικροεκχύλιση υγρής φάσης εφαρμόστηκε για την ανάλυση 10 ενώσεων χλωροβενζολίων σε δείγματα νερού. Ο σκοπός των μελετών ήταν να εξετάσουν με μεγαλύτερη ακρίβεια τους παράγοντες που επηρεάζουν την εκχύλιση και να αξιολογήσουν την εφαρμογή της μεθόδου στην ανάλυση περιβαλλοντικών δειγμάτων. Για τον λόγο αυτό εξετάστηκε η

αποτελεσματικότητα της εκχύλισης ενώ μεταβάλλονταν διάφοροι παράγοντες (όπως για παράδειγμα ο τύπος του διαλύτη, η ταχύτητα κίνησης του εμβόλου και dwelling time). Η παρουσία του άλατος στο υδατικό δείγμα βρέθηκε ότι μειώνει την εκχύλιση γεγονός που πιθανόν να οφείλεται στη δυσμενή επίδραση του άλατος στο οργανικό φιλμ [20].

Βρέθηκαν καλές γραμμικότητες για όλες τις ενώσεις στόχους με συντελεστές συσχέτισης να ποικίλουν από 0.9940 έως 0.9989 και οι σχετικές τυπικές αποκλίσεις για οκτώ μετρήσεις ποίκιλαν από 3.62% έως 9.26%. Τα όρια ανίχνευσης όταν χρησιμοποιήθηκε σταγόνα 6-μl (αντί για 1-μl που χρησιμοποιούνταν για τα υπόλοιπα πειράματα) υπολογίστηκαν να είναι 0.02–0.05 μg/l. Σε μελέτες που πραγματοποιήθηκαν σε εμβολιασμένα βιομηχανικά απόβλητα βρέθηκε ότι η μήτρα είχε μικρή επίδραση στην ανάλυση του δείγματος [20].

✓ **Οργανοφωσφορικά εντομοκτόνα**

Η ανάλυση των οργανοφωσφορικών εντομοκτόνων (OP) και των προϊόντων διάσπασής τους είναι ένα θέμα με μεγάλη σημασία, κυρίως λόγω της πιθανής τους τοξικότητας, σταθερότητας και διαλυτότητάς τους στο νερό. Είναι συνεπώς επιτακτική η ανάγκη για αξιολόγηση και έλεγχο μικρών ποσοτήτων από αυτές τις ενώσεις από διαφορετικά περιβαλλοντικά δείγματα με σκοπό την προστασία της ανθρώπινης υγείας και της περιβαλλοντικής ποιότητας. Για τον προσδιορισμό μικρών ποσοτήτων αυτών των ρύπων είναι απαραίτητη η εκχύλισή τους και ένα βήμα προσυγκέντρωσης [23,24].

Το rhoxim είναι το πιο διαδεδομένο οργανοφωσφορικό εντομοκτόνο που χρησιμοποιείται για την προστασία του βαμβακιού από αυτό το έντομο. Λόγω της θερμικής αστάθειας του rhoxim, η μελέτη περιορίστηκε στον προσδιορισμό των υπολειμμάτων του rhoxim σε δείγματα νερού. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκε με επιτυχία η τεχνική μικροεκχύλισης με μονή σταγόνα (SDME) σε συνδυασμό με την υγροχρωματογραφία 'υψηλής απόδοσης' (HPLC) με ανιχνευτή diode array (DAD) [23].

Η μικροεκχύλιση μονής σταγόνας (SDME) σε συνδυασμό με την αεριοχρωματογραφία και τη φασματοσκοπία μάζας (GC-MS), χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό 10 άλλων οργανοφωσφορικών

εντομοκτόνων σε περιβαλλοντικά δείγματα. Στην μελέτη αυτή πραγματοποιήθηκε και σύγκριση της μεθόδου με την μικροεκχύλιση στερεής φάσης σύμφωνα με την οποία η μικροεκχύλιση μονής σταγόνας (SDME) απαιτεί μεγαλύτερη προσοχή και ακρίβεια κατά τη διεξαγωγή της, παρόλο που τα όρια ανίχνευσης είναι αρκετά χαμηλά, της τάξης των $\mu\text{g/L}$. Επίσης, βρέθηκε ότι η περιβαλλοντική μήτρα επηρεάζει περισσότερο την μικροεκχύλιση μονής σταγόνας (SDME) στον προσδιορισμό των αναλυτών και ότι τα χουμικά οξέα περιορίζουν την ανάλυση των οργανοφωσφορικών εντομοκτόνων, αποδεικνύοντας ότι υπάρχει περιορισμός στη χρήση της μικροεκχύλισης μονής σταγόνας (SDME) στα φυσικά νερά, τα οποία περιέχουν μεγάλη ποσότητα διαλυμένης οργανικής ύλης [24].

✓ Αλκυλοφαινόλες (Alkylphenols)

Δύο σημαντικές αλκυλοφαινόλες που υπάρχουν στο υδατικό περιβάλλον είναι η 4-nonylphenol (4-NP) και η 4-*tert*-octylphenol (4-*t*-OP) οι οποίες προέρχονται κυρίως από την διάσπαση των 4-nonylphenol polyethoxylates και των 4-*tert*-octylphenol polyethoxylates, δύο ομάδες μη ιοντικών απορρυπαντικών, ευρέως χρησιμοποιούμενα ως καθαριστικά, υλικά αδιαβροχοποίησης, γαλακτωματοποιητές και χημικοί σταθεροποιητές. Οι ενώσεις 4-NP και 4-*t*-OP είναι πιο σταθερές από τις ενώσεις από τις οποίες προήλθαν και προκαλούν αρνητικές επιδράσεις στην υγεία του ανθρώπου. Για τους λόγους αυτούς είναι πολύ σημαντική η μελέτη αναλυτικών μεθόδων για τον προσδιορισμό των ενώσεων αυτών. Στην συγκεκριμένη μελέτη η ανάλυση των παραπάνω ενώσεων πραγματοποιήθηκε με την χρήση ιοντικών διαλυτών σε θερμοκρασία δωματίου (RTILs) στην μικροεκχύλιση μονής σταγόνας (SDME) (εικόνα 2.4) [25].

2.5 Αξιολόγηση τεχνικής

Πλεονεκτήματα τεχνικής

- 1) Είναι απλή και γρήγορη.
- 2) Δεν απαιτεί ακριβή ή εξειδικευμένη οργανολογία (GC, HPLC).
- 3) Απαιτεί πολύ μικρές ποσότητες διαλύτη, οι οποίοι είναι τοξικοί [16].

- 4) Ανιχνεύονται αναλύτες που υπάρχουν σε διαλύματα σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις [14].
- 5) Ελαχιστοποιεί να προβλήματα δημιουργίας 'ουράς' των κορυφών και συμπαράσυρσης του δείγματος [14].
- 6) Ελευθερία επιλογής του κατάλληλου διαλύτη εκχύλισης για δεδομένους αναλύτες και δυνατότητα χρήσης ιοντικών υγρών ως διαλύτες, οι οποίοι είναι αποτελεσματικότεροι, φθηνότεροι και δεν είναι τοξικοί [25].

Μειονεκτήματα τεχνικής

- 1) Η κορυφή του διαλύτη εκχύλισης στην αεριοχρωματογραφία (GC) μπορεί να περιορίζει τον προσδιορισμό των αναλυτών οι οποίοι εκκλύονται νωρίς [14].
- 2) Απαιτούνται πιο προσεκτικοί εργαστηριακοί μηχανισμοί κατά την μέθοδο αυτή, γιατί υπάρχουν πολλές περιπτώσεις διάσπασης της σταγόνας κατά τη διάρκεια της εκχύλισης [14].
- 3) Δεν προτείνονται μεγάλοι ρυθμοί ανάδευσης για αποφυγή διάσπασης της σταγόνας [14].
- 4) Μικρός όγκος οργανικής σταγόνας (τυπικά 1 mL) και συνεπώς χαμηλή ευαισθησία στην υγροχρωματογραφίας 'υψηλής απόδοσης' (HPLC).
- 5) Οι διαλύτες που χρησιμοποιούνται στην μικροεκχύλιση μονής σταγόνας (SDME) δεν είναι συμβατοί με την αντίστροφης φάσης υγροχρωματογραφίας 'υψηλής απόδοσης'.

3. Μικροεκχύλιση του υπερκείμενου χώρου με μονή σταγόνα (headspace single-drop microextraction, SDME)

3.1 Εισαγωγή

Το πιο δύσκολο και χρονοβόρο βήμα στον καθορισμό οργανικών ρύπων σε περιβαλλοντικά δείγματα είναι η εκχύλιση των αναλυτών από το χημικό περιβάλλον. Έχουν εφαρμοστεί αρκετές μέθοδοι για την πραγματοποίηση της διαδικασίας αυτής, όπως για παράδειγμα η εκχύλιση αέριας φάσης, η υγρή εκχύλιση και η στερεά εκχύλιση [27].

Η μικροεκχύλιση διαλύτη είναι μια εναλλακτική, έναντι των παραδοσιακών μεθόδων, τεχνική εκχύλισης, η οποία βασίζεται στην μικρογραφία της γνωστής μεθόδου εκχύλισης υγρού-υγρού με τη διαφορά ότι ελαττώνεται πολύ η αναλογία της οργανικής και της υδατικής φάσης. Αποτέλεσμα της εξέλιξης αυτής της προσέγγισης αποτέλεσε η μικροεκχύλιση σε σταγόνα του υπερκείμενου χώρου (headspace SDME), κατά την οποία οι ουσίες εκχυλίζονται σε μια σταγόνα που αποτελείται από έναν μη αναμίξιμο με το νερό διαλύτη και η οποία αιωρείται πάνω από το υδατικό δείγμα [26].

Η ανάλυση του υπερκείμενου χώρου είναι κυρίως εφαρμόσιμη για την ανάλυση πτητικών ενώσεων, γιατί η εκχυλίζουσα φάση (αέρας) είναι συμβατή με τα αέρια χρωματογραφήματα. Η στατική εκχύλιση υπερκείμενου χώρου είναι πιθανώς η απλούστερη και η πιο συχνά εφαρμόσιμη τεχνική προετοιμασίας δείγματος για την οποία χρησιμοποιείται ελάχιστη ποσότητα διαλύτη. Η στατική εκχύλιση υπερκείμενου χώρου δεν πραγματοποιεί πλήρη εκχύλιση, εκτός από την περίπτωση πολύ πτητικών αερίων και για αυτόν τον λόγο απαιτεί πολύ προσεκτικές ρυθμίσεις [27].

Πρόσφατα έχουν αναπτυχθεί αρκετές έρευνες [26-42] με θέμα αυτήν τη νέα μεθοδολογία προσυγκέντρωσης, η οποία αποτελεί ένα αναδυόμενο πεδίο έρευνας, καθώς τα πλεονεκτήματα που διαθέτει είναι ότι είναι γρήγορη, φθηνή, ακριβής και ουσιαστικά δεν απαιτούνται μεγάλες ποσότητες διαλύτη κατά την εφαρμογή της [26].

3.2 Θεωρητικό υπόβαθρο

Στην περίπτωση της εκχύλισης οργανικών ενώσεων από τον υπερκείμενο χώρο υδατικών δειγμάτων, η ποσότητα του αναλύτη n που εκχυλίζεται από τη σταγόνα στην ισορροπία, περιγράφεται από την παρακάτω ισορροπία [27]:

$$n = \frac{K_{odw} V_d C_o V_s}{K_{odw} V_d + K_{hs} V_h + V_s} \quad (1)$$

όπου:

K_{odw} : σταθερά κατανομής οργανικής σταγόνας-νερού

K_{hs} : σταθερά κατανομής υπερκείμενου χώρου-δείγματος (νερό)

C_o : αρχική συγκέντρωση του αναλύτη στο χημικό περιβάλλον

V_d : ο όγκος της σταγόνας

V_s : ο όγκος του δείγματος

V_h : ο όγκος του υπερκείμενου χώρου

Η εξίσωση (1) μετά από μετατροπές μπορεί να γραφεί:

$$\frac{1}{n} = \frac{1}{C_o} \left[\frac{1}{V_s} + \frac{1}{K_{odw} V_d} \left(\frac{K_{hs} V_h}{V_s} + 1 \right) \right] \quad (2)$$

Όπου φαίνεται καλύτερα η σχέση μεταξύ της ποσότητας n του αναλύτη που εκχυλίζεται και των υπόλοιπων παραμέτρων, K_{odw} , V_d , V_s και V_h [32].

Σύμφωνα με την εξίσωση (1), αλλά και όπως αναμένονταν από τις συνθήκες ισορροπίας, η ποσότητα του αναλύτη που εκχυλίζεται είναι ανεξάρτητη από την θέση της σταγόνας στη διάταξη. Η θέση της σταγόνας μπορεί να είναι στον υπερκείμενο χώρο ή μέσα στο δείγμα με την προϋπόθεση ότι ο όγκος της σταγόνας παραμένει σταθερός σε κάθε περίπτωση.

Εάν υποθέσουμε ότι το φιαλίδιο που περιέχει το δείγμα είναι γεμάτο με το υδατικό περιβάλλον (χωρίς υπερκείμενο χώρο) ο όρος $K_{hs} V_h$ στον παρονομαστή, ο οποίος σχετίζεται με την χωρητικότητα ($C_h^\infty V_h$) του υπερκείμενου χώρου, μπορεί να παραλειφθεί με αποτέλεσμα η μορφή της εξίσωσης να είναι:

$$n = \frac{K_{odw} V_d C_o V_s}{K_{odw} V_d + V_s} \quad (3)$$

Οι δύο εξισώσεις, (1) και (3), περιγράφουν την μάζα που απορροφάται από τη μικροσταγόνα μετά την αποκατάσταση της ισορροπίας. Για τους περισσότερους αναλύτες η τιμή της K_{hs} είναι σχετικά μικρή (όπως για παράδειγμα το βενζόλιο έχει $K_{hs} = 0.224$) και η δειγματοληψία από τον υπερκείμενο χώρο δεν θα επηρεάσει την μάζα που απορροφάται από την σταγόνα εάν ο όγκος του υπερκείμενου χώρου είναι πολύ μικρότερος από αυτόν του υδατικού διαλύματος ($V_h \ll V_s$). Για αυτόν τον λόγο, τα όρια ανίχνευσης κατά την μικροεκχύλιση του υπερκείμενου χώρου με διαλύτη αναμένονται να είναι παρόμοια με αυτά της άμεσης μικροεκχύλισης διαλύτη για αυτές τις συνθήκες.

Η ποσότητα του αναλύτη που υπάρχει στην ισορροπία στον υπερκείμενο χώρο πάνω από τα υδατικά δείγματα περιγράφεται από την ακόλουθη εξίσωση:

$$n = \frac{K_{hs} V_h C_o V_s}{K_{hs} V_h + V_s} \quad (4)$$

Από τις εξισώσεις (1) και (4) μπορούμε να συγκρίνουμε την ευαισθησία της άμεσης ανάλυσης του υπερκείμενου χώρου και της μικροεκχύλισης του υπερκείμενου χώρου με διαλύτη. Όσο ο όγκος του δείγματος V_s είναι πολύ μεγαλύτερος από τα γινόμενα $K_{hs} V_h$ και $K_{odw} V_d$ η ευαισθησία της μικροεκχύλισης του υπερκείμενου χώρου (HSM) θα είναι μεγαλύτερη από την ευαισθησία της άμεσης ανάλυσης του υπερκείμενου χώρου κατά έναν παράγοντα $\left(\frac{K_{odw} V_d}{K_{hs} V_h} \right)$.

Υπάρχουν αρκετοί παράγοντες που επηρεάζουν την ποσότητα του αναλύτη που εκχυλίζεται και κατά συνέπεια την ευαισθησία της τεχνικής μικροεκχύλισης του υπερκείμενου χώρου (HSM). Μερικοί από αυτούς είναι ο όγκος της σταγόνας (V_d), τα χαρακτηριστικά του διαλύτη και του αναλύτη (K_{odw} και K_{hs}) ο όγκος του δείγματος και του υπερκείμενου χώρου και η θερμοκρασία απορρόφησης. Όπως φαίνεται στην εξίσωση (1), η ποσότητα του αναλύτη που εκχυλίζεται από τη μικροσταγόνα, συνδέεται με τον όγκο της σταγόνας και η ευαισθησία αυξάνεται με την αύξηση του όγκου της σταγόνας. Επειδή το χημικό περιβάλλον, ο υπερκείμενος χώρος και η σταγόνα του διαλύτη ανταγωνίζονται για τους αναλύτες, είναι σημαντική η επιλογή του

αποτελεσματικότερου διαλύτη για την διεξαγωγή του πειράματος. Για παράδειγμα, οι μη πολικές ενώσεις εκχυλίζονται από μη πολικούς διαλύτες και αντίστροφα, σύμφωνα με την αρχή *‘τα όμοια διαλύουν όμοια’*.

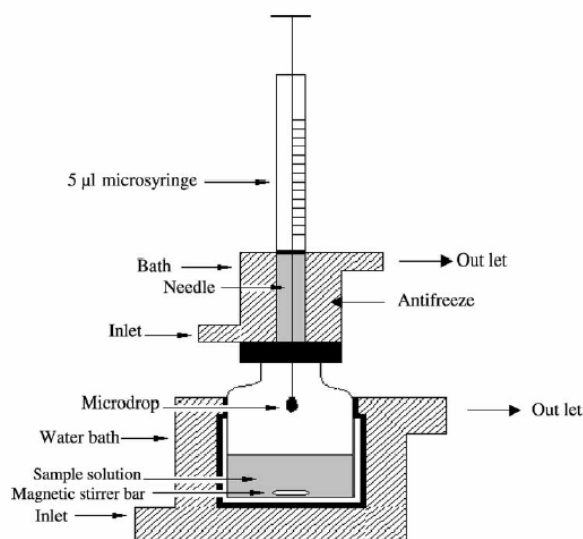
Για τους αναλύτες με χαμηλά σημεία βρασμού, η άμεση ανάλυση του υπερκείμενου χώρου μπορεί να έχει ευαισθησία συγκρίσιμη με αυτή στην μικροεκχύλιση του υπερκείμενου χώρου με διαλύτη. Ωστόσο, όσο η πτητικότητα του αναλύτη ελαττώνεται, η μικροεκχύλιση του υπερκείμενου χώρου (HSM) τείνει να έχει μεγαλύτερη ευαισθησία. Για παράδειγμα, θεωρούμε ότι έχουμε 20 ml υδατικού διαλύματος βενζολίου (σημείο βρασμού 80.1°C) με αρχική συγκέντρωση 100 µg/l, σε ισορροπία στους 25 °C με 20 ml υπερκείμενου χώρου. Χρησιμοποιώντας την τιμή $K_{hs} = 0.224$, υπολογίζουμε από την εξίσωση (4) ότι η ποσότητα του βενζολίου στον υπερκείμενο χώρο είναι 366 ng. Θεωρώντας ότι μια ρεαλιστική τιμή όγκου έκχυσης για το όργανο GC είναι 1 ml από τον υπερκείμενο χώρο, υπολογίζεται ότι η ποσότητα βενζολίου που εκχύθηκε ήταν 18.3 ng. Εάν εφαρμόσουμε μικροεκχύλιση υπερκείμενου χώρου με διαλύτη για το ίδιο σύστημα, μπορούμε να υπολογίσουμε από την εξίσωση (1), χρησιμοποιώντας την τιμή $K_{ow} = 135$, ότι απαιτείται μια μικροσταγόνα 2-µl για την εκχύλιση παραπλήσιας ποσότητας του αναλύτη (22 ng). Παρόμοιοι υπολογισμοί που πραγματοποιήθηκαν για το ο-ξυλόλιο (σημείο βρασμού 144°C) απέδειξαν ότι η συγκέντρωση του αναλύτη στην ισορροπία στον υπερκείμενο χώρο είναι 15.7 ng/ml, όμως μια σταγόνα 1-µl 1-οκτανόλης στην ισορροπία περιέχει 105.4 ng από το ο-ξυλόλιο.

3.3 Οργανολογία – Πειραματική Διάταξη

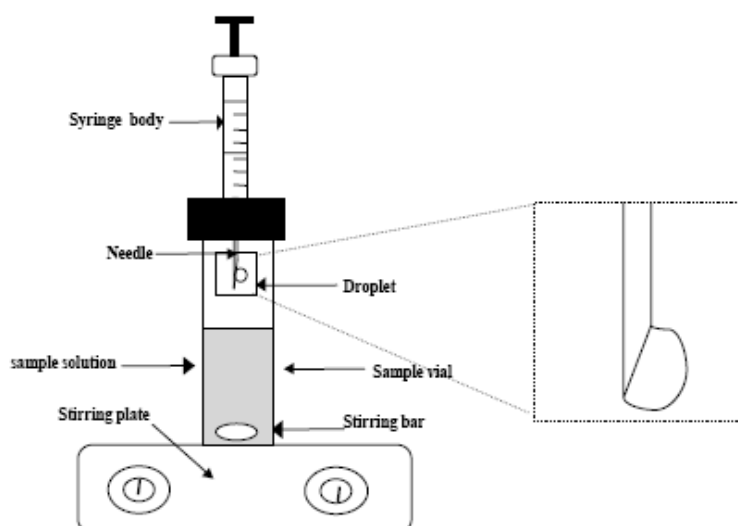
Η μικροεκχύλιση του υπερκείμενου χώρου με διαλύτη (HSM) είναι μια τεχνική προετοιμασίας δείγματος, κατά την οποία μια μικροσταγόνα από έναν οργανικό διαλύτη με υψηλό σημείο βρασμού εξωθείται από την άκρη μιας χρωματογραφικής βελόνας και αιωρείται πάνω από το υπό εξέταση δείγμα (εικόνα 3.1, 3.2). Οι πτητικές ενώσεις εκχυλίζονται και συμπυκνώνονται στην σταγόνα. Στη συνέχεια, η μικροσταγόνα εισέρχεται μέσα στην σύριγγα και από εκεί στο όργανο αέριας χρωματογραφίας για περαιτέρω ανάλυση. Οι τυπικοί όγκοι της μικροσταγόνας ποικίλλουν από 0.5 έως 2.0 µl. Η μικροεκχύλιση του υπερκείμενου χώρου με διαλύτη (HSM) είναι μια μέθοδος που πραγματοποιεί

την εκχύλιση, την συμπύκνωση και την εισαγωγή του δείγματος σε ένα μόνο βήμα [27].

Αρχικά η μέθοδος προορίζονταν για τη χρήση οργανικών διαλυτών, παρόλα αυτά παρατηρήθηκε ότι υπάρχει προοπτική χρήσης της τεχνικής αυτής για την προσυγκέντρωση μικροποσοτήτων μετάλλων και οργανομετάλλων με τη χρήση υδατικής σταγόνας [30,31].



Εικόνα 3.1 Σχηματική παράσταση της συσκευής για την μικροεκχύλιση του υπερκείμενου χώρου με διαλύτη (HSME), με σκοπό την ανίχνευση μερικών αρωματικών υδρογονανθράκων [28].



Εικόνα 3.2 Διάταξη του συστήματος για την μικροεκχύλιση του υπερκείμενου χώρου με διαλύτη (SDME), για την ανίχνευση οργανοκασιτερικών ενώσεων [34].

3.4 Παράμετροι βελτιστοποίησης της μεθόδου

Η μελέτη εφαρμογής της τεχνικής στην ανάλυση πτητικών οργανικών ενώσεων περιλαμβάνει και την επίδραση διαφόρων μεταβλητών στην ευαισθησία της μεθόδου, όπως για παράδειγμα η επιλογή του διαλύτη, ο ρυθμός ανάδευσης, ο έλεγχος ιοντικής ισχύος και ο χρόνος εκχύλισης [27].

- *Επιλογή διαλύτη*

Η επιλογή του κατάλληλου διαλύτη είναι πολύ σημαντική για την διαδικασία της μικροεκχύλισης του υπερκείμενου χώρου με μονή σταγόνα (HSME). Ο διαλύτης εκχύλισης πρέπει να πληρεί τέσσερις προϋποθέσεις [28, 32, 34]:

- ✓ να έχει μικρή πτητικότητα (άρα χαμηλή τάση ατμών και υψηλό σημείο βρασμού [34]), έτσι ώστε να είναι σταθερός, δηλαδή να μην εξατμίζεται κατά την περίοδο εκχύλισης,
- ✓ να είναι αποτελεσματικός στην εκχύλιση των αναλυτών
- ✓ να διαχωρίζεται από τις κορυφές των αναλυτών στα χρωματογραφήματα και
- ✓ να είναι μη αναμείξιμος (αδιάλυτος) με το νερό, αλλά οι αναλύτες να είναι διαλυτοί σε αυτόν [34].

Στην μικροεκχύλιση του υπερκείμενου χώρου με διαλύτη, ισχύει ότι οποιοσδήποτε διαλύτης και αν χρησιμοποιηθεί θα εκλουθεί μετά τους αναλύτες. Το γεγονός αυτό αποτελεί μια συνέπεια της χρησιμοποίησης διαλύτη με υψηλό σημείο βρασμού και επομένως χαμηλή τάση ατμών, με σκοπό την ελαχιστοποίηση της εξάτμισης της σταγόνας κατά τη διάρκεια της εκχύλισης [27].

Με σκοπό την επιλογή του κατάλληλου διαλύτη για την εκχύλιση των πολυκυκλικών αρωματικών ενώσεων, εξετάστηκε η αποτελεσματικότητα των παρακάτω διαλυτών: βενζόλιο, n-πεντάνιο, n-εξάνιο, n-επτάνιο, n-οκτάνιο, τολουόλιο, 1-προπανόλη, 1-βουτανόλη, 1-οκτανόλη, βενζυλική αλκοόλη, μεθυλο κυκλοεξάνιο και δωδεκάνιο. Ανάμεσα στους διαφορετικούς διαλύτες η 1-βουτανόλη ήταν πιο αποτελεσματική στην εκχύλιση των αναλυτών και εοίσης η κορυφή της ξεχώριζε εύκολα από τις κορυφές των αναλυτών του

δείγματος. Για τους παραπάνω λόγους χρησιμοποιήθηκε ως διαλύτης για τα επόμενα πειράματα η 1-βουτανόλη [28].

Για τον προσδιορισμό τριαλομεθανίων εξετάστηκαν τρεις διαλύτες με διαφορετική πολικότητα: η 1-οκτανόλη, τα ξυλόλια και η αιθυλενο γλυκόλη. Από τα πειράματα βρέθηκε ότι η 1-οκτανόλη παρουσίασε αποτελεσματικότερη εκχυλιστική ικανότητα. Επίσης, η 1-οκτανόλη έχει χαμηλότερη τάση ατμών, γεγονός που ελαχιστοποιεί την εξάτμιση της μικροσταγόνας κατά τη διάρκεια της εκχύλισης [32].

Χρησιμοποιήθηκαν τρεις διαλύτες για τον έλεγχο της εκχυλιστικής τους ικανότητας κατά τον προσδιορισμό των οργανοκασσιτερικών ενώσεων: το τολουόλιο, το δεκάνιο και το ενδεκάνιο. Παρατηρήθηκε γρήγορη εξάτμιση του τολουολίου όταν αυτό εκτέθηκε στον αέρα για 4 λεπτά, ενώ οι άλλοι δύο διαλύτες παρουσίασαν χαμηλότερους ρυθμούς εξάτμισης. Η σύγκριση των δύο διαλυτών έδειξε ότι το δεκάνιο παρουσίασε καλύτερη ικανότητα εκχύλισης από ότι το ενδεκάνιο και για αυτόν τον λόγο χρησιμοποιήθηκε για την ανάλυση των οργανοκασσιτερικών ενώσεων [34].

Για τον προσδιορισμό του MBTE εξετάστηκαν πέντε διαφορετικοί διαλύτες οι οποίοι διαφέρουν στην πολικότητα και την πτητικότητα τους: 1-προπανόλη, 1-βουτανόλη, τολουόλιο, p-ξυλόλιο και βενζυλική αλκοόλη. Από τους παραπάνω διαλύτες που εξετάστηκαν βρέθηκε ότι η βενζυλική αλκοόλη έχει την αποτελεσματικότερη εκχυλιστική ικανότητα και επίσης η κορυφή της στο αέριο χρωματογράφημα ξεχώριζε εύκολα σε σχέση με τις υπόλοιπες κορυφές των αναλυτών [35].

Αρκετοί διαλύτες (βενζυλική αλκοόλη, τετραχλωρο αιθυλένιο, οκτάνιο) με διαφορετική πολικότητα, σημείο βρασμού και διαλυτότητα στο νερό εξετάστηκαν κατά την ανάλυση αλειφατικών αμινών σε δείγματα νερού. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα ο ημιπολικός διαλύτης τετραχλωρο αιθυλένιο εκχύλισε ικανοποιητικά τους υπό εξέταση αναλύτες. Ωστόσο λόγω της υψηλής τάσης ατμών του και λόγω της καλύτερης εκχυλιστικής συμπεριφοράς της βενζυλικής αλκοόλης, η τελευταία χρησιμοποιήθηκε ως ο βέλτιστος διαλύτης [36].

- *Ρυθμός ανάδευσης*

Τα αποτελέσματα των πειραμάτων για την εκχύλιση των συστατικών BTEX, για διαφορετικούς χρόνους και ρυθμούς ανάδευσης φαίνονται στον πίνακα 3.1 [27]. Σύμφωνα με αυτά, για τα συστατικά με χαμηλά σημεία βρασμού, όπως για παράδειγμα το βενζόλιο, τα οποία έχουν μεγάλους συντελεστές διάχυσης, η ισορροπία ανάμεσα στην μικροσταγόνα και το διάλυμα του δείγματος αποκαθίσταται όταν το διάλυμα εκχυλίζεται για μια ώρα, σε αναδευόμενο ή όχι διάλυμα. Για συστατικά με μεγαλύτερα σημεία βρασμού, η αποτελεσματικότητα εκχύλισης είναι μεγαλύτερη για διαλύματα τα οποία εκχυλίστηκαν για μία ώρα με ανάδευση. Επίσης, βρέθηκε ότι η αποτελεσματικότητα εκχύλισης είναι ίδια για τα διαλύματα που εκχυλίστηκαν για μια ώρα χωρίς ανάδευση και για τα διαλύματα στα οποία αποκαταστάθηκε η ισορροπία για μια ώρα με ανάδευση και στα οποία ακολούθησε περαιτέρω εκχύλιση για 4 λεπτά [27].

Target compound	Relative response			
	No stirring ^a	No stirring ^b	Stirred at 1200 rpm ^a	Stirred at 1200 rpm ^b
Benzene	100	140	122	120
Toluene	100	172	162	201
Ethylbenzene	100	196	192	324
<i>m,p</i> -Xylene	100	198	193	351
<i>o</i> -Xylene	100	227	217	395

^a ισορροπία για μια ώρα, ακολουθεί εκχύλιση για 4 λεπτά

^b άμεση εκχύλιση για μια ώρα

Πίνακας 3.1 Επίδραση της ανάδευσης και του χρόνου εκχύλισης στην αποτελεσματικότητα της εκχύλισης των BTEX (87 ppb) από υδατικά διαλύματα [27].

Τα παραπάνω αποτελέσματα, υποστηρίζουν το γεγονός ότι υπάρχουν δύο καθοριστικά στάδια [27,29,35] στην διαδικασία της εκχύλισης: η μεταφορά μάζας από την υδατική φάση και η διάχυση των ουσιών στον διαλύτη που χρησιμοποιείται στην εκχύλιση. Παρόλο που η διάχυση του αναλύτη στον διαλύτη εκχύλισης δεν μπορεί να βελτιωθεί εύκολα στην πράξη, η μεταφορά

μάζας από την υδατική φάση μπορεί εύκολα να αυξηθεί με την ανάδευση του διαλύματος του δείγματος [35].

Στην πραγματικότητα, η ανάδευση του διαλύματος του δείγματος αυξάνει τη μεταφορά μάζας από την υδατική φάση και επάγει την μεταφορά της στον υπερκείμενο χώρο, μειώνοντας συνεπώς τον χρόνο αποκατάστασης της θερμοδυναμικής ισορροπίας [35]. Έτσι, η ανάδευση του δείγματος ελαττώνει τον χρόνο που απαιτείται για την αποκατάσταση ισορροπίας και τον χρόνο εκχύλισης, βελτιώνοντας την διάχυση των αναλυτών προς την μικροσταγόνα, ιδιαίτερα για τους αναλύτες με μεγάλες σχετικές μοριακές μάζες [28].

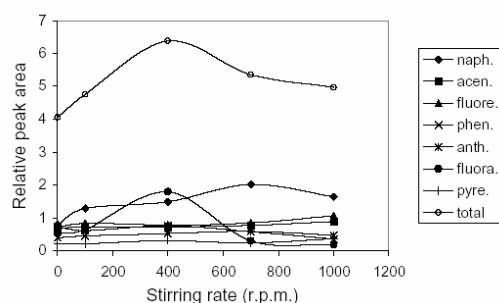
Όσον αφορά στα συστατικά BTEX, μετά από 6 λεπτά ο ρυθμός εκχύλισης γίνεται πιο αργός, λόγω της αργής μεταφοράς μάζας στο n-εξάνιο. Έτσι αν το διάλυμα του δείγματος αναδεύεται στα 1200 rpm, είναι δυνατή η ανάλυση των συστατικών BTEX με ακρίβεια, καθώς αρκετές ενώσεις θα έχουν συγκεντρωθεί στην μικροσταγόνα [27].

Η μικροεκχύλιση του υπερκείμενου χώρου με μονή σταγόνα (HSME) βασίζεται στην ισορροπία μεταξύ τριών φάσεων: τη φάση συμπίκνωσης, τον υπερκείμενο χώρο και τη φάση εκχύλισης. Υπάρχουν δυο διεπιφάνειες, η διεπιφάνεια συμπυκνωμένης φάσης-υπερκείμενου χώρου και η διεπιφάνεια υπερκείμενου χώρου-διαλύτη εκχύλισης. Έχει αποδειχθεί ότι τόσο η αργή μεταφορά μάζας από την υδατική φάση στον υπερκείμενο χώρο όσο και η διάχυση των αναλυτών στην μικροσταγόνα είναι περιοριστικά βήματα στην ολική διαδικασία εκχύλισης [28].

Η μεταφορά μάζας στον υπερκείμενο χώρο θεωρείται μια γρήγορη διαδικασία, γιατί οι συντελεστές διάχυσης των αναλυτών στην αέρια φάση είναι συνήθως 10^4 - 10^5 φορές μεγαλύτεροι από τους συντελεστές διάχυσης στην υγρή φάση [28,36]. Κατά τη διάρκεια μιας διαδικασίας μικροεκχύλισης του υπερκείμενου χώρου με μονή σταγόνα (HSME), οι χημικές ενώσεις που υπάρχουν στον υπερκείμενο χώρο πάνω από μια συμπυκνωμένη φάση εκχυλίζονται αμέσως και συμπυκνώνονται στον διαλύτη εκχύλισης, γεγονός που αποδεικνύει ότι η τεχνική αυτή πλεονεκτεί έναντι των τυπικών μεθόδων ανάλυσης του υπερκείμενου χώρου. Σε αυτή τη μέθοδο, στην διεπιφάνεια συμπυκνωμένης φάσης-υπερκείμενου χώρου το έναυσμα για την εξάτμιση του αναλύτη είναι η απόκλιση της συγκέντρωσης του στον υπερκείμενο χώρο από την τιμή στην ισορροπία και στην διεπιφάνεια υπερκείμενου χώρου-

διαλύτη εκχύλισης, η μεταφορά μάζας βασίζεται στην διάχυση διαλύτη από την αέρια φάση στον διαλύτη εκχύλισης [28].

Όπως φαίνεται στην εικόνα 3.3 [28], γενικά μέχρι τα 400 rpm το σήμα για τους αναλύτες αυξάνει. Σε υψηλότερους ρυθμούς ανάδευσης, εξαιτίας του τύπου του φιαλιδίου και του όγκου του διαλύματος, παρατηρείται διασκορπισμός του διαλύματος με αποτέλεσμα τη διάλυση της σταγόνας και την μείωση του σήματος. Ως αποτέλεσμα των παραπάνω, ο βέλτιστος ρυθμός ανάδευσης που χρησιμοποιήθηκε για εκχύλιση μερικών πολυκυκλικών αρωματικών υδρογονανθράκων (PAHs) είναι 400 rpm.



Εικόνα 3.3 Επίδραση του ρυθμού ανάδευσης στην αποτελεσματικότητα της εκχύλισης μερικών πολυκυκλικών αρωματικών υδρογονανθράκων (PAHs) [28].

Με βάση τη θεωρία της διείσδυσης για την μεταφορά μάζας της διαλυμένης ουσίας, ο συντελεστής μεταφοράς μάζας της υδατικής φάσης β_{aq} δίνεται από τη σχέση [15]:

$$\beta_{aq} = 2 \left(\frac{D_{aq}}{\pi t_e} \right)^{1/2} \quad (5)$$

Όπου:

D_{aq} είναι ο συντελεστής διάχυσης στην υδατική φάση,

t_e ο χρόνος έκθεσης ενός μικρού όγκου στοιχείου της μιας φάσης που στιγμιαία έρχεται σε επαφή με την άλλη φάση.

Σύμφωνα με την παραπάνω θεωρία, ο συντελεστής β_{aq} αυξάνεται με την αύξηση του ρυθμού ανάδευσης, γιατί σε υψηλότερους ρυθμούς ανάδευσης η τιμή του t_e είναι μικρότερη. Ως αποτέλεσμα, η ανάδευση αυξάνει την ικανότητα εκχύλισης. Παρόλα αυτά, για την ανάλυση των τριαλομεθανίων, σε υψηλούς ρυθμούς ανάδευσης (>800 rpm) όπου η εκχυλιστική ικανότητα ήταν

μεγαλύτερη, η αστάθεια της οργανικής σταγόνας αυξανόταν επίσης, ενώ σε χαμηλότερους ρυθμούς δεν παρατηρήθηκε ικανοποιητική εκχύλιση. Έτσι, για την διεξαγωγή των πειραμάτων χρησιμοποιήθηκε ρυθμός ανάδευσης του διαλύματος ίσος με 800 rpm [15].

Κατά τον προσδιορισμό οργανοκασσιτερικών ενώσεων δεν χρησιμοποιήθηκε ταυτόχρονη ανάδευση και εκχύλιση του δείγματος, γιατί η μικροσταγόνα του διαλύτη καταστρέφονταν. Έτσι, πραγματοποιήθηκε ανάδευση για 10 λεπτά και στη συνέχεια εκχύλιση για 1 λεπτό [34].

Για τον προσδιορισμό του MBTE, παρατηρήθηκε ότι το εμβαδό της κορυφής των αναλυτών αυξάνει με την αύξηση του ρυθμού ανάδευσης μέχρι τα 1000 rpm και για αυτό χρησιμοποιήθηκε ρυθμός ανάδευσης του διαλύματος του δείγματος ίσος με 1000 rpm [35].

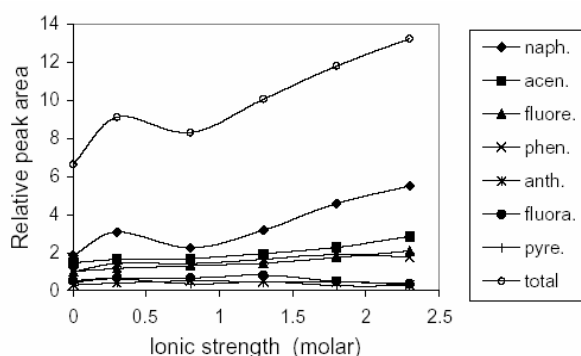
Κατά τον προσδιορισμό των αλειφατικών αμινών τα πειραματικά αποτελέσματα ήταν τα αναμενόμενα σύμφωνα με την θεωρία του φιλμ για την μεταγωγή-διάχυση μεταφοράς μάζας. Έτσι, το εμβαδό κορυφής όλων των αναλυτών αυξάνονταν με την αύξηση του ρυθμού ανάδευσης μέχρι τα 600 rpm. Μετά από αυτή την τιμή κάποιοι αναλύτες παρέμειναν στα ίδια επίπεδα, ενώ άλλοι αυξάνονταν και για αυτό τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν σε ρυθμό ανάδευσης 600 rpm [36].

- *Έλεγχος ιοντικής ισχύος*

Εάν η συγκέντρωση ενός υδατικού διαλύματος σε ανόργανα άλατα αυξηθεί πάρα πολύ, η διαλυτότητα ενός μη ηλεκτρολύτη *συνήθως* μειώνεται. Το φαινόμενο αυτό, γνωστό ως εξαλάτωση (salting out effect), που προκαλείται από τη μείωση της ενεργότητας του ύδατος, λόγω της εφυδατώσεως των ιόντων του ηλεκτρολύτη, χρησιμοποιείται στην υγρό-υγρό εκχύλιση, όπου με την προσθήκη μεγάλης ποσότητας άλατος (NaCl) στην υδατική φάση η διαλυμένη ουσία εξαλατώνεται στην οργανική φάση [2].

Έτσι, για τον έλεγχο της επίδρασης της προσθήκης άλατος στην αποτελεσματικότητα της μικροεκχύλισης του υπερκείμενου χώρου με μονή σταγόνα (HSME) μερικών πολυκυκλικών αρωματικών υδρογονανθράκων (PAHs), μεταβλήθηκε η ιοντική ισχύς των διαλυμάτων με την προσθήκη ποσοτήτων χλωριούχου νατρίου. Όπως φαίνεται από τις καμπύλες του

διαγράμματος στην εικόνα 3.4 [28], η αύξηση της ιοντικής ισχύος ευνοεί τη μεταφορά των αναλυτών στον υπερκείμενο χώρο και στη συνέχεια στην σταγόνα εκχύλισης. Το γεγονός αυτό εξηγείται με την δέσμευση περισσότερων μορίων νερού στις εφυδατωμένες σφαίρες γύρω από το ιοντικό αλάτι. Αυτές οι εφυδατωμένες σφαίρες ελαττώνουν τη συγκέντρωση του νερού που είναι διαθέσιμο για να διαλύει τα μόρια των αναλυτών. Συνεπώς, αναμένεται ότι με αυτόν τον τρόπο θα οδηγούνται επιπλέον αναλύτες στον υπερκείμενο χώρο και στο εκχυλιστικό αντιδραστήριο [28].



Εικόνα 3.4 Επίδραση της ιοντικής ισχύος στην αποτελεσματικότητα της εκχύλισης μερικών πολυκυκλικών αρωματικών υδρογονανθράκων (PAHs) [28].

Έτσι, όλες οι μετρήσεις εκχύλισης μερικών πολυκυκλικών αρωματικών υδρογονανθράκων (PAHs) πραγματοποιήθηκαν με συγκέντρωση NaCl 2.3 mol/l [28].

Για τον προσδιορισμό των THMs χρησιμοποιήθηκε 0.3 g ml⁻¹ συγκέντρωση NaCl, καθώς συγκεντρώσεις από 0 έως 0.2 g ml⁻¹ δεν είχαν αποτέλεσμα στην εκχυλιστική ικανότητα της μεθόδου [32].

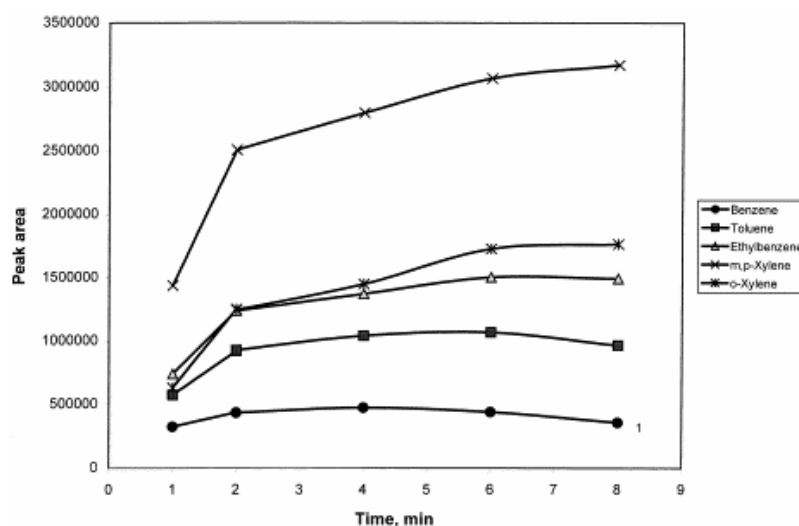
Για την επίδραση της ιοντικής ισχύος στην απομόνωση του MBTE, αναλύθηκαν υδατικά διαλύματα που περιείχαν διαφορετικές ποσότητες χλωριούχου νατρίου και νιτρικού καλίου και βρέθηκε ότι η εκχυλιστική ικανότητα του υπερκείμενου χώρου αυξάνονταν με την αύξηση της συγκέντρωσης και των δύο αλάτων κατά σειρά NaCl > KNO₃. Για τα επόμενα πειράματα χρησιμοποιήθηκε συγκέντρωση 4M NaCl [35].

Χρησιμοποιήθηκε συγκέντρωση άλατος 0.3 g ml⁻¹ NaCl για την ανάλυση των αλειφατικών αμινών, καθώς τα πειραματικά αποτελέσματα έδειξαν ότι

μεγαλύτερη συγκέντρωση άλατος δεν αυξάνει παραπάνω την απόδοση εκχύλισης των αναλυτών [36].

- **Διάρκεια εκχύλισης**

Όπως βρέθηκε από τα πειράματα των Przyjazny και Kokosa [27], σε γενικές γραμμές, η ποσότητα των BTEX συστατικών που εκχυλίστηκαν με η-εξάνιο αυξήθηκε με τον χρόνο εκχύλισης. Στην εικόνα 3.5 φαίνονται τα αναλυτικά σήματα που αυξάνουν για το χρονικό διάστημα 1-8 λεπτά για τις ενώσεις με υψηλά σημεία βρασμού (ξυλόλια, αιθυλο βενζόλιο), ενώ παραμένουν πρακτικά σταθερά για το βενζόλιο και το τολουόλιο. Για το συγκεκριμένο πείραμα επιλέχθηκε χρόνος 6 λεπτών για την εκχύλιση.



Εικόνα 3.5 Διάγραμμα των τιμών των συστατικών BTEX προς τον αντίστοιχο χρόνο εκχύλισης [27].

Η απότομη αρχική αύξηση της ποσότητας του εκχυλιζόμενου αναλύτη, η οποία ακολουθείται από μια πολύ μικρότερη αύξηση μεγάλης διάρκειας απεικονίζουν τις διαδικασίες που λαμβάνουν μέρος στο σύστημα. Το πρώτο στάδιο αντιστοιχεί στην εκχύλιση του αναλύτη μόνο από τον υπερκείμενο χώρο. Όταν η συγκέντρωση του αναλύτη στον υπερκείμενο χώρο γίνει μικρότερη από αυτή στην ισορροπία σχετικά προς την υδατική φάση, τα μόρια του αναλύτη αρχίζουν να διαχέονται από την υδατική φάση στην αέρια φάση, το οποίο είναι το καθοριστικό στάδιο της ταχύτητας της διαδικασίας (rate

determining step). Επειδή δεν είναι πρακτικό να περιμένουμε για την αποκατάσταση της ισορροπίας, η διάρκεια της εκχύλισης θα πρέπει να είναι τόση ώστε ο ρυθμός εκχύλισης να μειωθεί για καλύτερη ακρίβεια [27,35].

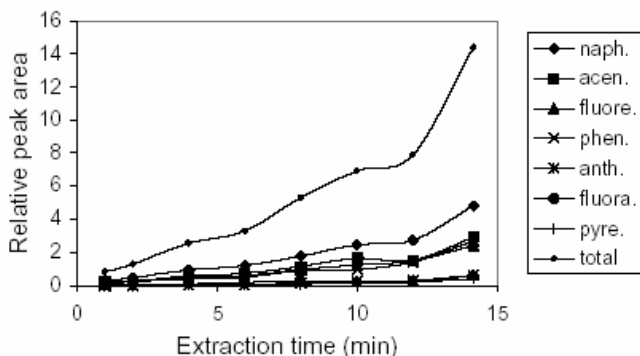
Όπως αποδείχθηκε από τους Theis et al., κατά τη διάρκεια της εκχύλισης υπάρχουν δύο καθοριστικά στάδια της ταχύτητας της διαδικασίας: η μεταφορά μάζας από την υδατική φάση στον υπερκείμενο χώρο και η διάχυση των ουσιών στον διαλύτη που χρησιμοποιείται στην εκχύλιση (στη μικροσταγόνα) [29].

Για την ανάλυση των συστατικών BTEX, παρόλο που η διάχυση αυτών στον διαλύτη δεν είναι εύκολο να βελτιωθεί στην πράξη, η μεταφορά μάζας από την υδατική φάση αυξάνεται με την ανάδευση του διαλύματος [27].

Στην μέθοδο μικροεκχύλισης του υπερκείμενου χώρου με μονή σταγόνα (HSME), η ποσότητα του εκχυλιζόμενου αναλύτη αναμένεται να αυξάνεται αυξάνοντας τον χρόνο έκθεσης της μικροσταγόνας στον υπερκείμενο χώρο πάνω από το αναδευόμενο διάλυμα. Παρόλα αυτά, η μέθοδος μικροεκχύλισης του υπερκείμενου χώρου με μονή σταγόνα (HSME) δεν είναι μια λεπτομερής μέθοδος εκχύλισης και για την βέλτιστη επαναληψιμότητα της εκχύλισης, δεν είναι απαραίτητη η επιλογή του χρόνου στον οποίο θα έχει επιτευχθεί η ισορροπία μεταξύ της μικροσταγόνας, του υπερκείμενου χώρου και του διαλύματος του δείγματος. Ωστόσο, η ποσότητα του αναλύτη που μεταφέρεται στην μικροσταγόνα λαμβάνει τη μέγιστη τιμή της όταν έχει αποκατασταθεί η ισορροπία. Για τους αναλύτες με χαμηλή πτητικότητα, αναμένεται και χαμηλή συγκέντρωση στον υπερκείμενο χώρο και άρα και μεγαλύτερη χρονική περίοδο για την αποκατάσταση της ισορροπίας. Επίσης, αναλύτες με μεγάλες σχετικές μοριακές μάζες αναμένονται να απαιτούν μεγαλύτερους χρόνους αποκατάστασης της ισορροπίας [28].

Στην εικόνα 3.6 [28] φαίνεται ότι η αποκατάσταση της ισορροπίας στη εκχύλιση των PAHs δεν πραγματοποιείται ακόμα και μετά από 14 λεπτά. Μεγαλύτεροι χρόνοι εκχύλισης δεν μελετήθηκαν διότι με αύξηση του χρόνου εκχύλισης αυξάνεται σημαντικά και ο όγκος της σταγόνας, λόγω της υδροφιλικότητας της 1-βουτανόλης. Ως αποτέλεσμα σε μεγαλύτερους χρόνους, η σταγόνα της 1-βουτανόλης διαλύεται λόγω βαρύτητας. Είναι αξιοσημείωτο ότι για την ποσοτική ανάλυση, δεν είναι απαραίτητο να

αποκατασταθεί η ισορροπία για τους αναλύτες. Για τη συγκεκριμένη μελέτη εκχύλισης των PAHs χρησιμοποιήθηκε χρόνος εκχύλισης 12 λεπτά.



Εικόνα 3.6 Επίδραση του χρόνου εκχύλισης στην αποτελεσματικότητα της εκχύλισης μερικών PAHs [28].

Καθώς δεν είναι απαραίτητο να επιτευχθεί η ισορροπία για να σταματήσει η εκχύλιση [27], θεωρήθηκε ότι ο χρόνος των 10 λεπτών ήταν αρκετός για την απομάκρυνση των τριαλομεθανίων από το διάλυμα [32].

Λαμβάνοντας υπόψη τα θεωρητικά δεδομένα, ο βέλτιστος χρόνος εκχύλισης που χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό του MBTE ήταν 7.5 λεπτά [35].

Για την ανάλυση των αλειφατικών αμινών χρησιμοποιήθηκαν 15 λεπτά χρόνου εκχύλισης, παρόλο που το σύστημα δεν είχε φτάσει σε ισορροπία, καθώς αυτό δεν είναι απαραίτητο για την ποιοτική ανάλυση του δείγματος. Παρατηρήθηκε ότι μετά από 45 λεπτά εκχύλισης το μέγεθος της σταγόνας ήταν αρκετά μεγάλο με αποτέλεσμα να αποκολλάται λόγω βαρύτητας από την σύριγγα. Αυτό το γεγονός οφείλεται στην υδροφιλικότητα της βενζυλικής αλκοόλης και η οποία απορροφά νερό μαζί με τους αναλύτες [36].

3.5 Εφαρμογές τεχνικής

✓ BTEX (βενζόλιο, τολουόλιο, αιθυλοβενζόλιο και ο-ξυλόλιο)

Η χρήση της τεχνικής αναφέρθηκε για πρώτη φορά το 2000 και στη συνέχεια οι Theis et al. [29] περιέγραψαν κάποιες βασικές πλευρές της τεχνικής, που περιλαμβάνουν λεπτομερή μελέτη της κινητικής ενός μοντέλου, στο οποίο η 1-οκτανόλη χρησιμοποιήθηκε ως διαλύτης και οι αναλύτες ήταν

το βενζόλιο, το τολουόλιο, το αιθυλοβενζόλιο και το ο-ξυλόλιο (BTEX). Τα χημικά BTEX θεωρούνται σημαντικοί περιβαλλοντικοί ρύποι, λόγω της ευρείας εμφάνισης διαρροών από υπόγειες δεξαμενές φύλαξης βενζίνης [27].

✓ **VOCs (πτητικές οργανικές ενώσεις)**

Το 2001 αναφέρθηκε η δυνατότητα χρησιμοποίησης μιας αιωρούμενης σταγόνας ενός μικρόλιτρου (headspace SDME) για να πραγματοποιήσει προσυγκέντρωση των πτητικών οργανικών ενώσεων (VOC) σε υδατικό περιβάλλον [26].

✓ **PAHs (πολυκυκλικοί αρωματικοί υδρογονάνθρακες)**

Η μικροεκχύλιση του υπερκείμενου χώρου με διαλύτη (HSME) αποδείχθηκε ότι είναι μια αποτελεσματική μέθοδος προσυγκέντρωσης για εκχύλιση μερικών πολυκυκλικών αρωματικών υδρογονανθράκων (PAHs) από υδατικά δείγματα νερού. Λόγω των επικίνδυνων χαρακτηριστικών αυτών των ενώσεων, η αναγνώριση και ο καθορισμός των PAHs αποτελεί ένα σημαντικό αναλυτικό πρόβλημα. Το βασικό πρόβλημα για τον έλεγχο των PAHs είναι η χαμηλή τους συγκέντρωση και η πολυπλοκότητα της περιβάλλουσας μήτρας [28].

Η τυπική μέθοδος ανάλυσης των PAHs είναι η εκχύλιση υγρού-υγρού (LLE) με διαφορετικούς οργανικούς διαλύτες και τελικό προσδιορισμό με υψηλής ανάλυσης αέρια ή υγρή χρωματογραφία. Παρόλα, αυτά η LLE είναι μια κουραστική και χρονοβόρα τεχνική η οποία απαιτεί μεγάλες ποσότητες οργανικών διαλυτών μεγάλης καθαρότητας, οι οποίοι είναι ακριβοί, τοξικοί και δημιουργούν και άλλα προβλήματα στο περιβάλλον [28].

✓ **Υδρίδιο του μεθυλουδραργύρου (MeHgH)**

Ο προσδιορισμός του μεθυλουδραργύρου είναι εξέχουσας σημασίας, λόγω των τοξικολογικών αποτελεσμάτων που σχετίζονται με αυτές τις ενώσεις του υδραργύρου. Τα παράγωγα του μεθυλουδραργύρου είναι πολύ πτητικά,

χαρακτηριστικό που ευνοεί την απομάκρυνσή τους από τη μήτρα, δηλαδή το χημικό περιβάλλον.

Πραγματοποιήθηκε αποτελεσματική απομόνωση του υδριδίου του μεθυλουδραργύρου σε μια υδατική σταγόνα που περιέχει Pd(II) ή Pt(IV). Η τεχνική αυτή συνδυάστηκε στη συνέχεια με τη φασματομετρία ηλεκτροθερμικής ατομικής απορρόφησης (ETAAS) για τον απλό, γρήγορο και φθινό προσδιορισμό του μεθυλουδραργύρου. Ο παραπάνω μηχανισμός απομόνωσης, αντίθετα με άλλες μεθόδους, όπως για παράδειγμα την μικροεκχύλιση μονής σταγόνας (SDME) κατά την οποία χρησιμοποιούνται τοξικοί διαλύτες, βασίζεται στην καταλυτική διάσπαση του υδριδίου του μεθυλουδραργύρου πάνω στην υδατική σταγόνα που περιέχει Pd ή Pt [30].

✓ **Προσδιορισμός αρσενικού As(III), σελούριου Se(IV) και αντιμόνιου Sb(III)**

Αρχικά χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος για την προσυγκέντρωση της αρσίνης (AsH_3) σε μια μονή σταγόνα που περιείχε διάλυμα Pd(II) και στη συνέχεια χρησιμοποιήθηκε η φασματομετρία ηλεκτροθερμικής ατομικής απορρόφησης (ETAAS). Βρέθηκε ότι κάτω από τις ίδιες συνθήκες πραγματοποιήθηκε επιτυχώς η προσυγκέντρωση των υδριδίων του σελούριου και του αντιμόνιου και συνεπώς ο ακριβής προσδιορισμός τους.

Κατά την παραπάνω πειραματική διαδικασία χρησιμοποιήθηκε διάλυμα νιτρικού παλλαδίου ως προσροφητικό μέσο με αποτέλεσμα την αποφυγή χρήσης τοξικών διαλυτών. Το παλλάδιο σε αυτή την περίπτωση συμπεριφέρεται τόσο ως αποτελεσματικό προσροφητικό μέσο, αλλά και ως τροποποιητής της μήτρας, δηλαδή του χημικού περιβάλλοντος του δείγματος, στον κλίβανο. Ο μηχανισμός απομάκρυνσης που προτείνεται με αυτή τη μέθοδο, βασίζεται στην καταλυτική διάσπαση των υδριδίων στο Pd(0) που σχηματίζεται στην επιφάνεια της σταγόνας. Το Pd(0) προκύπτει ως αποτέλεσμα της αναγωγής που προκαλείται από το αέριο υδρογόνο που παράγεται στον υπερκείμενο χώρο μετά την αποσύνθεση του NaBH_4 (sodium tetrahydroborate (III)) [31].

✓ **Τριαλομεθάνια (Trihalomethanes, THMs)**

Είναι ενώσεις τις μορφής CHX_3 και συγκεκριμένα πραγματοποιήθηκε προσδιορισμός των παρακάτω ενώσεων: χλωροφόρμιο (CHCl_3), διχλωροβρωμο μεθάνιο (CHCl_2Br), χλωροδιβρωμομεθάνιο (CHClBr_2) βρωμοφόρμιο (CHBr_3) με την τεχνική μικροεκχύλισης του υπερκείμενου χώρου με μονή σταγόνα, η οποία συνδυάστηκε στη συνέχεια με την τεχνική της αέριας χρωματογραφίας. Οι ενώσεις αυτές παράγονται σε ιχνοποσότητες από τα φυσικά οργανικά συστατικά (χουμικές ενώσεις) των φυσικών υδάτων κατά τη διαδικασία χλωρίωσής τους. Είναι ιδιαίτερου περιβαλλοντικού ενδιαφέροντος λόγω της ισχυρής μεταλλαξιογόνου δράσης τους. Όλες οι παραπάνω ενώσεις θεωρούνται πιθανές καρκινογενετικές ενώσεις και για αυτόν τον λόγο θα πρέπει να ελαχιστοποιηθεί η ανθρώπινη έκθεση σε αυτά. Με βάση την επικινδυνότητα των παραπάνω ουσιών στην υγεία του ανθρώπου, έχουν οριστεί από τις χώρες όρια συγκέντρωσης των ουσιών αυτών στο πόσιμο νερό [32].

✓ **Οργανοκασσιτερικές ενώσεις**

Είναι ενώσεις οι οποίες χαρακτηρίζονται από περιορισμένη τοξικότητα προς τα θηλαστικά και χρησιμοποιούνται ως βιοκτόνα μικροοργανισμών, ως συντηρητικά ξύλου και ως σταθεροποιητές πλαστικών υλικών. Η μικροεκχύλιση του υπερκείμενου χώρου με μονή σταγόνα, σε συνδυασμό με την αέρια χρωματογραφία, χρησιμοποιήθηκε με επιτυχία για τον προσδιορισμό και την ποσοτικοποίηση μερικών οργανοκασσιτερικών ενώσεων (TBT) [34].

✓ **Μέθυλο-t-βούτυλο αιθέρας (methyl t-butylether, MTBE)**

Είναι πρόσθετο βενζίνης με αντικροτικές ιδιότητες ανάλογες του τοξικού τετρααιθυλομολύβδου. Σήμερα χρησιμοποιείται σε ακόμα μεγαλύτερες συγκεντρώσεις με σκοπό την οξυγόνωση των καυσίμων και συνεπώς τη μείωση των ατμοσφαιρικών εκπομπών του μονοξειδίου του άνθρακα και των υδρογονανθράκων. Το MTBE είναι διαλυτό στο νερό, ακόμα πιο γρήγορα διαμέσου του χρώματος και υδροφόρων περιοχών, είναι ανθεκτικό στην

μικροβιακή αποσύνθεση και απομακρύνεται δύσκολα με την επεξεργασία του νερού. Η παρουσία του στο περιβάλλον έχει μεγάλη σημασία λόγω της τοξικότητάς του MBTE και των προϊόντων σταδιακής αποσύνθεσής του [35].

Η μεγάλη πτητικότητα και η χαμηλή πολικότητα του MBTE οδήγησαν στην γρήγορη διάχυση της ένωσης στον υπερκείμενο χώρο και στην βελτιωμένη κατανομή του στην μικροσταγόνα αντίστοιχα. Αποτέλεσμα αυτών είναι η αποτελεσματική ανάλυση του MBTE με την μικροεκχύλιση του υπερκείμενου χώρου με μονή σταγόνα και η υιοθέτηση αυτής σε σύγκριση με άλλες μεθόδους, όπως η εκχύλιση στερεής φάσης και η μέθοδος του purge and trap [35].

✓ **Αλειφατικές αμίνες**

Οι αλειφατικές αμίνες είναι ενώσεις οι οποίες υπάρχουν σε μεγάλο ποσοστό στο υδατικό περιβάλλον λόγω της ευρείας χρήσης τους σε αρκετές βιομηχανικές, χημικές και κατασκευαστικές εφαρμογές. Προκύπτουν από την διαδικασία παραγωγής πλαστικών, χρωμάτων, αντιοξειδωτικών και εκρηκτικών και από την πετροχημική βιομηχανία. Οι αλειφατικές αμίνες είναι επίσης συνήθη συστατικά των βιολογικών συστημάτων καθώς αποτελούν προϊόντα αποδόμησης οργανικών υλικών, όπως για παράδειγμα των αμινοξέων και των πρωτεϊνών. Οι παραπάνω ενώσεις, εκτός από τα προβλήματα που δημιουργούν λόγω της έντονης μυρωδιάς τους, μπορεί να αποβούν επικίνδυνες για την ανθρώπινη υγεία καθώς αποτελούν ευαισθητοποιητές και ερεθιστικά για το δέρμα, τα μάτια, την αναπνευστική οδό και τις βλεννογόνους μεμβράνες. Επιπλέον δύνανται να αντιδράσουν με συγκεκριμένες ενώσεις που περιέχουν άζωτο για την παραγωγή νιτροζαμινών, οι οποίες είναι πιθανές καρκινογενετικές ουσίες. Ως αποτέλεσμα των παραπάνω, κρίνεται αναγκαία η ανίχνευση των αλειφατικών αμινών στα διάφορα περιβαλλοντικά δείγματα [36].

Ο προσδιορισμός των αλειφατικών αμινών σε δείγματα νερού με εκχύλιση είναι αρκετά πολύπλοκος. Αυτό οφείλεται στην υψηλή τοξικότητα και διαλυτότητα των ενώσεων αυτών στο νερό. Ωστόσο, η μικροεκχύλιση του υπερκείμενου χώρου αποδείχθηκε μια αποτελεσματική, φθηνή και απλή μέθοδος για τον σκοπό αυτό [36].

Δημοσιευμένες εφαρμογές της τεχνικής HS-SDME

Δημοσιευμένες εφαρμογές της τεχνικής HS-SDME									
Εφαρμογή	Δείγμα	Μέγεθος σταγόνας	Οργανικός διαλύτης (σταγόνα)	Ιοντική Ισχύς	Χρόνος εκχύλισης	Ταχύτητα ανάδευσης	Αναλυτική μέθοδος	Όρια ανίχνευσης	Δημοσίευση
Χλωροβενζόλια	10 ml υδατικού διαλύματος 1,4-DCB	2.5 μl	Τολουόλιο	30%w/v NaCl	5 λεπτά	1000 rpm	GC-MS	0.006 μg/l (S/N = 3)	26
	10 ml υδατικού διαλύματος 1,2-DCB								
	10 ml υδατικού διαλύματος 1,2,3-TCB								
	10 ml υδατικού διαλύματος 1,2,4-TCB								
	HCB								
	10 ml υδατικού διαλύματος 1,3,5-TCB	2.5 μl	Τολουόλιο	30%w/v NaCl	5 λεπτά	1000 rpm	GC-MS	0.004 μg/l	
	10 ml υδατικού διαλύματος 1,2,4,5-TeCB	2.5 μl	Τολουόλιο	30%w/v NaCl	5 λεπτά	1000 rpm	GC-MS	0.003 μg/l	
	10 ml υδατικού διαλύματος 1,2,3,4-TeCB								
	10 ml υδατικού διαλύματος 1,3-DCB								
	PCB	2.5 μl	Τολουόλιο	30%w/v NaCl	5 λεπτά	1000 rpm	GC-MS	0.016 μg/l	

Εφαρμογή	Δείγμα	Μέγεθος σταγόνας	Οργανικός διαλύτης (σταγόνα)	Ιοντική Ισχύς	Χρόνος εκχύλισης	Ταχύτητα ανάδευσης	Αναλυτική μέθοδος	Όρια ανίχνευσης	Δημοσίευση
Διαλυτικά βενζίνης και BTEX σε χρησιμοποιημένα λάδια μηχανής	Δείγμα λαδιού 0.5 ml	1 μl	Hexadecane	-	3 λεπτά	Χωρίς ανάδευση	GC-FID	Δεν αναφέρεται	39
9 αλκοόλες σε δείγματα νερού	2 ml δείγματος (60°C, ρυθμός κίνησης εμβόλου: 1.4 μl/s, κύκλοι εκχύλισης: 80) sampling volume: 5 μl	0.8 μl	n-οκτανόλη	Κορεσμέν ο διάλυμα	9.5 λεπτά	1500 rpm	GC-MS in full scan mode	1-97 μg/l (S/N = 3)	37
Μεθυλο-τριτοταγής βουτυλ αιθέρας	Υδατικό διάλυμα μεθυλο-τριτοταγούς βουτυλ αιθέρα	1.8 μL	Βενζυλική αλκοόλη	-	-	-	GC	7 ppb	40
Χλωροανιλίνες (4-χλωροανιλίνη, 2-χλωροανιλίνη, 3,4-διχλωροανιλίνη, 2,4-διχλωροανιλίνη) σε δείγματα νερού (90° C)	20 ml δείγματος νερού βρύσης, ποταμού και απόβλητα, pH = 12	10 μl	[C ₄ MIM][PF ₆]	20% NaCl	30 λεπτά	-	HPLC	0.5-1.0 μg l ⁻¹	42
5 αμίνες σε υδατικά διαλύματα	2 ml δειγμάτων νερού από βρύση και ποτάμι (50° C)	1 μl	Βενζυλική αλκοόλη που περιέχει 2-βουτανόνη ως εσωτερικό πρότυπο	0.3 g ml ⁻¹ NaCl	15 λεπτά	600 rpm	GC	2.5–25 μg l ⁻¹	36

Εφαρμογή	Δείγμα	Μέγεθος σταγόνας	Οργανικός διαλύτης (σταγόνα)	Ιοντική Ισχύς	Χρόνος εκχύλισης	Ταχύτητα ανάδευσης	Αναλυτική μέθοδος	Όρια ανίχνευσης	Δημοσίευση
Οργανο-κασσιτερικές ενώσεις σε δείγματα νερού και στερεά δείγματα	100 μl διαλύματος 10 mg l ⁻¹ για καθεμιά από τις ουσίες (MBT, DBT, TBT, TPrT) αναμεμιγμένο με 5ml ρυθμιστικού διαλύματος (pH = 5) οξικού οξέος και 0.5ml NaBEt ₄ (2%)	2 μl	δεκάνιο	-	10 λεπτά	-	GC-MS	Για το TBT 3 ng (Sn) l ⁻¹ (S/N = 3)	34
MTBE σε δείγματα νερού	6 ml δείγματος νερού από βρύση, πηγάδι, πηγή και υπόγειο δείγμα ρυπασμένο με βενζίνη μιας υπόγειας δεξαμενής (35° C)	2 μl	Βενζυλική αλκοόλη	4M NaCl	7.5 λεπτά	1000 rpm	GC	0.06 μg l ⁻¹	35
Πολυκυκλικοί αρωματικοί υδρογονάνθρακες (PAHs) σε δείγματα νερού	6 ml δείγματος (40° C)	3 μl	1-βουτανόλη που περιέχει διφαινύλιο ως εσωτερικό πρότυπο	2.3 mol/l NaCl	12 λεπτά	400 rpm	GC	4 – 38 μg l ⁻¹	28
Αρσενικό σε υδατικά δείγματα	2 ml δείγματος νερού βρύσης, απορρυπαντικό, εμβολιασμένο θαλασσινό νερό	4 μl	1:3 πυριδίνη:βενζυλική αλκοόλη	-	7 λεπτά	-	GFAAS	45 pg ml ⁻¹	41

Εφαρμογή	Δείγμα	Μέγεθος σταγόνας	Οργανικός διαλύτης	Ιοντική Ισχύς	Χρόνος εκχύλισης	Ταχύτητα ανάδευσης	Αναλυτική μέθοδος	Όρια ανίχνευσης	Δημοσίευση
Βενζόλιο, τολουόλιο, αιθυλοβενζόλιο και ξυλόλιο σε δείγματα νερού	Διάλυμα συστατικών BTEX σε μεθανόλη συγκέντρωσης 8.7-870 ppm (23° C)	1 μl	<i>n</i> -hexadecane	-	6 λεπτά	1200 rpm	GC-FID	Βενζόλιο: 5.0 μg/l Τολουόλιο: 1.9 μg/l Αιθυλοβενζόλιο: 1.3 μg/l <i>m,p</i> -ξυλόλιο: 0.72 μg/l <i>o</i> -ξυλόλιο: 1.2 μg/l (S/N = 3)	27
Τριάλογονομεθάνια (THMs: χλωροφόρμιο, διχλωρο βρωμομεθάνιο, χλωρο διβρωμο μεθάνιο, βρωμοφόρμιο) σε δείγματα νερού	25 ml δείγματος νερού (20° C)	1 μl	1-οκτανόλη	0.3 g ml ⁻¹ NaCl	10 λεπτά	800 rpm	GC-ECD (Electron capture detector)	0.15 μg l ⁻¹ (για διχλωρο βρωμομεθάνιο, χλωρο διβρωμο μεθάνιο)– 0.4 μg l ⁻¹ (για χλωροφόρμιο) (S/N = 3)	32

3.5 Αξιολόγηση της τεχνικής

Η μέθοδος αυτή έχει πολλά *πλεονεκτήματα* όπως:

- 1) Μεγάλη ευαισθησία.
- 2) Χαμηλά όρια ανίχνευσης.
- 3) Χαμηλό κόστος.
- 4) Δεν χρησιμοποιείται ακριβή οργανολογία.
- 5) Είναι απλή και εύχρηστη.
- 6) Απαιτεί μικρό χρόνο προσυγκέντρωσης.
- 7) Πραγματοποιείται ανανέωση της μικροσταγόνας.
- 8) Απαιτείται μικρή κατανάλωση διαλύτη.
- 9) Υπάρχει δυνατότητα για εύκολο αυτοματισμό.
- 10) Δεν υπάρχει πρόβλημα συμπαράσυρσης των ουσιών.
- 11) Μεγάλη ποικιλία διαλυτών που μπορούν να χρησιμοποιηθούν.
- 12) Απουσία επίδρασης μήτρας δείγματος (matrix effect) στο αποτέλεσμα [34].

Μειονεκτήματα της τεχνικής:

- 1) Οι οργανικοί διαλύτες κατάλληλοι για την ανάλυση αέριας χρωματογραφίας, με την οποία συνδυάζεται συνήθως η τεχνική, έχουν μεγάλη τάση ατμών [37].
- 2) Κατά τη χρήση αναμειγμών με το νερό διαλυτών, το μέγεθος της σταγόνας συνεχώς μεγαλώνει με αποτέλεσμα την αποκόλλησή της από τη σύριγγα [37].

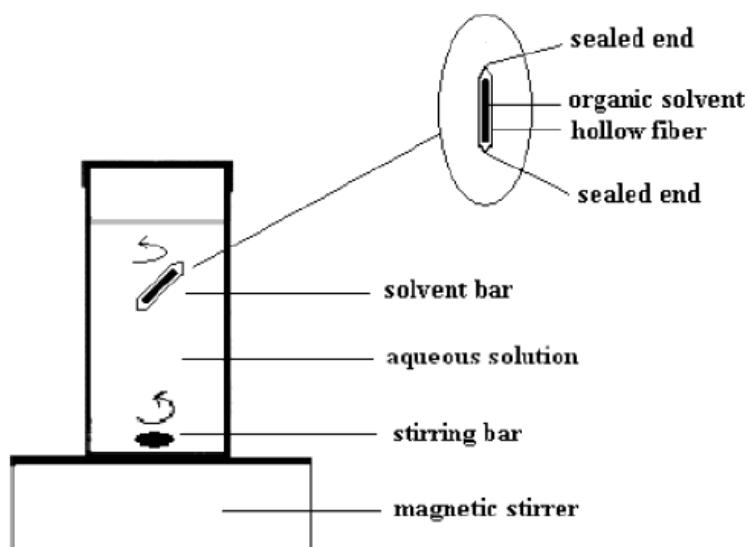
4. Εναλλακτικές τεχνικές στην μικροεκχύλιση υγρής φάσης

Περιλαμβάνονται δύο μέθοδοι:

- A. Μικροεκχύλιση διαλύτη με ράβδο (SBME)
- B. Μικροεκχύλιση υγρής φάσης συνεχούς ροής (CFME)

4.1 Μικροεκχύλιση διαλύτη με ράβδο (SBME)

Πρόσφατα ανακαλύφθηκε μια πολύ απλή και εύκολα φορητή τεχνική μικροεκχύλισης [44], με την ονομασία μικροεκχύλιση διαλύτη με ράβδο (SBME). Σε αυτή την τεχνική ο οργανικός διαλύτης περιορίζεται σε μια μικρού μήκους κοίλη μεμβράνη, σφραγισμένη και από τις δύο άκρες, η οποία τοποθετείται σε ένα αναδευόμενο υδατικό διάλυμα του δείγματος (εικόνα 4.1). Η ελεύθερη κίνηση της ράβδου εκχύλισης μέσα στο διάλυμα του δείγματος διευκολύνει την εκχύλιση [43,44].

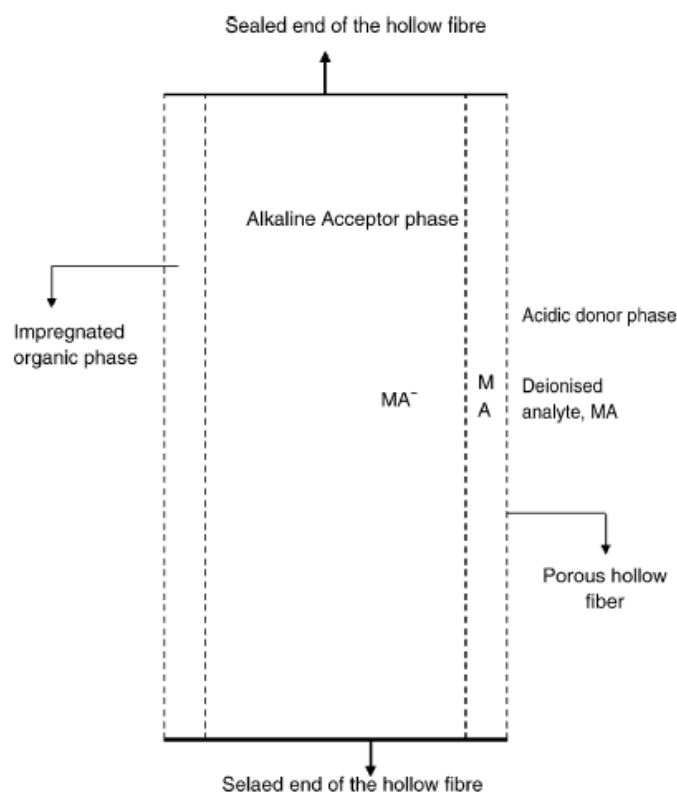


Εικόνα 4.1 Πειραματική διάταξη για την μικροεκχύλιση διαλύτη με ράβδο (SBME) [44].

4.1.1 Βασική αρχή

Η βασική αρχή για την τριών φάσεων μικροεκχύλιση διαλύτη με ράβδο (SBME) φαίνεται στην εικόνα 4.2. Πριν από την εκχύλιση το διάλυμα του δείγματος γίνεται όξινο με σκοπό να αποϊοντιστεί (de-ionize) ο αναλύτης και

συνεπώς να μειωθεί η διαλυτότητά του στο διάλυμα του δείγματος. Η πορώδης κοίλη μεμβράνη από πολυπροπυλένιο γεμίζεται με NaOH και βυθίζεται στον οργανικό διαλύτη. Η έκθεση αυτή στον οργανικό διαλύτη χρησιμεύει στον εμποτισμό των πόρων της μεμβράνης με τον οργανικό διαλύτη. Στη συνέχεια, η κοίλη μεμβράνη τοποθετείται μέσα στο διάλυμα του δείγματος, με αποτέλεσμα τη δημιουργία ενός συστήματος τριών φάσεων που αποτελείται από ένα μεγάλο όγκο όξινου υδατικού διαλύματος του δείγματος (φάση δότη), ένα μικρό όγκο οργανικού διαλύτη σταθεροποιημένου στους πόρους της κοίλης μεμβράνης και από άλλον ένα μικρό όγκο υδατικού βασικού διαλύματος (φάση δέκτη) μέσα στην κοίλη μεμβράνη [43].



Εικόνα 4.2 Βασική αρχή για την λειτουργία της μικροεκχύλισης διαλύτη με ράβδο (SBME) [43].

Επειδή ο οργανικός διαλύτης στους πόρους της κοίλης μεμβράνης είναι αδιάλυτος στο νερό αποτελεί έναν αποτελεσματικό φραγμό μεταξύ τη φάση του δότη και τη φάση του δέκτη. Λόγω της χαμηλής διαλυτότητας των

αναλυτών μέσα στην όξινη φάση του δότη και της αντίστοιχης υψηλής διαλυτότητας στην βασική φάση του δέκτη, οι αναλύτες εκχυλίζονται από την φάση του δότη διαμέσου του οργανικού διαλύτη, παραμένοντας στους πόρους της κοίλης μεμβράνης και τελικά μέσα στη φάση του δέκτη. Επειδή τα μόρια των αναλυτών ιοντίζονται μέσα στο διάλυμα του δέκτη, αποτρέπονται από το να ξαναεισέλθουν στην οργανική φάση στους πόρους της κοίλης μεμβράνης. Αφού ο όγκος της φάσης του δέκτη μέσα στην κοίλη μεμβράνη είναι πολύ μικρός σε σχέση με τον όγκο της φάσης του δότη, οι αναλύτες προσυγκεντρώνονται μέσα στο διάλυμα του δέκτη όσο αυξάνεται ο χρόνος εκχύλισης. Επιπρόσθετα με τον εμπλουτισμό του αναλύτη, η μέθοδος χρησιμοποιείται και για καθαρισμό του δείγματος [43].

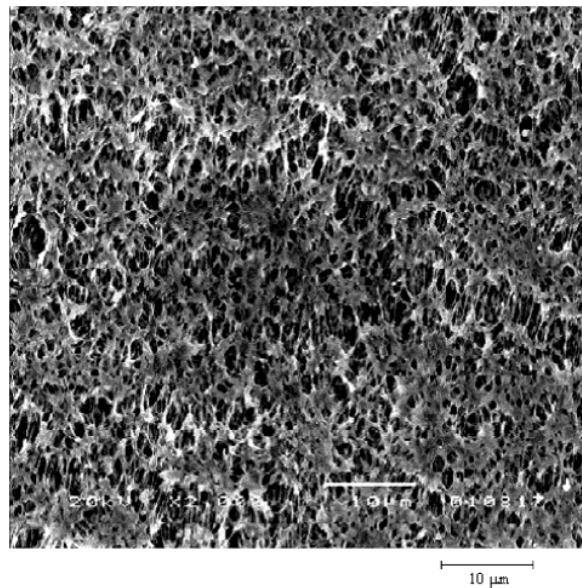
Η παραπάνω τεχνική μικροεκχύλισης των ιοντιζόμενων ενώσεων βασίζεται στην χρήση μιας συσκευής τριών φάσεων, η οποία βασίστηκε στην διάταξη για την SBME μικροεκχύλιση δύο φάσεων που πρωτοσχεδιάστηκε από τους Jiang και Lee [44].

4.1.2 Παράγοντες βελτιστοποίησης

- *Κοίλη μεμβράνη*

Γενικά, στις διαδικασίες που βασίζονται στην μικροεκχύλιση υγρής φάσης με χρήση κοίλης μεμβράνης, χρησιμοποιείται μεμβράνη από πολυπροπυλένιο (εικόνα 4.3), εκτός από μερικές περιπτώσεις όπου χρησιμοποιείται πολυβινυλυδενο (δι) φθορίδιο. Επίσης, το πολυπροπυλένιο είναι συμβατό με ένα μεγάλο εύρος οργανικών διαλυτών. Η μεμβράνη αυτή διαθέτει μέγεθος πόρων περίπου 0.2 μm , με αποτέλεσμα το πολυπροπυλένιο να ακινητοποιεί με επιτυχία τον οργανικό διαλύτη, βασικό χαρακτηριστικό για την εξασφάλιση της μη διαρροής της οργανικής φάσης κατά τη διάρκεια της εκχύλισης. Η μηχανική σταθερότητα της κοίλης μεμβράνης είναι πολύ καλή και η βελόνα της σύριγγας μπορεί εύκολα να εισαχθεί για να μεταφέρει την φάση του δέκτη μέσα στην μεμβράνη [43].

Λόγω των παραπάνω, ως βέλτιστη κοίλη μεμβράνη για την ανάλυση των χλωροφαινοξυ οξικών οξέων και των ενώσεων πενταχλωροβενζολίου και εξαχλωροβενζολίου επιλέχτηκε αυτή του πολυπροπυλενίου [43,44].



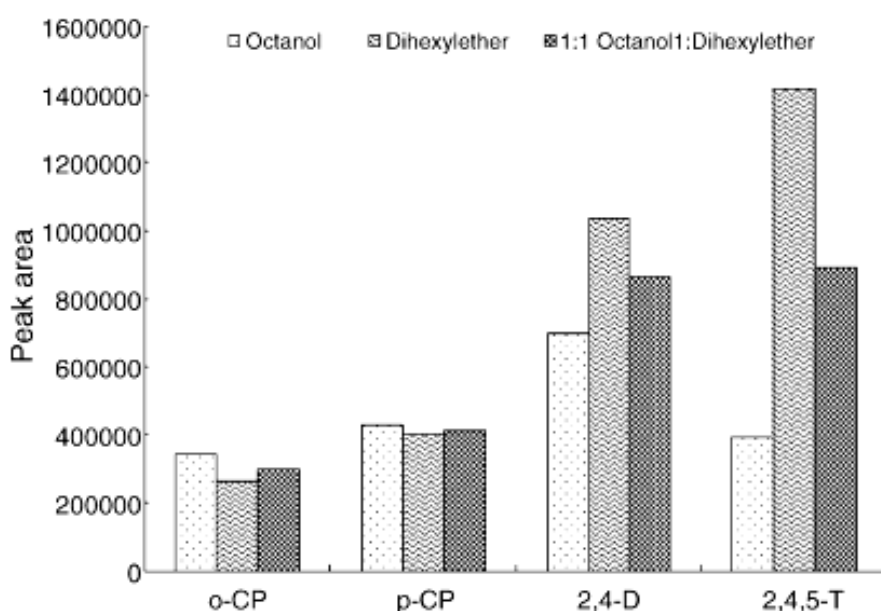
Εικόνα 4.3 Εσωτερική επιφάνεια κοίλης μεμβράνης μεγενθυμένη 2000 φορές (φωτογραφία SEM, scanning electron microscopic). Η δομή των μικροπόρων στην κοίλη μεμβράνη είναι ασύμμετρη, γεγονός που συμβάλλει στην μείωση της αντίστασης από διάχυση. Ως αποτέλεσμα διευκολύνεται η μεταφορά μάζας, διατηρείται η μηχανική ισχύς χωρίς ελάττωση της επιλεκτικότητας της μεμβράνης [44].

- *Οργανικός διαλύτης*

Η επιλογή του διαλύτη είναι ένας σημαντικός παράγοντας για την σύστημα μικροεκχύλισης τριών φάσεων. Τα βασικά κριτήρια για την επιλογή του κατάλληλου διαλύτη είναι τέσσερα:

1. πρέπει να σταθεροποιείται εύκολα στην μεμβράνη πολυπροπυλενίου, η οποία είναι υδρόφοβη [43,44]
2. πρέπει να είναι μη πτητικός (να έχει χαμηλή τάση ατμών) και μη αναμίξιμος με το στο υδατικό διάλυμα για να αποφευχθούν φαινόμενα διάλυσής του στο νερό [43,44]
3. ο αναλύτης θα πρέπει να έχει μεγαλύτερη διαλυτότητα στον οργανικό διαλύτη από ότι στην φάση του δότη και μικρότερη διαλυτότητα από τη φάση του δέκτη έτσι ώστε να αποφευχθούν φαινόμενα αντίστροφης εκχύλισης
4. να είναι συμβατός με τον αέριο χρωματογράφο (GC) [44]

Για την διεξαγωγή των πειραμάτων για την ανάλυση των χλωροφαινοξυοξικών οξέων εξετάστηκαν οι εξής διαλύτες: 1-οκτανόλη, nonanol και dihexylether. Σύμφωνα με τα πειραματικά αποτελέσματα (εικόνα 4.4) δεν εκχύλιζαν όλοι οι διαλύτες το ίδιο όλους τους αναλύτες στόχους. Για την επίτευξη της μέγιστης ευαισθησίας της τεχνικής χρησιμοποιήθηκε ως βέλτιστος διαλύτης το μίγμα 1:1 από 1-οκτανόλη: dihexylether. Εξάλλου η χρησιμοποίηση μιγμάτων από οργανικούς διαλύτες είναι πολύ χρήσιμη κατά την ανάλυση πολλών διαφορετικών ενώσεων που εκχυλίζονται, καθώς οι συντελεστές κατανομής των διαφορετικών ενώσεων μπορούν να βελτιστοποιηθούν σε διαφορετικούς τύπους οργανικών διαλυτών [43].



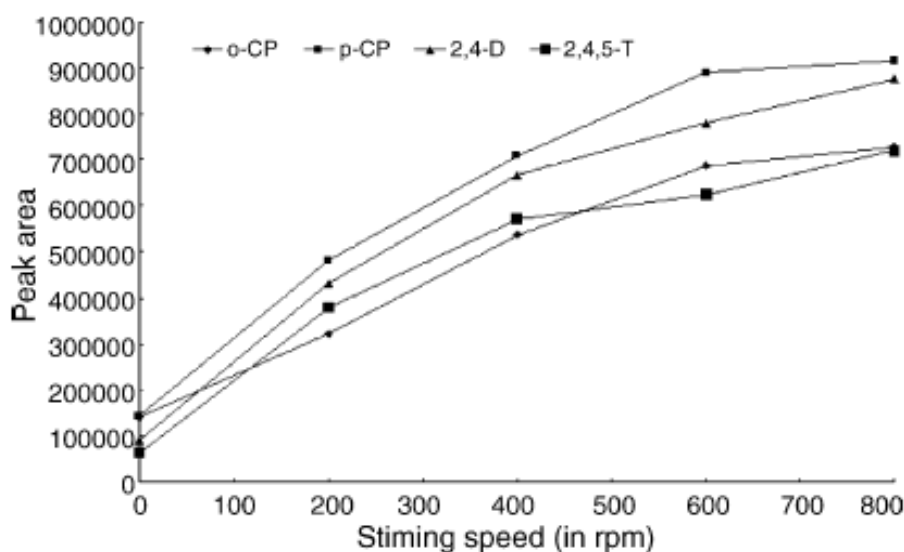
Εικόνα 4.4 Επίδραση του οργανικού διαλύτη στην αποτελεσματικότητα της εκχύλισης [43].

Για τον προσδιορισμό των πρότυπων ενώσεων επταχλωροβενζολίου και εξαχλωροβενζολίου εξετάστηκαν οι εξής διαλύτες: ακετόνη και 1-οκτανόλη. Η ακετόνη δεν βρέθηκε κατάλληλη, γιατί είναι πολύ πτητική και επίσης είναι διαλυτή στο νερό. Έτσι, ως βέλτιστος διαλύτης χρησιμοποιήθηκε η 1-οκτανόλη, η οποία έχει χαμηλή τάση ατμών και είναι αδιάλυτη στο νερό [44].

- *Ρυθμός ανάδευσης*

Γενικά, όσο πιο γρήγορα αναδεύεται το διάλυμα τόσο μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα στην εκχύλιση έχει. Αυτό οφείλεται στο ότι η ανάδευση επιτρέπει την συνεχή έκθεση της εκχυλιζόμενης επιφάνειας σε νέο υδατικό δείγμα [43,44]. Η ελεύθερη κίνηση της μεμβράνης συνεισφέρει επίσης στην μεταφορά μάζας. Ωστόσο, οι υψηλοί ρυθμοί εκχύλισης οδηγούν σε απώλεια διαλύτη και παραγωγή φυσαλίδων οι οποίες επιδρούν αρνητικά στην επαναληψιμότητα και ακρίβεια της τεχνικής [44].

Για την ανάλυση των χλωροφαινοξυ οξικών οξέων η επίδραση της ανάδευσης στην εκχύλιση, μελετήθηκε μέχρι τα 800 rpm, όπου φαίνεται να υπάρχει αύξηση της εκχύλισης με αύξηση της ταχύτητας ανάδευσης (εικόνα 4.5). Ωστόσο, πάνω από τα 900 rpm η ράβδος περισσότερο δονούνταν παρά αναδεύονταν. Έτσι, ως βέλτιστος ρυθμός ανάδευσης χρησιμοποιήθηκε 800 rpm.

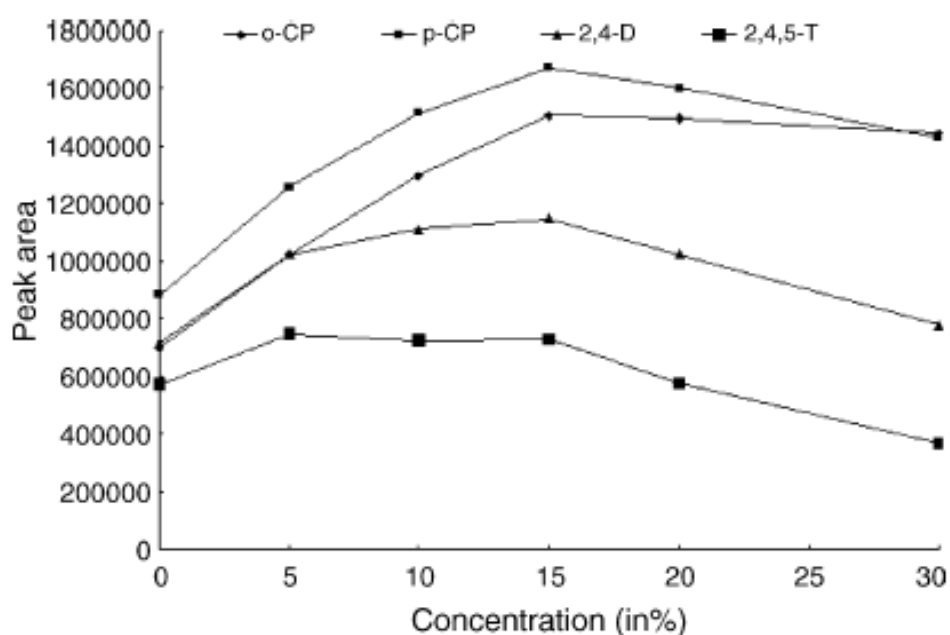


Εικόνα 4.5 Επίδραση του ρυθμού ανάδευσης στην αποτελεσματικότητα της εκχύλισης [43].

Κατά την ανάλυση του επταχλωροβενζολίου και εξαχλωροβενζολίου χρησιμοποιήθηκε ρυθμός ανάδευσης ίσος με 700 rpm [44].

- Έλεγχος ιοντικής ισχύος

Για να εκτιμηθεί η προσφορά του χλωριούχου νατρίου (NaCl) στην αποτελεσματικότητα της εκχύλισης των χλωροφαινοξυ οξικών οξέων, μελετήθηκαν διαλύματα με διαφορετικές συγκεντρώσεις άλατος από 0-30%. Παρατηρήθηκε αρχικά μια αύξηση στην εκχύλιση με την αρχική προσθήκη του άλατος. Ωστόσο, η μέγιστη πραγματοποιήθηκε στα 15%. Πέρα από αυτό το σημείο υπήρξε μείωση της αποτελεσματικότητας της εκχύλισης (εικόνα 4.6) [43].



Εικόνα 4.6 Επίδραση της συγκέντρωσης του άλατος στην αποτελεσματικότητα της εκχύλισης [43].

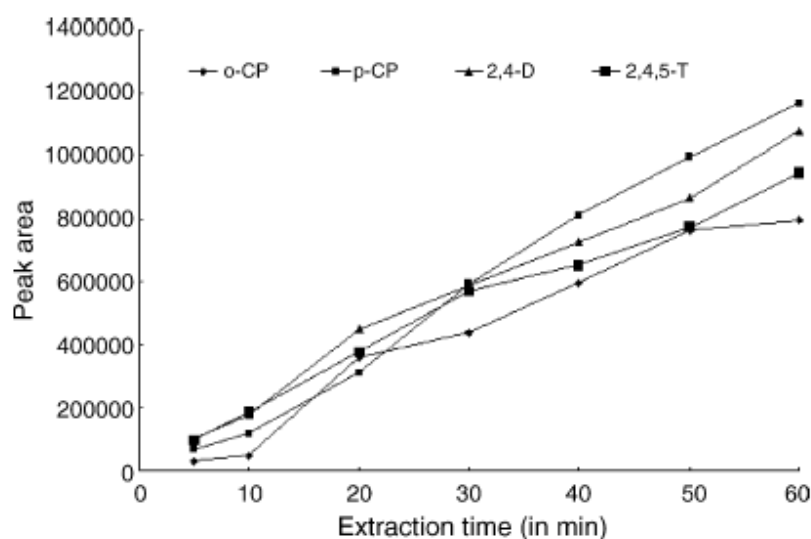
Οι παρατηρήσεις αυτές εξηγούνται ως εξής: Αρχικά η εκχύλιση αυξήθηκε λόγω του φαινομένου της εξαλάτωσης, κατά το οποίο τα μόρια του νερού σχηματίζουν υδάτινες σφαίρες γύρω από τα ιόντα του άλατος. Αυτές οι σφαίρες μειώνουν την συγκέντρωση του νερού που είναι διαθέσιμη για να διαλύσει τα μόρια του αναλύτη, έτσι αναμένεται να οδηγηθούν περισσότερα μόρια αναλύτη στην οργανική φάση παραμένοντας στους πόρους της κοίλης μεμβράνης. Ωστόσο, ανταγωνιστικά με αυτό το φαινόμενο δρα και το φαινόμενο κατά το οποίο τα πολικά μόρια μπορούν να συμμετάσχουν σε ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις με τα ιόντα του άλατος στο διάλυμα, με

αποτέλεσμα να μειώνεται η ικανότητά τους να μεταφέρονται στην φάση εκχύλισης. Αρχικά, υπερισχύει η αλληλεπίδραση των μορίων του άλατος με το νερό. Με αύξηση της συγκέντρωσης του άλατος, τα μόρια του άλατος αρχίζουν να αλληλεπιδρούν με τα μόρια του αναλύτη. Έτσι είναι λογικό που αρχικά υπάρχει μια αύξηση στην απόδοση της εκχύλισης με αύξηση της συγκέντρωσης του άλατος, η οποία ακολουθείται από μια ελάττωση καθώς υπερισχύει η αλληλεπίδραση του άλατος με τον αναλύτη στο διάλυμα [43].

- *Διάρκεια εκχύλισης*

Η μεταφορά μάζας είναι ένα φαινόμενο που εξαρτάται από τον χρόνο [43,44]. Όπως και στις άλλες τεχνικές μικροεκχύλισης, η παρούσα τεχνική είναι μια διαδικασία ισορροπίας παρά μια πλήρης εκχύλιση. Για αυτό το λόγο, απαιτεί χρόνο για την αποκατάσταση της ισορροπίας.

Η εικόνα 4.7 δείχνει τη σχέση μεταξύ του χρόνου εκχύλισης και της απόδοσης εκχύλισης για την ανάλυση των χλωροφαινοξυ οξικών οξέων. Είναι φανερό ότι η ποσότητα του αναλύτη που εκχυλίζεται είναι ανάλογη με τον χρόνο που διαρκεί το πείραμα. Ωστόσο, δεν είναι απαραίτητο να περιμένουμε μέχρι την αποκατάσταση της ισορροπίας και για αυτό χρησιμοποιήθηκε χρόνος εκχύλισης ίσος με 40 λεπτά [43].



Εικόνα 4.7 Επίδραση του χρόνου εκχύλισης στην αποτελεσματικότητα της εκχύλισης [43].

Τα πειράματα που πραγματοποιήθηκαν για την εκχύλιση του επταχλωροβενζολίου και του εξαχλωροβενζολίου χρησιμοποιήθηκε χρόνος ανάλυσης ίσος με 10 λεπτά [44].

4.1.3 Εφαρμογές τεχνικής

✓ Χλωροφαινοξυ οξικά οξέα (Ζιζανιοκτόνα)

Τα χλωροφαινοξυ οξικά οξέα (chlorophenoxyacetic acid) είναι ευρέως γνωστά ως ζιζανιοκτόνα στην γεωργία για να ελέγχουν τα αγριόχορτα. Θεωρούνται μια σημαντική ομάδα εμπορικών ζιζανιοκτόνων τα οποία χρησιμοποιούνται στην προστασία των καλλιεργειών. Εξαιτίας της διαλυτότητάς τους στο νερό, οι ενώσεις αυτές μπορούν να μεταφέρονται σε αγροτικά οικοσυστήματα, προκαλώντας την ρύπανση σε επιφανειακά και υπόγεια νερά. Λόγω της οξύτητας και της πολικότητας των χλωροφαινοξυ οξικών οξέων, οι ενώσεις αυτές χρησιμοποιήθηκαν ως πρότυπες για την περιγραφή της νέας τεχνικής μικροεκχύλισης [43].

✓ Πενταχλώροβενζόλιο (PCB) και εξαχλωροβενζόλιο (HCB)

Χρησιμοποιήθηκαν ως πρότυπα μόρια για τον προσδιορισμό των βέλτιστων παραμέτρων για την αποτελεσματικότερη εφαρμογή της τεχνικής [44].

4.1.4 Αξιολόγηση τεχνικής

Πλεονεκτήματα τεχνικής

- 1) Πολύ απλή, γρήγορη και φθηνή.
- 2) Είναι η πιο φθηνή μέθοδος για την ανάλυση ιοντιζόμενων ενώσεων.
- 3) Δεν χρειάζεται σύριγγα για να συγκρατεί την κοίλη μεμβράνη, καθώς αυτή κινείται ελεύθερη μέσα στο διάλυμα.
- 4) Δεν απαιτείται εξειδικευμένη οργανολογία ή προσωπικό.
- 5) Δεν υπάρχει φαινόμενο συμπάρασυρσης ουσιών κατά την ανάλυση, γιατί κάθε φορά χρησιμοποιείται διαφορετική κοίλη μεμβράνη [44].
- 6) Μπορούν να αναλυθούν πολλά δείγματα ταυτόχρονα.

- 7) Είναι αποτελεσματική και με καλή αναπαραγωγικότητα.
- 8) Μπορούν να αποκτηθούν μεγαλύτεροι συντελεστές εμπλουτισμού σε σύγκριση με τις τεχνικές μικροεκχύλιση υγρής φάσης με μονή σταγόνα (SDME) και μικροεκχύλιση υγρής φάσης με κοίλη μεμβράνη (LPME-HF) [44].
- 9) Αυξάνεται η επιφάνεια επαφής του διαλύτη, αφού ο λόγος της επιφάνειας επαφής ανά τον όγκο είναι μεγαλύτερος από αυτόν σε μια σφαιρική σταγόνα [44].

Μειονεκτήματα της τεχνικής

- 1) Δεν είναι εύκολος ο αυτοματισμός της, γιατί η μεταφορά του εκχυλίσματος για περεταίρω ανάλυση πρέπει να γίνει χειρωνακτικά.
- 2) Πρέπει να εξεταστούν αρκετοί παράγοντες (οργανικός διαλύτης, χρόνος εκχύλισης, ρυθμός ανάδευσης, ιοντική ισχύς) για να έχουμε τις βέλτιστες συνθήκες εκχύλισης για κάθε νέο αναλύτη, γεγονός χρονοβόρο.

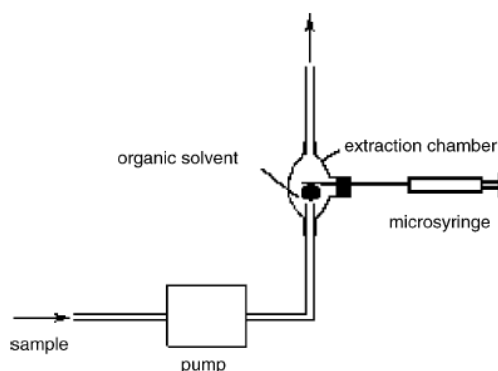
4.2 Μικροεκχύλιση υγρής φάσης συνεχούς ροής (CFME)

4.2.1 Εισαγωγή

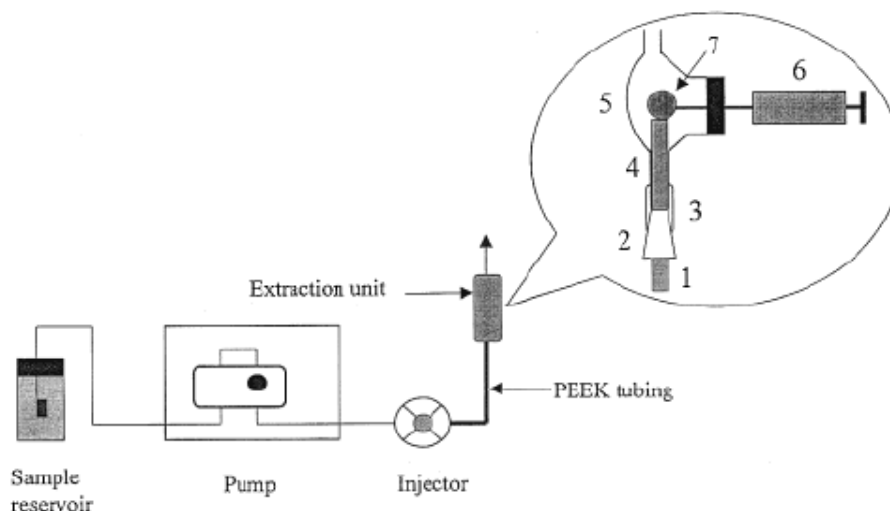
Η μικροεκχύλιση υγρής φάσης συνεχούς ροής (CFME) είναι μια νέα μέθοδος LPME, η οποία αναπτύχθηκε για πρώτη φορά από τους Liu και Lee [46]. Σε αυτή τη μέθοδο, η σταγόνα του εκχυλιζόμενου διαλύτη εισάγεται με μια συμβατική μικροσύριγγα σε έναν γυάλινο θάλαμο και συγκρατείται στην άκρη της εξόδου ενός συνδεδεμένου σωλήνα PTFE (πολυτετραφθοροαιθυλενίου, Teflon). Το διάλυμα του δείγματος ρέει μέσα από αυτόν τον σωλήνα και την γυάλινη μονάδα εκχύλισης στα απόβλητα, η σταγόνα διαλύτη αλληλεπιδρά συνεχώς με το διάλυμα του δείγματος και η εκχύλιση πραγματοποιείται ταυτόχρονα. Με την μέθοδο αυτή επιτυγχάνεται υψηλότερος συντελεστής συγκέντρωσης από ότι στην στατική μικροεκχύλιση υγρής φάσης (LPME), γιατί η σταγόνα του διαλύτη βρίσκεται συνεχώς σε επαφή με το διάλυμα του δείγματος [45].

4.2.2 Πειραματική διάταξη

Η συσκευή που χρησιμοποιήθηκε για την ανάλυση των πτητικών αλκυλαλογονιδίων φαίνεται στην εικόνα 4.8 [45]. Χρησιμοποιήθηκε μια μικροσύριγγα 10 μL για την εισαγωγή και την απομάκρυνση της σταγόνας που περιέχει τον διαλύτη εκχύλισης και την εισαγωγή της στη συνέχεια στον αέριο χρωματογράφο για ανάλυση.



Εικόνα 4.8 Σύστημα μικροεκχύλισης υγρής φάσης συνεχούς ροής [45]. Στην παραπάνω διάταξη παραλείπεται ο εισαγωγέας του δείγματος, σε αντίθεση με την εικόνα 4.9, όπου φαίνεται η συσκευή που χρησιμοποιήθηκε από τους Liu και Lee [46].



Εικόνα 4.9 Διάταξη μικροεκχύλισης υγρής φάσης συνεχούς ροής. (1) σύνδεση με τον σωλήνα PEEK (polyetheretherketone), (2) τροποποιημένο ακροφύσιο σιφωνίου, (3) ‘ο’ δακτύλιος, (4) είσοδος του θαλάμου εκχύλισης, (5) θάλαμος εκχύλισης, (6) μικροσύριγγα, (7) σταγόνα διαλύτη [46].

Η μέθοδος μικροεκχύλισης υγρής φάσης συνεχούς ροής (CFME) περιλαμβάνει τέσσερα στάδια [45,46]:

(1) το υδατικό δείγμα (τυπικά συνολικού όγκου 10 ml ή λιγότερο) αντλείται συνεχώς, κατακόρυφα προς τα πάνω, με σταθερό ρυθμό ροής (0.6 mL min^{-1} , ή παραπάνω), στη φούσκα του σταγονόμετρου στον γυάλινο θάλαμο εκχύλισης ($\sim 0.5 \text{ mL}$) μέσω του συνδεδεμένου σωλήνα PTFE,

(2) μετά που ο θάλαμος έχει γεμίσει με το διάλυμα του δείγματος, εισάγεται, με μια μικροσύριγγα, στον θάλαμο εκχύλισης ο απαιτούμενος όγκος (1-4 μL) οργανικού διαλύτη και σχηματίζει μια σταγόνα η οποία παραμένει στην άκρη της μικροσύριγγας πάνω από την έξοδο του σωλήνα PTFE στον θάλαμο εκχύλισης,

(3) καθώς η σταγόνα του διαλύτη εμβαπτίζεται στο διάλυμα του δείγματος, οι αναλύτες εκχυλίζονται από το διάλυμα του δείγματος στην σταγόνα του διαλύτη, με το διάλυμα του δείγματος να εκτινάσσεται συνεχώς από τον σωλήνα PTFE μέσα στον θάλαμο,

(4) μετά από εκχύλιση για προκαθορισμένο χρονικό διάστημα, η σταγόνα του διαλύτη εισάγεται μέσα στη μικροσύριγγα και στη συνέχεια μεταφέρεται αμέσως στον αέριο χρωματογράφο για ανάλυση.

Στην μέθοδο CFME, η εκχύλιση πραγματοποιείται συνεχώς καθώς το διάλυμα του δείγματος ρέει μέσω της σταγόνας του διαλύτη, ο αναλύτης κατανέμεται μεταξύ της οργανικής και της υδατικής φάσης. Οι εξισώσεις θερμοδυναμικής και κινητικής οι οποίες περιγράφουν το φαινόμενο της εκχύλισης υγρού-υγρού είναι [45,46]:

$$C_{o,eq} = KC_{aq,eq} = \frac{KC_{aq,ini}}{\left(\frac{1 + KV_o}{V_{aq}} \right)} \quad (1)$$

$$\frac{dC_o}{dt} = \frac{A_i \beta}{V_o (KC_{aq} - C_o)} \quad (2)$$

Όπου:

$C_{o,eq}$ είναι η συγκέντρωση του αναλύτη στην οργανική φάση (σταγόνα διαλύτη) στην ισορροπία εκχύλισης,

$C_{aq,eq}$ και $C_{aq,ini}$ είναι οι συγκεντρώσεις του αναλύτη στην ισορροπία και στην αρχική κατάσταση στην υδατική φάση αντίστοιχα,

V_o και V_{aq} είναι οι όγκοι της οργανικής και της υδατικής φάσης αντίστοιχα,

K είναι ο συντελεστής κατανομής,

C_o και C_{aq} είναι οι συγκεντρώσεις των αναλυτών στην οργανική και την υδατική φάση τον χρόνο t αντίστοιχα,

A_i είναι η επιφάνεια αλληλεπίδρασης,

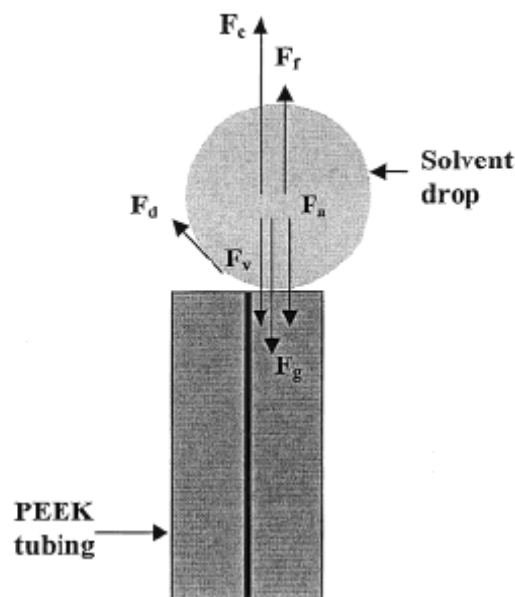
β είναι ο συνολικός συντελεστής μεταφοράς μάζας όσον αφορά στην οργανική φάση.

Στην μικροεκχύλιση, η απόλυτη ποσότητα του αναλύτη που εκχυλίζεται στον διαλύτη κατά τη διάρκεια της εκχύλισης είναι συνήθως αμελητέα σε σχέση με τη συνολική ποσότητά του στο διάλυμα [45].

4.2.3 Δυνάμεις στην κατάσταση ισορροπίας

Δύο βασικά θέματα διαφοροποιούν την τεχνική μικροεκχύλισης υγρής φάσης συνεχούς ροής (CFME) από τις άλλες μεθόδους εκχύλισης υγρής φάσης. Το πρώτο είναι η άμεση επαφή της σταγόνας του διαλύτη με τα μόρια του αναλύτη στο διάλυμα του δείγματος. Το δεύτερο είναι ότι η σταγόνα

παραμένει στην άκρη ενός σωλήνα κατά την εκχύλιση. Έτσι, στην σταγόνα του διαλύτη ασκούνται οι τρεις δυνάμεις που ασκούνται και κατά την δυναμική μικροεκχύλιση υγρής φάσης (LPME), η δύναμη επίπλευσης (F_f), η βαρύτητα (F_g) και η δύναμη προσκόλλησης (F_a) και επιπλέον οι δυνάμεις: η δύναμη σύγκρουσης (F_c), η διαμοριακή δύναμη (F_v) (δύναμη van der Waal's) ανάμεσα στα μόρια της σταγόνας του διαλύτη και του σωλήνα, και η τριβή (F_d) (εικόνα 4.10) [46].



Εικόνα 4.10 Δυνάμεις που ασκούνται στη σταγόνα του διαλύτη κατά τη διάρκεια της μικροεκχύλισης υγρής φάσης συνεχούς ροής [46].

Υπάρχουν δύο καταστάσεις στις οποίες μπορεί να βρεθεί η σταγόνα του διαλύτη, ανάλογα με τις δυνάμεις που ασκούνται σε αυτήν. Έτσι αν:

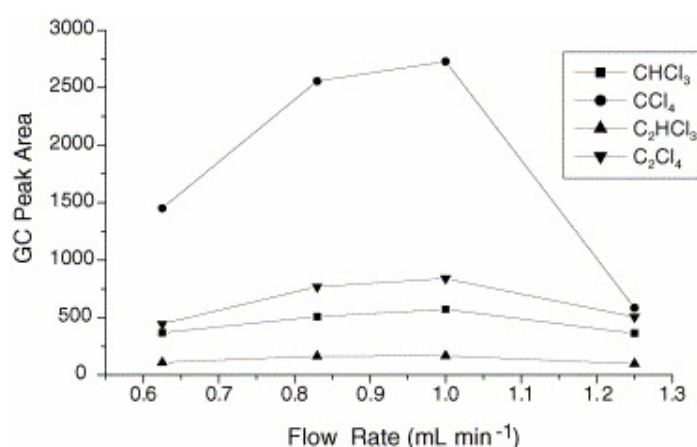
- (1) $(F_g + F_a + F_v) \geq (F_f + F_c + F_d)$, η σταγόνα παραμένει προσκολλημένη στον σωλήνα και η εκχύλιση συνεχίζεται και
- (2) $(F_g + F_a + F_v) < (F_f + F_c + F_d)$, η σταγόνα διαλύτη αποκολλάται από τον σωλήνα και δεν πραγματοποιείται εκχύλιση [46].

4.2.4 Παράγοντες βελτιστοποίησης της μεθόδου

- Ρυθμός ροής του διαλύματος του δείγματος

Ο ρυθμός ροής του διαλύματος του δείγματος επηρεάζει σημαντικά την δυναμική της εκχύλισης καθώς το πάχος της μεσεπιφανειακής στιβάδας που περιβάλλει τη μικροσταγόνα ποικίλλει με την αλλαγή του ρυθμού ροής [45,46].

Όσον αφορά στην ανάλυση των πτητικών αλκυλαλογονιδίων εκτιμήθηκε η επίδραση του ρυθμού ροής με την αλλαγή του από 0.5 σε 1.5 mL min⁻¹ και τα αποτελέσματα φαίνονται στην εικόνα 4.11 [45].



Εικόνα 4.11 Επίδραση του ρυθμού ροής του διαλύματος του δείγματος στην αποτελεσματικότητα της εκχύλισης (διαλύτης εκχύλισης: η-επτάνιο, όγκος δείγματος: 5 mL, όγκος σταγόνας διαλύτη: 3 μ L) [45].

Όπως φαίνεται στην παραπάνω εικόνα, το εμβαδό κορυφής των αναλυτών αυξάνεται με την αύξηση του ρυθμού ροής του δείγματος, όταν ο ρυθμός ροής είναι μικρότερος από 1.0 mL min⁻¹. Μείωση του εμβαδού κορυφής παρατηρήθηκε για τους αναλύτες μετά από ρυθμό ροής των 1.0 mL min⁻¹. Αυτό οφείλεται πιθανότατα στο ότι η γραμμική ταχύτητα του δείγματος είναι πολύ υψηλή σε υψηλότερους ρυθμούς ροής ώστε να επιτρέπει την αποκατάσταση ισορροπίας στην μεσεπιφανειακή στιβάδα και των δύο φάσεων που συμμετέχουν στην εκχύλιση. Έτσι, χρησιμοποιήθηκε ρυθμός ροής 1.0 mL min⁻¹, ως κατάλληλος ρυθμός [45].

- **Οργανικός διαλύτης**

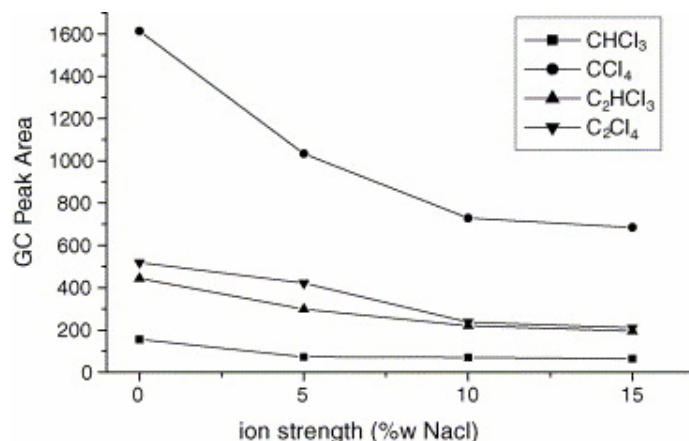
Η επιλογή του κατάλληλου διαλύτη εκχύλισης είναι ένας πολύ σημαντικός παράγοντας στην διαδικασία βελτιστοποίησης της μεθόδου μικροεκχύλισης υγρής φάσης (LPME). Κάθε φορά θα πρέπει να λαμβάνουμε υπόψη δύο βασικές προϋποθέσεις. Κατά πρώτον, ο διαλύτης θα πρέπει να είναι μη αναμείξιμος με το νερό. Κατά δεύτερον, ο οργανικός διαλύτης θα πρέπει να έχει τέλεια συμπεριφορά κατά τη χρωματογραφική ανάλυση [45].

Με βάση τα παραπάνω συμπεράσματα, όσον αφορά στην ανάλυση των πτητικών αλκυλαλογονιδίων εξετάστηκε η αποτελεσματικότητα των εξής διαλυτών: n-πεντάνιο, n-εξάνιο, κυκλοεξάνιο, τολουόλιο και ξυλόλιο. Επίσης, ο συντελεστής συγκέντρωσης (concentration factor, CF), όπου ορίζεται ως η αναλογία του εμβαδού κορυφής του αναλύτη που επιτυγχάνεται πριν και μετά από την εκχύλιση, βρέθηκε ότι αναπαριστά την αποτελεσματικότητα της εκχύλισης [45].

Για το συγκεκριμένο πείραμα χρησιμοποιήθηκε το n-πεντάνιο ως ο αποτελεσματικότερος διαλύτης για τη μέθοδο εκχύλισης [45].

- **Έλεγχος ιοντικής ισχύος**

Μερικοί ερευνητές έχουν αναφέρει ότι η προσθήκη NaCl στο δείγμα είναι ευεργετική για την αποτελεσματικότητα της εκχύλισης πολλών ενώσεων κατά την μέθοδο εκχύλισης υγρής φάσης (LLE) και μικροεκχύλισης στερεής φάσης (SPME). Ωστόσο, στην μικροεκχύλιση υγρής φάσης (LPME), παρατηρήθηκαν διαφορετικά αποτελέσματα. Για αυτόν τον λόγο πραγματοποιήθηκαν πειράματα, έτσι ώστε να εκτιμηθεί η επίδραση της ιοντικής ισχύος στην εκχύλιση αναλυτών με την προσθήκη διαφορετικών ποσοτήτων NaCl από 0 έως 15%w/v. Τα αποτελέσματα (εικόνα 4.12) δείχνουν ότι το εμβαδό επιφάνειας μειώνεται σημαντικά ακόμα και σε χαμηλές συγκεντρώσεις NaCl. Ως αποτέλεσμα, δεν προστέθηκε αλάτι στα πειράματα για την ανάλυση των πτητικών αλκυλαλογονιδίων [45].



Εικόνα 4.12 Επίδραση της ιοντικής ισχύος στην αποδοτικότητα της εκχύλισης [45].

4.2.5 Εφαρμογές τεχνικής

- ✓ Πτητικά αλκυλαλογονίδια, VHHs (CHCl₃, CCl₄, C₂HCl₃ και C₂Cl₄)

Οι οργανικές πτητικές ενώσεις (VOCs) μπορεί να βρεθούν σε ίχνη σχεδόν παντού στο περιβάλλον. Η χρήση τους ως διαλύτες, αντιδραστήρια καθαρισμού και χημικά αντιδραστήρια σε έναν μεγάλο αριθμό βιομηχανικών και διαφημιστικών εφαρμογών έχει ως αποτέλεσμα την παρουσία τους στον αέρα, το νερό, το φαγητό και αλλού. Πολλές από αυτές τις ενώσεις είναι τοξικές και καρκινογενείς και η έκθεση σε αυτές τις ενώσεις μέσω τροφής ή εισπνοής μπορεί να προκαλέσει ανεπιθύμητες συνέπειες στον ανθρώπινο οργανισμό. Η σύνδεση μεταξύ της έκθεσης των οργανικών πτητικών ενώσεων και των πιθανών συνεπειών τους στην ανθρώπινη υγεία δικαιολογεί το γεγονός ότι είναι ένας σημαντικός παράγοντας επιρροής της δημόσιας υγείας. Από τις οργανικές πτητικές ενώσεις, τα πτητικά αλκυλαλογονίδια (VHHs) είναι τα πιο διαδεδομένα στη ζωή του ανθρώπου [45].

Ως αποτέλεσμα της απολύμανσης του πόσιμου νερού, παράγονται αλογονοενώσεις από την οργανική μήτρα που αντιδρά με το χλώριο το οποίο προστίθεται στο πόσιμο νερό για την εξουδετέρωση των μικροοργανισμών. Λόγω του πιθανού περιβαλλοντικού κινδύνου που δύναται να προκληθεί από τις αλογονοενώσεις (VHHs), έχει αναπτυχθεί με μεγάλο ενδιαφέρον η αποτίμηση και ο έλεγχος ανίχνευσης αυτών των ενώσεων καθώς είναι

απαραίτητες διεργασίες για την προστασία της ανθρώπινης υγείας και του περιβαλλοντικού ελέγχου [45].

Καθώς οι συγκεντρώσεις αυτών των ενώσεων σε φυσιολογικές συνθήκες είναι σε χαμηλά επίπεδα ($\mu\text{g L}^{-1}$ ή χαμηλότερο) στο πόσιμο νερό, η εκχύλιση ή η προκατεργασία συγκέντρωσης είναι απαραίτητη πριν από τον τελικό καθορισμό τους με GC/ECD ή GC/MS [45].

Λαμβάνοντας υπόψη τις μεθόδους που χρησιμοποιούνται για την εκχύλιση των VHHs και άλλων πτητικών οργανικών ενώσεων στο νερό, η εκχύλιση υγρού-υγρού (LLE) απαιτεί μεγάλες ποσότητες οργανικών διαλυτών υψηλής καθαρότητας, οι οποίοι είναι συχνά επικίνδυνοι και η διεργασία ανάλυσης είναι χρονοβόρα και βαρετή. Η μέθοδος δειγματοληψίας της υπερκείμενης φάσης απαιτεί πολύ προσεκτική βαθμονόμηση. Η μικροεκχύλιση στερεής φάσης (SPME) έχει επίσης χρησιμοποιηθεί για προσυγκέντρωση των VHHs. Ωστόσο, η μεμβράνη που χρησιμοποιείται για την εκχύλιση είναι ακριβή, εύθραυστη και έχει μικρό χρόνο ζωής και επίσης με αυτή τη μέθοδο παρατηρείται πρόβλημα συμπαράσυρσης [45].

Η προτεινόμενη μέθοδος CFME εφαρμόστηκε στην ανάλυση των ενώσεων VHHs σε δείγματα νερού και στη συνέχεια τα αποτελέσματα συγκρίθηκαν με αυτά που αποκτήθηκαν με την ανάλυση των ίδιων ενώσεων με την μέθοδο LLE και βρέθηκε ότι οι τιμές ήταν παραπλήσιες. Ως συμπέρασμα καταλήγουμε ότι η μέθοδος CFME είναι αποτελεσματική για την ανάλυση των αλογονοενώσεων σε δείγματα νερού [45].

4.2.6 Αξιολόγηση τεχνικής

Πλεονεκτήματα τεχνικής

- 1) Επιτρέπει όρια ανίχνευσης της τάξης των fg/mL [46].
- 2) Είναι μέθοδος εκχύλισης η οποία πραγματοποιείται σε ένα βήμα [46].
- 3) Επιτυγχάνονται υψηλοί παράγοντες προσυγκέντρωσης και για αυτό απαιτούνται μικροί όγκοι υδατικών διαλυμάτων (μικρότεροι από 3mL), σε αντίθεση με άλλες τεχνικές μικροεκχύλισης [46].

Μειονεκτήματα τεχνικής

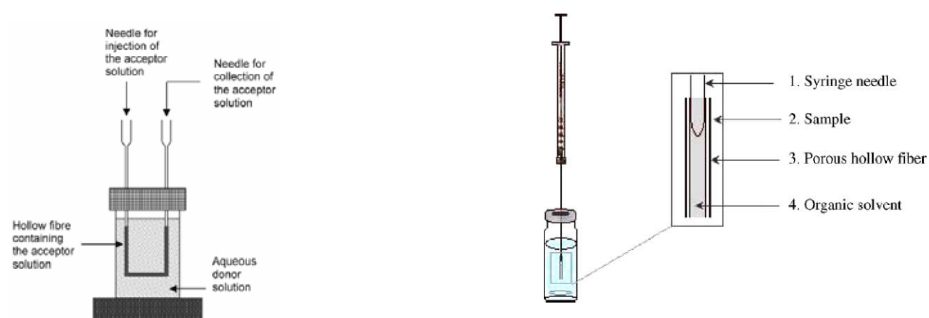
- 1) Είναι σχετικά πρόσφατη και απαιτείται χρόνος για την μελέτη των παραγόντων που την βελτιστοποιούν, ιδίως για διαφορετικά υδατικά δείγματα [46].
- 2) Αποκόλληση σταγόνας διαλύτη από τον σωλήνα, ιδιαίτερα σε υψηλούς ρυθμούς ροής του διαλύματος.

5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Πρόσφατα, η μικροεκχύλιση υγρής φάσης (LPME) έχει προσελκύσει μεγάλο ενδιαφέρον καθώς εξελίχθηκε ως μια τεχνική προσυγκέντρωσης με τη χρήση ελάχιστου διαλύτη. Η μικροεκχύλιση υγρής φάσης (LPME) χρησιμοποιεί φθηνές συσκευές, ουσιαστικά ελαχιστοποιεί την κατανάλωση διαλύτη και συνδυάζει την εκχύλιση, την προσυγκέντρωση και τη δειγματοληψία σε ένα μόνο βήμα. Η συνεχής έρευνα για την βελτιστοποίηση της μικροεκχύλισης υγρής φάσης (LPME) έχει οδηγήσει στην ανάπτυξη πολλών μοντέλων, βασισμένα σε αυτή τη μέθοδο, με διάφορες ονομασίες. Οι σημαντικότερες από αυτές τις νέες τεχνικές είναι:

🚦 Η μικροεκχύλιση υγρής φάσης με κοίλη μεμβράνη (LPME/HF)

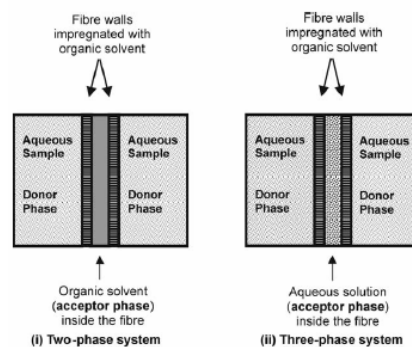
Περιλαμβάνει δύο πειραματικές διατάξεις:



α) συχνά για ιατρικά δείγματα

β) συχνά για περιβαλλοντικά δείγματα

Η μεμβράνη που χρησιμοποιείται μπορεί να είναι δυο μορφών για σύστημα:



α) δύο φάσεων

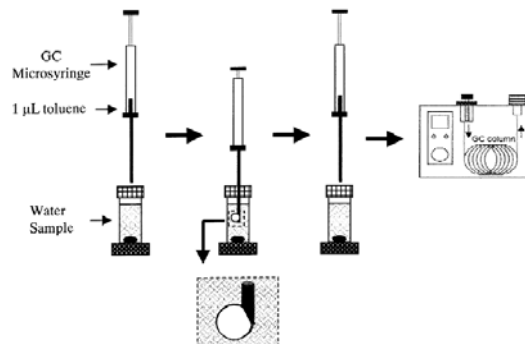
β) τριών φάσεων

Εφαρμογές:

- ✓ PAHs, Αρωματικοί πολυκυκλικοί υδρογονάνθρακες
- ✓ Φθαλικοί εστέρες (Πλαστικοποιητές)
- ✓ Οργανοφωσφορικά και N-μεθυλοκαρβαμίδια (Εντομοκτόνα)
- ✓ Νιτροαρωματικές ενώσεις (Εκρηκτικά)
- ✓ Αρωματικές αμίνες

🚦 Η άμεση μικροεκχύλιση υγρής φάσης με μονή σταγόνα (SDME)

Περιλαμβάνει την πειραματική διάταξη:



Διακρίνεται σε:

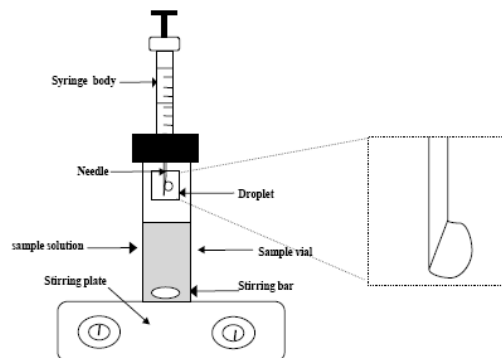
- στατική μικροεκχύλιση υγρής φάσης (*static* LPME)
- δυναμική μικροεκχύλιση υγρής φάσης (*dynamic* LPME)

Εφαρμογές:

- ✓ Νιτροαρωματικά εκρηκτικά
- ✓ Οργανοχλωριωμένα εντομοκτόνα
- ✓ Προγεστερόνη
- ✓ Χλωροβενζόλια
- ✓ Οργανοφωσφορικά εντομοκτόνα
- ✓ Αλκυλοφαινόλες (Alkylphenols)

🚦 *Η μικροεκχύλιση υγρής φάσης του υπερκείμενου χώρου (headspace SDME)*

Περιλαμβάνει την πειραματική διάταξη:



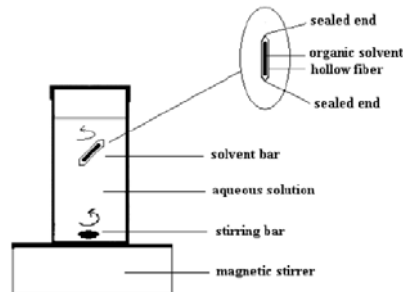
Εφαρμογές:

- ✓ **BTEX** (βενζόλιο, τολουόλιο, αιθυλοβενζόλιο και ο-ξυλόλιο)
- ✓ **VOCs** (Πτητικές οργανικές ενώσεις)
- ✓ **PAHs** (Πολυκυκλικοί αρωματικοί υδρογονάνθρακες)
- ✓ Υδρίδιο του μεθυλουδραργύρου (MeHgH)
- ✓ Προσδιορισμός αρσενικού As(III) , σελούριου Se(IV) και αντιμόνιου Sb(III)
- ✓ Τριαλομεθάνια (Trihalomethanes, THMs)
- ✓ Οργανοκασσιτερικές ενώσεις
- ✓ Μέθυλο-t-βούτυλο αιθέρας (methyl t-butylether, MTBE)
- ✓ Αλειφατικές αμίνες

Εναλλακτικές μέθοδοι

1) Η μικροεκχύλιση υγρής φάσης με ράβδο (SBME)

Περιλαμβάνει την πειραματική διάταξη:

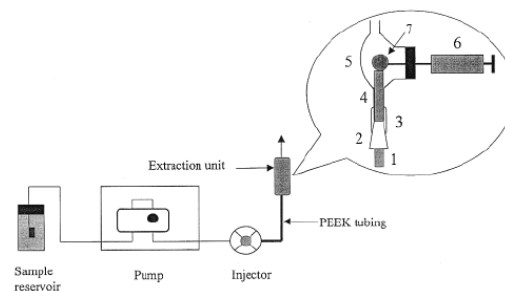


Εφαρμογές:

- ✓ Χλωροφαινοξυ οξικά οξέα (Ζιζανιοκτόνα)
- ✓ Πενταχλώροβενζόλιο (PCB) και εξάχλωροβενζόλιο (HCB)

2) Η μικροεκχύλιση υγρής φάσης συνεχούς ροής (CFME)

Περιλαμβάνει την πειραματική διάταξη:



Εφαρμογές:

- ✓ Πτητικά αλκυλαλογονίδια, VHHs

6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Γ. Βούτσινος, Κ. Κοσμάς, Γ. Καλκάνης, Κ. Σούτσας, *‘Διαχείριση φυσικών πόρων’*, 29, 2004
2. Θ. Π. Χατζηϊωάννου, Μ. Α. Κούππαρη, *‘Ενόργανη Ανάλυση’*, Πανεπιστημίου Αθηνών, 377-388, 2000
3. E. Psillakis, N. Kalogerakis, *‘Developments in liquid-phase microextraction’*, Trends in Analytical Chemistry, 22 (10): 565-574, 2003
4. S. Pedersen-Bjergaard, K. E. Rasmussen, *‘Liquid-liquid-liquid microextraction for sample preparation of biological fluids prior to capillary electrophoresis’*, Anal. Chem., 76: 2650-2656, 1999
5. T. S. Ho, S. Pedersen-Bjergaard, K. E. Rasmussen, *‘Recovery, enrichment and selectivity in liquid-phase microextraction. Comparison with conventional liquid-liquid extraction’*, Journal of Chromatography A, 963: 3-17, 2002
6. M. Charalabaki, E. Psillakis, D. Mantzavinou, N. Kalogerakis, *‘Analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in wastewater treatment plant effluents using hollow fiber liquid-phase microextraction’*, Chemosphere 60 (5): 690-698, 2005
7. E. Psillakis, N. Kalogerakis, *‘Hollow-fiber liquid phase microextraction of phthalate esters from water’*, Journal of Chromatography A, 999: 145-153, 2003
8. D. A. Lamboropoulou, T. A. Albanis, *‘Application of hollow fiber liquid phase microextraction for the determination of insecticides in water’*, Journal of Chromatography A, 1072: 55-61, 2005
9. E. Psillakis, D. Mantzavinou, N. Kalogerakis, *‘Development of a hollow fibre liquid phase microextraction method to monitor the sonochemical degradation of explosives in water’*, Analytica Chimica Acta, 501: 3-10, 2004
10. A. Sarafray Yazdi, Z. Es’ hagh, *‘Two-step hollow fiber-based, liquid-phase microextraction combined with high-performance liquid chromatography: A new approach to determination of aromatic amines in water’*, Journal of Chromatography A, 1082: 136-142, 2005

11. L. Zhao, L. Zhu, H. K. Lee, '*Analysis of aromatic amines in water samples by liquid-liquid-liquid microextraction with hollow fibers and high-performance liquid chromatography*', Journal of Chromatography A, 963: 239-248, 2002
12. K. E. Rasmussen, S. P-Bjergaard, '*Developments in hollow fibre-based, liquid-phase microextraction*', Trends in Analytical Chemistry, 23 (1):1-10, 2004
13. E. Psillakis, N. Kalogerakis, '*Developments in single-drop microextraction*', Trends in analytical chemistry, 21, (1): 53-63, 2002
14. E. Psillakis, N. Kalogerakis, '*Solid-phase microextraction versus single-drop microextraction for the analysis of nitroaromatic explosives in water samples*', Journal of Chromatography A., 938: 113-120, 2001
15. M. A. Jeannot, F. F. Cantwell, '*Mass transfer characteristics of solvent extraction into a single drop at the tip of a syringe needle*', Anal. Chem., 69: 235-239, 1997
16. E. Psillakis, N. Kalogerakis, '*Application of solvent microextraction to the analysis of the nitroaromatic explosives in water samples*', Journal of Chromatography A., 907: 211-219, 2001
17. M. A. Jeannot, F. F. Cantwell, '*Solvent microextraction into a single drop*', Anal. Chem., 68: 2236-2240, 1996
18. M. A. Jeannot, F. F. Cantwell, '*Solvent microextraction as a speciation tool: determination of free progesterone in a protein solution*', Anal. Chem., 69: 2935-2940, 1997
19. M. Ma, F. F. Cantwell, '*Solvent microextraction with simultaneous back-extraction for sample cleanup and preconcentration: preconcentration into a single microdrop*', Anal. Chem., 71: 388-393, 1999
20. Y. Wang, Y. C. Kwok, Y. He, H. K. Lee, '*Application of dynamic liquid-phase microextraction to the analysis of chlorobenzenes in water by using a conventional microsyringe*', Anal. Chem., 70: 4610-4614, 1998
21. L. S. de Jager, A. R. J. Andrews, '*Development of a rapid screening technique for organochlorine pesticides using solvent microextraction (SME) and fast gas chromatography (GC)*', Analyst, 125: 1943-1948, 2000

22. Y. He, H. K. Lee, *'Liquid-phase microextraction in a single drop organic solvent by using a conventional microsyringe'*, Anal. Chem., 69: 4634-4640, 1997
23. P. Liang, L. Guo, Y. Liu, S. Liu, T. Zhang, *'Application of liquid-phase microextraction for the determination of phoxim in water samples by high performance liquid chromatography with diode array detector'*, Microchemical Journal, 80: 19-23, 2005
24. D. A. Lambropoulou, E. Psillakis, T. A. Albanis, N. Kalogerakis, *'Single-drop microextraction for the analysis of organophosphorous insecticides in water'*, Analytica Chimica Acta, 516: 205-211, 2004
25. J. Liu, Y. Chi, G. Jiang, C. Tai, J. Peng, J. Hu, *'Ionic liquid-based liquid phase microextraction, a new sample enrichment procedure for liquid chromatography'*, Journal of Chromatography A, 1026: 143-147, 2004
26. L. Vidal, A. Canals, N. Kalogerakis, E. Psillakis, *'Headspace single-drop microextraction for the analysis of chlorobenzenes in water samples'*, Journal of Chromatography A., 1089: 25-30, 2005
27. A. Przyjazny, J. M. Kokosa, *'Analytical characteristics of the determination of benzene, toluene, ethylbenzene and xylenes in water by headspace solvent microextraction'*, Journal of Chromatography A., 977: 143-153, 2002
28. S. Shariati-Feizabadi, Y. Yamini, N. Bahramifar, *'Headspace solvent microextraction and gas chromatographic determination of some polycyclic aromatic hydrocarbons in water samples'*, Analytica Chimica Acta 489: 21-31, 2003
29. A. L. Theis, A. J. Waldack, S. M. Hansen, M. A. Jeannot, *'Headspace solvent microextraction'*, Anal. Chem., 73: 5651-5654, 2001
30. S. Gil, S. Fragueiro, I. Lavilla, C. Bendicho, *'Determination of methylmercury by electrothermal atomic absorption spectrometry using headspace single-drop microextraction with in situ hydride generation'*, Spectrochimica Acta, Part B 60: 145-150, 2005
31. S. Fragueiro, I. Lavilla and C. Bendicho, *'Headspace sequestration of arsine onto a Pd(II)-containing aqueous drop as a preconcentration method for electrothermal atomic absorption spectrometry'*, Spectrochimica Acta, Part B 59: 851-855, 2004

32. R. S. Zhao, W. J. Lao, X. B. Xu, '*Headspace liquid-phase microextraction of trihalomethanes in drinking water and their gas chromatographic determination*', Talanta 62: 751-756, 2004
33. M.A. Jeannot and F.F. Cantwell., '*Mass Transfer Characteristics of Solvent Extraction into a Single Drop at the Tip of a Syringe Needle*', Anal. Chem. 69: 235, 1997
34. V. Colombini, C. Bancon-Montigny, L. Yang, P. Maxwell, R. E. Sturgeon, Z. Mester, '*Headspace single-drop microextraction for the detection of organotin compounds*', Talanta 63: 555-560, 2004
35. N. Bahramifar, Y. Yamini, S. Shariati-Feizabadi, M. Shamsipur, '*Trace analysis of methyl tert-butyl ether in water samples using headspace solvent microextraction and gas chromatography-flame ionization detection*', Journal of Chromatography A, 1042: 211-217, 2004
36. M. Kaykhaii, S. Nazari, M. Chamsaz, '*Determination of aliphatic amines in water by gas chromatography using headspace solvent microextraction*', Talanta, 65: 223-228, 2005
37. M. Saraji, '*Dynamic headspace liquid-phase microextraction of alcohols*', Journal of Chromatography A, 1062: 15-21, 2005
38. Y. Yamini, M. Hojjati, M. Haji-Hosseini, M. Shamsipur, '*Headspace solvent microextraction - A new method applied to the preconcentration of 2-butoxyethanol from aqueous solutions into a single microdrop*', Talanta, 62: 265-270, 2004
39. J. M. Kokosa, A. Przyjazny, '*Headspace microdrop analysis - an alternative test method for gasoline diluent and benzene, toluene, ethylbenzene and xylenes in used engine oils*', Journal of Chromatography A., 983: 205-214, 2003
40. A. S. Yazdi, H. Assadi, '*Determination of trace of methyl tert-butyl ether in water using liquid drop headspace sampling and GC*', Chromatographia, 60: 699-702, 2004
41. M. Chamsaz, M. H. Arbab-Zavar, S. Nazari, '*Determination of arsenic by electrothermal atomic absorption spectrometry using headspace liquid phase microextraction after in situ hydride generation*', Journal of analytical atomic spectrometry, 18: 1279-1282, 2003

42. J. F. Peng, J. F. Liu, G. Jiang, C. Tai, M. Huang, '*Ionic liquid for high temperature headspace liquid-phase microextraction of chlorinated anilines in environmental water samples*', Journal of Chromatography A, 1072: 3-6, 2005
43. M. B. Melwanki, S. Huang, '*Three-phase system in solvent bar microextraction: An approach for the sample preparation of ionizable organic compounds prior to liquid chromatography*', Analytica Chimica Acta, 1-7, 2005
44. X. Jiang, H. K. Lee, '*Solvent bar microextraction*', 76: 5591-5596, 2004
45. Y. Li, T. Zhang, P. Liang, '*Application of continuous-flow liquid-phase microextraction to the analysis of volatile halohydrocarbons in water*', Analytica Chimica Acta, 536: 245-249, 2005
46. W. Liu, H. K. Lee, '*Continuous-flow microextraction exceeding 1000-fold concentration of dilute analytes*', Anal. Chem., 72: 4462-4467, 2000