



ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ ΚΡΗΤΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ
ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ
«Περιβαλλοντική και Υγειονομική Μηχανική»

Διδακτορική Διατριβή
ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΚΑΙ ΤΥΧΗ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ ΚΑΙ
ΠΡΟΙΟΝΤΩΝ ΠΡΟΣΩΠΙΚΗΣ ΦΡΟΝΤΙΔΑΣ ΣΤΟ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ

Τσουρουνάκη Κωστούλα
Χημικός, MSc

ΧΑΝΙΑ, 2015



ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ ΚΡΗΤΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ
ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ

«Περιβαλλοντική και Υγειονομική Μηχανική»

Η παρούσα εργασία υπεβλήθη ως μέρος των υποχρεώσεων για την απονομή του διδακτορικού διπλώματος ειδίκευσης του Μεταπτυχιακού Προγράμματος Σπουδών «Περιβαλλοντική και Υγειονομική Μηχανική» και παρουσιάστηκε στην Επταμελή Επιτροπή αποτελούμενη από τους:

1. ΕΛΕΥΘΕΡΙΑ ΨΥΛΛΑΚΗ - Επιβλέπουσα

Καθηγήτρια, Τομέας Σχεδιασμού & Ανάπτυξης Περιβαλλοντικών Διεργασιών (II), Σχολή Μηχανικών Περιβάλλοντος, Πολυτεχνείο Κρήτης, Χανιά, Ελλάδα

2. ΝΙΚΟΛΑΟΣ ΝΙΚΟΛΑΙΔΗΣ- Συμβουλευτική Επιτροπή

Καθηγητής, Τομέας Περιβαλλοντικής Υδραυλικής και Γεωπεριβαλλοντικής Μηχανικής (III), Σχολή Μηχανικών Περιβάλλοντος, Πολυτεχνείο Κρήτης, Χανιά, Ελλάδα

3. MARIA LLOMPART- Συμβουλευτική Επιτροπή

Professor, Department of Analytical Chemistry, University of Santiago de Compostela, Spain

4. ΝΙΚΟΛΑΟΣ ΚΑΛΟΓΕΡΑΚΗΣ

Καθηγητής, Τομέας Σχεδιασμού & Ανάπτυξης Περιβαλλοντικών Διεργασιών (II), Σχολή Μηχανικών Περιβάλλοντος, Πολυτεχνείο Κρήτης, Χανιά, Ελλάδα

5. ΜΙΧΑΗΛ ΛΑΖΑΡΙΔΗΣ

Καθηγητής, Τομέας Σχεδιασμού & Ανάπτυξης Περιβαλλοντικών Διεργασιών (II), Σχολή Μηχανικών Περιβάλλοντος, Πολυτεχνείο Κρήτης, Χανιά, Ελλάδα

6. ΕΥΑΓΓΕΛΟΣ ΔΙΑΜΑΝΤΟΠΟΥΛΟΣ

Καθηγητής, Τομέας Σχεδιασμού & Ανάπτυξης Περιβαλλοντικών Διεργασιών (II), Σχολή Μηχανικών Περιβάλλοντος, Πολυτεχνείο Κρήτης, Χανιά, Ελλάδα

7. ΝΙΚΟΛΑΟΣ ΞΕΚΟΥΚΟΥΛΩΤΑΚΗΣ

Επίκουρος Καθηγητής, Τομέας Σχεδιασμού & Ανάπτυξης Περιβαλλοντικών Διεργασιών (II), Σχολή Μηχανικών Περιβάλλοντος, Πολυτεχνείο Κρήτης, Χανιά, Ελλάδα

Στην οικογένεια μου

Η κα Τσουρουνάκη Κωστούλα κλήθηκε να παρουσιάσει τη διδακτορική διατριβή με τίτλο: ‘‘Ανίχνευση και τύχη φαρμακευτικών ενώσεων και προϊόντων προσωπικής φροντίδας στο περιβάλλον’’, στα πλαίσια του Προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών ‘‘Περιβαλλοντική και Υγειονομική Μηχανική’’ της σχολής Μηχανικών Περιβάλλοντος του Πολυτεχνείου Κρήτης, ενώπιον επταμελούς επιτροπής για την απόκτηση του διδακτορικού τίτλου. Η παρούσα έρευνα εκπονήθηκε στο εργαστήριο Υδατικής Χημείας της παραπάνω σχολής υπό την καθοδήγηση της Καθηγήτριας Ελευθερίας Ψυλλάκη κατά την διάρκεια των ετών 2009-2015 και έχει συγχρηματοδοτηθεί από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο - ΕΚΤ) και από εθνικούς πόρους μέσω του Επιχειρησιακού Προγράμματος «Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση» του Εθνικού Στρατηγικού Πλαισίου Αναφοράς (ΕΣΠΑ) – Ερευνητικό Χρηματοδοτούμενο Έργο: Ηράκλειτος II . Επένδυση στην κοινωνία της γνώσης μέσω του Ευρωπαϊκού Κοινωνικού Ταμείου.



ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Στο τέλος αυτού του ταξιδιού γεμάτου με επίπονες προσπάθειες, πρόσκαιρες στιγμές χαράς που διαδέχονταν οι απογοητεύσεις και άπειρες αναζητήσεις για το άγνωστο, κοιτάζω πίσω και αισθάνομαι ότι έχω απολαύσει το έργο αυτό, μαθαίνοντας πολλά πράγματα όχι μόνο σε επιστημονικό επίπεδο, αλλά και πάνω απ' όλα σε προσωπικό επίπεδο και αυτό το οφείλω κυρίως σε όλους τους ανθρώπους που με συνόδευαν σε αυτό το στάδιο της ζωής μου. Σίγουρα σε μια κόλλα χαρτί δε μπορούν να συμπεριληφθούν όλοι αυτοί οι άνθρωποι, που με στήριζαν όλα αυτά τα χρόνια και στους οποίους οφείλω πολλές ευχαριστίες, όμως είναι και θα είναι πάντα μες την καρδιά μου.

Ιδιαίτερα ευχαριστώ τα μέλη της συμβουλευτικής και εξεταστικής επιτροπής του Πολυτεχνείου Κρήτης για τη διάθεση των πολύτιμων γνώσεών τους στη διόρθωση και αξιολόγηση της παρούσας εργασίας και ιδιαιτέρως την Καθηγήτρια Ελευθερία Ψυλλάκη για τη βοήθεια και την οικονομική υποστήριξή της.

Ένα μεγάλο ευχαριστώ στους ανθρώπους που εργάζονται στη Σχολή Μηχανικών Περιβάλλοντος, που μου επέτρεψαν να επιτελέσω αυτό το έργο στις εγκαταστάσεις της συγκεκριμένης σχολής.

Θα ήθελα να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου στην δόκτωρ Τυροβολά Κωνσταντίνα, η οποία αποτέλεσε κλειδί στην έναρξη αυτού του διδακτορικού και την ευχαριστώ πολύ για τη βοήθεια, τις γνώσεις αλλά και την ηθική της υποστήριξη προς το πρόσωπό μου.

Δεν πρέπει βέβαια να ξεχάσω όλους εκείνους τους συμφοιτητές μου που κατά καιρούς πέρασαν από το εργαστήριο και με την αύρα τους και την άριστη συνεργασία τους πέρασαν ευχάριστα όλα αυτά τα χρόνια.

Όλο αυτό το μακρύ ταξίδι της γνώσης δε θα μπορούσα να το διαβώ αν κοντά μου δεν είχα τους αγαπημένους γονείς μου τον Στυλιανό και τη Γεωργία Τσουρουνάκη, το Νικόλαο και την Άννα Γιαννικάκη, την αδελφή μου Αριστέα Τσουρουνάκη, τα ανιψάκια μου Ζαχαρία και Στυλιανό Σολανάκη, το παιδί μου Αννούλα Γιαννικάκη καθώς και το σύζυγο μου Γεώργιο Γιαννικάκη. Ήταν πάντα δίπλα μου και με στήριζαν σε κάθε μου προσπάθεια και με ενθαρρύνουν να συνεχίζω τη σκληρή δουλειά, δίνοντας μου καθημερινά κουράγιο. Σας αγαπώ πολύ!

**Η ανακάλυψη συνίσταται στο να βλέπεις
αυτό που βλέπει ο καθένας και να σκέφτεσαι
αυτό που δεν σκέφτεται κανένας.**

*Albert von Szent-Gyorgyi, 1893-1986, Ούγγρος
φυσιολόγος*

*Ανακάλυψε τη Βιταμίνη C. Τιμήθηκε με Νόμπελ
Ιατρικής.*



ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ



Πίνακας Περιεχομένων

ABSTRACT	20
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	23
Κ Ε Φ Α Λ Α Ι Ο 1	28
ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	28
1.1 Η ΑΝΑΛΥΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ	30
1.2 ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ	31
1.3 ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΕΚΧΥΛΙΣΗΣ	32
1.3.1 Υγρή – υγρή εκχύλιση (liquid – liquid extraction, LLE)	32
1.3.2 Εκχύλιση στερεής φάσης (solid phase extraction, SPE).....	33
1.4 ΜΙΚΡΟΕΚΧΥΛΙΣΗ ΥΓΡΗΣ ΦΑΣΗΣ (LIQUID PHASE MICROEXTRACTION, LPME).....	36
1.4.1. Μικροεκχύλιση μονής-σταγόνας (single – drop microextraction, SDME).....	37
1.4.2 Υγρή-υγρή μικροεκχύλιση διασποράς (dispersive liquid-liquid microextraction, DLLME)	39
1.4.3 Μικροεκχύλιση υγρής φάσης με σωληνοειδή μεμβράνη (hollow fiber -liquid phase microextraction, HF-LPME).....	40
1.5 ΜΙΚΡΟΕΚΧΥΛΙΣΗ ΣΤΕΡΕΗΣ ΦΑΣΗΣ (solid phase microextraction, SPME)	51
1.5.1 Βασικές αρχές της SPME	53
1.5.2 Στάδια της μεθόδου	55
1.5.3 Τύποι εκχύλισης.....	57
1.5.4 Παράγοντες που επηρεάζουν την αποτελεσματικότητα της εκχύλισης	59
1.6 ΦΩΤΟΑΠΟΔΟΜΗΣΗ.....	68
1.6.1 Μηχανισμοί αποδόμησης.....	68
1.6.2 Η κινητική των διεργασιών αποδόμησης.....	71
1.7 ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΣΤΟ ΠΡΟΒΛΗΜΑ	73
1.8 ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ ΚΑΙ ΣΤΟΧΟΙ	75
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	75
Κ Ε Φ Α Λ Α Ι Ο 2	80
ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΤΗΣ ΜΙΚΡΟΕΚΧΥΛΙΣΗΣ ΥΓΡΗΣ ΦΑΣΗΣ ΜΕ ΣΩΛΗΝΟΕΙΔΗΜΕΜΒΡΑΝΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΚΧΥΛΙΣΗ ΤΕΣΣΑΡΩΝ ΠΑΡΑΒΕΝΙΩΝ ΑΠΟ ΥΔΑΤΙΝΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ	80
2 ABSTRACT	82

2 ΠΕΡΙΛΗΨΗ	82
2.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	83
2.2. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	85
2.2.1. Αντιδραστήρια	85
2.2.2. Διαλύματα.....	86
2.2.3. Συλλογή δειγμάτων.....	87
2.2.4. HF-LPME διαδικασία	87
2.2.5. Αναλυτική διαδικασία	88
2.3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	89
2.3.1. Βελτιστοποίηση της HF-LPME μεθόδου.....	89
2.3.2. Απόδοση της μεθόδου.....	97
2.3.3. Έλεγχος της ικανότητας εφαρμογής της προτεινόμενης μεθόδου σε φυσικά δείγματα.....	98
2.3.4. Ανάλυση δειγμάτων που προέρχονται από μπανιέρα μωρών	100
2.4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	100
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	101
 Κ Ε Φ Α Λ Α Ι Ο 3	104
ΦΩΤΟΑΠΟΔΟΜΗΣΗ ΤΕΣΣΑΡΩΝ ΠΑΡΑΒΕΝΙΩΝ ΣΕ ΔΙΑΦΟΡΑ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΥΠΟ ΤΗΝ ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΥΠΕΡΙΩΔΟΥΣ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑΣ	104
3. ABSTRACT	106
3. ΠΕΡΙΛΗΨΗ	106
3.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	107
3.2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	109
3.2.1 Χημικά	109
3.2.2. Η συλλογή των δειγμάτων	110
3.2.3. Μετρήσεις φασμάτων UV	111
3.2.4. Διαδικασία φωτοαποδόμησης.....	112
3.2.5. Αναλυτική διαδικασία	112
3.3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	113
3.3.1 Προκαταρτικές μελέτες	113
3.3.2. Επίδραση διαφόρων παραμέτρων	114
3.4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	134
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	134

Κ Ε Φ Α Λ Α Ι Ο 4	138
ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΤΗΣ ΜΙΚΡΟΕΚΧΥΛΙΣΗΣ ΣΤΕΡΕΑΣ ΦΑΣΗΣ ΓΙΑ ΤΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΦΩΤΟΛΥΣΗΣ ΤΩΝ ΕΝΤΟΜΟΑΠΩΘΗΤΙΚΩΝ ΣΕ ΥΛΑΤΙΝΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ.....	138
4. ABSTRACT	140
4. ΠΕΡΙΛΗΨΗ	141
4.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	141
4.2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	144
4.2.1 Χημικά και προετοιμασία δειγμάτων.....	144
4.2.2. Η συλλογή των δειγμάτων	145
4.2.3. Διαδικασία φωτοαποδόμησης.....	147
4.2.4. Σκοτεινές και θερμικές δοκιμές	147
4.2.5. Διαδικασία εκχύλισης	147
4.2.7. Αναλυτική διαδικασία	148
4.3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	149
4.3.1 Προκαταρκτικά πειράματα	149
4.3.2. Επίδραση διαφόρων παραμέτρων στην φωτοαποδόμηση.....	149
4.4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	159
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	159
Κ Ε Φ Α Λ Α Ι Ο 5	164
ΓΕΝΙΚΑ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΕΣ ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΕΙΣ	164

ΠΕΡΙΛΗΨΗ



ABSTRACT

In the present thesis, different novel, powerful and “green” analytical protocols used for rapid and accurate measurement of trace amounts of insect repellents and parabens in various aqueous matrices. The detection of these pollutants was carried out using the solid phase micro-extraction (SPME) and liquid phase micro-extraction (LPME). The study of the photolytic fate of these compounds was monitored in various aqueous environmental matrices in order to determine the rates of decomposition and the effect of environmental matrix in the process of photolysis.

More specifically, in chapter 1 of this thesis a brief overview of basic sample preparation techniques and a more detailed description in the hollow fiber liquid phase microextraction (HF-LPME) and SPME is discussed. The various degradation mechanisms and kinetics, that pollutants may follow in the environment are also reported.

In chapter 2, the applicability of three phase HF-LPME coupled to liquid chromatography- multiple wavelength detector for the extraction of four parabens (methyl-, ethyl-, propyl- and butyl- paraben) from environmental water samples is demonstrated.

Parameters such as extraction solvent, volume and pH of donor and acceptor solution, agitation speed of the aqueous sample and sampling time were controlled and optimised. Target analytes were extracted for 30 min from 14 mL of aqueous samples adjusted to pH 6 (donor solution) stirred at 1000 rpm through a thin phase of 1-octanol inside the pores of a 5.5 cm polypropylene hollow fiber and finally into a 18 μ L basic acceptor solution placed in the lumen of the hollow fiber.

The method provides isolation and preconcentration of the analytes as well as a final extract compatible with LC analysis without additional purification. The calculated calibration curves gave a high level of linearity for all target analytes in the range of 0.5-1000 $\mu\text{g L}^{-1}$ with correlation coefficients higher than 0.9955. The repeatability of the proposed method, expressed as relative standard deviation varied between 1.6 and 7.0 % ($n = 5$) and 3.5 and 8.9 % ($n = 5$) for 10 and 100 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectively. The limits of detection were in the low $\mu\text{g L}^{-1}$ concentration level. The applicability of the developed HF-LPME was demonstrated for real water samples. In particular, three different water samples originating from baby bathwater were analysed.

In addition, the simplicity of the device and the low consumption of organic solvents made this method a cheap, green and easy procedure opening new pathways in environmental analysis.

In chapter 3, the present thesis investigated the degradation of four parabens in ultrapure, natural waters and treated wastewater subjected to ultraviolet irradiation (16 W, 254 nm). The effect of operating conditions such as initial concentration and pH on the photodegradation of the parabens was studied. The results indicated that under direct photolysis with monochromatic light at 254 nm, nearly complete photoremoval of parabens (10 $\mu\text{g mL}^{-1}$) could be achieved within 90 min of irradiation and the photochemical rates followed pseudo first-order kinetics. The removal of parabens was accelerated faster at pH 5 rather than at pH 7 and 11. The effect of important constituents of natural waters: (i.e. humic acids (HA) and nitrate ions) was also investigated the results showed that both of them act as filters in the aqueous photolysis of parabens. The presence of salt (NaCl) and 1-butanol in the ultrapure water solutions was also investigated on the degradation. 1-butanol as radical scavenger was found not to affect the photolytic rates of parabens, but the salt had a

minor effect on target analytes. The environmental waters inhibited the photodegradation of parabens compared to ultrapure water. The inhibition followed the order of river water < treated wastewater < seawater. The photodegradation of parabens employing ultraviolet (UV) irradiation may emerge as a viable method for the future because of its cost efficiency.

In chapter 4, the photodegradation of two insect repellents (di-n-propylisocinchomeronate, R-326 and butyl-3,4-dihydro-2,2-dimethyl-4-oxo-2H-pyran-6-carboxylate, butopyronoxyl) was investigated under UV irradiation in river water, treated sewage as well as in ultrapure water. The SPME coupled to mass spectrometry - gas chromatography was used to monitor a trace amounts of insect repellents. Several parameters, that influence the kinetics of degradation were assessed as the effect of the initial concentration of insect repellents and certain environmental factors, including sodium chloride and potassium nitrate. The effect of 1-butanol (radical scavenger) in the degradation process of the insect repellents was also studied. It was found that photodegradation proceeds via a pseudo-first order reaction and that the degradation amount in the presence of nitrate ions and 1-butanol is not significantly affected. Degradation rate of butopyronoxyl was enhanced by the presence of sodium chloride salt, unlike, the degradation rate of R-326 decreased. Investigations on river and treated wastewater samples spiked with R-326 revealed that photolysis is enhanced in the order river > treatment wastewater.

To the best of our knowledge the present work represents the first attempt to characterize the photochemistry of R-326 and butopyronoxyl, and as such some points need much more study. At this stage of the study our efforts were most focused on determining the mechanisms of decomposition and the effect of environmental matrix on the process of photolysis and not to identify the possible products formed. In

summary, the use of SPME constitutes a powerful tool that clearly simplifies monitoring of photo-transformation processes.

In chapter 5 of this thesis, conclusions and proposals for future investigation are presented.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην παρούσα διατριβή, χρησιμοποιήθηκαν νέα, ισχυρά και "πράσινα" αναλυτικά πρωτόκολλα για την ταχεία και ακριβή μέτρηση μικροποσοτήτων εντομοαπωθητικών και παραβένιων σε διάφορες υδατικές μήτρες. Η ανίχνευση αυτών των ρύπων διεξήχθη χρησιμοποιώντας τη μικροεκχύλισης στερεά φάσης (solid phase microextraction, SPME) και τη μικροεκχύλιση υγρής φάσης (liquid phase microextraction, LPME). Ακολούθησε μελέτη της φωτολυτικής τύχης αυτών των ενώσεων σε διάφορες υδάτινες περιβαλλοντικές μήτρες, προκειμένου να καθοριστούν οι ρυθμοί αποσύνθεσης και η επίδραση της περιβαλλοντικής μήτρας στη διαδικασία της φωτόλυσης.

Πιο συγκεκριμένα, το πρώτο κεφάλαιο της παρούσα διατριβής παρέχει μια σύντομη επισκόπηση των βασικών τεχνικών παρασκευής δείγματος καθώς και μια λεπτομερέστερη περιγραφή της μικροεκχύλισης υγρής φάσης με σωληνοειδή μεμβράνη (hollow fiber liquid phase microextraction, HF-LPME) και της SPME. Επίσης αναφέρθηκαν οι διάφοροι μηχανισμούς αποδόμησης, καθώς και οι κινητικές, που μπορούν να ακολουθήσουν οι ρύποι στο περιβάλλον.

Στο δεύτερο κεφάλαιο, αποδεικνύεται η εφαρμοσιμότητα της HF-LPME συζευγμένη με υγρή χρωματογραφία και ανιχνευτή πολλαπλών μήκων κύματος για την εξαγωγή

και ανίχνευση των τεσσάρων παραβενίων (μεθυλ-, αιθυλ-, προπυλ- και βουτυλ παραβενίου) από περιβαλλοντικά δείγματα νερού.

Παράμετροι όπως ο διαλύτης εκχύλισης, ο όγκος και το pH του διαλύματος δότη και δέκτη, η ταχύτητα ανάδευσης του υδατικού δείγματος και ο χρόνος δειγματοληψίας ελέγχθηκαν και να βελτιστοποιήθηκαν. Οι αναλυτές εκχυλίστηκαν για 30 min από 14 mL υδατικού δείγματος, του οποίου το pH είχε ρυθμιστεί στην τιμή 6 (διάλυμα δότης) και αναδεύονταν με ταχύτητα 1000 rpm, μέσω μιας λεπτής φάσης από 1-οκτανόλη, η οποία βρισκόταν ακινητοποιημένη μέσα στους πόρους μιας 5,5 cm σωληνοειδούς μεμβράνης από πολυπροπυλένιο και τελικά σε 18 μ L βασικού διαλύματος δέκτη, που βρισκόταν στον αυλό της σωληνοειδούς μεμβράνης.

Η μέθοδος παρέχει την απομόνωση και προσυγκέντρωση των αναλυτών, καθώς και ένα τελικό εκχύλισμα συμβατό για την ανάλυση με υγρή χρωματογραφία χωρίς επιπλέον καθαρισμό. Οι καμπύλες βαθμονόμησης έδωσαν ένα υψηλό επίπεδο γραμμικότητας για όλους τους αναλύτες σε εύρος 0,5-1000 μ g L⁻¹ με συντελεστές συσχέτισης μεγαλύτερους από 0,9955. Η επαναληψιμότητα της προτεινόμενης μεθόδου, που εκφράζεται ως σχετική τυπική απόκλιση κυμάνθηκε μεταξύ 1,6 και 7,0 % (n = 5), και 3,5 και 8,9% (n = 5) για 10 και 100 μ g L⁻¹, αντίστοιχα. Τα όρια ανίχνευσης ήταν σε χαμηλά επίπεδα της τάξης των μ g L⁻¹. Η HF-LPME αποδείχθηκε για πραγματικά δείγματα νερού. Ειδικότερα, αναλύθηκαν τρία διαφορετικά δείγματα νερού που προέρχονται από εκπλύματα της μπανιέρας μωρών.

Επιπλέον, η απλότητα της συσκευής και η χαμηλή κατανάλωση οργανικών διαλυτών κατέστησε τη μέθοδο αυτή φτηνή, πράσινη και εύκολη ανοίγοντας νέους δρόμους στην περιβαλλοντική ανάλυση.

Στο τρίτο κεφάλαιο, η παρούσα διατριβή διερεύνει επίσης την αποδόμηση τεσσάρων παραβενίων σε υπερκάθαρο, φυσικό νερό και επεξεργασμένα αστικά λύματα υποβάλλοντάς τα σε υπεριώδη ακτινοβολία (ultraviolet, UV) (16 W, 254 nm). Μελετήθηκαν η επίδραση των συνθηκών λειτουργίας, όπως η αρχική συγκέντρωση και το pH στην φωτοαποδόμηση των παραβενίων. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι υπό την άμεση φωτόλυση με μονοχρωματικό φως στα 254 nm θα μπορούσε να επιτευχθεί σχεδόν πλήρης φωτοαπομάκρυνση των παραβενίων ($10 \mu\text{g mL}^{-1}$) σε χρόνο ακτινοβολίας 90 min και οι φωτοχημικοί ρυθμοί ακολούθησαν κινητική ψευδο-πρώτης τάξης. Η απομάκρυνση των παραβενίων επιτεύχθηκε ταχύτερα σε pH 5 σε σχέση με το pH 7 και 11. Προσδιορίστηκαν επίσης η επίδραση των σημαντικών συστατικών των φυσικών υδάτων: χουμικά οξέα (humic acids, HA) και νιτρικά ιόντα και τα αποτελέσματα έδειξαν ότι και τα δύο δρουν ως φίλτρα στην υδατική φωτόλυση των παραβενίων. Ερευνήθηκε επιπλέον η παρουσία του άλατος (NaCl) και της 1-βουτανόλη στην αποδόμηση των διαλυμάτων υπερκάθολου νερού. Η 1-βουτανόλη ως μέσο δέσμευσης ριζών διαπιστώθηκε ότι δεν επηρέασε τους φωτολυτικούς ρυθμούς των παραβενίων, αλλά το αλάτι είχε μικρή επίδραση στους αναλύτες. Τα περιβαλλοντικά νερά ανέστειλαν την φωτοαποδόμηση των παραβενίων σε σύγκριση με το υπερκαθαρό νερό. Η αναστολή ακολούθησε της εξής σειράς: νερό ποταμού < επεξεργασμένα λύματα < θαλασσινό νερό. Η φωτοαποδόμηση των παραβενίων υπό την επίδραση της UV ακτινοβολίας μπορεί να αναδυθεί ως μια βιώσιμη μέθοδος για το μέλλον λόγω της οικονομικής αποδοτικότητάς της.

Στο τέταρτο κεφάλαιο, ερευνήθηκε η φωτοαποδόμηση δύο εντομοαπωθητικών του R-326 και του butopyronoxyl υπό την επίδραση της UV ακτινοβολίας σε νερό ποταμού, επεξεργασμένο λύμα, καθώς και σε υπερκάθαρο νερό. Η SPME συζευγμένη με αέρια χρωματογραφία φασματομετρία μάζας χρησιμοποιήθηκε για την παρακολούθηση των

ιχνών των εντομοαπωθητικών. Αρκετές παράμετροι, που επηρεάζουν την κινητική αποδόμησης αξιολογήθηκαν, όπως η επίδραση της αρχικής συγκέντρωσης των εντομοαπωθητικών και ορισμένων περιβαλλοντικών παραγόντων, συμπεριλαμβανομένων του χλωριούχου νατρίου και του νιτρικού καλίου. Μελετήθηκε επίσης η επίδραση της 1-βουτανόλης (δεσμευτή ριζών) στη διαδικασία αποδόμησης των εντομοαπωθητικών. Διαπιστώθηκε ότι η φωτοαποικοδόμηση προχωρά μέσω μιας αντίδρασης ψευδο-πρώτης τάξης και ότι τα ποσοστά αποδόμησης δεν επηρεάστηκαν σημαντικά από την παρουσία νιτρικών ιόντων και της 1-βουτανόλης. Ο ρυθμός αποδόμησης του butopyronoxyl ενισχύθηκε με την παρουσία του χλωριούχου νατρίου στο διάλυμα φωτόλυσης, αντίθετα ο ρυθμός αποδόμησης του R326 μειώθηκε. Έρευνες σε δείγματα ποταμού και επεξεργασμένα λύματα εμβολιασμένα με R-326, αποκάλυψαν ότι η φωτόλυση ενισχύεται ακολουθώντας τη σειρά: ποτάμι > επεξεργασμένο λύμα.

Τα αποτελέσματα που παρατηρήθηκαν στα πειράματα φωτοαποδόμησης του R-326 υπό την επίδραση υπεριώδους ακτινοβολίας συγκρίθηκαν επίσης με εκείνα που λήφθηκαν σε πειράματα φωτοαποδόμησης με προσομοιωμένη ηλιακή ακτινοβολία.

Στο καλύτερο της γνώσης μας, η παρούσα εργασία αποτελεί την πρώτη απόπειρα να χαρακτηρίσει την φωτοχημεία του R-326 και του butopyronoxyl, και ως εκ τούτου ορισμένα σημεία χρειάζονται περισσότερη μελέτη. Σε αυτό το στάδιο της μελέτης οι προσπάθειές μας εστιάστηκαν περισσότερο στον προσδιορισμό των μηχανισμών αποσύνθεσης και επίδρασης της περιβαλλοντικής μήτρας στη διαδικασία της φωτόλυσης και όχι στον προσδιορισμό των πιθανών προϊόντων που σχηματίζονται. Συνοψίζοντας, η χρήση της SPME αποτελεί ένα ισχυρό εργαλείο που απλοποιεί την παρακολούθηση σε διαδικασίες φωτομετασχηματισμού.

Στο πέμπτο κεφάλαιο της παρούσας διατριβής παρουσιάζονται συμπεράσματα και προτάσεις για μελλοντική έρευνα.

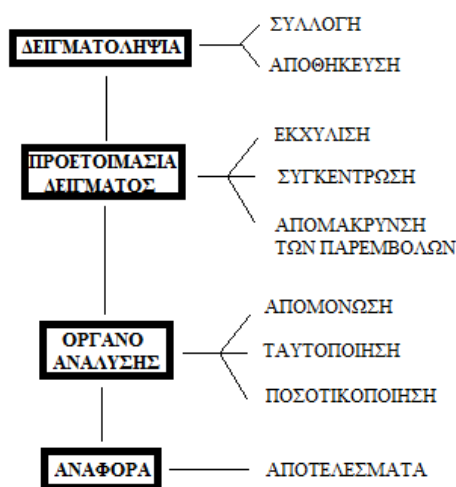
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1.

ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ



1.1 Η ΑΝΑΛΥΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Ο σκοπός μιας αναλυτικής μελέτης είναι να ληφθούν πληροφορίες σχετικά με μια οντότητα ή μια ουσία. Η ουσία μπορεί να είναι ένα στερεό, ένα υγρό, ένα αέριο ή ένα βιολογικό υλικό. Οι πληροφορίες που λαμβάνονται κατά την ανάλυση ποικίλουν. Μπορεί να είναι η χημική ή φυσική σύνθεση, δομικές ή επιφανειακές ιδιότητες, ή μια ακολουθία πρωτεϊνών στο γενετικό υλικό [1]. Παρά το γεγονός ότι τα τελευταία χρόνια η ανάγκη να αναπτυχθούν γρήγορες ακριβείς και ευαίσθητες τεχνικές ανάλυσης, οδήγησε ανάπτυξη πολλών αναλυτικών μεθόδων [2], τα σημερινά αναλυτικά όργανα δεν έχουν εξελιχθεί σε τέτοιο σημείο, ώστε να μπορούν να λάβουν κάθε κομμάτι πληροφορίας ακόμα και σε πολύ μικρό αριθμό δειγμάτων [1]. Η ανάπτυξη μιας ολοκληρωμένης αναλυτικής μεθόδου περιλαμβάνει μια σειρά κοινών βημάτων από τη δειγματοληψία ως την τελική αναφορά των αποτελεσμάτων. Τα ενδιάμεσα βήματα που εμπλέκονται στη διαδικασία της μέτρησης είναι η αποθήκευση και προετοιμασία του δείγματος, η απομόνωση και τελικά η ταυτοποίηση και ποσοτικοποίηση των προς ανάλυση ουσιών όπως φαίνονται στο **Σχήμα 1.1** [1,3].



Σχήμα 1.1. Βήματα στην αναλυτική διαδικασία [1,3].

1.2 ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ

Η προετοιμασία δείγματος είναι μια σειρά από βήματα απαραίτητα για τη μετατροπή ενός δείγματος σε μορφή κατάλληλη για χημική ανάλυση. Συνήθως περιλαμβάνει τα βήματα που απαιτούνται για τη διάλυση του δείγματος, την εκχύλιση του αναλύτη από μια σύνθετη μήτρα, τη χημική μετατροπή του αναλύτη σε ανιχνεύσιμη μορφή, την εξάλειψη των παρεμποδιστών ή τη συγκέντρωση του αραιού αναλύτη σε μετρήσιμο επίπεδο. [4]. Η προετοιμασία των δειγμάτων αποτελεί ένα ουσιαστικό βήμα στην ανάλυση, αφού επηρεάζει σε μεγάλο βαθμό την αξιοπιστία και την ακρίβεια των αποτελεσμάτων, καθώς και το κόστος της ανάλυσης. Τα τελευταία χρόνια η ανάγκη να αναπτυχθούν γρήγορες ακριβείς και ευαίσθητες μεθοδολογίες ανάλυσης, οδήγησε στην ανάπτυξη πολλών αναλυτικών τεχνικών και μεθόδων και σε μεγάλες τεχνολογικές προόδους στα αναλυτικά όργανα. Ωστόσο, η προετοιμασία του δείγματος παραμένει απαραίτητη διαδικασία για την απομόνωση των ουσιών, που μας ενδιαφέρουν από τη μήτρα, επειδή πολλά αναλυτικά όργανα δεν μπορούν να χειριστούν τις μήτρες άμεσα [5]. Ειδικά όταν πρόκειται για διαφορές συνθέτες μήτρες όπως τα εκχυλίσματα φυτών, τα ιζήματα και τα βιολογικά υγρά. Για ανάλυση μικροποσοτήτων οργανικών ενώσεων το στάδιο αυτό περιλαμβάνει την εκχύλιση, η οποία χρησιμεύει στην απομόνωση της ένωσης από την μήτρα του δείγματος. Τελικά η συγκέντρωση των ενώσεων ενισχύεται (εμπλουτισμός) και η παρουσία των ενώσεων στη μήτρα μειώνεται (καθαρισμός δειγμάτων) [2]. Μια ιδανική τεχνική προετοιμασίας δειγμάτων πρέπει να μπορεί εύκολα να χρησιμοποιηθεί και να είναι φτηνή και συμβατή με μια σειρά από αναλυτικά όργανα [5].

1.3 ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΕΚΧΥΛΙΣΗΣ

Η παλαιότερη και πιο βασική μέθοδος προετοιμασίας του δείγματος είναι η εκχύλιση, στην οποία ο αναλυτής έχει ως στόχο να διαχωρίσει την προς ανάλυση ουσία από τη μήτρα του δείγματος χρησιμοποιώντας ένα διαλύτη, με μια βέλτιστη απόδοση και επιλεκτικότητα, έτσι ώστε τα λιγότερα δυνατά παρεμβαλλόμενα είδη να μεταφέρονται μέχρι το αναλυτικό στάδιο διαχωρισμού [6]. Στην ουσία η εκχύλιση είναι μία από τις πιο κλασικές τεχνικές διαχωρισμού και βασίζεται στην ισορροπία κατανομής μιας ουσίας μεταξύ δύο φάσεων, που αναμειγνύονται ελάχιστα μεταξύ τους. Αυτή η μέθοδος συναντάται με πολλές και διαφορετικές εκδοχές ανάλογα με την φυσική κατάσταση του εκχυλιστικού μέσου και της φάσης δότη [7,8].

1.3.1 Υγρή – υγρή εκχύλιση (liquid – liquid extraction, LLE)

Η LLE υπήρξε η πρώτη μέθοδος παρασκευής δείγματος για την επίτευξη αυτού του στόχου, και εξακολουθεί να είναι πολύ δημοφιλής. Η τεχνική LLE, δηλαδή η εκχύλιση ενός διαλύματος με ένα υγρό διαλύτη βασίζεται στην κατανομή της ένωσης υπό ανάλυση, η οποία αποτελεί τη διαλυμένη ουσία του διαλύματος, μεταξύ των δύο διαλυτών που είναι μη αναμίξιμα, δημιουργώντας δύο φάσεις. Στην LLE, ορισμένος όγκος του προς εκχύλιση διαλύματος έρχεται σε επαφή με ορισμένο όγκο εκχυλιστικού μέσου μέσα σε διαχωριστική χοάνη. Έπειτα, το σύστημα αναταράσσεται και αφήνεται σε ηρεμία. Μετά την αποκατάσταση της ισορροπίας, οι δύο φάσεις (συνήθως υδατική και οργανική) διαχωρίζονται και λαμβάνεται εκείνη (συνήθως η οργανική φάση) που περιέχει την ένωση υπό ανάλυση [7].

Παρά το γεγονός ότι η μέθοδος LLE προσφέρει υψηλή επαναληψιμότητα και υψηλό παράγοντα χωρητικότητας ως προς το δείγμα, θεωρείται χρονοβόρα μέθοδος προετοιμασίας δείγματος με πολλά βήματα, καταλήγοντας σε μεγάλες πηγές

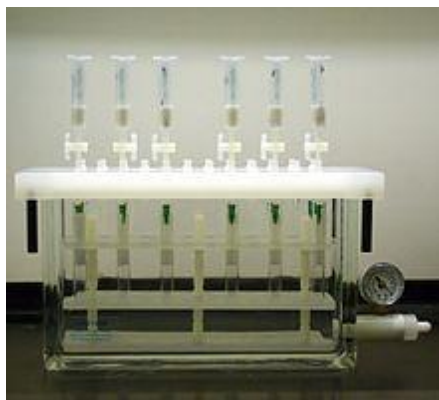
σφαλμάτων στην ανάλυση. Επίσης πρόκειται για μια εξαιρετικής έντασης για το εργατικό δυναμικό διαδικασία, η οποία έχει την τάση προς σχηματισμό γαλακτώματος και απαιτεί σχετικά μεγάλους όγκους δείγματος (τουλάχιστον 0,5-1 mL) και μεγάλες ποσότητες υψηλής καθαρότητας οργανικών διαλυτών, οι οποίοι είναι δυνητικά τοξικοί και δαπανηροί έχοντας ως αποτέλεσμα την παραγωγή επικίνδυνων εργαστηριακών αποβλήτων, όπου η διάθεση τους είναι προβληματική [3,6,9].

1.3.2 Εκχύλιση στερεής φάσης (solid phase extraction, SPE)

Ένας άλλος δημοφιλής τρόπος προετοιμασίας του δείγματος είναι η SPE, η οποία εισήχθη στο εμπόριο στις αρχές του 1970 [3,10] και κατάφερε να αποφύγει ή να ελαχιστοποιήσει τα μειονεκτήματα της LLE. Μειώνει το χρόνο που απαιτείται για την επιθυμητή εκχύλιση, μπορεί να χειριστεί μικρά δείγματα (50-100 μ L), απαιτεί μικρούς όγκους διαλύτη που δεν χρειάζεται να έχουν απαραίτητα υψηλή καθαρότητα όπως στην περίπτωση της LLE και ο σχηματισμός γαλακτωμάτων έχει αποτραπεί. Όμως για να αποκτηθεί υψηλός συντελεστής προσυγκεντρώσεως είναι απαραίτητη η εξάτμιση του μέσου έκλουσης μετά την εκχύλιση. Η σημασία αυτής της τεχνικής ήταν εμφανής από τα πρώτα χρόνια εμφάνισής της, γιατί βρήκε εφαρμογές στην κλινική και περιβαλλοντική ανάλυση, αλλά και στην ανάλυση τροφίμων και ποτών. Επίσης χρησιμοποιήθηκε γρήγορα για την ανάλυση πολυάριθμων διαφορετικών κατηγοριών ενώσεων και σε μία ποικιλία από μήτρες [11]. Στην SPE οι αναλύτες κατανέμονται μεταξύ ενός στερεού προσροφητικού υλικού και ενός υγρού (αντί μεταξύ δύο μη αναμίξιμων υγρών όπως στην LLE) και οι αναλύτες πρέπει να έχουν μεγαλύτερη συγγένεια με την στερεά φάση παρά με τη μήτρα του δείγματος. Ενώσεις που διατηρούνται στη στερεά φάση μπορεί να απομακρύνονται σε ένα μεταγενέστερο στάδιο από έκλουση με ένα διαλύτη, που έχει μεγαλύτερη συγγένεια με τους

αναλύτες. Οι διάφοροι μηχανισμοί διατήρησης ή έκλυσης οφείλονται σε διαμοριακές δυνάμεις μεταξύ του αναλύτη, τις ενεργές θέσεις στην επιφάνεια του προσροφητικού υλικού και την υγρή φάση ή μήτρα [3].

Στο **Σχήμα 1.2**, που ακολουθεί απεικονίζεται μια τυπική συσκευή ταυτόχρονου χειρισμού πολλών στηλών SPE, που διατίθεται το εμπόριο και στην οποία η στατική φάση είναι πακεταρισμένη σε σύριγγες τοποθετημένες πάνω από τη συσκευή. Η πολλαπλή χειρισμού συσκευή επιτρέπει να υποβληθούν σε επεξεργασία πολλά δείγματα ταυτόχρονα. Η ροή ελέγχεται με εφαρμογή κενού, ώστε να εξασφαλιστεί η επαναληψιμότητα των αποτελεσμάτων. Οι αναλύτες συγκεντρώνονται σε σωλήνες δειγμάτων αφού περάσουν μέσα από την στατική φάση .



Σχήμα 1.2 Συσκευή ταυτόχρονου χειρισμού πολλών στηλών SPE (η ροή επιταχύνεται με εφαρμογή κενού).

Φυσίγγια και δίσκοι SPE είναι διαθέσιμα με μία ποικιλία από στατικές φάσεις, καθένα από τα οποία μπορεί να διαχωρίσει αναλύτες σύμφωνα με διαφορετικές χημικές ιδιότητές τους. Σήμερα, διάφοροι τύποι προσροφητικών υλικών έχουν εισαχθεί στην αγορά, ωστόσο η επιλογή του κατάλληλου τύπου προσροφητικού υλικού, αλλά και του διαλύτη έκλυσης είναι πολύ σημαντική για την αποτελεσματική εκχύλιση των αναλυτών [12]. Τα προσροφητικά υλικά διαιρούνται

σε τρεις κύριες κατηγορίες [13]: τα ανόργανα οξείδια, όπως οξείδια πυριτίου, αλουμινίου, καθώς και πυριτικά άλατα μαγνησίου. Τυπικές εφαρμογές των ανόργανων οξειδίων περιλαμβάνουν την απομόνωση πολικών φυτοφαρμάκων από λίπη και έλαια, απομόνωση ζιζανιοκτόνων από καλλιέργειες υψηλής υγρασίας (μηχανισμό ανταλλαγής ιόντων), απομόνωση των μυκοτοξινών από τροφές, και απομόνωση ενεργών συστατικών από κρέμες με βάση το πετρέλαιο [13]. Στη δεύτερη κατηγορία ανήκουν προσροφητικά υλικά χαμηλής εξειδίκευσης, που περιλαμβάνουν χημικά συνδεδεμένες φάσεις με οξείδιο του πυριτίου, πορώδη πολυμερή άνθρακα, που συνήθως χρησιμοποιούνται για την απομόνωση των μολυσματικών ουσιών από υδατικό διάλυμα. Σύμφωνα με τα χημικά χαρακτήρα των λειτουργικών ομάδων των χημικά συνδεδεμένων φάσεων με οξείδιο του πυριτίου ή των συμπολυμερών, οι προκύπτουσες προσροφητικές φάσεις ταξινομούνται ως μη πολικές, πολικές, ή ιοντοανταλλάκτες. Η πολικότητα των διαλυτών που χρησιμοποιούνται εξαρτάται από τη φύση της στερεής φάσης. Ορισμένες συνδεδεμένες φάσεις όπως κυανοπροπύλιο και αμινοπρόπυλο μπορούν να χρησιμοποιηθούν τόσο σε κανονικές και σε αντίστροφης φάσης μηχανισμούς διαχωρισμού. Πολυμερικές φάσεις έχουν το πλεονέκτημα έναντι συνδεδεμένων φάσεων με οξείδιο του πυριτίου στη χρήση ολόκληρου του εύρους του pH [3]. Τα ανθρακούχα υλικά αποτελούνται από μη πορώδη γραφίτη ο οποίος παρουσιάζει υψηλή εκλεκτικότητα σε πολικές και μη πολικές οργανικές ενώσεις οι οποίες βρίσκονται σε πολικές ή μη πολικές μήτρες. Η έκλουση στην περίπτωση αυτή πραγματοποιείται με διαλύτες μέσης πολικότητας ή μη πολικούς. Τέλος στην τελευταία κατηγορία προσροφητικών υλικών εντάσσονται ειδικές ενώσεις και ειδικές κατηγορίες προσροφητικών, όπως ιοντοανταλλάκτες (πορώδη πολυμερή, ρητίνες), που χρησιμοποιείται για να απομονώσουν ανόργανα και οργανικά ιόντα από υδατικά διαλύματα. Διοξείδιο του πυριτίου και πορώδεις πολυμερή επιφανειακά προσδεδεμένα

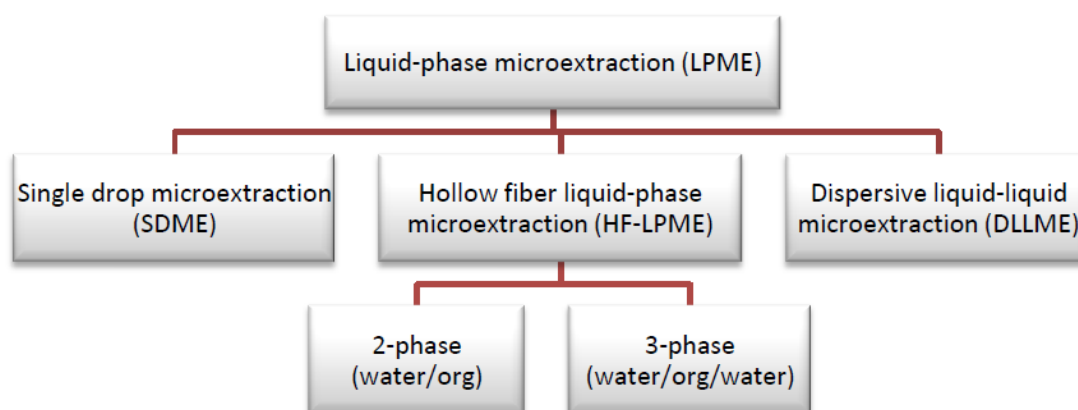
με μακροκυκλικούς υποκαταστάτες μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την επιλεκτική απομόνωση αλκαλικών μετάλλων και μεταλλικών ιόντων από υδατικά διαλύματα και πολύπλοκες μήτρες υψηλής ιοντικής ισχύος (π.χ. θαλάσσιο νερό). Τυποποιημένα πρωτόκολλα χρησιμοποιώντας προσροφητικές ουσίες μεικτής λειτουργίας έχουν αναπτυχθεί για την απομόνωση των περισσότερων φαρμάκων, στα οποία γίνεται κατάχρηση (π.χ., κοκαΐνης) [13].

1.4 ΜΙΚΡΟΕΚΧΥΛΙΣΗ ΥΓΡΗΣ ΦΑΣΗΣ (LIQUID PHASE MICROEXTRACTION, LPME)

Τις τελευταίες δύο δεκαετίες έχουν σημειωθεί σημαντικές προσπάθειες, ώστε να προσαρμοστούν οι υπάρχουσες μέθοδοι προετοιμασίας του δείγματος και οι νέες αναπτυσσόμενες προσεγγίσεις για να εξοικονομηθεί χρόνος, εργασία και υλικά [6]. Αυτή η πρόοδος ήταν πολύ σημαντική για την ανάπτυξη νέων μεθόδων, των οποίων τα κύρια πλεονεκτήματα είναι η ταχύτητά τους, η χρήση αμελητέου όγκου διαλυτών, και μικρότερων όγκων αρχικού δείγματος με ικανότητά να επιτρέψουν την ανίχνευση των προς ανάλυση ουσιών σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις [9]. Οι περισσότερες πρόσφατες τάσεις περιλαμβάνουν μικρογραφία της παραδοσιακής LLE, όπως η LPME.

Η LPME εισήχθη το 1996 [6], στην οποία εκχύλιση πραγματοποιείται κανονικά σε μια μικρή ποσότητα ενός μη αναμίξιμου με νερό διαλύτη (φάση δέκτης) από ένα υδατικό δείγμα που περιέχει τους αναλύτες (φάση δότη) [6,14]. Ο όγκος της φάσης δέκτης βρίσκεται στην περιοχή των μL (σε αντίθεση με τους όγκους που απαιτούνται στην LLE, της τάξης των mL) [14]. Επιτυγχάνονται υψηλοί παράγοντες εμπλουτισμού, λόγω της υψηλής αναλογίας του όγκου του δείγματος προς τον όγκο

του δέκτη. Η τεχνική LPME συνδυάζει ταχύτητα, απλότητα, χαμηλό κόστος, είναι φιλική προς το περιβάλλον και προσιτή με ευρέως διαθέσιμες συσκευές ή υλικά [6]. Μεθοδολογίες που αναπτύχθηκαν από παραλλαγές της LPME στοχεύουν στην βελτίωσή της και τρεις κύριες κατηγορίες αυτής αναφέρονται παρακάτω (**Σχήμα 1.3**).

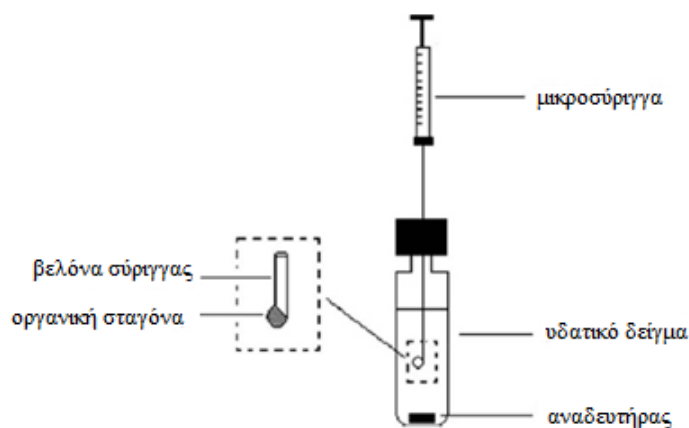


Σχήμα 1.3. Βασικοί τύποι της LPME

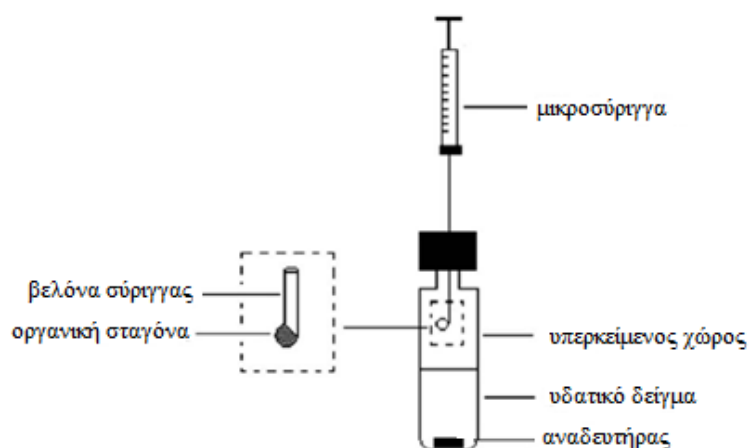
1.4.1. Μικροεκχύλιση μονής-σταγόνας (single – drop microextraction, SDME)

Η SDME αποτελεί την απλούστερη μορφή της LPME, στην οποία σταγόνα μη αναμίξιμου με το νερό οργανικού διαλύτη σχηματίζεται στο άκρο της βελόνας μιας μικροσύριγγας, η οποία είναι άμεσα βυθισμένη στο δείγμα (direct immersion SDME, DI-SDME) (**Σχήμα 1.4**) ή στον υπερκείμενο χώρο (headspace SDME, HS-SDME) (**Σχήμα 1.5**) [6,14]. Πρόκειται για μια απλή, φθηνή, γρήγορη, φιλική προς το περιβάλλον και αποτελεσματική τεχνική προετοιμασίας δείγματος [9], η οποία μάλιστα μπορεί να συνδυαστεί με μια μεγάλη ποικιλία αναλυτικών οργάνων αναλύοντας τόσο υγρά όσο και τροποποιημένα δείγματα δίνοντας χαμηλά όρια ανίχνευσης για τους αναλύτες [14]. Οι εφαρμογές της DI-SDME κανονικά περιορίζονται σε μέσης πολικότητας και μη-πολικούς αναλύτες. Η HS-SDME έχει παρόμοιες δυνατότητες όσον αφορά την ακρίβεια και την ταχύτητα ανάλυσης με την

DI-SDME, αλλά έχει το πλεονέκτημα της επιλογής από μια ευρύτερη ποικιλία διαλυτών, ενώ οι οργανικοί διαλύτες που χρησιμοποιούνται στην DI-SDME πρέπει να είναι μη αναμίξιμοι με το νερό. Σε αντίθεση με την DI-SDME, το νερό μπορεί να χρησιμοποιηθεί επίσης και ως διαλύτης στην HS-SDME για την εκχύλιση πτητικών και υδατοδιαλυτών αναλυτών. Το παραπάνω πλεονέκτημα ενισχύει σημαντικά το φάσμα των αναλυτών που μπορούν να εκχυλιστούν καθώς και το εύρος των αναλυτικών μεθόδων που μπορούν να συνδυαστούν με την SDME. Ο μόνος περιορισμός όσο αφορά το διαλύτη εκχύλισης για την HS-SDME είναι ότι πρέπει να έχει χαμηλή τάση ατμών και την ίδια στιγμή θα πρέπει να είναι συμβατός με το αναλυτικό όργανο [14]. Επιπλέον, η HS-SDME προσφέρει εξαιρετική καθαρότητα σε πολύπλοκες μήτρες, ενώ η DI-SDME δεν είναι κατάλληλη για τέτοιου είδους δείγματα, διότι τα σωματίδια του δείγματος επηρεάζουν την εκχύλιση, καθιστώντας τη σταγόνα ασταθή και μπορεί να βλάψουν το αναλυτικό όργανο [6]. Το μείζον πρόβλημα της τεχνικής είναι ότι η μικροσταγόνα, που συγκρατείται από τη βελόνα της μικροσύριγγας είναι εύκολο να αποσπαστεί κατά τη διάρκεια της εκχύλισης, αν και με την τροποποίηση στη μύτη της βελόνας και τη χρήση ενός πολύ μικρού όγκου διαλύτη μπορεί να αποφευχθεί αυτή η δυσκολία [6,14].



Σχήμα 1.4. Σχηματικό διάγραμμα της άμεσης DI-SDME με χρήση μικροσύριγγας [14]

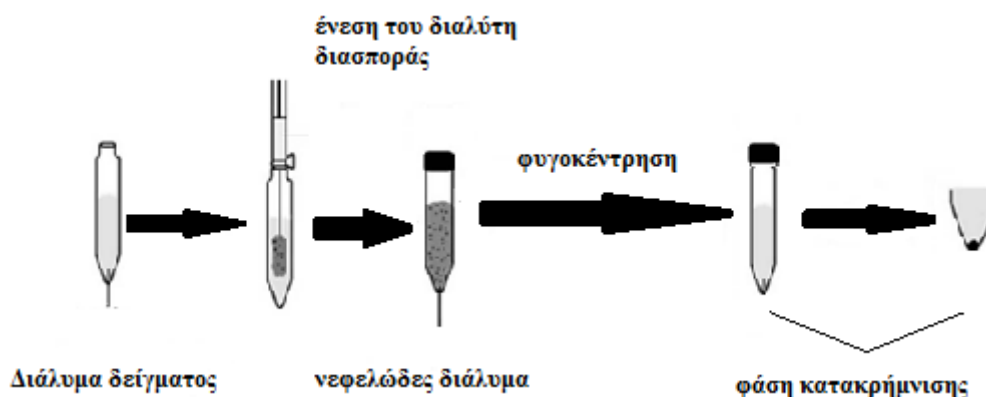


Σχήμα 1.5. Σχηματικό διάγραμμα της HS-SDME με χρήση μικροσύριγγας [14]

1.4.2 Υγρή-υγρή μικροεκχύλιση διασποράς (dispersive liquid-liquid microextraction, DLLME)

Το 2006 ο Assadi και οι συνεργάτες του ανέπτυξαν μια μέθοδος προεπεξεργασίας, η οποία συνδυάζει δειγματοληψία, εξαγωγή και προ-συγκέντρωση και ονομάζεται DLLME [15,16]. Αυτή η μέθοδος βασίζεται σε ένα τριαδικό σύστημα συστατικών, στο οποίο ο διαλύτης εκχύλισης και ο διαλύτης διασποράς (disperser solvent) εκχύνονται γρήγορα με ένεση εντός του υδατικού δείγματος. Το μίγμα στη συνέχεια ανακινείται και προκύπτει ένα θολό διάλυμα. Μετά από φυγοκέντρωση του διαλύματος αυτού, τα λεπτά σωματίδια του διαλύτη εκχύλισης που καθιζάνουν, λαμβάνονται με μικροσύριγγα και εκχύνονται στο αναλυτικό όργανο (**Σχήμα 1.6**) [15,16]. Σε σύγκριση με τις παραδοσιακές μεθόδους εκχύλισης, η DLLME έχει τα πλεονεκτήματα της απλής λειτουργίας, του χαμηλού κόστους, είναι φιλική προς το περιβάλλον αφού έχει χαμηλή κατανάλωση οργανικών διαλυτών, παρέχει επίσης υψηλή ανάκτηση και συντελεστή εμπλουτισμού σε πολύ σύντομο χρονικό διάστημα, λόγω της μεγάλης επιφάνεια επαφής μεταξύ των λεπτών σταγονιδίων και του αναλύτη [14–17]. Το κύριο μειονέκτημα της DLLME είναι ότι δεν είναι μια επιλεκτική μέθοδος εκχύλισης. Ωστόσο, υπάρχουν συχνά παρεμβολές από μήτρα,

ειδικά όταν πρόκειται να προσδιοριστούν μικροποσότητες αναλυτών σε συγκρότημα μήτρας δείγματος (π.χ. του εδάφους) [14].

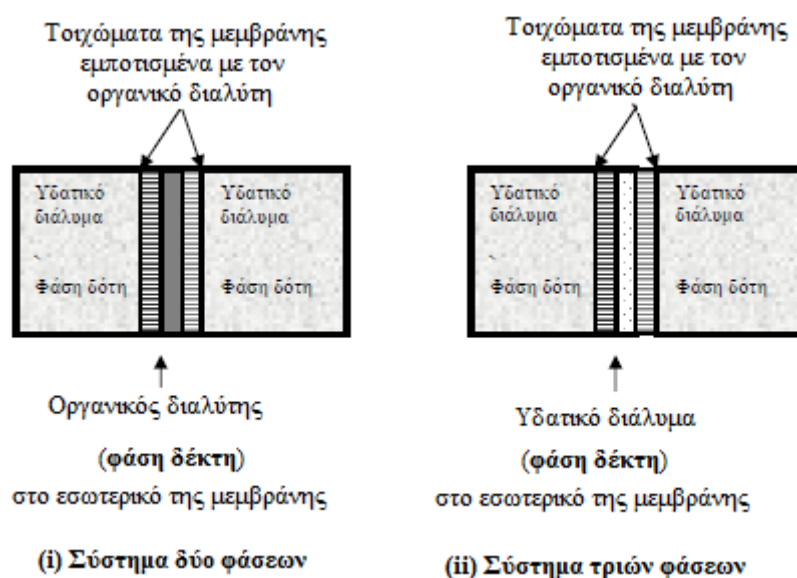


Σχήμα 1.6. Σχηματικό διάγραμμα των βημάτων που ακολουθεί η DLLME [14]

1.4.3 Μικροεκχύλιση υγρής φάσης με σωληνοειδή μεμβράνη (hollow fiber -liquid phase microextraction, HF-LPME)

Οι Pedersen-Bjergaard και Rasmussen (1999) [18] εισήγαγαν μια διαφορετική αντίληψη της υγρής μικροεκχύλισης, που βασίζεται στη χρήση μιας απλής, χαμηλού κόστους, μίας χρήσης, πορώδους σωληνοειδούς μεμβράνης αποτελούμενη από πολυπροπυλένιο, η οποία συγκρατεί ένα οργανικό διαλύτη μέσα στους πόρους της, τη λεγόμενη υποστηριζόμενη υγρή μεμβράνη (supported liquid membrane, SLM). Κατά συνέπεια, οι αναλύτες εξάγονται από τα υδατικά δείγματα μέσω ενός λεπτού στρώματος οργανικού διαλύτη, που είναι ακινητοποιημένος στους πόρους της πορώδους σωληνοειδούς μεμβράνης, σε ένα διάλυμα δέκτη στο εσωτερικό της σωληνοειδούς μεμβράνης. Η φάση δέκτης μπορεί να είναι οργανική, καταλήγοντας σε εκχύλιση με διαμόρφωση δύο φάσεων (two phase HF-LPME) ή μπορεί να είναι υδατικό διάλυμα, με αποτέλεσμα η εκχύλιση να πραγματοποιείται σε ένα τριφασικό σύστημα (three phase HF-LPME), όπως φαίνεται στο **Σχήμα 1.7** [19–21]. Μετά την εκχύλιση το διάλυμα δέκτη εκχύνεται σε αναλυτικό όργανο. Στην HF-LPME,

μπορούν να χρησιμοποιηθούν μεγάλοι όγκοι του διαλύματος δότη και μικροί όγκοι του διαλύματος δέκτη. Επομένως μπορούν να ληφθούν υψηλοί παράγοντες εμπλουτισμού χωρίς περαιτέρω βήματα και αυτό σχετίζεται με την αποτελεσματικότητα της εκχύλισης, τον όγκο της φάσης δέκτη και τον όγκο του δείγματος. Επιπροσθέτως λόγω των πλεονεκτημάτων της LPME, η μεταφορά στην φάση δέκτη μακρομορίων και σωματιδίων εξαιρείται λόγω του μικρού μεγέθους των πόρων των σωληνοειδών μεμβρανών. Επίσης μόρια που δεν είναι διαλυτά σε οργανικούς διαλύτες δεν εκχυλίζονται [2].



Σχήμα 1.7. Εγκάρσια τομή σωληνοειδούς μεμβράνης μέσα στο υδατικό δείγμα κατά τη διάρκεια της (i) δύο φάσεων και (ii) τριών φάσεων HF-LPME [2].

Ως μέτρο μεταφοράς μάζας για την απόδοση της HF-LPME χρησιμοποιούνται δύο παράμετροι: σε κάποιο βαθμό ο παράγοντας εμπλουτισμού και η αποτελεσματικότητα της εκχύλισης. Η αποτελεσματικότητα της εκχύλισης (E) ορίζεται ως ο λόγος της ποσότητας του αναλύτη που εκχυλίζεται προς αυτήν στο αρχικό δείγμα [22] και εκφράζεται ως (εξίσωση 1):

$$E = \frac{n_A}{n_I} \quad [1]$$

όπου n_A είναι η ποσότητα της χημικής ένωσης στο διάλυμα δέκτη σε κατάσταση ισορροπίας και n_I είναι η ποσότητα της ένωσης που υπάρχει στο διάλυμα δοτή (incoming sample).

Ο παράγοντας εμπλουτισμού (E_e) δείχνει πόσες φορές η συγκέντρωση του αναλυτή αυξάνεται στη φάση δέκτη συγκριτικά με την αρχική συγκέντρωση του στο διάλυμα. Επομένως ορίζεται ως ο λόγος της συγκέντρωσης του αναλύτη που εκχυλίζεται προς αυτήν στο αρχικό δείγμα [22] και εκφράζεται ως (**εξίσωση 2**):

$$E_e = \frac{C_A}{C_I} \quad [2]$$

όπου C_A είναι η συγκέντρωση της χημικής ένωσης στο διάλυμα δέκτη σε κατάσταση ισορροπίας και C_I είναι η συγκέντρωση της χημικής ένωσης στο διάλυμα δοτή στην αρχή της εκχύλισης.

Η αποτελεσματικότητα της εκχύλισης και ο παράγοντας εμπλουτισμού σχετίζονται σύμφωνα την **εξίσωση.3**[22]:

$$E = E_e \frac{V_A}{V_I} \quad [3]$$

όπου V_A είναι όγκος της χημικής ένωσης στο διάλυμα δέκτη και V_I είναι όγκος της χημικής ένωσης στο διάλυμα δοτή.

1.4.3.1 Two phase HF-LPME

Αρχή

Στο σύστημα LPME δύο φάσεων, οι αναλύτες εκχυλίζονται από το υδατικό δείγμα (φάση δοτή) στον οργανικό διαλύτη (φάση δέκτη) που υπάρχει τόσο στους πόρους

της σωληνοειδούς μεμβράνης, όσο και στο εσωτερικό της. Αυτή η διαδικασία μπορεί να περιγραφεί από την ακόλουθη εξίσωση [14,18]:

$$A_{\text{sample}} \leftrightarrow A_{\text{org}}$$

όπου A_{sample} είναι ο αναλύτης στο υδατικό δείγμα και A_{org} είναι ο αναλύτης στην οργανική φάση. Αυτή η διαδικασία χαρακτηρίζεται από την σταθερά (ή θερμοδυναμικό συντελεστή) κατανομής $K_{\text{org/d}}$ που ορίζεται ως ο λόγος των συγκεντρώσεων του αναλύτη A στην οργανική φάση και τη φάση δότη μετά από την αποκατάσταση της ισορροπίας και είναι σταθερός για καθορισμένες συνθήκες πίεσης και θερμοκρασίας [2,14]. Επομένως, εμφανές είναι ότι για να είναι πετυχημένη η εφαρμογή της HF-LPME δύο φάσεων, απαιτούνται μεγάλες τιμές σταθερών $K_{\text{org/d}}$. Τέτοιες τιμές αντιστοιχούν σε μέτρια ή πολύ υδροφοβικές ενώσεις που έχουν όξινες ή βασικές ομάδες ή σε ουδέτερες ενώσεις με ισοδύναμη υδροφοβικότητα [2,14].

Στην δύο-φάσεων HF-LPME οι αναλύτες μεταφέρονται από τη φάση του δείγματος στη φάση δέκτη με παθητική διάχυση, η οποία σχετίζεται με τον συντελεστή κατανομής οκτανόλης-νερού. Ουδέτερες υδρόφοβες ενώσεις εκχυλίζονται με αυτή την μέθοδο, εξαιτίας της υψηλής τους διαλυτότητας στην οργανική φάση. Συχνά, οργανικές χημικές ενώσεις εκχυλίζονται από το δύο-φάσεων σύστημα, οι οποίες έχουν \log_{Kow} υψηλότερο από 4, αλλά και η συγγένειά τους με τον οργανικό διαλυτή είναι σημαντική [14,23].

Η δύο φάσεων HF-LPME δίνει εκχύλισμα σε οργανική φάση, που μπορεί απ'ευθείας να αναλυθεί με αέρια χρωματογραφία (GC) ή μπορεί να εξατμιστεί και ανασυσταθεί σε ένα υδατικό μέσο για έγχυση σε υψηλής απόδοσης υγρή χρωματογραφία (HPLC) ή σε σύστημα τριχοειδούς ηλεκτροφόρησης (CE) [2].

1.4.3.2 Three phase HF-LPME

Αρχή

Στην τριών φάσεων LPME, οι αναλύτες εκχυλίζονται από το υδατικό δείγμα (φάση δότη), μέσω ενός οργανικού διαλύτη που είναι ακινητοποιημένος στους πόρους της πορώδους σωληνοειδούς μεμβράνης, και περαιτέρω μέσα στο υδατικό διάλυμα δέκτη, που βρίσκεται μέσα στον αυλό της σωληνοειδούς μεμβράνης. Αυτή η διαδικασία μπορεί να περιγραφεί από την ακόλουθη εξίσωση [14,18]:



όπου A_{sample} είναι ο αναλύτης στο υδατικό δείγμα, A_{org} είναι ο αναλύτης αναλυτής στην οργανική φάση και A_{acceptor} είναι ο αναλύτης στο διάλυμα δέκτη. Στην περίπτωση αυτή εμφανίζονται δύο σταθερές κατανομής, η $K_{\text{org/d}}$ και η $K_{\text{a/org}}$, που είναι αντίστοιχα οι σταθερές μεταξύ της οργανικής φάσης και του δότη και μεταξύ του δέκτη και της οργανικής φάσης. Η συνολική σταθερά κατανομής βρίσκεται από το γινόμενο των επιμέρους σταθερών (εξίσωση 4), δηλαδή:

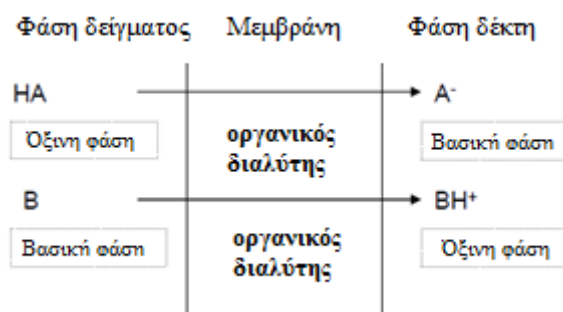
$$K_{\text{a/d}} = K_{\text{org/d}} K_{\text{a/org}} \quad [4]$$

Η κατάλληλη ρύθμιση της σύνθεσης των φάσεων δέκτη και δότη είναι πολύ σημαντική για να πετύχει η LPME τριών φάσεων. Μεγάλες τιμές $K_{\text{a/d}}$ ($\gg 1$), μπορούν να επιτευχθούν όταν οι αναλύτες στη φάση του δέκτη εμπλέκονται σε αντιδράσεις, όπως η πρωτονίωση και η συμπλοκοποίηση δίνοντας ενώσεις που έχουν μικρή συγγένεια με την οργανική φάση [2].

Οι αναλύτες για να εκχυλιστούν πρέπει να είναι διαλυτοί σε έναν οργανικό διαλύτη και για αυτό το λόγο απαιτούνται αποφορτισμένες μορφές. Με σκοπό να έχουμε μη

ιονισμένους αναλύτες είναι απαραίτητη η ρύθμιση του pH ή η προσθήκη ενός ζεύγους ιόντων ή ενός πολυσύνθετου παράγοντα στο διάλυμα ή στην οργανική μεμβράνη. Έπειτα οι αναλύτες εκχυλίζονται από την οργανική φάση στη φάση δέκτη, όπου παγιδεύονται σαν ιόντα με ρύθμιση του pH ή προσθέτοντας τον κατάλληλο παράγοντα αναδιάλυσης [21,23,24].

Με άλλα λόγια η μεταφορά του αναλύτη μπορεί να επιτευχθεί με ρύθμιση του pH μεταξύ του δείγματος και του διαλύματος δέκτη. Ο γενικός μηχανισμός για ιονισμένες χημικές ενώσεις με ρύθμιση του pH επεξηγείται στο **Σχήμα 1.8**. Με αυτόν τον τρόπο υδροφοβικοί ιονισμένοι αναλύτες εκχυλίζονται τελικά σε υδατική φάση δέκτη.



Σχήμα 1.8. Μηχανισμός μεταφοράς εξαρτώμενος από το pH για όξινες και βασικές ενώσεις

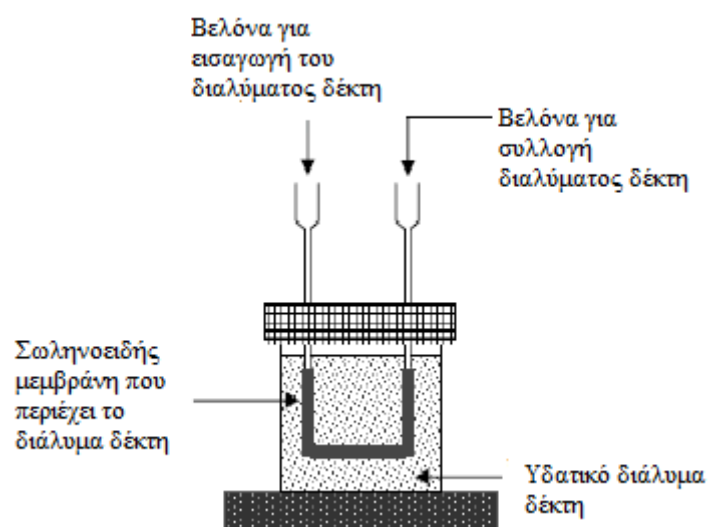
Διαφορετικές διαδικασίες μπορούν επίσης να λάβουν χώρα, όπως κατανομή των αναλυτών μεταξύ του δείγματος και του οργανικού διαλύτη, διάχυση διαμέσου των μεμβρανών και ιονισμός στο διάλυμα δέκτη. Όλες αυτές οι παράμετροι σχετίζονται με την μεταφορά των χημικών ενώσεων, η οποία εξαρτάται από πολλούς παράγοντες όπως τις χημικές ιδιότητες των αναλυτών, τον τύπο του οργανικού διαλύτη και το πάχος των μεμβρανών, που επηρεάζει τη διαχυτότητα των αναλυτών διαμέσου της μεμβράνης.

Αφού το τελικό διάλυμα είναι υδατικό, η τριών φάσεων HF-LPME συνδυάζεται συνήθως με HPLC ή CE [2].

1.4.3.3 Διατάξεις της σωληνοειδούς μεμβράνης για τις δύο και τριών φάσεων HF-LPME

Υπάρχουν δύο διαφορετικές διατάξεις της σωληνοειδούς μεμβράνης για την πραγματοποίηση της HF-LPME δύο και τριών φάσεων.

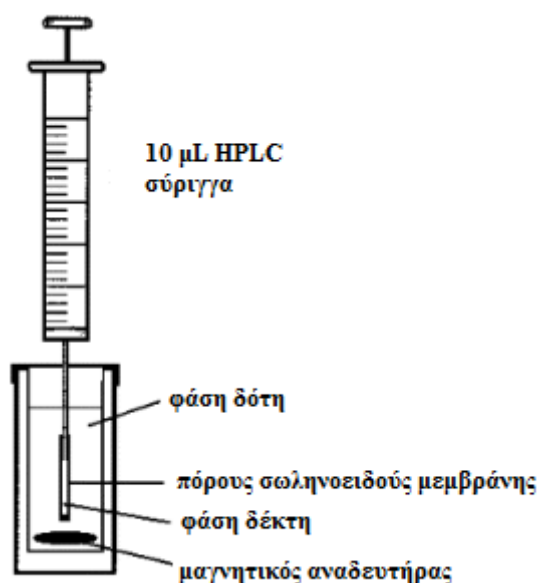
Στην πρώτη περίπτωση (**Σχήμα 1.9**) δύο βελόνες από συμβατικές ιατρικές σύριγγες διαπερνούν ένα ελαστικό διάφραγμα και συνδέονται στις άκρες με ένα κομμάτι σωληνοειδούς μεμβράνης το μήκος της οποίας ποικίλει από 4-8 cm, ενώ για μεγαλύτερου μήκους μεμβράνες (από 8-27 cm) χρησιμοποιείται στήριγμα γύρω από το οποίο τυλίγεται η μεμβράνη [2].



Σχήμα 1.9. Σχηματική αναπαράσταση της διάταξης της ίνας, όταν δύο σύριγγες συνδέονται σε κάθε άκρο της σωληνοειδούς μεμβράνης [2].

Στην δεύτερη διάταξη (**Σχήμα 1.10**), μόνο η μία άκρη της σωληνοειδούς μεμβράνης χρησιμοποιείται για την έγχυση και τη συλλογή του διαλύματος δέκτη, ενώ το άλλο

άκρο της παραμένει ελεύθερο (ανοικτό ή σφραγισμένο με εφαρμογή φλόγας) μέσα στο δείγμα κατά τη διάρκεια της εκχύλισης. Αυτό είναι εφικτό αφού μια σύριγγα χρησιμοποιείται για τη στήριξη της σωληνοειδούς μεμβράνης, αλλά και για την εισαγωγή / συλλογή και μεταφορά του διαλύματος δέκτη στο αναλυτικό όργανο για περαιτέρω ανάλυση. Ένας άλλος τρόπος για την επίτευξη αυτής της διάταξης είναι με τη χρήση ενός δοχείου με ελαστικό διάφραγμα για τη στήριξη της μεμβράνης. Σε αυτή την περίπτωση ένα μεταλλικός σωλήνας προσαρμόζεται στο κέντρο του ελαστικού διαφράγματος, ώστε να βοηθήσει την εισαγωγή / δέσιμο της μεμβράνης σε αυτό. Η εισαγωγή / συλλογή και μεταφορά του διαλύματος δέκτη στο αναλυτικό όργανο γίνεται πάλι με τη βοήθεια μικροσύριγγας [2].



Σχήμα 1.10. Διάταξη με μικροσύριγγα για την στήριξη της σωληνοειδούς μεμβράνης, εισαγωγή και συλλογή του διαλύτη-δέκτη και την εισαγωγή δείγματος σε αναλυτικά όργανα [2].

Τόσο στην δύο φάσεων, όσο και στην τριών φάσεων HF-LPME η μεμβράνη βυθίζεται για λίγα δευτερόλεπτα στον οργανικό διαλύτη για να εμποτιστεί με αυτόν. Ακολούθως η μεμβράνη βυθίζεται στο υδατικό διάλυμα του δότη και ο διαλύτης ή το υδατικό διάλυμα (φάση δέκτη) ωθείται στο εσωτερικό της μεμβράνης με τη βοήθεια

μικροσύριγγας. Μετά το πέρας ενός προκαθορισμένου χρονικού διαστήματος το διάλυμα δέκτης αποτραβιέται με μικροσύριγγα και εγχύνεται στην αναλυτική συσκευή για περαιτέρω ανάλυση [2].

1.4.3.4 Βασικοί παράμετροι που επηρεάζουν την απόδοση της HF-LPME

Στην HF-LPME κάποιοι παράμετροι μπορούν να βελτιστοποιηθούν, ώστε να επιτευχθεί ο καλύτερος καθαρισμός και εμπλουτισμός των αναλυτών [2,22,25].

Οργανικός διαλύτης

Πολύ σημαντικό βήμα στην βελτιστοποίηση της μεθόδου και για τις δύο εκδοχές της HF-LPME (δύο ή τριών φάσεων), είναι η επιλογή του καταλληλότερου διαλύτη [22]. Σε γενικές γραμμές, οργανικοί διαλύτες με διαφορετική πολικότητα ή μίγμα οργανικών διαλυτών πρέπει να δοκιμαστούν, ώστε να αυξηθεί η διαλυτότητα και η συγγένεια των ενώσεων με την οργανική φάση [2].

Ωστόσο, στην τελική επιλογή του οργανικού διαλύτη θα πρέπει να λαμβάνονται υπόψη ορισμένες απαιτήσεις σχετικά με τις ιδιότητες των οργανικών διαλυτών. Πρώτα απ' όλα θα πρέπει να έχουν χαμηλή διαλυτότητα στο νερό [2,22] ώστε να αποφεύγεται η διάλυσή τους στην υδατική φάση και να έχουν χαμηλή πτητικότητα, έτσι ώστε να περιορίζεται η εξάτμιση τους κατά την διάρκεια της εκχύλισης. Όταν χρησιμοποιείται η δύο φάσεων HF-LPME, ο οργανικός διαλύτης θα πρέπει να παρέχει υψηλή διαλυτότητα για τους αναλυτές και να έχει εξαιρετική χρωματογραφική συμπεριφορά. Στην τριών φάσεων HF-LPME ο διαλύτης θα πρέπει να εξασφαλίζει υψηλές τιμές για τον συντελεστή $K_{org/d}$ και κυρίως για τον $K_{a/org}$. Τέλος, ο διαλύτης θα πρέπει να έχει τέτοια πολικότητα που να ταιριάζει με αυτήν της

σωληνοειδούς μεμβράνης από πολυπροπυλένιο, ώστε να μπορεί εύκολα και ισχυρά να ακινητοποιηθεί στους πόρους της [2].

Εναλλακτικά, αρκετές μελέτες έχουν αναφέρει τη χρήση ιονικών υγρών, που είναι πιο φιλικά προς το περιβάλλον, έναντι των οργανικών διαλυτών [26,27].

Σχέση των όγκων του διαλύματος δότη και δέκτη

Οι όγκοι των διαλυμάτων δότη και δέκτη που θα επιλεγθούν είναι πολύ μεγάλης σημασίας. Γενικά η ευαισθησία της μεθόδου τόσο στη δύο όσο και στην τριών φάσεων LPME μπορεί να αυξηθεί μειώνοντας τον λόγο των όγκων δέκτη-δότη διαλύματος. Πάντως ο όγκος του διαλύματος δέκτη μπορεί να ρυθμιστεί ανάλογα με την αναλυτική τεχνική που ακολουθεί. Για παράδειγμα, όταν ακολουθεί HPLC μπορούν να γίνουν ενέσεις των 10-25 μL και έτσι όλη η ποσότητα της φάσης του δέκτη μπορεί να αναλυθεί εξασφαλίζοντας χαμηλότερα όρια ανίχνευσης [2].

pH της υδατικής φάσης

Η ρύθμιση του pH μπορεί να αυξήσει την εκχύλιση καθώς η μετατόπιση της ισορροπίας σχετίζεται με την διαλυτότητα των όξινων/βασικών αναλυτών [2]. Στην τριών φάσεων HF-LPME, η ρύθμιση του pH του διαλύματος δότη και του διαλύματος δέκτη είναι μια βασική παράμετρος για τις βασικές και όξινες ενώσεις, μιας και οδηγεί σε αυξημένους λόγους κατανομής και διασφαλίζει υψηλούς συντελεστές εμπλουτισμού και ανάκτησης για τις προσδιοριζόμενες ουσίες [2,22]. Αντίθετα για την δύο φάσεων HF-LPME πρέπει να βελτιστοποιηθεί μόνο η τιμή του pH της φάσης δότη [22].

Και στα δύο συστήματα, οι αναλυτές πρέπει να είναι αποφορτισμένοι στο διάλυμα δότη και γι' αυτό το λόγο το pH στο διάλυμα δότη συνήθως είναι δυο μονάδες κάτω

από το pK_a για τις όξινες ενώσεις και δυο μονάδες υψηλότερο από το pK_a για τις βασικές ενώσεις. Στην τριών φάσεων HF-LPME, το pH του διαλύματος δέκτη πρέπει να είναι υψηλότερο από το pK_a για όξινες ενώσεις, ενώ για βασικές ενώσεις το pH πρέπει να είναι χαμηλότερο από το pK_a των αναλυτών. Σε αυτή την περίπτωση, συνίσταται η χρήση ενός ρυθμιστικού διαλύματος υψηλής χωρητικότητας, επειδή μερικές ουσίες μπορούν να συνεκχυλιστούν και να τροποποιήσουν το pH του διαλύματος δέκτη [22].

Ανάδευση του δείγματος

Η ανάδευση του δείγματος είναι απαραίτητη για την επιτάχυνση της κινητικής της εκχύλισης. Όταν εφαρμόζεται ανάδευση, υποβοηθάτε η διάχυση των αναλυτών από το διάλυμα δότη στη μεμβράνη και κατ' επέκταση στο διάλυμα δέκτη, οπότε η εκχύλιση ενισχύεται και βελτιώνεται η επαναληψιμότητα της εκχύλισης. Παρόλο που η ταχύτητα ανάδευσης ενισχύει τη μεταφορά μάζας, η εφαρμογή μεγάλης ταχύτητας μπορεί να οδηγήσει στο σχηματισμό φυσαλίδων αέρα, οι οποίες προσβάλλουν τη σωληνοειδή μεμβράνη παροτρύνοντας την εξάτμιση του οργανικού διαλύτη, που έχει εμποτιστεί η σωληνοειδής μεμβράνη και συμβάλλουν στην εξαγωγή ανακριβών μετρήσεων [2].

Χρόνος εκχύλισης

Στην HF-LPME, η μεταφορά των αναλυτών από τη φάση δότη στη φάση δέκτη εξαρτάται από το χρόνο και ο ρυθμός της μειώνεται όσο το σύστημα πλησιάζει τις συνθήκες ισορροπίας. Όταν ο χρόνος αυξάνεται, η αποτελεσματικότητα της εκχύλισης αυξάνεται έως ότου επέλθει η ισορροπία και καμία περαιτέρω ποσότητα αναλυτών δεν εκχυλίζεται στη φάση δέκτη. Παρόλα αυτά δεν είναι πάντοτε πρακτική η εφαρμογή μεγάλων χρόνων εκχύλισης. Μάλιστα είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι

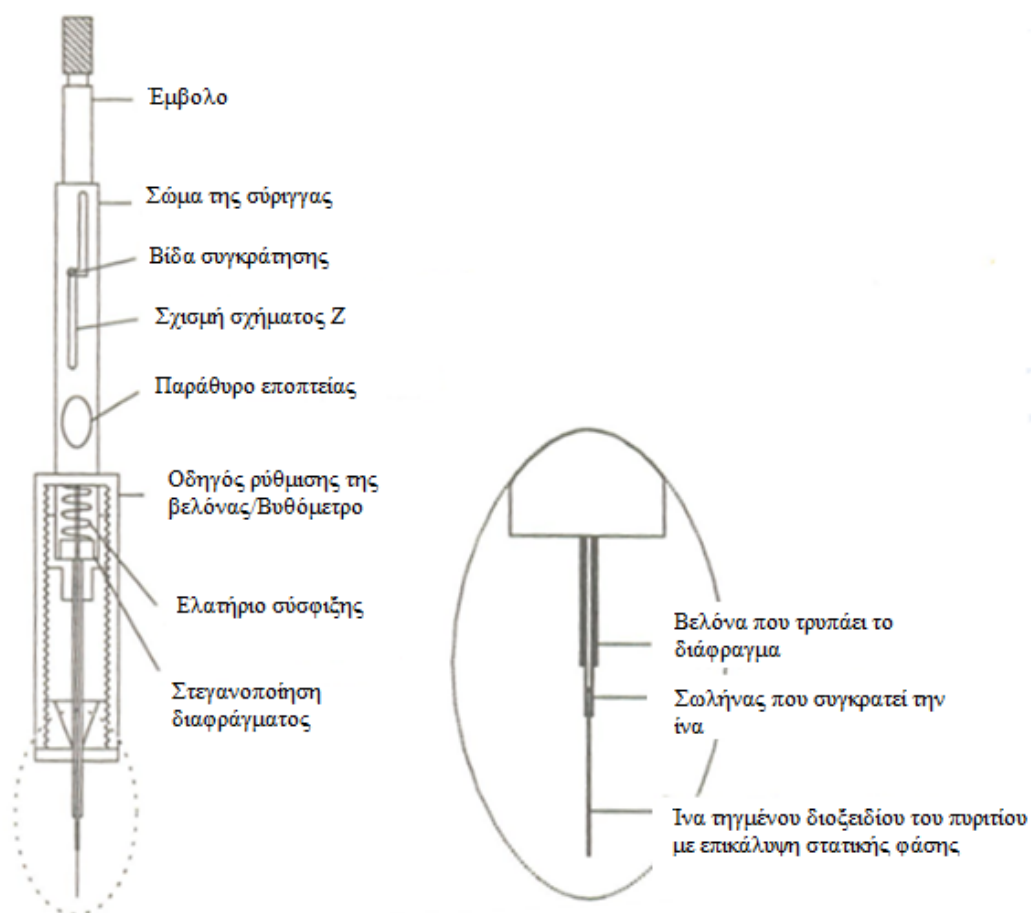
για μεγάλους χρόνους εκχύλισης η σταθερότητα μπορεί να μειωθεί γιατί ο οργανικός διαλύτης μπορεί να χαθεί από τους πόρους της σωληνοειδούς μεμβράνης. Συνήθως επιλέγουμε χρόνους μικρότερους από τον χρόνο χρωματογραφίας, για να εξασφαλίσουμε υψηλό ρυθμό αναλύσεων [2,22].

Επίδραση του φαινομένου εξαλάτωσης (Salting out effect)

Στις τεχνικές LPME ανάλογα με τη φύση των αναλυτών, η προσθήκη άλατος στο δείγμα προς εκχύλιση, μπορεί να έχει διάφορες συνέπειες στη εκχύλιση : μπορεί να την αυξήσει, να μη την επηρεάσει ή ακόμα και να την περιορίσει. Συγκεκριμένα η αύξηση της ιονικής ισχύος του υδατικού διαλύματος μειώνει τη διαλυτότητα των υδρόφοβων ενώσεων στην υδατική φάση και έτσι αυξάνεται η μεταφορά των αναλυτών στον οργανικό διαλύτη, λόγω του φαινομένου της εξαλάτωσης. Έτσι, η εκχύλιση και ο εμπλουτισμός των αναλυτών ενισχύεται [2].

1.5 ΜΙΚΡΟΕΚΧΥΛΙΣΗ ΣΤΕΡΕΗΣ ΦΑΣΗΣ (solid phase microextraction, SPME)

Η SPME αποτελεί μια ισχυρή εναλλακτική λύση ενάντια των κλασσικών τεχνικών προετοιμασίας δειγμάτων, που απευθύνονται σε πτητικούς και ημιπτητικούς ρύπους. Πρόκειται για μια γρήγορη, ευαίσθητη και απλή τεχνική προσρόφησης/εκρόφησης, που μπορεί να υιοθετηθεί σε εργασίες πεδίου και μπορεί εύκολα να ενσωματωθεί στα σημερινά αναλυτικά όργανα με μια διαδικασία αυτοματισμού. Καθιερώθηκε στις αρχές της δεκαετίας του '90 [28] με θεμελιωτή της τον Janusz Pawliszyn και την επιστημονική του ομάδα στο Πανεπιστήμιο του Waterloo (Ontario, Canada), ενώ το 1993 θεσπίστηκε από την Supelco (τώρα Sigma Aldich) η πρώτη εμπορικά διαθέσιμη συσκευή SPME (Σχήμα 1.11).



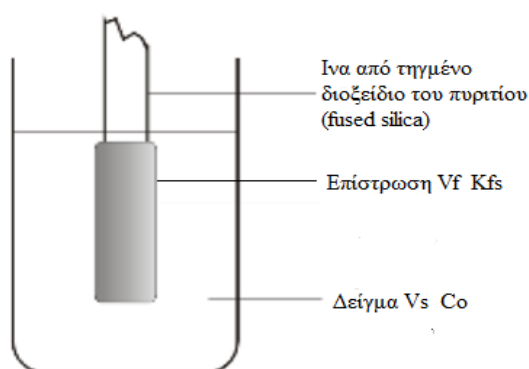
Σχήμα 1.11. Σχέδιο της πρώτης εμπορικά διαθέσιμης συσκευής SPME κατασκευασμένη από τη Supelco [5].

Ως μια νέα μέθοδο προετοιμασίας δειγμάτων η SPME έχει ενσωματωθεί γρήγορα και επιτυχώς σε διάφορες περιοχές της αναλυτικής χημείας, επειδή πρόκειται για μια τεχνική που συνδυάζει τη δειγματοληψία, την προετοιμασία και εισαγωγή δειγμάτων στο αναλυτικό όργανο σε ένα μόνο βήμα και μάλιστα χωρίς τη χρήση διαλυτών, με αποτέλεσμα να μειώνεται ο χρόνος προετοιμασίας δειγμάτων, το κόστος διάθεσης των διαλυτών και βελτιώνονται τα όρια ανίχνευσης των προς ανάλυσης ουσιών [28,29]. Η SPME παρέχει γραμμικά αποτελέσματα για ένα μεγάλο εύρος συγκεντρώσεων των αναλυτών και εξασφαλίζει μεγάλη ακρίβεια στα αποτελέσματα, ακόμα και σε χαμηλές συγκεντρώσεις αναλυτών αν ελεγχτεί η πολικότητα, το πάχος του επιχρίσματος της ίνας και ρυθμιστούν διάφοροι παράγοντες κατά την εκχύλιση,

όπως ο χρόνος δειγματοληψίας. Ο μεγαλύτερος αριθμός εφαρμογών αυτής της τεχνικής είναι μέρος στο πεδίο του περιβάλλοντος [29–32], αλλά επίσης βρίσκει πολλές κλινικές εφαρμογές [33] και εφαρμογές στα τρόφιμα [34].

1.5.1 Βασικές αρχές της SPME

Η SPME ίνα με επικάλυψη πολυμερούς είναι η πιο κοινή μορφή της τεχνικής SPME για τη δειγματοληψία άμεσα από τη μήτρα του δείγματος (Σχήμα 1.12) ή του υπερκείμενου χώρου πάνω από αυτό [35].



Σχήμα 1.12. Μικροεκχύλιση με την τεχνική SPME ίνα (όπου K_{fs} ο συντελεστής κατανομής μεταξύ της υδατικής και στατικής φάσης, V_s και V_f είναι ο όγκος του δείγματος και της ίνας αντίστοιχα και C_o είναι η αρχική συγκέντρωση του αναλύτη στο διάλυμα) [5].

Σύμφωνα με την SPME, ένα μικρό ποσό της φάσης εκχύλισης που συνδέεται με ένα στερεό υπόστρωμα τοποθετείται σε επαφή με την μήτρα του δείγματος για ένα προκαθορισμένο χρονικό διάστημα. Αν ο χρόνος της εκχύλισης είναι αρκετά μεγάλος τότε επέρχεται ισορροπία μεταξύ της μήτρας του δείγματος και της φάσης εκχύλισης, που αυτό σημαίνει πρακτικά ότι το ποσό της εκχυλιζόμενης ουσίας παραμένει αμετάβλητο εντός των ορίων του πειραματικού σφάλματος όσες εκχυλίσεις και να επιτευχθούν με περαιτέρω αύξηση του χρόνου [5,36].

Η SPME θεωρείται πολυφασικό διαδικασία εξισορρόπησης. Μπορούν να εφαρμοστούν είτε δύο φάσεις που αποτελούνται από το δείγμα, το οποίο είναι συνήθως μία υδατική φάση, και τη φάση εκχύλισης (ίνα SPME) ή τρεις φάσεις και αποτελούνται από το δείγμα, την ίνα και τον αέριο υπερκείμενο χώρο πάνω από το δείγμα.

Στην περίπτωση των δύο φάσεων οι συνθήκες ισορροπίας, όπου η SPME θεωρείται πλήρης, μπορούν να περιγραφούν με την παρακάτω **εξίσωση 5**:

$$n = \frac{K_{fs} V_f V_s C_0}{(K_{fs} V_f + V_s)} \quad [5]$$

όπου n είναι το ποσοστό, που έχει εκχυλιστεί από το επίστρωμα, K_{fs} είναι η σταθερά κατανομής μεταξύ ίνας και μήτρας δείγματος, V_f είναι ο όγκος επίστρωσης της ίνας, V_s είναι ο όγκος του δείγματος και C_0 είναι η αρχική συγκέντρωση της προς ανάλυση ουσίας στο δείγμα.

Η **εξίσωση 5** θεωρεί ότι η μήτρα του δείγματος αντιπροσωπεύει μια απλή ομογενή φάση και ότι δεν είναι παρούσα στο σύστημα η υπερκείμενη φάση, ωστόσο μπορεί να τροποποιηθεί, ώστε να ληφθεί υπόψη η παρουσία κι άλλων συστατικών της μήτρας. Στην περίπτωση που ο όγκος του δείγματος είναι μικρός, όπως προκύπτει από την **εξίσωση 5** υπάρχει άμεση σχέση μεταξύ της συγκέντρωσης του δείγματος και του ποσοστού της προς ανάλυση ουσίας που εκχυλίζεται.

Ωστόσο όταν ο όγκος του δείγματος είναι πολύ μεγάλος $K_{fs} V_f \ll V_s$, τότε η **εξίσωση 4** απλοποιείται στην **εξίσωση 6**:

$$n = K_{fs} V_f C_0 \quad [6]$$

όπου το ποσοστό της ουσίας που εκχυλίζεται είναι ανεξάρτητο από τον όγκο του δείγματος. Στην ουσία, δεν υπάρχει ανάγκη συλλογής καθορισμένου δείγματος πριν την ανάλυση, αφού η ίνα μπορεί να εκτεθεί άμεσα σε περιβαλλοντικό αέρα, νερό κλπ. Το ποσοστό εκχύλισης του αναλύτη ανταποκρίνεται άμεσα στη συγκέντρωσή του στη μήτρα, χωρίς να εξαρτάται από τον όγκο του δείγματος [5].

Μόλις αποκατασταθεί η ισορροπία μεταξύ της ίνας και της μήτρας του δείγματος, οι προς ανάλυση ουσίες εκροφούνται στο σύστημα έγχυσης ενός χρωματογράφου, όπου πραγματοποιείται ο διαχωρισμός τους.

1.5.2 Στάδια της μεθόδου

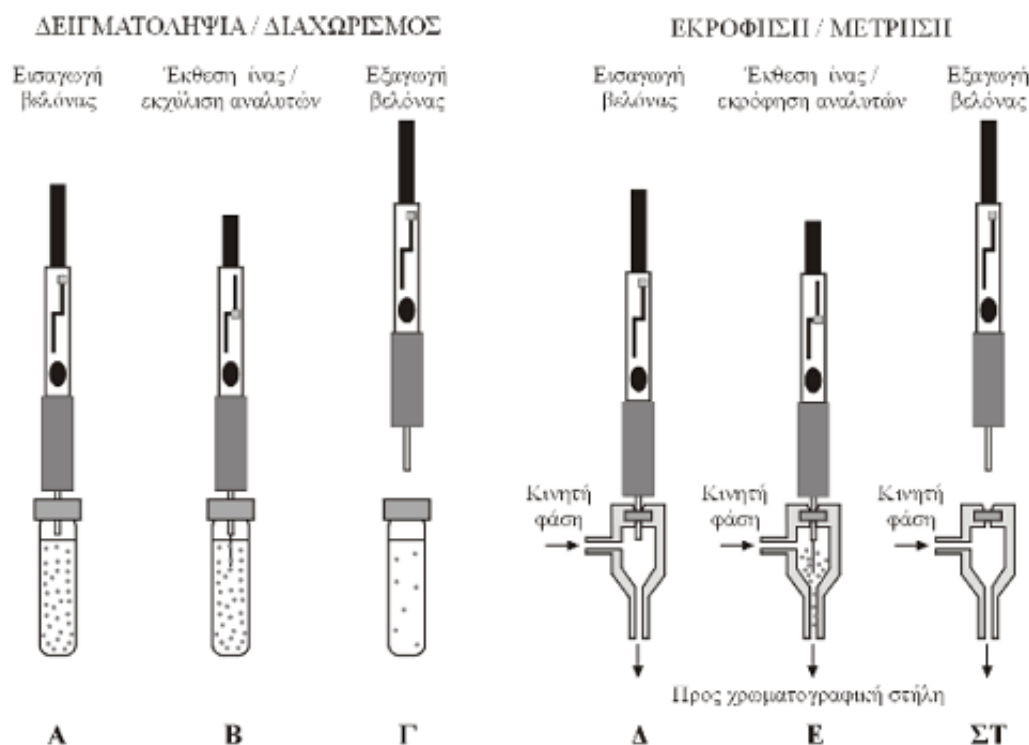
Η τεχνική SPME πραγματοποιείται σε δύο στάδια: το στάδιο της εκχύλισης και το στάδιο της εκρόφησης.

Κατά το στάδιο της εκχύλισης ποσότητα από το δείγμα που περιέχει τους αναλύτες τοποθετείται σε φιαλίδιο που φέρει καπάκι με ελαστικό διάφραγμα. Η βελόνα της σύριγγας, με την ίνα προστατευμένη στο εσωτερικό της, διαπερνά το διάφραγμα του φιαλιδίου. Στη συνέχεια πιέζοντας το έμβολο προς τα κάτω, η ίνα έρχεται σε επαφή με το δείγμα ή με τον υπερκείμενο χώρο, που υπάρχει πάνω από αυτό. Έτσι ξεκινάει η κατανομή των οργανικών ενώσεων μεταξύ της ίνας και της μήτρας του δείγματος. Μετά από ένα προκαθορισμένο χρονικό διάστημα, η ίνα ανασύρεται και φυλάσσεται στο εσωτερικό της βελόνας με κίνηση του εμβόλου προς τα επάνω. Τέλος η σύριγγα αποσύρεται από το φιαλίδιο δειγματοληψίας. Η ίνα παραμένει προστατευμένη στη βελόνα μέχρις ότου να προχωρήσει η διαδικασία στο στάδιο της εκρόφησης.

Κατά το στάδιο της εκρόφησης η σύριγγα εισάγεται στον εγχυτήρα ενός αναλυτικού μέσου (GC ή στον ειδικό εξοπλισμό HPLC) και στη συνέχεια εξάγεται η ίνα

πιέζοντας το έμβολο προς τα κάτω, οπότε εκροφούνται οι αναλύτες θερμικά ή με διάλυση στην κινητή φάση, σύμφωνα με τη θεωρία των αντίστοιχων τεχνικών ανάλυσης. Η εκρόφιση πραγματοποιείται για συγκεκριμένο χρονικό διάστημα. Τέλος, η ίνα τραβιέται πάλι με κίνηση του εμβόλου προς τα επάνω και η σύριγγα αποσύρεται από το σύστημα του αναλυτικού μέσου. Οι αναλύτες παρασύρονται από την κινητή φάση προς τη χρωματογραφική στήλη για χρωματογραφικό διαχωρισμό και ποσοτικοποίηση. Μετά την εξαγωγή της από τον εισαγωγέα, η ίνα είναι έτοιμη για την επόμενη δειγματοληψία, δεν χρειάζεται επιπλέον στάδιο καθαρισμού.

Το **Σχήμα 1.13** παρουσιάζει τη διαδικασία έκθεσης της ίνας σε διάλυμα δείγματος (ή στον υπερκείμενο χώρο του υγρού) για συγκεκριμένο χρονικό διάστημα, με ανάδευση και πιθανή θέρμανση, καθώς και τη διαδικασία εκρόφισης των αναλυτών στον εισαγωγέα του αναλυτικού μέσου.



Σχήμα 1.13. Δειγματοληψία με SPME και εκρόφιση του αναλύτη από την επικαλυμμένη ίνα σε αέριο χρωματογράφο.

1.5.3 Τύποι εκχύλισης

Υπάρχουν τρεις βασικοί τύποι εκχύλισης που μπορούν να πραγματοποιηθούν χρησιμοποιώντας την SPME, αυτή της άμεσης εμβάπτισης (direct immersion solid phase microextraction, DI-SPME), η διαμόρφωση υπερκείμενης φάσης (headspace-solid phase microextraction, HS-SPME) και η διαμόρφωση με τη χρήση προστατευτικής μεμβράνης (membrane-protected solid phase microextraction, membrane-protected SPME). Στο **Σχήμα 1.14** απεικονίζονται οι διαφορές μεταξύ αυτών των τριών διαφορετικών τρόπων δειγματοληψίας, που μπορούν να επιτευχθούν με την SPME [5].

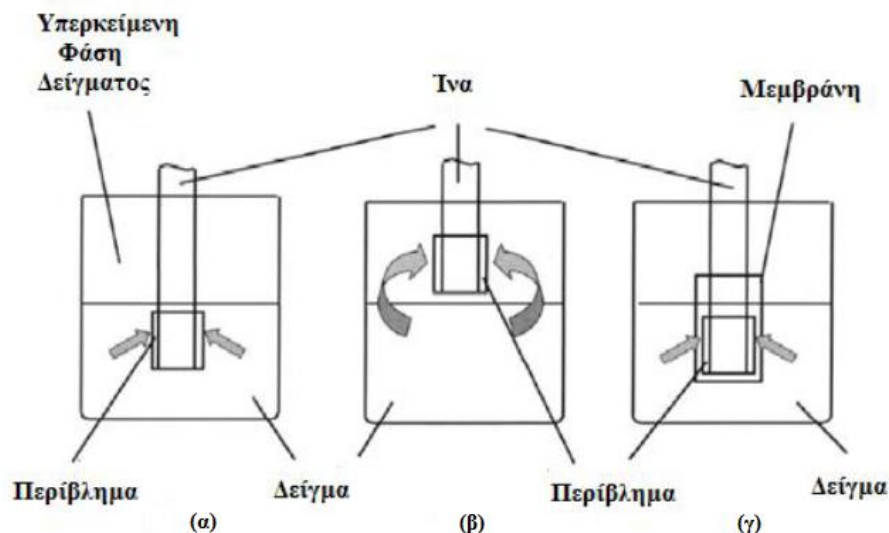
Στην περίπτωση της άμεσης εκχύλισης (**Σχήμα 1.14 (α)**), το επίστρωμά της ίνας εισάγεται άμεσα στο δείγμα και οι αναλύτες (κυρίως μη πτητικοί) μεταφέρονται άμεσα από τη μήτρα του δείγματος στη φάση εκχύλισης. Σε υδάτινες μήτρες για να αποκατασταθεί ταχύτερη η ισορροπία κατά την εκχύλιση απαιτούνται αποδοτικές τεχνικές ανάδευσης του δείγματος, ώστε να μπορέσουν οι προς ανάλυση ουσίες να μεταφερθούν από τον κύριο όγκο του δείγματος στην περιοχή της ίνας [37].

Κατά τη HS-SPME, οι προς ανάλυση ουσίες (πτητικές κυρίως) είναι απαραίτητο να μεταφερθούν πρώτα στην αέρια φάση (**Σχήμα 1.14 (β)**), ώστε στη συνέχεια να παγιδευτούν στην ίνα, γεγονός που αυξάνει το συνολικό χρόνο ισορροπίας. Συνήθως με αυξημένη θερμοκρασία εκχύλισης, εφαρμογής ανάδευσης αλλά και άλλων τεχνικών μειώνεται ο χρόνος ισορροπίας ενώ η ικανότητα εκχύλισης της μεθόδου αυτής επεκτείνεται και σε ουσίες μέτριας πτητικότητας [37]. Η διαμόρφωση της υπερκείμενης φάσης πλεονεκτεί γιατί προλαμβάνει την καταστροφή του επιστρώματος της ίνας από ουσίες με μεγάλα μοριακά βάρη και άλλα μη πτητικά συστατικά της μήτρας του δείγματος, όπως χουμικά οξέα. Η εκχύλιση διαμέσου της υπερκείμενης φάσης επιτρέπει επίσης την τροποποίηση της μήτρας, όπως π.χ. την

αλλαγή του pH, χωρίς να καταστραφεί η ίνα. Θεωρητικά το ποσοστό των εκχυλίζόμενων ουσιών τόσο κατά την άμεση δειγματοληψία, όσο και κατά τη δειγματοληψία μέσω υπερκείμενης φάσης είναι ίδιο. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι η συγκέντρωση στην κατάσταση ισορροπίας είναι ανεξάρτητη από τη θέση της ίνας στο σύστημα δείγμα/υπερκείμενη φάση. Εάν η παραπάνω προϋπόθεση δεν πληρείται, παρατηρείται σημαντική διαφορά στην ευαισθησία μεταξύ της άμεσης δειγματοληψίας και της δειγματοληψίας διαμέσου της υπερκείμενη φάσης. Αυτό μπορεί να παρατηρηθεί σε εξαιρετικά ασταθείς ενώσεις [37].

Κατά την τρίτη δειγματοληψία (membrane-protected SPME), η ίνα προστατεύεται με μια πολυμερή μεμβράνη, που επιτρέπει το πέρασμα μόνο των αναλυτών και όχι των διάφορων προσμίξεων από τη μήτρα του δείγματος. Η μεμβράνη παρέχει επιπλέον προστασία στην ίνα και αυξάνει την επιλεκτικότητά της. Αποτελεί φράγμα έναντι των καταστροφικών μεγαλομορίων (χουμικά οξέα) καθυστερώντας την φθορά της ίνας. Η εκχύλιση γίνεται όπως και στην απευθείας SPME όμως απαιτεί μεγαλύτερο χρόνο για την αποκατάσταση της ισορροπίας καθώς οι αναλύτες πρέπει πρώτα να διαπεράσουν την μεμβράνη και έπειτα να ροφηθούν από την ίνα. Αυτός ο τρόπος SPME προτιμάται όταν οι ενώσεις-στόχοι χαρακτηρίζονται από υψηλά σημεία ζέσεως [37].

Στο **Σχήμα 1.14** που ακολουθεί παρατίθενται σχηματικά οι τρεις διαφορετικοί τρόποι δειγματοληψίας, που μπορούν να επιτευχθούν με την SPME.



Σχήμα 1.14. Τρόποι λειτουργίας της SPME: (α) άμεση εκχύλιση, (β) εκχύλιση μέσω της υπερκείμενης αέριας φάσης και (γ) εκχύλιση με προστατευτική μεμβράνη [5].

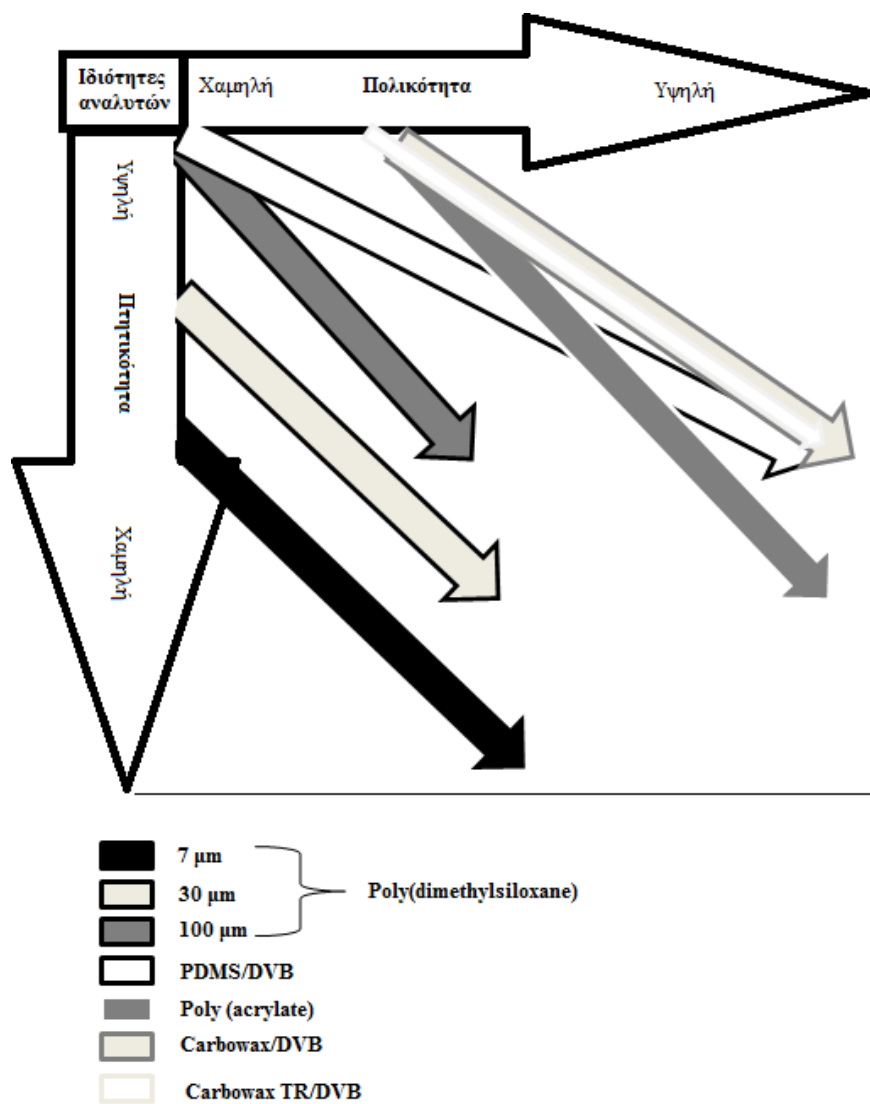
1.5 4 Παράγοντες που επηρεάζουν την αποτελεσματικότητα της εκχύλισης

Με τη χρήση της SPME ως τεχνική δειγματοληψίας διάφοροι παράγοντες μπορούν τροποποιηθούν, ώστε να βελτιωθεί η αποτελεσματικότητα της διαδικασίας. Οι πιο σημαντικοί από τους οποίους αναφέρονται παρακάτω:

Είδη πολυμερούς επιστρώματος

Σύμφωνα με τις εξισώσεις 5 και 6 η αποτελεσματικότητα της εκχύλισης εξαρτάται από το συντελεστή κατανομής μεταξύ της ίνας και της μήτρας του δείγματος, K_{fs} [5]. Είναι λοιπόν σημαντικό να χρησιμοποιηθεί το κατάλληλο επίστρωμα και στο ιδανικό πάχος για μια συγκεκριμένη εφαρμογή, ώστε να επιτευχθεί η μέγιστη απόδοση της εκχύλισης. Παχύτερα επιστρώματα απαιτούν μεγαλύτερους χρόνους εξισορρόπησης και έτσι η επιλογή του υποστρώματος είναι η λεπτότερη δυνατή, που μπορεί να παρέχει επαρκή ευαισθησία για τον προσδιορισμό των αναλυτών [36].

Γενικά, υπάρχει ένα ευρύ φάσμα επιλογής εμπορικά διαθέσιμων επιστρώματων, ώστε ο κάθε επιστήμονας να επιλέγει το κατάλληλο για τις ουσίες, που αναλύει. Το **Σχήμα 1.15** επεξηγεί τις γενικές οδηγίες σχετικά με την επιλογή του κατάλληλου επιστρώματος για μια δεδομένη εφαρμογή. Γενικά η επιλογή του επιστρώματος ακολουθεί τον βασικό κανόνα «όμοια διαλύουν όμοια» και βασίζεται στην πολικότητα και την σταθερότητα των προς ανάλυση ουσιών [5,36]. Παχιά επιστρώματα είναι ιδανικά για εξαιρετικά πτητικές ενώσεις, ενώ οι λεπτές επιστρώσεις επιλέγονται για λιγότερο πτητικές ενώσεις. Οι πρώτες εμπορικά διαθέσιμες ίνες που χρησιμοποιήθηκαν ως επιχρίσματα στην SPME είναι το πολυδιμεθυλοσιλοξάνιο (PDMS) και το πολυακρυλικό (PA). Το PDMS αν και μοιάζει με στερεό κάλυμμα, είναι στην πραγματικότητα ένα ελαστικό υγρό με υψηλό ιξώδες. Όσον αφορά την πολικότητα είναι άπολο και παρουσιάζει υψηλή συγγένεια για την εκχύλιση των μη πολικών ενώσεων. Από την άλλη πλευρά, το PA είναι στερεό κρυστάλλινο κάλυμμα που μετατρέπεται σε υγρό στις θερμοκρασίες εκρόφησης. Πρόκειται για πολικό μόριο και άρα είναι κατάλληλο για την εκχύλιση πολικών και ιοντικές ενώσεων. Ωστόσο και τα δυο επιχρίσματα εκχυλίζουν (τους αναλύτες) μέσω της διαδικασίας της απορρόφησης [37–39]. Επιχρίσματα που χρησιμοποιούνται συχνά επίσης στην SPME είναι Carboxen (CAR), πολυαιθυλενογλυκόλη (PEG, ή οξείδιο πολυαιθυλενίου, PEO, ή Carbowax, CW) και το διβινυλοβενζολίο (DVB). Στο εμπόριο παρέχονται επίσης μικτά επιχρίσματα, όπου πορώδη σωματίδια είναι ενσωματωμένα σε μια φάση πολυμερούς. Πρόκειται για μηχανικά πιο σταθερές επιστρώσεις με υψηλή επιλεκτικότητα, όπως PDMS/DVB, CAR/PDMS, pDVB/CAR/PDMS, PEG/DVB [39].



Σχήμα 1.15. Οδηγός επιλογής κατάλληλου επιστρώματος στην SPME.

Μια λίστα από τις εμπορικά διαθέσιμες ίνες / επιχρίσματα και η συνιστώμενη χρήση τους δίνονται στον **Πίνακα 1.1**, που ακολουθεί.

Πίνακας 1.1. Εμπορικά διαθέσιμα επιχρίσματα SPME (Supelco, Bellefonte, PA)

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

Θερμοκρασία εκχύλισης

Αύξηση στην θερμοκρασία εκχύλισης προκαλεί αύξηση στο ρυθμό εκχύλισης, δεδομένου ότι ενισχύει την διάχυση του αναλύτη προς την ίνα. Επιπλέον, στην HS-SPME, η θερμοκρασία βοηθά στη μεταφορά του αναλύτη στον υπερκείμενο χώρο. Αυτή η αύξηση στη θερμοκρασία, μειώνει τον συντελεστή κατανομής του αναλυτή, επειδή το βήμα απορρόφησης είναι μια εξωθερμική διαδικασία. Οι Pawliszyn et al. εισήγαγαν μια τροποποίηση της SPME, η αποκαλούμενη κρύα ίνα SPME (cold fiber solid phase microextraction, CF-SPME), για να λύσουν αυτό το πρόβλημα. Αυτή η συσκευή επιτρέπει στο δείγμα να θερμαίνεται καθώς η ίνα δροσίζεται ταυτόχρονα, καθιστώντας κατά συνέπεια τη διαδικασία εκχύλισης αποδοτικότερη [40].

pH και αλατότητα

Η ρύθμιση του pH του δείγματος μπορεί να βελτιώσει την ευαισθησία της μεθόδου για βασικούς και όξινους αναλύτες. Αυτό σχετίζεται με το γεγονός ότι η SPME μπορεί να εκχυλίσει μόνο ουδέτερα (μη ιονικά) είδη από το νερό, εκτός και αν χρησιμοποιείται κάλυμμα ιονταλλαγής. Με κατάλληλη ρύθμιση του pH, τα ασθενή οξέα και οι βάσεις μπορούν να μετατραπούν στην ουδέτερη μορφή τους για την εκχύλιση με την ίνα SPME. Για να εξασφαλιστεί ότι τουλάχιστον το 99% του όξινου συστατικού είναι σε ουδέτερη μορφή, το pH θα πρέπει να είναι τουλάχιστον δυο μονάδες χαμηλότερο από την pK_a του αναλύτη. Για βασικούς αναλύτες, το pH θα πρέπει να είναι μεγαλύτερο από την pK_b κατά δύο μονάδες [36,41].

Ωστόσο η το pH μπορεί να καταστρέψει την ίνα SPME και γι' αυτό θα πρέπει να υπάρχει προσοχή στην επιλογή της ίνας, αλλά και του τύπου εκχύλισης που θα χρησιμοποιηθεί αν ρυθμίσουμε το pH [37].

Οι περισσότερες μελέτες έχουν δείξει ότι η συγκράτηση του αναλύτη στην επικάλυψη της ίνας αυξάνεται με τη προσθήκη ενός άλατος, συνήθως χλωριούχο ή θειϊκού νατρίου [41]. Παραδείγματος χάριν για πολικούς αναλυτές όπως οι τριαζίνες, η ευαισθησία μπορεί να αυξηθεί κατά έναν παράγοντα μέχρι δέκα. Αυτή η προσθήκη άλατος αυξάνει συνήθως την ιονική ισχύ του δείγματος μειώνοντας τη διαλυτότητα των αναλυτών με αποτέλεσμα να συγκρατούνται ευκολότερα. Αυτή η επίδραση δεν είναι γενική και εξαρτάται από την πολικότητα του αναλύτη, τη συγκέντρωση του άλατος και τη μήτρα του δείγματος [40]. Ωστόσο η δειγματοληψία HS-SPME δειγματοληψίας προτιμάται όταν προστίθεται αλάτι στο δείγμα, επειδή η ίνα μπορεί να καταστραφεί [41].

Προσθήκη διαλύτη

Η παρουσία ενός οργανικού διαλύτη στα δείγματα νερού μειώνει συνήθως τη ποσότητα του αναλύτη που εκχυλίζεται. Παραδείγματος χάριν, έχει αποδειχθεί ότι η αύξηση της περιεκτικότητας σε μεθανόλη μέχρι 20%, μειώνει τις κορυφές των ενώσεων τριαζίνης κατά δυο παράγοντες. Σε αντίθεση, στα χώματα και στις λάσπες, η προσθήκη του νερού ή των οργανικών διαλυτών στη μήτρα δειγμάτων βοηθά στην αφαίρεση των καταλοίπων από τη μήτρα και ενισχύει τη διάχυσή τους από το δείγμα προς το επίστρωμα των ινών [40].

Όγκος δείγματος και υπερκείμενου χώρου

Η ευαισθησία που επιτυγχάνεται με τη μέθοδο της SPME εξαρτάται από τον αριθμό των mol του αναλύτη που εκχυλίζονται από το δείγμα. Όταν ο όγκος του δείγματος είναι πολύ μεγαλύτερος από τον όγκο του επικαλύμματος της ίνας, η ποσότητα του αναλύτη που εκχυλίζεται είναι ανεξάρτητη από τον όγκο του δείγματος σε περίπτωση ισορροπίας. Εάν ο διαθέσιμος όγκος δείγματος δεν είναι σημαντικά μεγαλύτερος από

τον όγκο του καλύμματος, χρειάζεται προσοχή στη μέτρηση του όγκου του δείγματος. Επίσης, πρέπει να αποφεύγονται και οι απώλειες λόγω εξάτμισης, προσρόφησης ή μικροβιακής δραστηριότητας [36]. Το ποσό του αναλύτη που εκχυλίζεται είναι ανάλογο μόνο προς το συντελεστή κατανομής, τη συγκέντρωση δείγματος και τον όγκο της ίνας. Οι συντελεστές κατανομής (k_{fs}) των δειγμάτων μεταξύ της μήτρας δείγματος και της ίνας πρέπει να εξεταστούν, επειδή ενώσεις με μεγάλο k_{fs} επηρεάζονται περισσότερο από τις αλλαγές στον όγκο δειγμάτων σε σύγκριση με τις ενώσεις με μικρές συγγένειες προς την ίνα. Για αυτόν τον λόγο, ένα καλό κριτήριο για την επιλογή του καλύτερου όγκου δειγμάτων χρησιμοποιεί την τιμή k_{fs} για τους αναλύτες [42].

Στην HS-SPME, οι αναλυτές κατανέμονται μεταξύ του δείγματος, τις ίνες, και τον υπερκείμενο χώρο πάνω από το δείγμα. Οι πτητικές ενώσεις μεταφέρονται στον υπερκείμενο χώρο, όπου ο όγκος του θα πρέπει να είναι μικρός, έτσι ώστε να συγκεντρωθούν οι αναλύτες πριν από τη μεταφορά τους στην ίνα. Εάν ο όγκος του υπερκείμενου χώρου είναι πολύ μεγάλος, η ευαισθησία μειώνεται σημαντικά. Ο όγκος του υπερκείμενου χώρου επηρεάζει επίσης την κινητική της εκχύλισης. Όσο πιο μικρός είναι σε σχέση με τον όγκο του δείγματος, τόσο ταχύτερη είναι η μεταφορά των αναλυτών από το δείγμα προς την ίνα [43].

Ανάδευση του δείγματος

Η αναταραχή (ανάδευση) του δείγματος χρησιμοποιείται προκειμένου να ενισχυθεί η εκχύλιση ή για να μειωθεί ο χρόνος ισορροπίας. Οι μέθοδοι ανάδευσης που χρησιμοποιούνται περιλαμβάνουν: την ανάδευση με μαγνήτη, την κατεργασία με υπερήχους (sonification), τη δόνηση ινών και τη ροή μέσω των κυττάρων. Οι σκληροί τρόποι ανάδευσης όπως η κατεργασία με υπερήχους μπορούν να έχουν επιπτώσεις στην επικάλυψη, άρα πρέπει να εφαρμοστούν με πολύ προσοχή [42].

Χρόνος εκχύλισης

Δεδομένου ότι η SPME βασίζεται σε μια διαδικασία ισορροπίας, το μέγιστο ποσό του αναλύτη θα εκχυλιστεί στο χρόνο ισορροπίας. Η ανάδευση του δείγματος μειώνει το χρόνο που απαιτείται για να επιτευχθεί η ισορροπία, επειδή ενισχύει τη διάχυση του αναλύτη προς την ίνα. Ενώσεις με χαμηλούς συντελεστές κατανομής έχουν συνήθως μεγάλους χρόνους ισορροπίας, έτσι μπορεί να επιλεγεί ένας χρόνος εκχύλισης μικρότερος από τον χρόνο ισορροπίας. Όμως σε αυτήν την περίπτωση, ο χρόνος έκθεσης πρέπει να ελεγχθεί πολύ καλά για να εξασφαλιστούν καλά στοιχεία, που να μπορούν να αναπαραχθούν [34,40].

Η επίδραση της μήτρας

Οι έρευνες που έγιναν για τον καθορισμό της επίδρασης της μήτρας στην αποδοτικότητα της εκχύλισης των αναλυτών έδειξαν ότι οι οργανικές ουσίες όπως τα χουμικά και φουλβικά οξέα που βρίσκονται στα δείγματα νερού, μπορούν να μειώσουν το ποσό του αναλύτη που εκχυλίζεται εξαιτίας της αλληλεπίδρασης μεταξύ της διαλυμένης οργανικής ουσίας (dissolved organic matter, DOM) και των αναλυτών [42].

Η διαδικασία εκρόφησης

Τα κατάλοιπα που διατηρούνται στο επίστρωμα των ινών μπορούν να εκροφηθούν από την αέρια χρωματογραφία (GC) ή την υψηλής απόδοσης υγρή χρωματογραφία (HPLC). Οι περισσότερες εφαρμογές SPME εκτελούνται χρησιμοποιώντας το GC επειδή ο συνδυασμός είναι πολύ απλός.

SPME-GC

Η SPME μπορεί να συνδεθεί εύκολα με το GC επειδή ο εγχυτήρας του αέριου χρωματογράφου μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη θερμική εκρόφηση των καταλοίπων από την ίνα. Καθώς αυξάνεται η θερμοκρασία, μειώνεται η συγγένεια των καταλοίπων προς την ίνα με αποτέλεσμα να ελευθερώνονται. Επιπλέον, η ροή του φέροντος αερίου μέσα στον εγχυτήρα βοηθά επίσης στη αφαίρεση των καταλοίπων από την ίνα και στη μεταφορά τους στην χρωματογραφική στήλη. Για τις περισσότερες ενώσεις, η εκρόφηση επιτυγχάνεται συνήθως σε χρόνο λιγότερο από δύο λεπτά. Η θερμική εκρόφηση στο GC επηρεάζεται από διάφορες παραμέτρους όπως η θερμοκρασία του εγχυτήρα και η ροή του φέροντος αερίου, η οποία καθορίζει και το χρόνο εκρόφησης της διαδικασίας SPME. Γενικά, η θερμοκρασία των εγχυτήρων τίθεται στη μέγιστη θερμοκρασία για τη σταθερότητα του επιστρώματος των ινών. Εντούτοις, οι ενώσεις με υψηλό μοριακό βάρος χρειάζονται κανονικά υψηλότερες θερμοκρασίες εκρόφησης από αυτή του εγχυτήρα. Συνεπώς, αυτές οι ενώσεις μπορούν να διατηρηθούν στο επίστρωμα της ίνας και να εμφανιστούν στις επόμενες αναλύσεις (carry-over effect). Η επίδραση αυτή περιορίζεται με την εφαρμογή υψηλής διάρκειας εκρόφησης [42].

SPME-HPLC

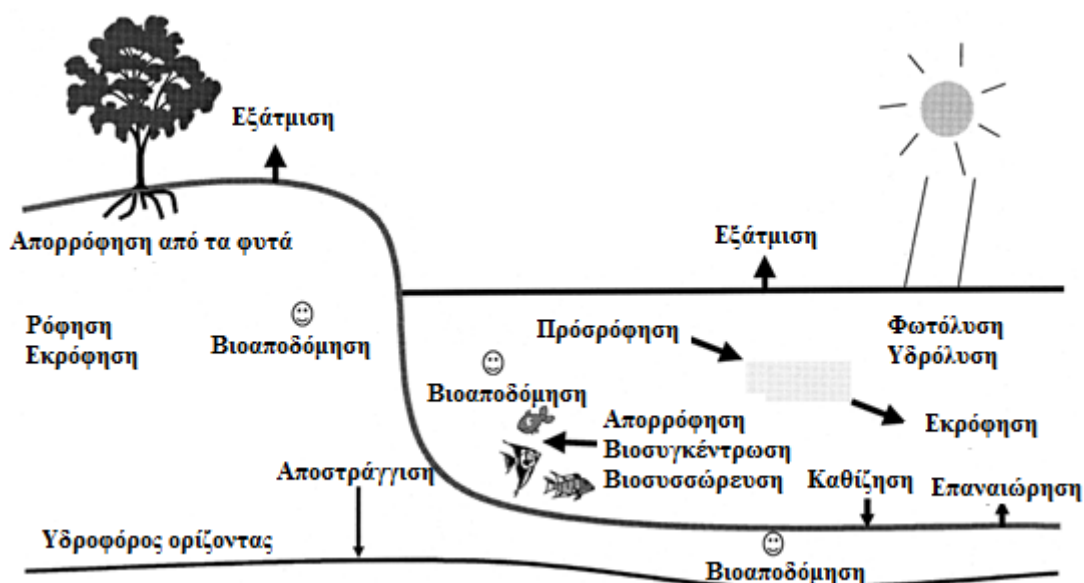
Η σύζευξη SPME–HPLC αποδείχθηκε πιο σύνθετη από την σύζευξη SPME–GC επειδή χρειάζεται ειδική συσκευή σύζευξης για να εκροφήσει τους αναλύτες. Οι αναλύτες που διατηρούνται στη ίνα εκροφώνται με την προσθήκη ενός οργανικού διαλύτη στην ίνα καθώς αυτή βρίσκεται στο θάλαμο εκρόφησης. Εν συνεχεία, οι αναλύτες εισάγονται στη αναλυτική στήλη της HPLC με τη βοήθεια της κινητής φάσης. Οι παράγοντες που επηρεάζουν τη διαδικασία εκρόφησης στην HPLC είναι η επιλογή του καταλληλότερου διαλύτη και η θέρμανση της διεπαφής. Δεδομένου ότι οι οργανικοί διαλύτες μπορούν να προκαλέσουν ζημιά στην επικάλυψη της ίνας, δεν

μπορούν όλες οι ίνες SPME να χρησιμοποιηθούν για τις εφαρμογές με HPLC. Οι νέες ίνες SPME, όπως 65 μm PDMS-DVB και CW-TPR, οι οποίες έχουν συνδεδεμένες φάσεις (bonded phases) και αντιστέκονται στην προσθήκη των οργανικών διαλυτών, αναπτύχθηκαν ειδικά για τη σύζευξη με την HPLC [42].

1.6 ΦΩΤΟΑΠΟΔΟΜΗΣΗ

1.6.1 Μηχανισμοί αποδόμησης

Οι χημικές ενώσεις όταν απελευθερώνονται στο περιβάλλον και ιδιαίτερα οι οργανικοί ρύποι μπορεί να προκαλέσουν σοβαρά προβλήματα στα διάφορα περιβαλλοντικά διαμερίσματα, λόγω της τοξικότητάς τους, την επιμονή και την ικανότητα βιοσυσσώρευσης και κατ' επέκταση βιομεγέθυνσης τους. Ανάλογα με το περιβαλλοντικό διαμέρισμα, στο οποίο οι οργανικές ενώσεις είναι παρούσες (π.χ. έδαφος, ιζήματα, επιφάνεια και υπόγεια νερά), μπορούν να υποβληθούν σε μία ή συνδυασμό διεργασιών, που μπορεί να επηρεάσουν την τύχη και τη συμπεριφορά τους (**Σχήμα 1.16**). Μπορούν να υποστούν αργές αλλαγές από φυσικές, χημικές ή βιολογικές διεργασίες [44,45].



Σχήμα 1.16. Πιθανή τύχη χημικών ενώσεων κατά την είσοδο τους στο περιβάλλον [44].

Οι φυσικές διεργασίες περιλαμβάνουν κυρίως διεργασίες μεταφοράς (πτητικότητα, οριζόντια μεταφορά, διασπορά, υγρή εναπόθεση, καθίζηση, επαναιώρηση, ανάμειξη εδάφους ή ιζημάτων και διάχυση). Οι διεργασίες μεταφοράς προσδιορίζουν τη χωρική διακύμανση και τη χρονική κατανομή μιας χημικής ένωσης στο περιβάλλον. Οι χημικές και βιολογικές διεργασίες περιλαμβάνουν αντιδράσεις μετασχηματισμού με βιοαποικοδόμηση, υδρόλυση, φωτόλυση και σχηματισμό νέων ειδών κατά τη διάρκεια της εξέλιξης (speciation). Η φωτοαποδόμηση και η βιοαποδόμηση είναι σημαντικές διαδικασίες αποδόμησης, που μπορούν να καθαρίσουν το περιβάλλον με φυσικό τρόπο [44].

Οι διεργασίες αποδόμησης μπορούν να συμβούν σε διάφορους ρυθμούς που εξαρτώνται από τον τύπο της ένωσης, της μήτρας στην οποία είναι παρούσα η ένωση, καθώς και από τους χαρακτηριστικούς περιβαλλοντικούς παράγοντες για μια δεδομένη μήτρα. Τα νεοσυσταθέντα προϊόντα της αποδόμησης μπορεί είναι περισσότερο ή λιγότερο επιβλαβή για το περιβάλλον [45,46].

Ως φωτοαποδόμηση ορίζεται η φωτοχημική μεταμόρφωση ενός μορίου σε θραύσματα μικρότερου μοριακού βάρους, συνήθως με μια διαδικασία οξειδωσης. Φωτοχημικές αντιδράσεις προκαλούνται από την απορρόφηση της υπεριώδους (UV), ορατής (VIS) ή υπέρυθρης ακτινοβολίας (IR) [47]. Πιο συγκεκριμένα η φωτοαποδόμηση, είναι μια χημική αντίδραση που λαμβάνει χώρα κάτω από την επίδραση των φωτονίων ή του φωτός και μπορεί να συμβεί στην ατμόσφαιρα και στην επιφάνεια είτε του νερού ή του εδάφους. Ένας παράγοντας που επηρεάζει τη διαδικασία αυτή είναι η ένταση της υπεριώδους ακτινοβολίας η οποία, με τη σειρά της εξαρτάται από πολλούς παράγοντες, μεταξύ των άλλων, την εποχή του έτους, την ώρα της ημέρας, το γεωγραφικό πλάτος, το ύψος πάνω από το επίπεδο της θάλασσας, την πυκνότητα του αέρα, τη νεφοκάλυψη, ή το μέγεθος της τρύπας του όζοντος [45,46]. Όταν συζητάμε για φωτοχημικές αντιδράσεις θα πρέπει να επισημάνουμε ότι υπάρχουν δύο τύποι διεργασιών, αυτή της άμεσης και της έμμεσης φωτόλυσης.

Οι αντιδράσεις άμεσης φωτόλυσης πραγματοποιούνται με απευθείας απορρόφηση του φωτός από χημικές ομάδες μιας οργανικής ένωσης, οι οποίες ονομάζονται χρωμοφόρες ομάδες ή απλά χρωμοφόρα. Το φωτολυτικό δυναμικό εξαρτάται κυρίως από το βαθμό αλληλοεπικάλυψης μεταξύ του UV/VIS φάσματος απορρόφησης της ένωσης και του φάσματος εκπομπής της δέσμης του ηλιακού φωτός στην περιοχή 290-750 nm. Οι άμεσες επιπτώσεις της απορρόφησης του φωτός περιλαμβάνουν τη διέγερση του μορίου των οργανικών ενώσεων με αποτέλεσμα τη χημική μετατροπή τους σε άλλες ουσίες με σπάσιμο των χημικών δεσμών τους ή ακόμη και πλήρη αποδόμηση τους [45,46].

Στις έμμεσες αντιδράσεις φωτόλυσης, μια αντίδραση ξεκινά λόγω της απορρόφησης του φωτός από κάποια άλλα χρωμοφόρα εκτός από το ίδιο το υπόστρωμα της οργανικής ένωσης. Αν το χρωμοφόρο αναγεννιέται, όπως συμβαίνει σε αντιδράσεις

μεταφοράς ενέργειας, τότε δρα ως φωτοκαταλύτης, ενώ αν το χρωμοφόρο αλλάζει αντιστρεπτά, τότε υφίσταται άμεση φωτόλυση και τα δραστικά ενδιάμεσα (π.χ. ελεύθερες ρίζες $\cdot\text{OH}$, χουμικά κ.τ.λ.), που προκύπτουν προκαλούν στη συνέχεια την έμμεση φωτόλυση άλλων μορίων του υποστρώματος.

Οι έμμεσες αντιδράσεις φωτόλυσης είναι ένα συχνό φαινόμενο στα φυσικά νερά και εξαιρετικά σημαντικό καθώς μεταβάλλει μόρια, τα οποία αντιστέκονται στη φωτοδιάσπαση, είτε γιατί δεν απορροφούν ενέργεια, είτε γιατί οι διεγερμένες καταστάσεις τους δε παράγονται σε μεγάλο ποσοστό. Μάλιστα στο υδάτινο περιβάλλον, οι άμεσες αντιδράσεις δεν είναι αυτές που καθορίζουν τους ρυθμούς και τα προϊόντα φωτοαποδόμησης, αφού οι διαδικασίες της άμεσης και έμμεσης φωτόλυσης συμβαίνουν ταυτόχρονα [45]. Ωστόσο εξίσου ζωτικής σημασίας είναι και ο εντοπισμός των ενδιάμεσων φωτοπροϊόντων που σχηματίζονται πριν το τελικό σημείο της φωτοαποδόμησης, καθώς αυτά μπορεί να έχουν τοξικότητα στο περιβάλλον και τον άνθρωπο και μάλιστα υψηλότερη από τις αρχικές ενώσεις. Για τους λόγους αυτούς, είναι απαραίτητο να μελετηθεί η συμπεριφορά των ρυπαντών στο περιβάλλον.

1.6.2 Η κινητική των διεργασιών αποδόμησης

Ακόμα και για επίμονους οργανικούς ρύπους, που εμφανίζουν υψηλό βαθμό ανθεκτικότητας, οι αντιδράσεις αποδόμησης συνήθως περιγράφονται από κινητικές πρώτης τάξης [45].

Η κινητική αποδόμησης πρώτης τάξεως μπορεί να εκφραστεί ως εξής(**εξίσωση 7**):

$$\frac{dC}{dt} = -kC \quad [7]$$

όπου C παριστάνει την συγκέντρωση μιας ένωσης που αποδομείται κατά τη χρονική στιγμή t , k είναι η σταθερά ρυθμού διάσπασης.

Η ολοκλήρωση της εξίσωσης αυτής με αρχική συνθήκη: $t = 0, C = C_0$ μας δίνει την παρακάτω **εξίσωση 8**:

$$C(t) = C_0 e^{-kt} \quad [8]$$

όπου C_0 είναι η αρχική συγκέντρωση. Από την παραπάνω έκφραση βλέπουμε ότι η συγκέντρωση της ένωσης είναι μια εκθετική συνάρτηση του χρόνου αποδόμησης και μπορεί να γραφτεί και ως εξής (**εξίσωση 9**):

$$\ln C(t) = \ln C_0 - kt \quad [9]$$

Ως εκ τούτου ο λογάριθμος της συγκέντρωσης είναι γραμμική συνάρτηση του χρόνου φωτοαποδόμησης στην κινητική πρώτης τάξης.

Κατά τη σύγκριση της κινητικής φωτοαποδόμησης, η χρήση του χρόνου ημίσειας ζωής ($t_{1/2}$) είναι μια χρήσιμη παράμετρος και ορίζεται ως χρόνος που απαιτείται για την ελάττωση της συγκέντρωσης των αντιδρώντων κατά το ήμισυ της αρχικής της τιμής και εκφράζεται ως εξής (**εξίσωση 10**):

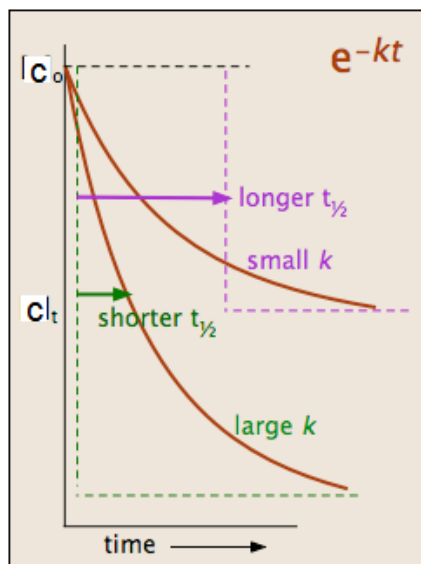
$$C = C_0/2$$

$$\ln(C_0/2) = \ln C_0 - kt_{1/2}$$

$$\ln C_0 - \ln 2 = \ln C_0 - kt_{1/2}$$

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k} \quad [10]$$

Παρατηρείται ότι, για τις αντιδράσεις πρώτης τάξης, ο χρόνος ημίσειας ζωής είναι ανεξάρτητος από την αρχική συγκέντρωση του αντιδρώντος, και σχετίζεται αντίστροφα με τη σταθερά ρυθμού της αντίδρασης πρώτης τάξης όπως φαίνεται και στο παρακάτω **Σχήμα 1.17**:



Σχήμα 1.17. Μεταβολή συγκέντρωσης ως προς το χρόνο για αντίδραση πρώτης τάξης.

1.7 ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΣΤΟ ΠΡΟΒΛΗΜΑ

Η παρουσία διάφορων οργανικών ενώσεων στο περιβάλλον και ειδικότερα στο νερό είναι ένα σημαντικό περιβαλλοντικό πρόβλημα, που απαιτεί την άμεση προσοχή μας, καθώς η λίστα των τοξικών και επικινδύνων οργανικών ενώσεων ανανεώνεται με ταχείς ρυθμούς. Ως αποτέλεσμα του μεγάλου όγκου παραγωγής νεοσύστατων ρύπων, της ανεξέλεγκτης κατανάλωσής τους, αλλά και την εφαρμογή τους σε ευαίσθητες ομάδες ανθρώπων, όπως παιδιά, η ρύπανση των νερών με οργανικές ενώσεις, όπως τις φαρμακευτικές ενώσεις και τα προϊόντα προσωπικής φροντίδας (εντομοαπωθητικά και παραβένια), έχει επιταχυνθεί εντυπωσιακά. Η εφαρμογή ή ακόμα και η ανάπτυξη νέων και πρωτότυπων μεθοδολογιών προετοιμασίας και

ανάλυσης δειγμάτων, προκειμένου να ανιχνευτούν οι ρύποι αυτοί στο περιβάλλον είναι απαραίτητη, προκειμένου να αναγνωριστούν οι ρυπασμένες περιοχές.

Εξίσου ζωτικής σημασίας είναι οι περιβαλλοντικές μελέτες να εστιαστούν στη συμπεριφορά των αναδυόμενων ρύπων μετά την είσοδό τους στο υδάτινο περιβάλλον, καθώς η εμφάνιση των ενώσεων αυτών στο περιβάλλον, ακόμα και σε μικρές συγκεντρώσεις της τάξεως των ng L^{-1} , μπορεί να επηρεάσει αρνητικά την υγεία του οικοσυστήματος, ύστερα από μακροχρόνια έκθεση των υδρόβιων οργανισμών σε αυτές τις τοξικές ενώσεις, καθώς και του ανθρώπου, μέσω της τροφικής αλυσίδας ή και της κατανάλωσης πόσιμου νερού. Η τύχη των οργανικών ρύπων στο περιβάλλον και ειδικότερα στο νερό ελέγχεται από μια σειρά φυσικές, χημικές και βιολογικές διεργασίες. Μια διαδικασία, που έχει μεγάλη επίδραση στην εξέλιξη των οργανικών ρύπων, από τη στιγμή που φτάνουν στο περιβάλλον, είναι η φωτοαποικοδόμηση. Οι ρυθμοί φωτοαποικοδόμησης συνήθως εξαρτώνται από τις περιβαλλοντικές συνθήκες και την παρουσία ή όχι άλλων χημικών ενώσεων, όπως χουμικά και φουλβικά οξέα, νιτρικά ιόντα κ.τ.λ.. Έτσι διακρίνονται δύο είδη μηχανισμών, με τους οποίους μπορεί να λάβει χώρα η αποικοδόμηση στα υδάτινα συστήματα. Πρόκειται για την άμεση και την έμμεση φωτόλυση, μηχανισμοί, οι οποίοι είναι ευπρόσδεκτοι μόνο στην περίπτωση που απομακρύνουν ή μειώνουν τη συγκέντρωση των αναδυόμενων ρύπων, χωρίς τον ταυτόχρονο σχηματισμό κάποιων παραπροϊόντων, τα οποία μπορεί να αποτελούν μεγαλύτερο κίνδυνο για το περιβάλλον, λόγω των διαφορετικών τους ιδιοτήτων από τις αρχικές ενώσεις και της επερχόμενης βιοσυσσώρευσής τους στο περιβάλλον.

1.8 ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ ΚΑΙ ΣΤΟΧΟΙ

Στόχος της παρούσας έρευνας ήταν η χρήση καινοτόμων, πρωτοποριακών τεχνολογιών, που οδήγησαν στην ανάπτυξη, ισχυρών, οικονομικών και οικολογικών αναλυτικών πρωτοκόλλων για τη γρήγορη και ακριβή μέτρηση μικροποσοτήτων αναδυόμενων ρύπων. Συγκεκριμένα εφαρμόστηκε η τεχνική προετοιμασίας δειγμάτων σχήματος U μικροεκχύλιση υγρής φάσης με σωληνοειδή μεμβράνη συζευγμένη με υγρή χρωματογραφία και ανιχνευτή πολλαπλών μήκων κύματος για την ανάλυση τεσσάρων παραβενίων. Ακολούθησε μελέτη της φωτολυτικής τύχης των παραπάνω ενώσεων και δυο εντομοαπωθητικών σε διάφορες υδάτινες μήτρες με σκοπό το προσδιορισμό των μηχανισμών διάσπασης, καθώς και την επίδραση της περιβαλλοντικής μήτρας στη διεργασία της φωτόλυσης.



ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [1] S. Mitra, Sample Preparation Techniques in Analytical Chemistry, John Wiley & Sons, New Jersey, 2003.
- [2] E. Psillakis, N. Kalogerakis, Developments in liquid-phase microextraction, TrAC - Trends Anal. Chem. 22 (2003) 565–574.
- [3] L. A. Berrueta / B. Gallo / F. Vicente, A Review of Solid Phase Extraction: Basic Principles and New Developments, Chromatographia. 40 (1995) 474–483.
- [4] Μ.Φ. Daniel C.Harris, Απόδοση: Ν. Χανιωτάκης, Ποσοτική χημική ανάλυση. Τόμος II, Πανεπιστημιακές εκδόσεις Κρήτης, Ηράκλειο, 2010.
- [5] J. Pawliszyn, Solid Phase Microextraction: Theory and Practice, John Wiley & Sons, New York, 1997.
- [6] A. Esrafil, Y. Yamini, M. Ghambarian, M. Moradi, Analysis of Paraben Preservatives in Cosmetic Samples: Comparison of Three Different Dynamic Hollow Fiber Liquid-Phase Microextraction Methods, Chromatographia. 77 (2014) 317–327.
- [7] Μ.Α.Κ. Θ. Π. Χατζηϊωάννου, Ενόργανη Ανάλυση, Εκδόσεις Πανεπιστημίου Αθηνών, 2000.
- [8] Ν.Χ. Skoog, Holler, Nieman Μετάφραση: Μ. Ι. Καραγιάννης, Κ. Η. Ευσταθίου, Αρχές της ενόργανης ανάλυσης, Εκδόσεις Κωσταράκης, Αθήνα, 2005.

- [9] E. Psillakis, N. Kalogerakis, Developments in single-drop microextraction, *Trends Anal. Chem.* 21 (2002) 53–63.
- [10] P. Biparva, A.A. Matin, Microextraction Techniques as a Sample Preparation Step for Metal Analysis, *At. Absorpt. Spectrosc.* 258 (2012) 62–88.
- [11] D.A. Wells, Solid-Phase Extraction With Cartridges, *Sample Prep. Solut. III* (2000) 4135–4141.
- [12] M.C. Hennion, Solid-phase extraction: method development, sorbents, and coupling with liquid chromatography., *J. Chromatogr. A.* 856 (1999) 3–54. doi:10.1016/S0021-9673(99)00832-8.
- [13] C.F. Poole, New trends in solid-phase extraction, *TrAC Trends Anal. Chem.* 22 (2003) 362–373.
- [14] A. Sarafraz-Yazdi, A. Amiri, Liquid-phase microextraction, *TrAC - Trends Anal. Chem.* 29 (2010) 1–14.
- [15] X.H. Zang, Q.H. Wu, M.Y. Zhang, G.H. Xi, Z. Wang, Developments of dispersive liquid-liquid microextraction technique, *Chinese J. Anal. Chem.* 37 (2009) 161–168.
- [16] M. Rezaee, Y. Assadi, M.-R. Milani Hosseini, E. Aghaee, F. Ahmadi, S. Berijani, Determination of organic compounds in water using dispersive liquid-liquid microextraction., *J. Chromatogr. A.* 1116 (2006) 1–9.
- [17] A. Zgoła-Grześkowiak, T. Grześkowiak, Dispersive liquid-liquid microextraction, *TrAC - Trends Anal. Chem.* 30 (2011) 1382–1399.
- [18] S. Pedersen-Bjergaard, K.E. Rasmussen, Liquid-phase microextraction with porous hollow fibers, a miniaturized and highly flexible format for liquid-liquid extraction, *J. Chromatogr. A.* 1184 (2008) 132–142.
- [19] M.Á. Bello-López, M. Ramos-Payán, J.A. Ocaña-González, R. Fernández-Torres, M. Callejón-Mochón, Analytical Applications of Hollow Fiber Liquid Phase Microextraction (HF-LPME): A Review, *Anal. Lett.* 45 (2012) 804–830.
- [20] C. Mahugo-Santana, Z. Sosa-Ferrera, M.E. Torres-Padrón, J.J. Santana-Rodríguez, Application of new approaches to liquid-phase microextraction for the determination of emerging pollutants, *TrAC - Trends Anal. Chem.* 30 (2011) 731–748.
- [21] K.E. Rasmussen, S. Pedersen-Bjergaard, Developments in hollow fibre-based, liquid-phase microextraction, *TrAC - Trends Anal. Chem.* 23 (2004) 1–10.
- [22] L. Chimuka, T. a M. Msagati, E. Cukrowska, H. Tutu, Critical parameters in a supported liquid membrane extraction technique for ionizable organic compounds with a stagnant acceptor phase, *J. Chromatogr. A.* 1217 (2010) 2318–2325.
- [23] J. Namiesnik, P. Szefer, *Analytical Measurements in Aquatic Environments*, Taylor & Francis Group, London, 2009.
- [24] J.A. Jonsson, L. Mathiasson, Membrane extraction in analytical chemistry, *J. Sep. Sci.* 24 (2001) 495–507.
- [25] J.B. Quintana, R. Rodil, T. Reemtsma, Suitability of hollow fibre liquid-phase microextraction for the determination of acidic pharmaceuticals in wastewater by liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry without matrix effects, *J. Chromatogr. A.* 1061 (2004) 19–26.
- [26] Y. Tao, J.-F. Liu, X.-L. Hu, H.-C. Li, T. Wang, G.-B. Jiang, Hollow fiber supported ionic liquid membrane microextraction for determination of sulfonamides in environmental water samples by high-performance liquid chromatography., *J. Chromatogr. A.* 1216 (2009) 6259–6266.

- [27] J.-F. Peng, J.-F. Liu, X.-L. Hu, G.-B. Jiang, Direct determination of chlorophenols in environmental water samples by hollow fiber supported ionic liquid membrane extraction coupled with high-performance liquid chromatography., *J. Chromatogr. A.* 1139 (2007) 165–170.
- [28] G. Vas, K. Vékey, Solid-phase microextraction: A powerful sample preparation tool prior to mass spectrometric analysis, *J. Mass Spectrom.* 39 (2004) 233–254.
- [29] R.G. Ouyang, J. Pawliszyn, SPME in environmental analysis, *Anal. Bioanal. Chem.* 386 (2006) 1059–1073.
- [30] J. Beltran, F.. López, F. Hernández, Solid-phase microextraction in pesticide residue analysis, *J. Chromatogr. A.* 885 (2000) 389–404.
- [31] M. Polo, M. Llompart, C. Garcia-Jares, R. Cela, Multivariate optimization of a solid-phase microextraction method for the analysis of phthalate esters in environmental waters, *J. Chromatogr. A.* 1072 (2005) 63–72.
- [32] S. Magdic, A. Boyd-Boland, K. Jinno, J.B. Pawliszyn, Analysis of organophosphorus insecticides from environmental samples using solid-phase microextraction, *J. Chromatogr. A.* 736 (1996) 219–228.
- [33] S. Ulrich, Solid-phase microextraction in biomedical analysis, *J. Chromatogr. A.* 902 (2000) 167–194.
- [34] H. Kataoka, H.L. Lord, J. Pawliszyn, Applications of solid-phase microextraction in food analysis, *J. Chromatogr. A.* 880 (2000) 35–62.
- [35] S. Risticvic, H. Lord, T. Górecki, C.L. Arthur, J. Pawliszyn, Protocol for solid-phase microextraction method development., *Nat. Protoc.* 5 (2010) 122–139. doi:10.1038/nprot.2009.179.
- [36] Z. Mester, R. Sturgeon, Solid phase microextraction as a tool for trace element determination, *Compr. Anal. Chem.* 41 (2003) 371–391.
- [37] H. Lord, J. Pawliszyn, Evolution of solid-phase microextraction technology, 2000.
- [38] T. Górecki, X. Yu, J. Pawliszyn, Theory of analyte extraction by selected porous polymer SPME fibres†, *Analyst.* 124 (1999) 643–649.
- [39] N. Fontanals, R.M. Marcé, F. Borrull, New materials in sorptive extraction techniques for polar compounds, *J. Chromatogr. A.* 1152 (2007) 14–31.
- [40] A. Peñalver, E. Pocurull, F. Borrull, R.M. Marcé, Trends in solid-phase microextraction for determining organic pollutants in environmental samples, *TrAC - Trends Anal. Chem.* 18 (1999) 557–568.
- [41] J. Pawliszyn, Theory of Solid-Phase Microextraction, *J. Chromatogr. Sci.* 38 (2000) 270–278.
- [42] G. Theodoridis, E.H. Koster, G.J. de Jong, Solid-phase microextraction for the analysis of biological samples., *J. Chromatogr. B. Biomed. Sci. Appl.* 745 (2000) 49–82.
- [43] B.D. Page, G. Lacroix, Application of solid-phase microextraction to the headspace gas chromatography analysis of semi-volatile organochlorine contaminants in aqueous matrices, *J. Chromatogr. A.* 757 (1997) 173–182.
- [44] M.S. Holt, Sources of chemical contaminants and routes into the freshwater environment, *Food Chem. Toxicol.* 38 (2000) S21–S27.
- [45] D. Dabrowska, A. Kot-Wasik, J. Namieśnik, Pathways and Analytical Tools in Degradation Studies of Organic Pollutants, *Crit. Rev. Anal. Chem.* 35 (2005) 155–176.

- [46] D. Dąbrowska, J.N. A. Kot-Wasik, The importance of degradation in the fate of selected organic compounds in the environment. Part II. Photodegradation and Biodegradation, Polish J. Environ. Stud. 13 (2004) 617–626.
- [47] S.E. Braslavsky, Glossary of terms used in photochemistry 3, 79 (2007) 293–465.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

**ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΤΗΣ ΜΙΚΡΟΕΚΧΥΛΙΣΗΣ ΥΓΡΗΣ ΦΑΣΗΣ ΜΕ
ΣΩΛΗΝΟΕΙΔΗΜΕΜΒΡΑΝΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΚΧΥΛΙΣΗ ΤΕΣΣΑΡΩΝ
ΠΑΡΑΒΕΝΙΩΝ ΑΠΟ ΥΔΑΤΙΝΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ**

2 ABSTRACT

In the present study the applicability of three phase hollow fiber liquid-phase microextraction (HF-LPME) coupled to liquid chromatography- multiple wavelength detector was demonstrated for the determination of four parabens (methyl-, ethyl-, propyl- and butyl- paraben) in water samples. The effect of different extraction solvents was investigated, together with that of the sample volume and the pH of donor and acceptor solutions. The agitation speed of the aqueous sample and the extraction time were also controlled and optimised. The optimum experimental conditions found were: 1-octanol inside the pores of a 5.5 cm polypropylene hollow, a 14 mL sample solution adjusted to pH 6, a 18- μ L acceptor solution adjusted to pH 12, 30 min as extraction time and 1000 rpm as agitation speed. The calculated calibration curves gave a high level of linearity for all target analytes in the range of 0.5-1000 μ g L⁻¹ with correlation coefficients better than 0.9955 and the repeatability, expressed as relative standard deviation varied between 1.6 and 7.0 % (n=5) and 3.5 and 8.9 % (n=5) for 10 and 100 μ g L⁻¹, respectively. The developed method yielded detection limits between 0.316 and 0.487 μ g L⁻¹. The applicability of the developed HF-LPME method was demonstrated for real water samples. In particular, three different water samples originating from baby bathwater were analyzed.

2 ΠΕΡΙΛΗΨΗ

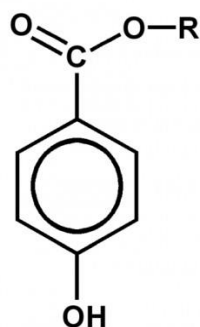
Η παρούσα μελέτη έδειξε την εφαρμοσιμότητα της μικροεκχύλισης υγρής φάσης με σωληνοειδή μεμβράνη τριών φάσεων (three-phase HF-LPME) συζευγμένη με υγρή χρωματογραφία και ανιχνευτή πολλαπλών μηκών κύματος για τον προσδιορισμό των τεσσάρων παραβενίων (μεθυλ-, αιθυλ-, προπυλ- και βουτυλ- παραβένιο) σε υδάτινα

δείγματα. Η επίδραση διαφορετικών διαλυτών εκχύλισης διερευνήθηκαν και μαζί μ' αυτούς και ο όγκος και το pH των διαλυμάτων δότη και δέκτη. Η ταχύτητα ανάδευσης του υδατικού δείγματος και ο χρόνος εκχύλισης ελέγχθησαν επίσης και βελτιστοποιήθηκαν. Οι βέλτιστες πειραματικές συνθήκες που βρέθηκαν ήταν: 1-οκτανόλη μέσα στους πόρους της 5,5 cm σωληνοειδούς μεμβράνης από πολυπροπυλένιο, όγκος δείγματος 14 mL ρυθμισμένο σε pH 6, όγκος διαλύματος δέκτη 18 μ L ρυθμισμένο σε pH 12, 30 min χρόνος εκχύλισης και ταχύτητα ανάδευσης 1000 rpm. Οι καμπύλες βαθμονόμησης έδωσαν υψηλό επίπεδο γραμμικότητας για όλες τις προς ανάλυση ουσίες σε εύρος 0,5-1000 μ g L⁻¹ και συντελεστές συσχέτισης μεγαλύτερους από 0,9955 και η επαναληψιμότητα, που εκφράζεται ως σχετική τυπική απόκλιση κυμάνθηκε μεταξύ 1,6 και 7,0% (n=5), και 3,5 και 8,9% (n=5) για 10 και 100 μ g L⁻¹, αντίστοιχα. Η μέθοδος που αναπτύχθηκε απόδωσε όρια ανίχνευσης μεταξύ 0,316 και 0,541 μ g L⁻¹. Η εφαρμογή της ανεπτυγμένου μεθόδου HF-LPME αποδείχθηκε για πραγματικά δείγματα νερού. Ειδικότερα, αναλύθηκαν τρία επλύματα από μπανιέρες μωρών.

2.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τα παραβένια (ή τα άλατά τους) χρησιμοποιούνται ευρέως, μεμονωμένα ή σε συνδυασμό [1], σαν συντηρητικά σε προϊόντα προσωπικής φροντίδας (personal care products, PCPs), καθώς και σε τρόφιμα, καλλυντικά και φαρμακευτικά παρασκευάσματα [2–6]. Χημικώς, ανήκουν στην οικογένεια των αλκυλεστέρων του π-υδροξυβενζοϊκού οξέος, και συνήθως περιλαμβάνουν τα μεθυλ-παραβένιο, αιθυλ-παραβένιο, προπυλ-παραβένιο, βουτυλ-παραβένιο, ισοβουτυλ-παραβένιο, ισοπροπυλ-

παραβένιο και βενζυλ-παραβένιο. Η χημική δομή ενός παραβενίου φαίνεται στο **Σχήμα 2.1**.



Σχήμα 2.1. Γενική χημική δομή του παραβενίου, όπου R = αλκυλομάδα

Πολλά από τα χαρακτηριστικά των παραβενίων, όπως αντιβακτηριακές [7,8] και αντιμυκητιακές [9] ιδιότητες, φθινή παραγωγή, ευρύ φάσμα δραστηριότητας, χημική και θερμική σταθερότητα, που τους επιτρέπουν την εφαρμογή τους σε ένα ευρύ φάσμα pH [1–3,8] μπορούν να δικαιολογήσουν την ευρεία χρήση τους σε πολλούς τύπους προϊόντων.

Πολλοί ερευνητές έχουν αναφέρει οιστρογονική δραστηριότητα τους [10–12]. Σήμερα, θεωρούνται αναδυόμενοι ρύποι και η ανάπτυξη αξιόπιστων μεθόδων για τον προσδιορισμό τους γίνεται ολοένα και πιο σημαντική, δεδομένου ότι συνεχώς απελευθερώνονται στο περιβάλλον.

Τα τελευταία χρόνια ένας σημαντικός αριθμός μελετών έχουν αναφερθεί στην ανίχνευση των παραβενίων σε καλλυντικά και περιβαλλοντικά δείγματα [13–16]. Η παραδοσιακή LLE υπήρξε η πιο συχνά χρησιμοποιούμενη μέθοδος για δείγματα όπως λοσιόν, αφρός, κρέμες, κλπ. Ωστόσο η πολυπλοκότητα της μήτρας των περιβαλλοντικών δειγμάτων στην ανάλυση των παραβενίων, οδήγησε στην ανάπτυξη νέων ταχύτερων και φιλικών προς το περιβάλλον μεθόδων μικροεκχύλισης [13].

Μερικά παραδείγματα είναι η ανάπτυξη της SPME με επί τόπου παραγωγοποίηση και ανάλυση αέριας χρωματογραφίας-φασματοσκοπία μάζας (GC-MS/MS) για τον προσδιορισμό των παραβενίων σε δείγματα νερού [17]. Η υγρή-υγρή μικροεκχύλιση διασποράς (DLLME) συζευγμένη με αέρια χρωματογραφία και ανιχνευτή ιοντισμού φλόγας (GC-FID) ή φασματοσκοπία μάζας (GC-MS) εφαρμόστηκε για την εκχύλιση και προσυγκέντρωση των παραβενίων από διάφορες μήτρες [18,19]. Η μικροεκχύλιση μικροσταγόνας (SDME) αναπτύχθηκε ακολουθούμενη από παρααραγωγοποίηση πάνω στη σύριγγα συζευγμένη με GC-MS για την ανάλυση πέντε παραβενίων σε δείγματα νερού και καλλυντικών προϊόντων [14].

Ο σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν να αναπτυχθεί μια ευαίσθητη μέθοδος για τον προσδιορισμό τεσσάρων παραβενίων (μέθυλ-, αίθυλ-, πρόπυλ- και βούτυλ- παραβενίου) σε δείγματα νερού, εφαρμόζοντας για πρώτη φορά την τριών φάσεων HF-LPME συζευγμένη με υγρή χρωματογραφία και πολλαπλών μηκών κύματος ανιχνευτή. Ελέγχθηκαν και να βελτιστοποιήθηκαν παράμετροι, όπως ο διαλύτης εκχύλισης, η ταχύτητα ανάδευσης, ο όγκος και το pH του υδατικού δείγματος και του διαλύματος δέκτη και ο χρόνος δειγματοληψίας. Η νέα αυτή μέθοδος εφαρμόστηκε και σε πραγματικά δείγματα νερού

2.2. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

2.2.1. Αντιδραστήρια

Η σωληνοειδής μεμβράνη πολυπροπυλενίου Accurel Q 3/2, που χρησιμοποιήθηκε λήφθηκε από την εταιρεία Membrana, Wuppertal, Germany. Το πάχος του

τοιχώματος της μεμβράνης ήταν 200 μm , η εσωτερική διάμετρος ήταν 600 μm , και το μέγεθος των πόρων της ήταν 0,2 μm .

Όλα τα παραβένια, αιθυλ- (ethylparaben,-EP) (99%) προπυλ- (propylparaben,-PP) (99%) και βουτυλ-παραβένιο (butylparaben,-BP) (99%), αγοράστηκαν από την Sigma-Aldrich, εκτός από το μεθυλπαραβένιο (methylparaben,-MP) (98,3%), που αγοράστηκε από τη Supelco. Όλοι οι οργανικοί διαλύτες ήταν υψηλής αναλυτικής καθαρότητας και ελήφθησαν από Riedel-de Haën Το υδροχλωρικό οξύ και το οξικό αμμώνιο αγοράστηκαν από Fluka, ενώ το υδροξείδιο του νατρίου λήφθηκε από τη Merck. Το υπερκάθαρο νερό, που χρησιμοποιήθηκε για την παρασκευή των καθημερινών δειγμάτων προς ανάλυση λήφθηκε από ένα σύστημα καθαρισμού νερού (EASYPure RF) που παρέχεται από την εταιρεία Barnstead / Thermolyne (Dubuque, IO, USA).

2.2.2. Διαλύματα

Μεμονωμένα πρότυπα διαλύματα από κάθε αναλύτη ($1000 \mu\text{g mL}^{-1}$) παρασκευάστηκαν σε ακετονιτρίλι-νερό 25:5 %v/v. Ένα μίγμα πρότυπου διαλύματος, που περιείχε $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ από κάθε ένωση, παρασκευάστηκε με περαιτέρω αραιώσεις των μεμονωμένων προτύπων διαλυμάτων με την ίδια αναλογία ακετονιτρίλιου – νερού. Πρότυπα διαλύματα σε ακετονιτρίλιο-νερό 25:75 %v/v παρασκευάστηκαν επίσης για βαθμονόμηση του οργάνου σε εύρος $0.2\text{-}20 \mu\text{g mL}^{-1}$. Όλα τα διαλύματα φυλάχθηκαν στο ψυγείο στους 4 °C. Πρότυπα διαλύματα εργασίας παρασκευάζονταν καθημερινά με αραιώση του μητρικού διαλύματος με υπερκάθαρο νερό για να τις απαιτούμενες συγκεντρώσεις.

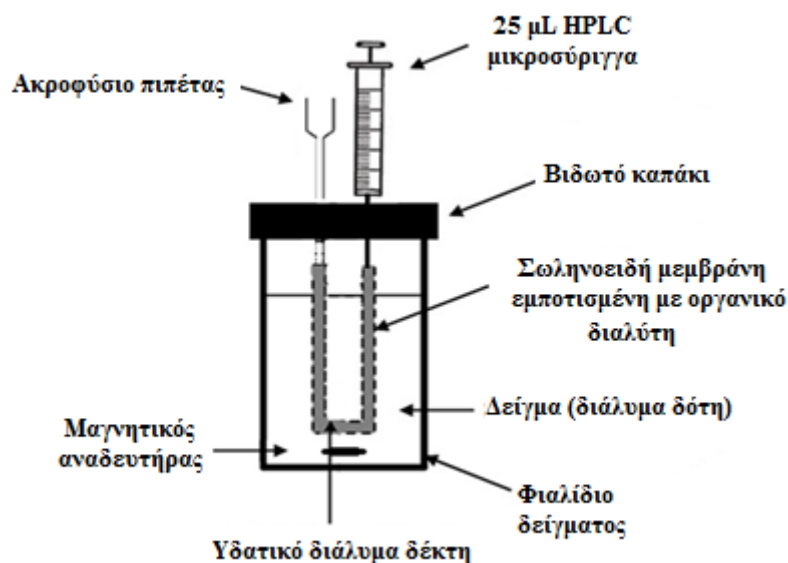
2.2.3. Συλλογή δειγμάτων

Οι μελέτες ανάκτησης πραγματοποιήθηκαν χρησιμοποιώντας νερό βρύσης από το δίκτυο διανομής πόσιμου νερού των Χανίων (Δυτική Κρήτη), το νερό του ποταμού Άγιος Γεώργιος και της λίμνης της Αγιάς που βρίσκονται στα Χανιά, δείγματα εισροής και εκροής από τη δευτεροβάθμια δημοτική μονάδα επεξεργασίας λυμάτων Χανίων, η οποία εξυπηρετεί περίπου 70.000 κατοίκους. Όλα τα δείγματα συλλέχθηκαν σε γυάλινες φιάλες και φιλτραρίστηκαν με φίλτρο 0,45 μm, οι φιάλες σφραγίστηκαν, καλύφθηκαν με αλουμινόχαρτο και φυλάχθηκαν στους 4 °C έως ότου χρησιμοποιηθούν.

2.2.4. HF-LPME διαδικασία

Κατά τη διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας (**Σχήμα 2.2**) ένα ακροφύσιο αυτόματης πιπέτας (finntip) και μία σύριγγα τύπου HPLC εισήχθηκαν μέσω ενός διαφράγματος σιλικόνης σε βιδωτό πώμα. Και τα δύο ήταν συνδεδεμένα με ακραία τμήματα ενός μικρού κομματιού σωληνοειδούς μεμβράνης από πολυπροπυλένιο, προκειμένου να σχηματίσουν διαμόρφωση σχήματος U. Η υποστηριζόμενη υγρή μεμβράνη (supported liquid membrane, SLM) παρασκευάστηκε με εμβάπτιση της μεμβράνης πολυπροπυλενίου στην οργανική φάση για 10 sec και ακολούθησε πλύση αυτής με νερό για να απομακρυνθεί η περίσσεια της οργανικής φάσης. Στη συνέχεια, το σύστημα μεμβράνης -βιδωτό πώμα, τοποθετήθηκε στο γυάλινο φιαλίδιο, που περιείχε το προς ανάλυση υδατικό δείγμα. Η κοιλότητα της σωληνοειδούς μεμβράνης πληρώθηκε με το διάλυμα δέκτη με τη βοήθεια της μικροσύριγγας. Το όλο σύστημα υποβλήθηκε σε μαγνητική ανάδευση με καθορισμένη ταχύτητα και για συγκεκριμένη χρονική περίοδο. Μετά την εκχύλιση, η σωληνοειδής μεμβράνη απομακρύνθηκε από το υδατικό δείγμα και το διάλυμα δέκτη συλλέχθηκε με τη βοήθεια της

μικροσύριγγας και μεταφέρθηκε σε ένα φιαλίδιο αυτόματου δειγματολήπτη των 2 mL. Το φιαλίδιο τοποθετήθηκε στον αυτόματο δειγματολήπτη συστήματος HPLC για ανάλυση του εκχυλίσματος. Για κάθε νέα εκχύλιση μια καινούργια μεμβράνη χρησιμοποιήθηκε λόγω του χαμηλού της κόστους και για να αποφευχθούν τυχόν επιδράσεις συμπαράσυρσης.



Σχήμα 2.2. Σχηματική απεικόνιση του στησίματος της HF-LPME.

2.2.5. Αναλυτική διαδικασία

Ένα σύστημα Agilent 1200 Series LC (Agilent Technologies, USA) που περιλαμβάνει μια δυαδική αντλία, έναν απαερωτή κενού, μια θερμοστατούμενη στήλη, ένα σύστημα συστοιχίας διόδων και ανιχνευτή πολλαπλού μήκους κύματος (DAD) και έναν αυτόματο δειγματολήπτη, χρησιμοποιήθηκε για όλη τη χρωματογραφική ανάλυση. Μια αναλυτική στήλη Thermo Scientific Betasil C18 (2.1 χιλιοστά εσωτερική διάμετρο, 100 mm μήκος και 5 μ m μέγεθος σωματιδίων) στους 25 °C χρησιμοποιήθηκε για όλους τους διαχωρισμούς. Η κινητή φάση για το διαχωρισμό των MP, EP, PP και BP ήταν ένα μίγμα από 5 mM υδατικό οξικό

αμμώνιο και μεθανόλη με ροή 0.25 mL min^{-1} . Η μέθοδος υγρής χρωματογραφίας αποτελούταν από μία αρχική ράμπα 70: 30 υδατικό οξικό αμμώνιο:μεθανόλη για τα πρώτα είκοσι δύο λεπτά. Στη συνέχεια, αναδιατάχθηκε έως 35:65 μέσα στα επόμενα τρία λεπτά και ακολούθησε μια πεντάλεπτη ράμπα 70: 30, όπου διατηρήθηκε εκεί τα επόμενα επτά λεπτά για να εξισορροπηθεί η πίεση. Ο όγκος έγχυσης ήταν $15 \mu\text{L}$ και το μήκος κύματος ανίχνευσης ορίστηκε σε ένα εύρος μεταξύ 254 nm και 264 nm. Τα χρωματογραφικά δεδομένα υπέστησαν επεξεργασία χρησιμοποιώντας το λογισμικό Agilent ChemStation B.01.03.

2.3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

2.3.1. Βελτιστοποίηση της HF-LPME μεθόδου

Ελέχθησαν και να βελτιστοποιήθηκαν παράμετροι όπως ο διαλύτης εκχύλισης, ο όγκος και το pH του διαλύματος δότη και δέκτη, η ταχύτητα ανάδευσης του υδατικού δείγματος και ο χρόνος δειγματοληψίας, προκειμένου να επιτευχθεί υψηλή ανάκτηση για όλους τους αναλύτες. Κατά τη διάρκεια της βελτιστοποίησης, όλα τα πειράματα διεξήχθησαν τουλάχιστον εις διπλούν.

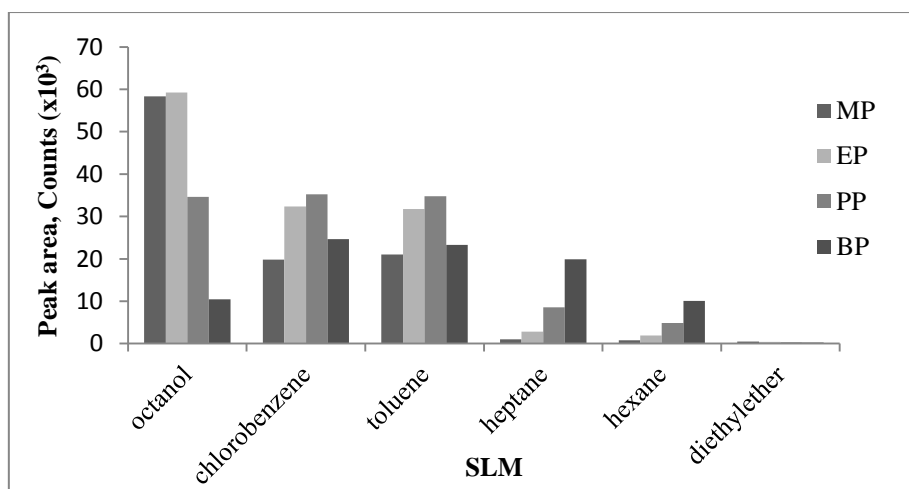
2.3.1.1. Επιλογή του οργανικού διαλύτη για SLM

Έξι μη υδατοδιαλυτοί διαλύτες, συμπεριλαμβανομένου του χλωροβενζολίου, τολουολίου, επτανίου, διαιθυλαιθέρα, εξανίου και 1-οκτανόλης ερευνήθηκαν για τον εμπλουτισμό των παραβενίων. Η εκλεκτικότητα των διαλυτών εκτιμήθηκε εκχυλίσες διάρκειας 30 min των 10ml υδατικών δειγμάτων επιμολυσμένα με $200 \mu\text{g L}^{-1}$ από κάθε ένωση στόχο με εφαρμογή ταχύτητας ανάδευσης στα 1000 rpm. $19 \mu\text{L}$

διαλύματος δέκτη τοποθετήθηκαν στο εσωτερικό μιας σωληνοειδούς μεμβράνης 6 cm.

Το επτάνιο, το εξάνιο, και ο διαιθυλαιθέρας απορρίφθηκαν εξ' αρχής, λόγω της αστάθειάς τους κατά τη διάρκεια του χειρισμού τους. Η 1-οκτανόλη βρέθηκε να είναι το καλύτερο υγρό εμπλουτισμού για το MP και EP, αλλά το χλωροβενζόλιο και το τολουόλιο βρέθηκε να έχει καλύτερη συμπεριφορά για τον εμπλουτισμό του PP και BP (Σχήμα 2.3). Όταν ο διαλύτης που χρησιμοποιήθηκε ως οργανική φάση ήταν λιγότερο πολικός, τα παραβένια με μακρά πλευρική αλυσίδα παρουσίασαν υψηλότερες ανακτήσεις. Αντίθετα, με τη χρήση περισσότερο πολικών διαλυτών προωθήθηκαν ανακτήσεις για παραβένια με κοντή πλευρική αλυσίδα.

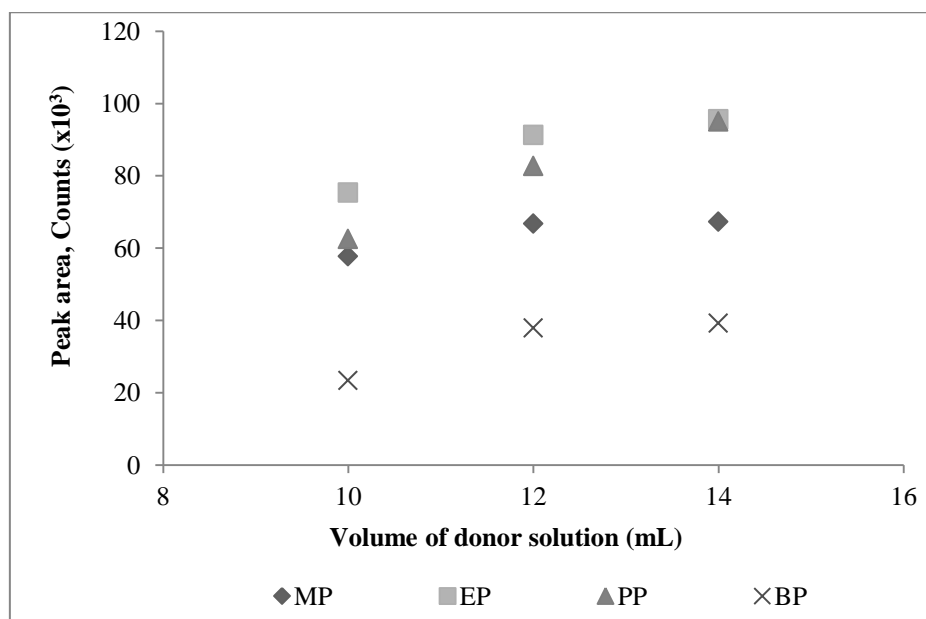
Ως εκ τούτου, η 1-οκτανόλη επιλέχθηκε να χρησιμοποιηθεί ως ο οργανικός διαλύτης για επόμενα πειράματα, λόγω της υψηλότερης απόκρισης του οργάνου και μιας ισορροπημένης κατανομής για όλα τα παραβένια. Η 1-οκτανόλη είχε την ικανότητα να ακινητοποιηθεί εύκολα στους πόρους της σωληνοειδούς μεμβράνης εντός μερικών δευτερολέπτων και έδειξε επίσης χαμηλή απώλεια κατά τη διάρκεια της εκχύλισης [20].



Σχήμα 2.3. Επιλογή της SLM

2.3.1.2. Βελτιστοποίηση του όγκου του δείγματος

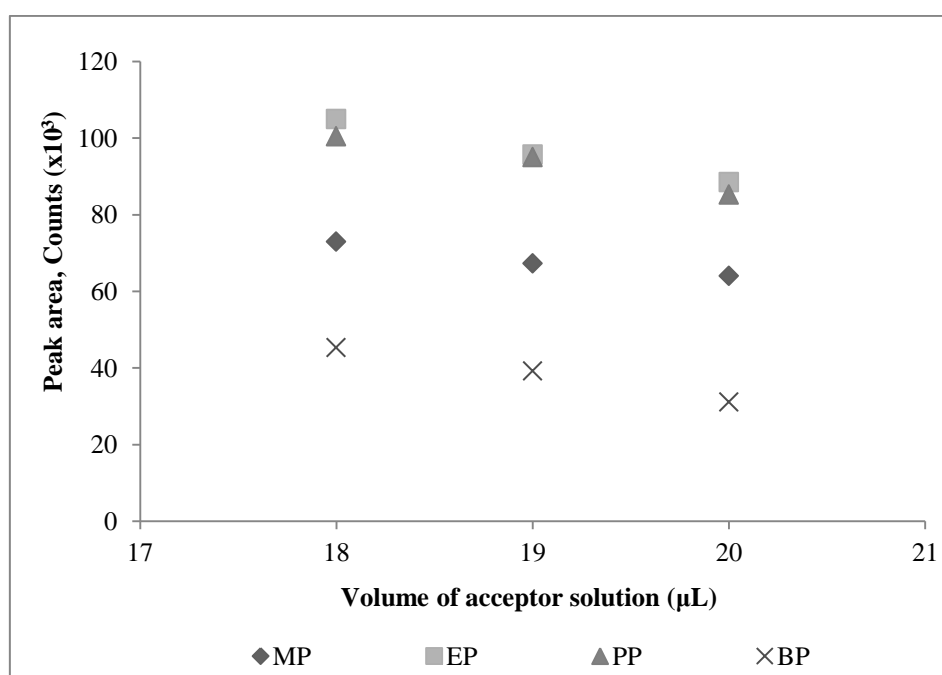
Η ευαισθησία της μεθόδου HF-LPME είναι ανάλογη προς τον αριθμό των γραμμομορίων του αναλύτη, που εξάγεται από το δείγμα. Κατά τη διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας τρεις διαφορετικοί όγκοι δείγματος 10, 12 και 14 mL, επιμολυσμένα με $200 \mu\text{g L}^{-1}$ από κάθε παραβένιο εκχυλίστηκαν για 30 min με 1-οκτανόλη ως SLM σε 19 μL βασικού διαλύματος δέκτη υπό 1000 rpm. ρυθμό ανάδευσης, προκειμένου να αποδειχθεί η επίδραση του όγκου του δείγματος σε HF-LPME. Τα αποτελέσματα δίνονται στο **Σχήμα 2.4** και δείχνουν ότι όσο μεγαλύτερος είναι ο όγκος του δείγματος, τόσο μεγαλύτερη είναι και η ποσότητα των αναλυτών που μεταφέρονται στο διάλυμα δέκτη. Με βάση τα παραπάνω αποτελέσματα, 14 mL επιλέχθηκαν να χρησιμοποιηθούν για όλα τα επόμενα πειράματα.



Σχήμα 2.4. Επίδραση του όγκου του δείγματος στην αποτελεσματικότητα της HF-LPME στην ανάλυση των παραβενίων σε δείγματα νερού.

2.3.1.3. Βελτιστοποίηση του όγκου του διαλύματος δέκτη

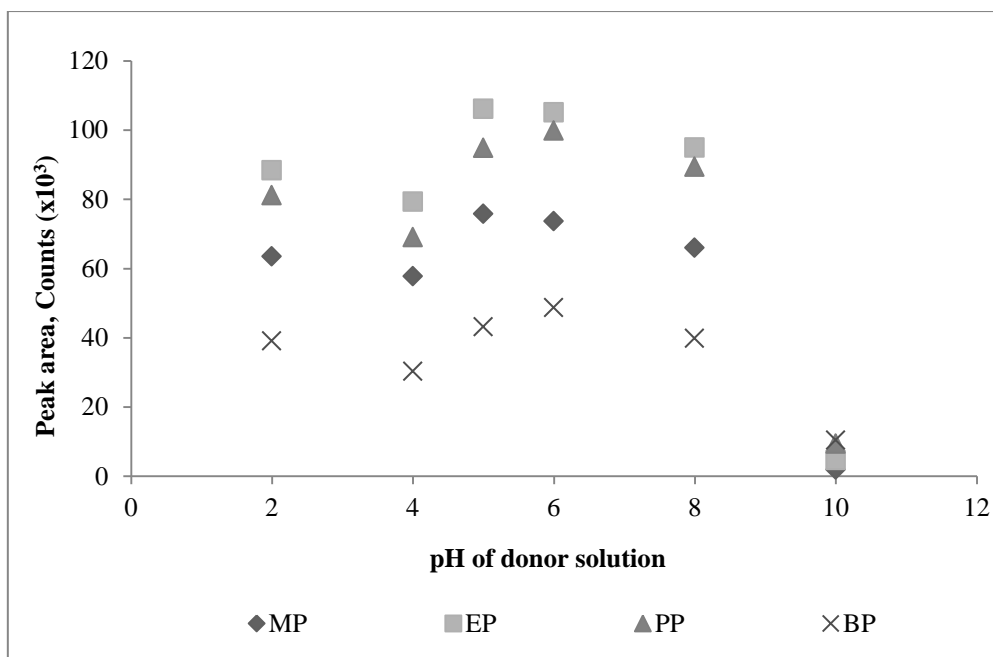
Η επίδραση του όγκου του διαλύματος δέκτη για την αποτελεσματικότητα της HF-LPME μελετήθηκε παράλληλα με το μήκος της σωληνοειδούς μεμβράνης. Για τον σκοπό αυτό, τρεις διαφορετικοί όγκοι βασικού διαλύματος δέκτη 18, 19 και 20 μL τοποθετήθηκαν σε 5,5, 5,9 και 6,2 cm αντίστοιχα διαβρεγμένης σωληνοειδούς μεμβράνης με 1-οκτανόλη, αντίστοιχα και χρησιμοποιήθηκαν για να εκχυλιστούν 14 mL υδατικού δείγματος επιμολυσμένα με 200 $\mu\text{g L}^{-1}$ από κάθε παραβένιο. Η εκχύλιση διήρκησε 30 min υπό ρυθμό ανάδευσης 1000 rpm. Τα αποτελέσματα στο **Σχήμα 2.5** δείχνουν ότι για όλες τις προς ανάλυση ουσίες το αναλυτικό σήμα μειώνεται με αύξηση του όγκου του διαλύματος δέκτη, λόγω της μικρότερης τελικής συγκέντρωσης, που επιτυγχάνεται. Ως εκ τούτου, 18 μL του διαλύματος δέκτη επιλέχθηκαν για τα επόμενα πειράματα.



Σχήμα 2.5. Επίδραση του όγκου του διαλύματος δέκτη στην αποτελεσματικότητα της HF-LPME στην ανάλυση των παραβενίων σε δείγματα νερού.

2.3.1.4. Βελτιστοποίηση του pH του δείγματος

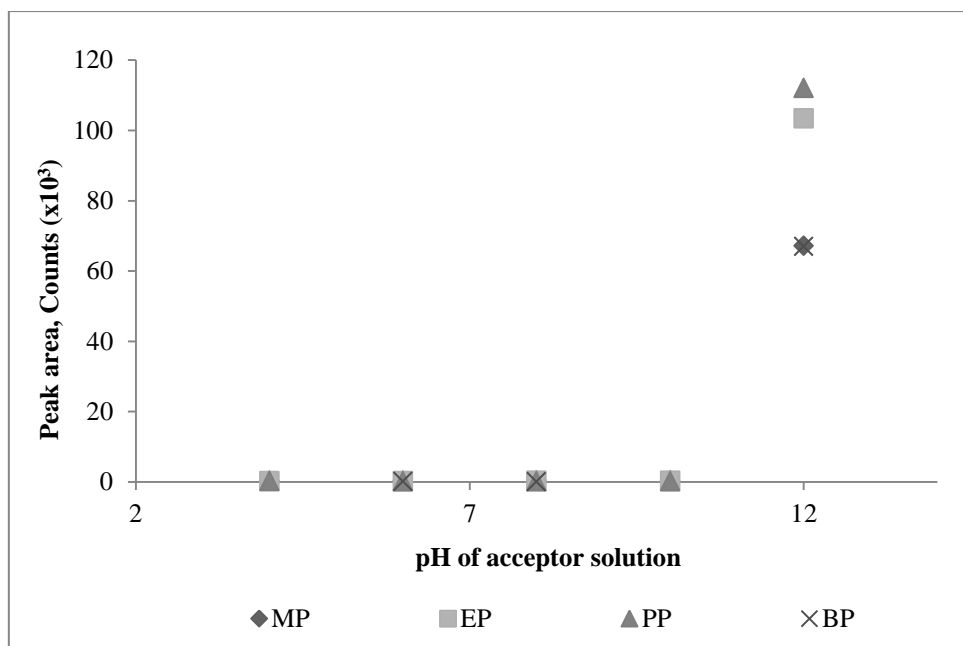
Η επίδραση του pH του δείγματος στην εκχυλιστική ικανότητα των παραβενίων με τη μέθοδο του HF-LPME διερευνήθηκε σε εύρος μεταξύ 2 και 10. Υδατικά δείγματα που περιείχαν $200 \mu\text{g L}^{-1}$ από κάθε παραβένιο, εκχυλίστηκαν με την τεχνική της HF-LPME για 30 min με ταχύτητα ανάδευσης στα 1000 rpm, χρησιμοποιώντας 1-οκτανόλη ως SLM. Σύμφωνα με τα ληφθέντα αποτελέσματα, που φαίνονται στο **Σχήμα 2.6**, η πλειοψηφία των παραβενίων εκχυλίστηκαν σε βέλτιστο pH 6, όταν το pH του υδατικού διαλύματος δέκτη διατηρήθηκε στην τιμή 12 και ως εκ τούτου χρησιμοποιείται σε όλη αυτή την μελέτη. Σε τιμές pH από 2 έως 4 τα παραβένια υδρολύονται και έτσι η απόδοση της εκχύλισης ήταν πολύ χαμηλή και δεν μπορούσαν να περάσουν στην οργανική φάση. Επίσης οι λογαριθμικές σταθερές διάστασης οξέος (acid dissociation constant, pka) των παραβενίων, που είναι 8,47, 8,50, 8,47 και 8,47 για MP, EP, PP και BP [21], αντίστοιχα, φανερώνουν ότι στο pH 8 τα παραβένια αποπρωτονιώνονται, με αποτέλεσμα να παραμένουν πολύ περισσότερο μέσα στην υδατική φάση [21]. Γενικά στην HF-LPME οι ουσίες, που εκχυλίζονται θα πρέπει να είναι σε μη ιονισμένη μορφή στη φάση δότη, ώστε να μπορέσουν να διασχίσουν την οργανική SLM και να φτάσουν στο διάλυμα δέκτη [22].



Σχήμα 2.6. Επίδραση του pH του δείγματος στην αποτελεσματικότητα της HF-LPME στην ανάλυση των παραβενίων σε δείγματα νερού.

2.3.1.5. Βελτιστοποίηση του pH του διαλύματος δέκτη

Στη συνέχεια μελετήθηκε η επίδραση του pH του διαλύματος δέκτη για την αποτελεσματικότητα της εκχύλισης σε περιοχές όξινου και βασικού pH. Υδατικά δείγματα επιμολυσμένα με $200 \mu\text{g L}^{-1}$ από κάθε συστατικό στόχο και ρυθμισμένα σε pH 6 εκχυλίζονταν για 30 min με την τεχνική της HF-LPME με ταχύτητα ανάδευσης στα 1000 rpm, χρησιμοποιώντας 1-οκτανόλη ως SLM. Από το **Σχήμα 2.7** γίνεται προφανές ότι όλα τα παραβένια εκχυλίστηκαν μόνο σε pH 12 και ως εκ τούτου επιλέχθηκε για την διεξαγωγή των επόμενων πειραμάτων. Το pH 12 εγγυήθηκε την αποπρωτονίωση της ομάδας υδροξυλίου των παραβενίων [21]. Η αποπρωτονιωμένη μορφή τους έχει μεγαλύτερη συγγένεια προς τη φάση του διαλύματος δέκτη [23] και έτσι απετράπη η επαναφορά τους προς SLM [24].

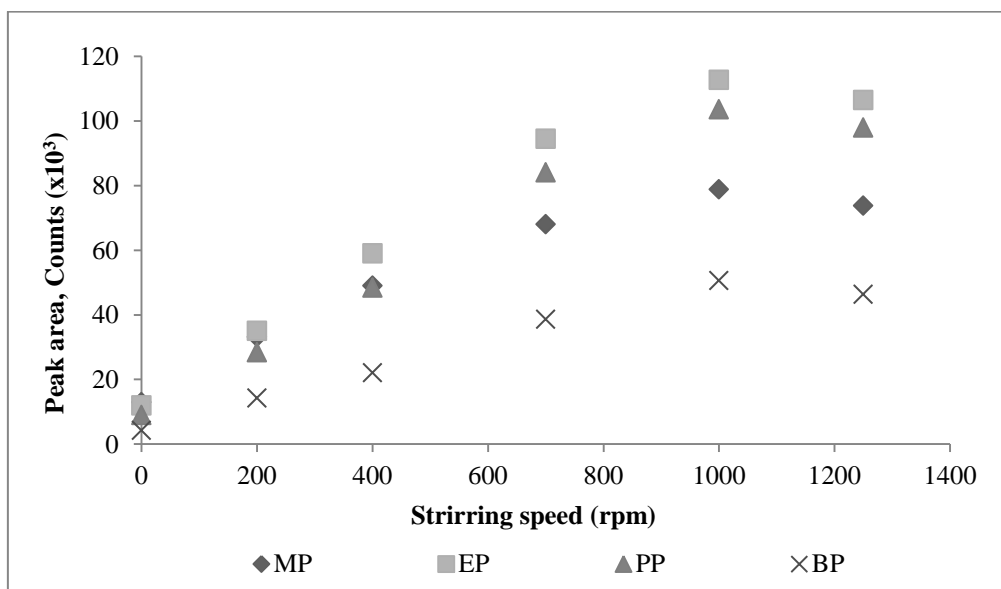


Σχήμα 2.7. Επίδραση του pH του διαλύματος δέκτη στην αποτελεσματικότητα της HF-LPME στην ανάλυση των παραβενίων σε δείγματα νερού.

2.3.1.6. Ταχύτητα ανάδευσης του δείγματος

Στην HF-LPME η μαγνητική ανάδευση ενισχύει την εκχύλιση και μειώνει το χρόνο που απαιτείται για να φτάσει σε θερμοδυναμική ισορροπία [25]. Για την μελέτη της επίδρασης της ταχύτητας ανάδευσης στην εκχύλιση των παραβενίων, διεξήχθησαν διαφορετικά σετ εκχυλίσεων από υδατικά διαλύματα των 14 ml επιμολυσμένων με $200 \mu\text{g L}^{-1}$ από κάθε ένωση στόχο. Οι εκχυλίσεις πραγματοποιήθηκαν για 30 min με 1-οκτανόλη ως SLM, 18 μL διάλυμα δέκτη ρυθμισμένο σε pH 12 και ταχύτητες ανάδευσης στα 0, 200, 400, 700, 1000 και 1250 rpm. Όπως ήταν αναμενόμενο, η εφαρμογή της μαγνητικής ανάδευσης ενδυνάμωσε την εκχύλιση, φτάνοντας σε ένα μέγιστο στα 1000 rpm. Στην μεγαλύτερη ταχύτητα ανάδευσης, στα 1250 rpm, η απόκριση του οργάνου φάνηκε να ελαττώνεται (**Σχήμα 2.8**). Ο σχηματισμός φυσαλίδων αέρα που παράγονται κατά την έντονη ανάδευση και προσκολλώνται στην επιφάνεια της σωληνοειδούς μεμβράνης ενισχύουν την εξάτμιση του οργανικού

διαλύτη [23]. Επίσης με την ισχυρή ανάδευση ενισχύεται η διάλυση του οργανικού διαλύτη στο υδατικό δείγμα με αποτέλεσμα να χάνεται η SLM. Έτσι τα 1000 rpm επιλέχθηκαν για την τελική διαδικασία εκχύλισης.

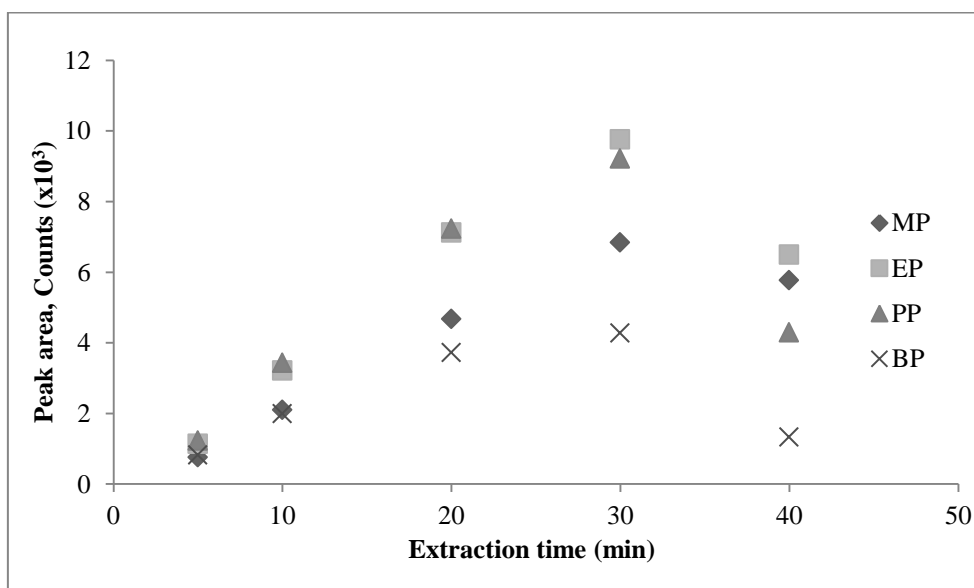


Σχήμα 2.8 Επίδραση της ταχύτητας ανάδευσης στην αποτελεσματικότητα της HF-LPME στην ανάλυση των παραβενίων σε δείγματα νερού.

2.3.1.7. Χρόνος εκχύλισης

Ο χρόνος εκχύλισης είναι σημαντική παράμετρος, δεδομένου ότι οι ενώσεις χρειάζονται χρόνο για να περάσουν μέσα από τις διάφορες υγρές διεπιφάνειες. Γι αυτό το λόγο, η επίδραση του χρόνου εκχύλισης για την ικανότητα εκχύλισης των παραβενίων από την SLM διερευνήθηκε για διαφορετικά χρονικά διαστήματα μεταξύ 5 και 40 min. Στο **Σχήμα 2.9** φαίνεται η επίδραση του χρόνου εκχύλισης για κάθε ένωση-στόχο ξεχωριστά, όταν η ταχύτητα ανάδευσης είναι 1000 rpm, η συγκέντρωση κάθε παραβενίου είναι $200 \mu\text{g L}^{-1}$, ο όγκος του δείγματος και του διαλύματος δέκτη είναι 14 mL ρυθμισμένο σε pH 6 και 18 μL ρυθμισμένο σε pH 12, αντίστοιχα. Η 1-οκτανόλη χρησιμοποιήθηκε ως SLM. Για όλους τους αναλύτες, η εκχυλιζόμενη ποσότητα αυξήθηκε δραματικά με την αύξηση του χρόνου έκθεσης από 0 έως 30 min,

χωρίς να αποκατασταθεί η ισορροπία. Μετά από 30 min, η απόδοση της μεθόδου μειώθηκε λόγω της εξάτμισης του οργανικού διαλύτη. Οπότε είναι κατανοητό ότι κατά τη χρήση της HF-LPME δεν είναι πρακτικό να ταιριάζει ο χρόνος εκχύλισης με την ισορροπία εκχύλισης, επειδή η απώλεια του οργανικού διαλύτη αυξάνεται με το χρόνο. Έτσι ο χρόνος εκχύλισης για όλα τα επόμενα πειράματα περιορίστηκε στα 30 min.



Σχήμα 2.9 Επίδραση του χρόνου δειγματοληψίας στην αποτελεσματικότητα της HF-LPME στην ανάλυση των παραβενίων σε δείγματα νερού.

2.3.2. Απόδοση της μεθόδου

Οι παράμετροι ποιότητας της μεθόδου, όπως η γραμμικότητα, τα όρια ανίχνευσης και η επαναληψιμότητα προσδιορίστηκαν υπό τις βέλτιστες συνθήκες εκχύλισης. Οι προς ανάλυση ουσίες εκχυλίστηκαν για 30 min από 14 mL υδατικό δείγμα με pH 6 (διάλυμα δότης). Η 1-οκτανόλη ακινητοποιήθηκε στους πόρους 5,5 cm σωληνοειδούς μεμβράνης από προπυλένιο και αποτέλεσε την SLM. 18 μl διαλύματος δέκτη με pH 12 τοποθετήθηκε στον αυλό της σωληνοειδούς μεμβράνης και το όλο σύστημα αναδεύτηκε στα 1000 rpm. Η γραμμικότητα της μεθόδου αξιολογήθηκε

χρησιμοποιώντας υδατικά διαλύματα εμπλουτισμένα με συγκεντρώσεις που κυμαίνονται από 0,5 έως 500 $\mu\text{g L}^{-1}$ για BP και από 0,5 έως 1000 $\mu\text{g L}^{-1}$ για τα υπόλοιπα παραβένια. Οι καμπύλες βαθμονόμησης έδωσαν ένα υψηλό επίπεδο γραμμικότητας, με συντελεστές συσχέτισης (r^2) υψηλότερους από 0,9955 (**Πίνακας 2.1**). Τα όρια ανίχνευσης (LOD), προσδιορίστηκαν ορίζοντας λόγο σήματος προς θόρυβο ίσο με τρία ($S/N=3$). Τα LOD όλων των αναλυτών βρέθηκαν σε πολύ χαμηλά επίπεδα, $\mu\text{g L}^{-1}$ μεταξύ των τιμών 0,316 και 0,487 $\mu\text{g L}^{-1}$. Η επαναληψιμότητα της μεθόδου, που εκφράζεται ως σχετική τυπική απόκλιση (RSD), αξιολογήθηκε μετά από εκχύλιση σε δύο επίπεδα συγκεντρώσεως (10 και 100 $\mu\text{g L}^{-1}$) πέντε διαδοχικών υδατικών δειγμάτων κάθε φορά. Οι τιμές RSD κυμάνθηκαν μεταξύ 1,6% και 7,0% για τη χαμηλότερη συγκέντρωση και 3,5% και 8,9% για την υψηλότερη συγκέντρωση.

2.3.3. Έλεγχος της ικανότητας εφαρμογής της προτεινόμενης μεθόδου σε φυσικά δείγματα

Σε γενικές γραμμές, η HF-LPME έχει αποδειχθεί ικανή για την εκχύλιση αναλυτών από μια μεγάλη ποικιλία σύνθετων μίτρων, αφού παρέχει ένα εξαιρετικά καθαρό εκχύλισμα, απαλλαγμένο από μακρομόρια, που θα μπορούσαν να παρεμβάλλονται κατά τη διάρκεια της εκχύλισης. Ωστόσο, δεδομένου ότι η HF-LPME είναι μια τεχνική ισορροπίας, η ανταγωνιστική προσρόφηση των αιωρούμενων στερεών μπορεί να μειώσει την αποτελεσματική συγκέντρωση του αναλύτη στην υδατική φάση και ως εκ τούτου να μειώσει την ποσότητα του αναλύτη, που μπορεί να μεταφερθεί στη φάση δέκτη. Πρόσθετες απώλειες μπορεί να συμβούν στην περίπτωση των πτητικών ενώσεων [26].

Πίνακας 2.1: Γραμμικότητα, όρια ανίχνευσης, επαναληψιμότητα, και μέσες σχετικές ανακτήσεις από νερό βρύσης για παραβένια με τριών φάσεων HF-LPME.

Ένωση	Επίπεδα συγκεντρώσης ($\mu\text{g L}^{-1}$)	r^2	LODs ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Επαν/τητα ^a (% RSD)	Επαν/τητα ^b (% RSD)	Σχετικές ανακτήσεις Νερό βρύσης ^c
MP	0,5 – 1000	1,0000	0,441	2,6	3,5	79,9 (4,4)
EP	0,5 – 1000	0,9993	0,445	1,6	4,5	87,5 (3,7)
PP	0,5 – 1000	0,9955	0,316	3,7	6,8	92,0 (4,2)
BP	0,5 – 500	0,9981	0,487	7,0	8,9	92,0 (5,3)

^a Επίπεδο εμβολιασμού χαμηλών συγκεντρώσεων $10 \mu\text{g L}^{-1}$; n = 5.

^b Επίπεδο εμβολιασμού υψηλών συγκεντρώσεων $100 \mu\text{g L}^{-1}$; n = 5

^c Επίπεδο εμβολιασμού $1 \mu\text{g L}^{-1}$; % RSD τιμές δίνονται στις παρενθέσεις; n = 5.

Έτσι σε ξεχωριστά πειράματα πραγματοποιήθηκαν μελέτες ανάκτησης και επίδρασης της μήτρας με εφαρμογή της αναπτυσσόμενης μεθόδου στις βέλτιστες συνθήκες, ώστε να εκχυλιστούν διάφορα είδη εμπλουτισμένων πραγματικών δειγμάτων νερού, συμπεριλαμβανομένου του νερού βρύσης, του νερού λίμνης και ποταμού, δείγματα από εισροή και εκροή μονάδας επεξεργασίας αστικών λυμάτων. Αρχικά πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις σε μη εμβολιασμένα δείγματα και τα αποτελέσματα έδειξαν ότι δεν ανιχνεύθηκαν ίχνη παραβενίων στα περιβαλλοντικά δείγματα. Στη συνέχεια υπολογίστηκαν οι ανακτήσεις των ενώσεων στόχων από τις μήτρες ως ο λόγος των εκτιμώμενων συγκεντρώσεων, που βρέθηκαν στα πραγματικά δείγματα και στο υπερκαθαρό νερό στο ίδιο επίπεδο επιμόλυνσης $100 \mu\text{g L}^{-1}$, και εκφράστηκαν ως ποσοστό. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι υπήρξε επίδραση της μήτρας στον προσδιορισμό των παραβενίων εφαρμόζοντας την τριών φάσεων HF-LPME

επηρεάζοντας σημαντικά την αποτελεσματικότητά της δίνοντας πολύ χαμηλές ανακτήσεις. Για το λόγο αυτό, προκατεργασία με προσθήκη 8 mg/100 mL άνυδρου $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ δοκιμάστηκε σε νερό βρύσης, ώστε να εξασφαλιστεί η απομάκρυνση του διαθέσιμου ελεύθερου χλωρίου, το οποίο αντιδρά με τα παραβένια δημιουργώντας χλωριωμένα υποπροϊόντα [27]. Τα αποτελέσματα συνοψίζονται στον **Πίνακα 2.1** και όπως φαίνεται μετά την προσθήκη του άνυδρου $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, ανακτήσεις των παραβενίων ήταν εντός του εύρους 79,9-92,0% για το νερό της βρύσης.

2.3.4. Ανάλυση δειγμάτων που προέρχονται από μπανιέρα μωρών

Η προτεινόμενη HF-LPME τελικά χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό μικροποσοτήτων παραβενίων σε τρία δείγματα, που προέρχονται από μπανιέρα μωρών. Τα δύο δείγματα βρέθηκαν θετικά στην παρουσία όλων των αναλυτών, εκτός από το BP που ανιχνεύτηκε μόνο σε ένα από τα δείγματα. Για το MP, οι συγκεντρώσεις ήταν υψηλές και κυμαίνονταν από 3,5 έως 9,1 $\mu\text{g L}^{-1}$, ενώ για τα υπόλοιπα παραβένια καταγράφηκαν επίπεδα μόλυνσης κάτω από το όριο ανίχνευσης.

2.4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Κατά τη διάρκεια της παρούσας μελέτης, αναπτύχθηκε μια απλή μέθοδος, που βασίζεται στην μέθοδο τριών φάσεων HF-LPME συζευγμένη με υγρή χρωματογραφία και ανιχνευτή πολλαπλών μηκών κύματος για την ανάλυση τεσσάρων παραβενίων σε δείγματα νερού. Η προτεινόμενη μέθοδος παρέχει την απομόνωση και προσυγκέντρωση των αναλυτών, καθώς και ένα τελικό εκχύλισμα συμβατό με την ανάλυση υγρής χρωματογραφίας χωρίς επιπλέον καθαρισμό. Επίσης,

έδειξε χαμηλά όρια ανίχνευσης, καλή ακρίβεια, χαμηλό κόστος και χαμηλή κατανάλωση διαλυτών, που καθιστά τη μέθοδο φιλική προς το περιβάλλον.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [1] J.A. Ocaña-González, M. Villar-Navarro, M. Ramos-Payán, R. Fernández-Torres, M.A. Bello-López, New developments in the extraction and determination of parabens in cosmetics and environmental samples. A review, *Anal Chim Acta*. 858 (2015) 1–15.
- [2] M. Terasaki, M. Makino, Determination of chlorinated by-products of parabens in swimming pool water, *Int J Environ Anal Chem*. 88 (2008) 911–922.
- [3] D. Dobrin, M. Magureanu, C. Bradu, N.B. Mandache, P. Ionita, V.I. Parvulescu, Degradation of methylparaben in water by corona plasma coupled with ozonation, *Environ Sci Pollut Res*. (2014) 12190–12197.
- [4] G. Alvarez-Rivera, M. Llompарт, C. Garcia-Jares, M. Lores, Identification of halogenated photoproducts generated after ultraviolet-irradiation of parabens and benzoates in water containing chlorine by solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry, *J Chromatogr A*. 1349 (2014) 105–115.
- [5] D. BŁedzka, D. Gryglik, M. Olak, J.L. Gebicki, J.S. Miller, Degradation of n-butylparaben and 4-tert-octylphenol in H₂O₂/UV system, *Radiat Phys Chem*. 79 (2010) 409–416.
- [6] M. Terasaki, M. Makino, N. Tatarazako, Acute toxicity of parabens and their chlorinated by-products with *Daphnia magna* and *Vibrio fischeri* bioassays, *J Appl Toxicol*. 29 (2009) 242–247.
- [7] C. Zwiener, S.D. Richardson, Analysis of disinfection by-products in drinking water by LC-MS and related MS techniques, *TrAC - Trends Anal Chem*. 24 (2005) 613–621.
- [8] M.C. Pietrogrande, G. Basaglia, GC-MS analytical methods for the determination of personal-care products in water matrices, *TrAC - Trends Anal Chem*. 26 (2007) 1086–1094.
- [9] D. Gryglik, M. Lach, J.S. Miller, The aqueous photosensitized degradation of butylparaben., *Photochem Photobiol Sci*. 8 (2009) 549–555.
- [10] E.J. Routledge, J. Parker, J. Odum, J. Ashby, J.P. Sumpter, Some alkyl hydroxy benzoate preservatives (parabens) are estrogenic., *Toxicol Appl Pharmacol*. 153 (1998) 12–19.
- [11] T. Okubo, Y. Yokoyama, K. Kano, I. Kano, ER-dependent estrogenic activity of parabens assessed by proliferation of human breast cancer MCF-7 cells and expression of ERalpha and PR., *Food Chem Toxicol*. 39 (2001) 1225–1232.
- [12] S. Oishi, Effects of propyl paraben on the male reproductive system, *Food Chem Toxicol*. 40 (2002) 1807–1813.
- [13] J.A. Ocaña-González, M. Villar-Navarro, M. Ramos-Payán, R. Fernández-Torres, M.A. Bello-López, New developments in the extraction and determination of parabens in cosmetics and environmental samples. A review, *Anal Chim Acta*. 858 (2015) 1–15.
- [14] M. Saraji, S. Mirmahdieh, Single-drop microextraction followed by in-syringe derivatization and GC-MS detection for the determination of parabens in water and cosmetic products, *J Sep Sci*. 32 (2009) 988–995.

- [15] C. Haman, X. Dauchy, C. Rosin, Occurrence , fate and behavior of parabens in aquatic environments : A review, *Wa.* 63 (2015) 1–11.
- [16] J.M. Brausch, G.M. Rand, A review of personal care products in the aquatic environment: Environmental concentrations and toxicity, *Chemosphere.* 82 (2011) 1518–1532. doi:10.1016/j.chemosphere.2010.11.018.
- [17] J. Regueiro, E. Becerril, C. Garcia-Jares, M. Llompart, Trace analysis of parabens, triclosan and related chlorophenols in water by headspace solid-phase microextraction with in situ derivatization and gas chromatography–tandem mass spectrometry, *J Chromatogr A.* 1216 (2009) 4693–4702.
- [18] M. a. Farajzadeh, D. Djozan, R.F. Bakhtiyari, Use of a capillary tube for collecting an extraction solvent lighter than water after dispersive liquid-liquid microextraction and its application in the determination of parabens in different samples by gas chromatography-Flame ionization detection, *Talanta.* 81 (2010) 1360–1367.
- [19] R. Jain, M.K.R. Mudiam, A. Chauhan, R. Ch, R.C. Murthy, H. a. Khan, Simultaneous derivatisation and preconcentration of parabens in food and other matrices by isobutyl chloroformate and dispersive liquid-liquid microextraction followed by gas chromatographic analysis, *Food Chem.* 141 (2013) 436–443.
- [20] M. Villar-Navarro, M. Ramos-Payán, J. Luis Pérez-Bernal, R. Fernández-Torres, M. Callejón-Mochón, M. Ángel Bello-López, Application of three phase hollow fiber based liquid phase microextraction (HF-LPME) for the simultaneous HPLC determination of phenol substituting compounds (alkyl-, chloro- and nitrophenols), *Talanta.* 99 (2012) 55–61.
- [21] T. Angelov, A. Vlasenko, W. Tashkov, HPLC Determination of pKa of Parabens and Investigation on their Lipophilicity Parameters, *J Liq Chromatogr Relat Technol.* 31 (2007) 188–197.
- [22] M. Villar-Navarro, M. Ramos-Payán, R. Fernández-Torres, M. Callejón-Mochón, M.Á. Bello-López, A novel application of three phase hollow fiber based liquid phase microextraction (HF-LPME) for the HPLC determination of two endocrine disrupting compounds (EDCs), n-octylphenol and n-nonylphenol, in environmental waters., *Sci Total Environ.* 443 (2013) 1–6.
- [23] A. Esrafil, Y. Yamini, M. Ghambarian, M. Moradi, Analysis of Paraben Preservatives in Cosmetic Samples: Comparison of Three Different Dynamic Hollow Fiber Liquid-Phase Microextraction Methods, *Chromatographia.* 77 (2013) 317–327.
- [24] M. Diaz-Alvarez, E. Turiel, A. Martin-Esteban, Hollow fibre liquid-phase microextraction of parabens from environmental waters, *Int J Environ Anal Chem.* 93 (2013) 727–738.
- [25] E. Psillakis, N. Kalogerakis, H ollow-fibre liquid-phase microextraction of phthalate esters from water, *J Chromatogr A.* 999 (2003) 145–153.
- [26] M. Charalabaki, E. Psillakis, D. Mantzavinos, N. Kalogerakis, Analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in wastewater treatment plant effluents using hollow fibre liquid-phase microextraction., *Chemosphere.* 60 (2005) 690–8.
- [27] P. Canosa, I. Rodríguez, E. Rubí, N. Negreira, R. Cela, Formation of halogenated by-products of parabens in chlorinated water, *Anal Chim Acta.* 575 (2006) 106–113.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

ΦΩΤΟΑΠΟΔΟΜΗΣΗ ΤΕΣΣΑΡΩΝ ΠΑΡΑΒΕΝΙΩΝ ΣΕ ΔΙΑΦΟΡΑ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΥΠΟ ΤΗΝ ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΥΠΕΡΙΩΔΟΥΣ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑΣ

3. ABSTRACT

In the present thesis, the degradation of four parabens, in ultrapure, natural waters and treated wastewater under ultraviolet (UV) light was investigated. The effect of operating conditions such as initial concentration and pH on the photodegradation of the parabens was studied. The results indicated that under direct photolysis with monochromatic light at 254nm, nearly complete photoremoval of parabens ($10 \mu\text{g mL}^{-1}$) was achieved within 90 min of irradiation and the photochemical rates followed pseudo first-order kinetics. The effect of important constituents of natural waters (i.e. humic acids (HA) and nitrate ions) were also investigated and the results showed that both of them act as filters in the aqueous photolysis of parabens. Addition of salt (NaCl) and 1-butanol in the ultrapure water solutions was also investigated. 1-butanol as radical scavenger had no effect on the photolytic rates of parabens, but NaCl had a minor effect on target analytes. Environmental waters inhibited the photodegradation of parabens compared to ultrapure water. The inhibition followed the order of river water < treated wastewater < seawater.

3. ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στη παρούσα διατριβή διερευνήθηκε η αποδόμηση τεσσάρων παραβενίων υπό την επίδραση της υπεριώδους ακτινοβολίας σε υπερκάθαρο νερό, σε φυσικά νερά και σε επεξεργασμένα αστικά λύματα. Πιο συγκεκριμένα μελετήθηκαν οι επιδράσεις αρχικών συνθηκών όπως η αρχική συγκέντρωση και το pH των παραβενίων κατά την διάρκεια της φωτοαποδόμησης των παραβενίων. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι κατά την άμεση φωτόλυση με μονοχρωματικό φως στα 254 nm, επιτεύχθηκε σχεδόν πλήρης φωτοαποδόμηση των παραβενίων ($10 \mu\text{g mL}^{-1}$) μέσα σε μόλις 90 λεπτά.

ακτινοβόλησης και οι φωτοχημικοί ρυθμοί αποδόμησης ακολούθησαν κινητική ψευδο-πρώτης τάξης. Η επίδραση σημαντικών συστατικών των φυσικών υδάτων, όπως τα χουμικά οξέα (HA) και τα νιτρικά ιόντα ερευνήθηκε επίσης και τα αποτελέσματα έδειξαν ότι και τα δύο δρουν ως καταστολείς στην υδατική φωτόλυση των παραβενίων. Ερευνήθηκαν επίσης η προσθήκη αλατιού και 1-βουτανόλης σε διαλύματα υπερκάθαρου νερού. Η 1-βουτανόλη μέσω δέσμευσης ελεύθερων ριζών διαπιστώθηκε ότι δεν επηρέασε τα ποσοστά της φωτόλυσης των παραβενίων, αντίθετα η παρουσία του αλατιού (NaCl) είχε μικρή επίδραση στις ουσίες που μελετήθηκαν.

Τα περιβαλλοντικά νερά έδρασαν ανασταλτικά στην φωτόλυση των παραβενίων σε σύγκριση με αυτή στο υπερκάθαρο νερό. Η αναστολή ακολούθησε την εξής σειρά: νερό του ποταμού < επεξεργασμένα λύματα < θαλασσινό νερό.

3.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τα παραβένια είναι εστέρες του π-υδροξυ-βενζοϊκού οξέος. Οι χημικές και φυσικές ιδιότητες τους [1–3] μπορούν να δικαιολογήσουν την ευρεία χρήση τους ως συντηρητικά σε πολλούς τύπους προϊόντων [2,4–6], όπως είναι τα προϊόντα προσωπικής φροντίδας (PCPs), καθώς και σε τρόφιμα, καλλυντικά και φαρμακευτικά παρασκευάσματα [5–9]. Τα παραβένια χρησιμοποιούνται μεμονωμένα ή σε συνδυασμό [4].

Μελέτες σχετικά με την οξεία, υποχρόνια και χρόνια τοξικότητα των παραβενίων σε αρκετά ζωικά είδη, δείχνουν ότι τα παραβένια είναι πρακτικά μη τοξικά [10,11], εντούτοις έχει επίσης αναφερθεί η οιστρογονική τους δραστηριότητα [12–14]. Πιο συγκεκριμένα η καθημερινή χρήση των παραβενίων που περιέχονται σε διάφορα

PCPs σχετίζεται πιθανά με την εμφάνιση καρκίνου του μαστού [15], καθώς και μελανώματος σε νεαρά άτομα [11]. Κάποιες δημοσιευμένες μελέτες έχουν επίσης αναφέρει ότι οι υψηλές συγκεντρώσεις των παραβενίων είναι σε θέση να προκαλέσουν αναπαραγωγικές διαταραχές στους άντρες [1,2,14].

Σήμερα, η εμφάνιση των PCPs στο υδάτινο περιβάλλον έχει αναγνωριστεί ως ένα αναδυόμενο και παγκόσμιας κλίμακας ζήτημα, επειδή η επίμονη, μακράς διάρκειας χρόνια έκθεση των υδρόβιων οργανισμών σε PCPs (που περιέχουν παραβένια), θα μπορούσε να επηρεάσει αρνητικά την υγεία του οικοσυστήματος και κατά συνέπεια την υγεία του ανθρώπου [2].

Μέχρι σήμερα, από όσο γνωρίζουμε, τα παραβένια και τα αλογονομένα παραπροϊόντα τους βρίσκονται στο υδάτινο περιβάλλον σε χαμηλά επίπεδα συγκέντρωσης (ng L^{-1}) [5,16,17]. Πρόσφατα, μια νέα μέθοδος SPME-GC/MS εφαρμόστηκε για τη διερεύνηση του σχηματισμού αλογονομένων παραπροϊόντων των παραβενίων υπό την επίδραση του υπεριώδους φωτός σε νερό που περιέχει χλώριο [7].

Για την εξάλειψη των παραβενίων από τις διάφορες υδάτινες μήτρες έχουν βρεθεί πολλές μέθοδοι. Οι D. Błędzka κ.ά. [8,18] ανέφεραν την αποδόμηση του βουτυλ-παραβενίου σε υδατικό διάλυμα με ακτινοβολία UV και πιο αποδοτικά με συνδυασμένη ακτινοβολία UV/H₂O₂. Οι D. Gryglik κ.α. μελέτησαν την φωτοευαισθητοποιημένη οξείδωση του βουτυλ-παραβενίου, σε υδατικό διάλυμα [3]. Άλλες μελέτες έχουν ασχοληθεί με πιο προηγμένες διεργασίες οξείδωσης όπως οζονισμός [19] και φωτοκατάλυση με διοξείδιο του τιτανίου (TiO₂) [20,21].

Η παρούσα έρευνα εξετάζει την αποδόμηση των παραβενίων σε υδατικά διαλύματα μέσω του υπεριώδους φωτός, συμπεριλαμβανομένων των μεθυλ- (MP), αιθυλ- (EP), προπυλο- (PP) και βουτυλ-(BP) παραβενίων. Επίσης μελετήθηκαν οι επιδράσεις της

αρχικής συγκέντρωσης, του pH και της αλατότητας στο ρυθμό της φωτόλυσης των παραπάνω ενώσεων. Προσδιορίστηκε ακόμα η φωτοχημική συμπεριφορά των παραβενίων υπό την παρουσία ενός δεσμευτή ελεύθερων ριζών, χουμικών οξέων και νιτρικών ιόντων. Τα παρατηρούμενα αποτελέσματα συγκρίθηκαν με την φωτοαποδόμηση των παραβενίων σε επεξεργασμένα λύματα, αλλά και φυσικά νερά, όπως το θαλασσινό νερό και το νερό του ποταμού.

3.2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

3.2.1 Χημικά

Τα παραβένια (καθαρότητας 99%) που χρησιμοποιήθηκαν σε αυτή την έρευνα αγοράστηκαν από την Sigma-Aldrich, εκτός του μεθυλ-παραβενίου (καθαρότητας 98,3%), το οποίο ελήφθη από την Supelco. Όλοι οι διαλύτες ήταν εξαιρετικής καθαρότητας (Riedel-de Haën). Όπου αναφέρεται στο κείμενο, το υδροχλωρικό οξύ, το οξικό αμμώνιο 98% w/w (ACS reagent, Merck), το οξικό οξύ 99,9% (Carlo Erba Reagents), το αμμώνιο 28% v/v (Alfa Aesar company Johnson Matthey) και το υδροξείδιο του νατρίου (Merck) χρησιμοποιήθηκαν για να ρυθμίσουν το pH. Το χλωριούχο νάτριο (Sigma-Aldrich Chemie) χρησιμοποιήθηκε για να ρυθμίσει την ιονική ισχύ των υδατικών διαλυμάτων. Το χουμικό οξύ παρασχέθηκε από την Fluka. Η 1-βουτανόλη 99% αγοράστηκε από την Lab-Scan analytical sciences, Dublin. Το υπερκάθαρο νερό (ultrapure water, UW), που χρησιμοποιήθηκε για την παρασκευή των διαλυμάτων, παρασκευάστηκε σε ένα σύστημα καθαρισμού νερού (EASYpure RF Barnstead / Thermolyne.)

Μεμονωμένα πρότυπα διαλύματα από κάθε παραβένιο προετοιμάστηκαν σε μεθανόλη και χρησιμοποιήθηκαν για την παρασκευή μίγματος πρότυπου διαλύματος

σε μεθανόλη, που περιέχει 1 mg mL^{-1} για κάθε αναλύτη. Όλα τα διαλύματα αποθηκεύτηκαν σε καταψύκτη προστατευμένα από το φως. Κάθε ημέρα, η αναγκαία ποσότητα πρότυπου διαλύματος μεταφερόταν σε φιάλες. Με τη χρήση ροής αζώτου εξατμιζόταν η μεθανόλη και γινόταν προσθήκη ρυθμιστικού διαλύματος αμμωνίου. Τα εμπλουτισμένα υδάτινα διαλύματα ομογενοποιούνταν με τη χρήση υπερήχων (Ultrasonic cleaner 2510E-MTH, Branson Branson).

3.2.2. Η συλλογή των δειγμάτων

Πειράματα φωτοαποδόμησης διεξήχθησαν σε δείγματα φυσικών νερών καθώς και σε επεξεργασμένα λύματα. Τα φυσικά δείγματα νερού συλλέχθηκαν από δύο τοποθεσίες του νομού Χανίων (Κρήτη, Ελλάδα). Δείγμα ποταμού συλλέχθηκε από τον Κλαδισό ποταμό (Χανιά), ενώ δείγμα θαλασσινού νερού ελήφθη από την παράκτια ζώνη της περιοχής της Νέας Χώρας (Χανιά). Τα δείγματα επεξεργασμένων λυμάτων συλλέχθηκαν από την έξοδο της δευτεροβάθμιας επεξεργασίας του δημοτικού σταθμού επεξεργασίας λυμάτων Χανίων (που εξυπηρετούν περίπου 70.000 κατοίκους). Όλα τα δείγματα νερού συλλέχθηκαν μια ημέρα πριν τη διεξαγωγή των πειραμάτων, φιλτραρίστηκαν με φίλτρο $0,45\text{ }\mu\text{m}$ και φυλάχθηκαν σε γυάλινη φιάλη στους $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ σφραγισμένη εξωτερικά με αλουμινόχαρτο. Τα χαρακτηριστικά των δειγμάτων νερού παρουσιάζονται στον **Πίνακα 3.1**. Πριν από την φωτοαποδόμηση, τα δείγματα εμπλουτίστηκαν με τα τέσσερα παραβένια, προκειμένου να επιτευχθεί μία αρχική συγκέντρωση παραβενίου $10\text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$ ενώ το pH ρυθμίστηκε στο 5 με ένα ρυθμιστικό διάλυμα αμμωνίου.

Πίνακας 3.1. Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των δειγμάτων νερού

Ιδιότητες	Θαλασσινό νερό	Νερό ποταμού	Έξοδος οικιακών αποβλήτων
pH	8,00	7,41	7,25
Αλατότητα (%_o w/v)	38,80	0,39	0,42
Αγωγιμότητα (mS cm⁻¹)	58,1	810,0	851,0
Ειδική αντίσταση (Ω cm)	17,2	1241,0	1172,0
TDS (mg L⁻¹)	36900	394	418
DO (mg L⁻¹)	7,79	4,61	5,26
NO₂⁻(mg L⁻¹)	0,087	0,120	0,062
NO₃⁻(mg L⁻¹)	6,240	0,584	22,640
PO₄³⁻(mg L⁻¹)	0,318	0,677	6,314
SO₄³⁻(mg L⁻¹)	3765,2	58,4	64,7
COD (mg L⁻¹)	78	0	24

3.2.3. Μετρήσεις φασμάτων UV

Τα διαφορετικά φάσματα απορρόφησης των υδατικών διαλυμάτων των παραβενίων μετρήθηκαν με ένα UV min 1240 Shimatzu UV-Vis φασματοφωτόμετρο. Τα φάσματα απορρόφησης μετρήθηκαν σε μια κλίμακα από 200 έως 400 nm χρησιμοποιώντας μια κυψελίδα χαλαζία με μήκος διαδρομής 10 mm. Τα πειράματα διεξήχθησαν σε θερμοκρασία δωματίου και υπερκάθαρο νερό χρησιμοποιήθηκε ως δείγμα αναφοράς. Τα φάσματα απορρόφησης καταγράφηκαν σε διαφορετικές τιμές

pH, οι οποίες κυμάνθηκαν από 4 έως 12. Τα διαλύματα που χρησιμοποιήθηκαν παρασκευάστηκαν με αραίωση του πρότυπου διαλύματος με υπερκάρθο νερό στις απαιτούμενες συγκεντρώσεις ($10 \mu\text{g mL}^{-1}$) του κάθε παραβενίου. Σε όλες τις περιπτώσεις η ρύθμιση του pH έγινε με χρήση διαλυμάτων HCl ή NaOH.

3.2.4. Διαδικασία φωτοαποδόμησης

Για την εκτέλεση των πειραμάτων, 8,5 mL της μήτρας εμπλουτίστηκαν με τους αναλύτες και άλλες χημικές ουσίες όπου απαιτήθηκε. Το παραπάνω διάλυμα τοποθετήθηκε σε ένα εργαστηριακό φωτοαντιδραστήρα και υποβλήθηκε σε ακτινοβολία UVC για επιλεγμένη χρονική περίοδο κάθε φορά. Η UVC ακτινοβολία αναπαράχθηκε από δύο 8 W λαμπτήρες υδραργύρου χαμηλής πίεσης (Philips TUV G8 T5, 254 nm. Με την πάροδο του απαιτούμενου χρόνου ακτινοβολήσης συλλέχθηκαν 30 μL του δείγματος σε ένα εισαγωγέα (insert) πολυπροπυλενίου των 100 μL , προσαρμοσμένο σε φιαλίδιο αυτόματου δειγματολήπτη των 2 mL από πολυπροπυλένιο, εξοπλισμένο με καπάκια από Agilent. Στη συνέχεια, 20 μL αυτού του δείγματος εγχύθηκαν σε ένα σύστημα Agilent 1200 LC για περαιτέρω ανάλυση. Για κάθε σειρά πειραμάτων διεξήχθη και ένα πείραμα ελέγχου (0 min UVC ακτινοβολία). Επίσης διεξάχθηκαν σκοτεινά τεστ τοποθετώντας το δείγμα στο σκοτάδι σε θερμοκρασία δωματίου και χωρίς ακτινοβολήση για ένα προκαθορισμένο χρονικό διάστημα, εξασφαλίζοντας έτσι ότι οποιεσδήποτε αλλαγές στο αναλυτικό σήμα, που καταγράφηκαν ήταν λόγω της δράσης των φωτονίων. Όλα τα πειράματα διεξήχθησαν τουλάχιστον εις διπλούν.

3.2.5. Αναλυτική διαδικασία

Οι συγκεντρώσεις των παραβενίων παρακολουθήθηκαν με τη χρήση ενός συστήματος Agilent 1200 υγρής χρωματογραφίας LC Series (LC) της Agilent

Technologies εφοδιασμένο με δυαδική αντλία, απαερωτή κενού, θερμοστατική στήλη, ανιχνευτή συστοιχίας διόδων (DAD) και ένα αυτόματο δειγματολήπτη. Ο διαχωρισμός των προς ανάλυση ουσιών πραγματοποιήθηκε σε στήλη Thermo Electron-Betasil C18 διαστάσεων 2,1 mm εσωτερικής διαμέτρου (ID), μήκους 100 mm και μεγέθους σωματιδίων 5 μm . Η θερμοκρασία της στήλης κρατήθηκε στους 40 °C σε όλη την διάρκεια της ανάλυσης. Μια αρχική σύνθεση 60:40 από 5 mM υδατικό διάλυμα οξικού αμμωνίου:μεθανόλη χρησιμοποιήθηκε ως κινητή φάση με ρυθμό ροής 0,20 mL min⁻¹. Τα πρώτα πέντε λεπτά η αναλογία παράμενε στα 60:40, στη συνέχεια κατά τα επόμενα οκτώ λεπτά αναδιατάχθηκε σε 45:55, έπειτα ακολούθησε μια ράμπα οχτώ λεπτών έως ότου φτάσει σε αναλογία 0:100 και τέλος για ακόμα οχτώ λεπτά μέχρι το τέλος της ανάλυσης παραμένει σταθερή πάλι στα 60:40. Η ανίχνευση των προς ανάλυση ουσιών πραγματοποιήθηκε σε μήκος κύματος 257 nm. Για την επεξεργασία των χρωματογραφικών δεδομένων χρησιμοποιήθηκε το λογισμικό Agilent ChemStation revision B.01.03.

3.3.ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

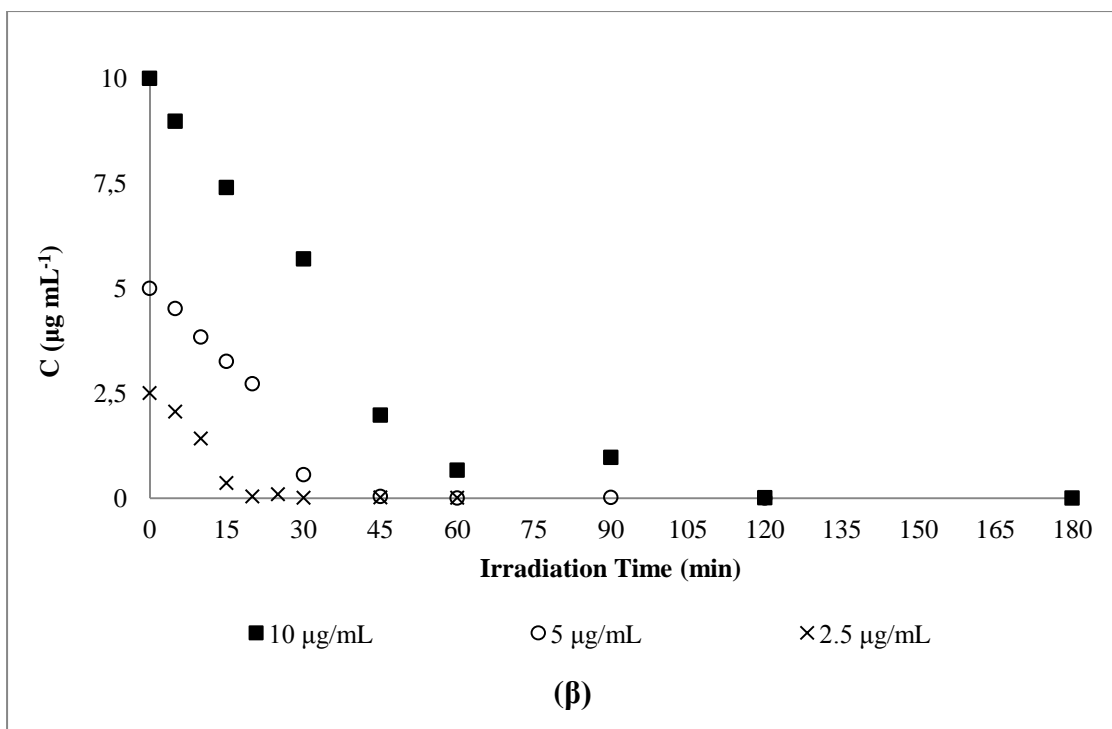
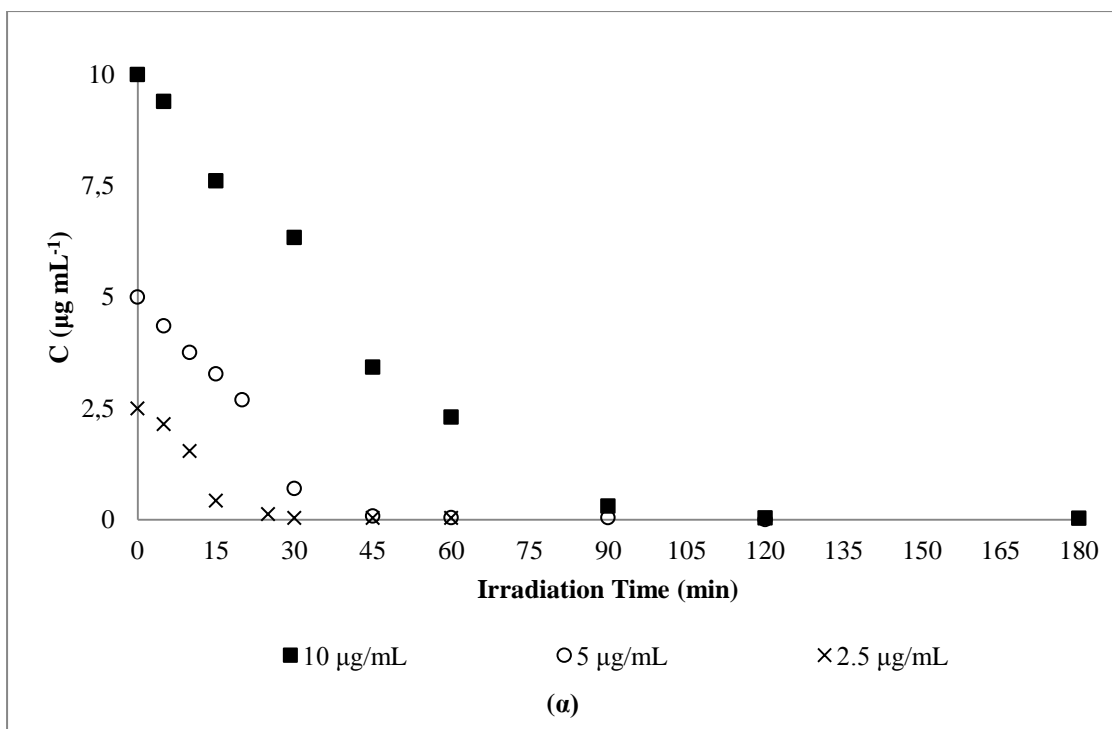
3.3.1 Προκαταρτικές μελέτες

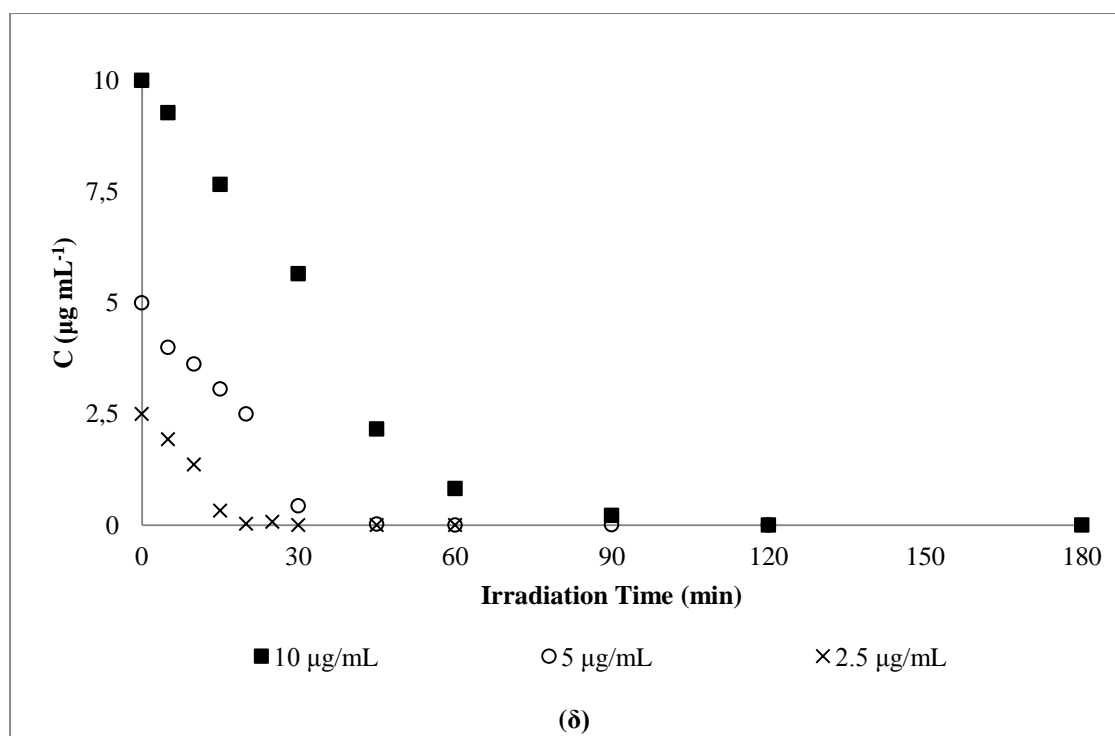
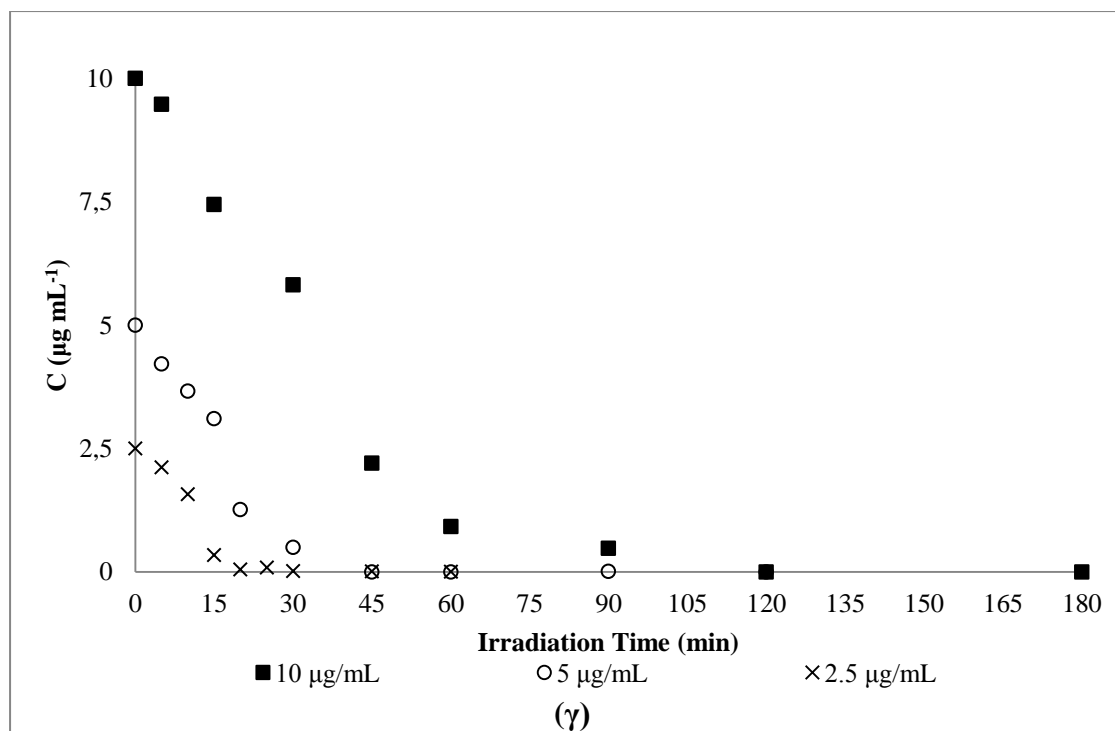
Για κάθε σειρά πειραμάτων, ήταν σημαντικό να εξεταστεί κατά πόσο η αναλυτική απόκριση δεν μειωνόταν μέσα στο χρόνο, για οποιονδήποτε άλλο λόγο, εκτός από τη φωτοχημική αντίδραση των παραβενίων. Για το σκοπό αυτό, διεξάχθηκε μια δοκιμή ελέγχου. Καμία σημαντική μεταβολή στη συγκέντρωση των παραβενίων δεν παρατηρήθηκε στις δοκιμές ελέγχου, αποδεικνύοντας ότι η αποδόμηση των παραβενίων ακολούθησε μόνο τη φωτολυτική διαδρομή.

3.3.2. Επίδραση διαφόρων παραμέτρων

3.3.2.1. Επίδραση της συγκέντρωσης

Η επίδραση της αρχικής συγκέντρωσης των παραβενίων επί του ρυθμού αποδόμησης εδραιώθηκε με την επόμενη σειρά πειραμάτων. Η εξάρτηση του ρυθμού αποδόμησης των παραβενίων μελετήθηκε για τρεις αρχικές συγκεντρώσεις στο εύρος από 2.5 έως 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν σε pH 5, επειδή σε τιμές pH πάνω από 7 παρατηρήθηκε το φαινόμενο της υδρόλυσης [22]. Το **Σχήμα 3.2** απεικονίζει την αποδόμηση των παραβενίων σε υπερκάθαρο νερό με διαφορετικές αρχικές συγκεντρώσεις. Υπήρξε μια εξάρτηση μεταξύ αρχικού ρυθμού φωτόλυσης και την αρχική συγκέντρωση των παραβενίων. Αυτή η τάση έχει επίσης παρατηρηθεί και σε άλλες μελέτες [18]. Τα αποτελέσματα έδειξαν μια μείωση στην αποδοτικότητα αποδόμησης σε υψηλές συγκεντρώσεις για όλα τα παραβένια. Συγκεκριμένα, όταν η αρχική συγκέντρωση των παραβενίων αυξήθηκε από 2.5 σε 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$, τα επίπεδα αποδόμησης μετά από 15 min ακτινοβολήσης μειώθηκαν από 95,7% σε 23,9%, από 96,4% σε 26,0%, από 96,2% σε 26,6 % και από 96.5% σε 23,4% για MP, EP, PP και BP, αντίστοιχα. Η πιθανή εξήγηση είναι ότι σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις τα μόρια των παραβενίων έχουν στην διάθεση τους περισσότερο φως (ενέργεια) για να απορροφήσουν.





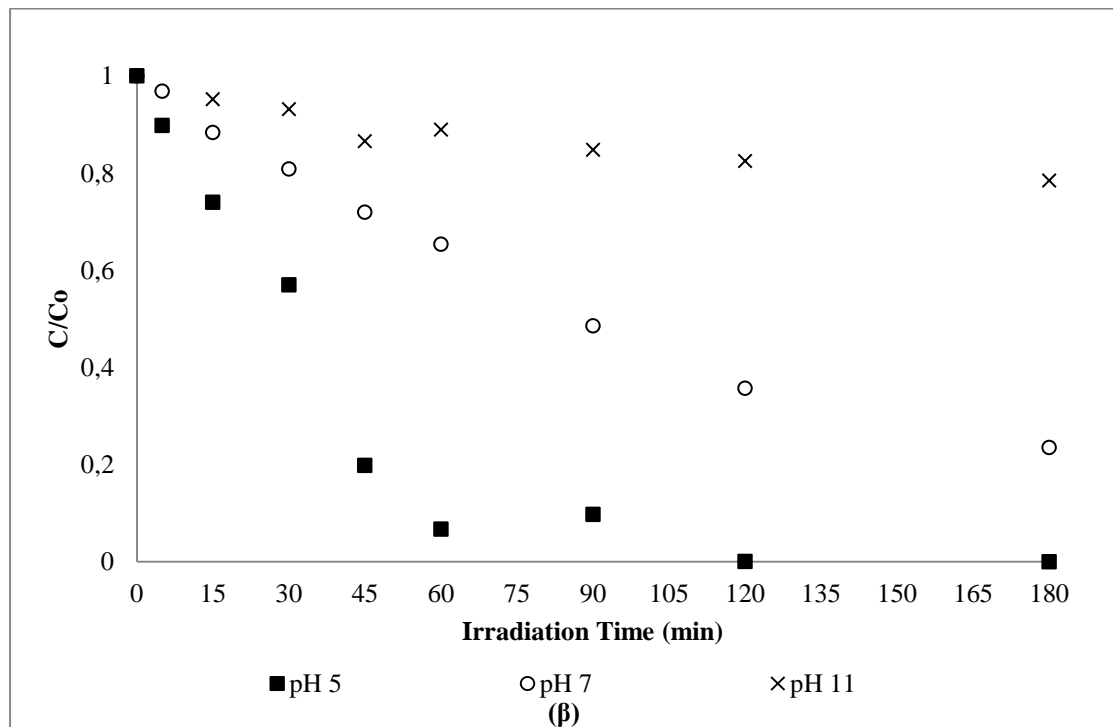
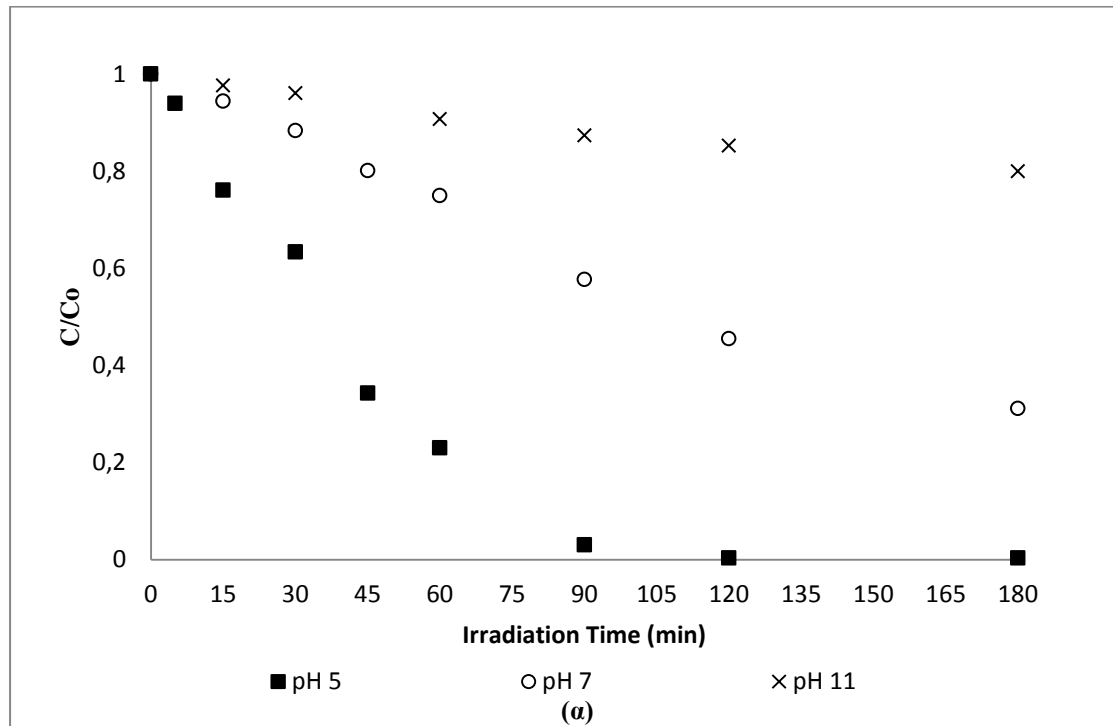
Σχήμα 3.2. Επίδραση της αρχικής συγκέντρωσης των παραβενίων α) MP, β) EP, γ) PP, δ) BP ύστερα από επίδραση της UV ακτινοβολίας.

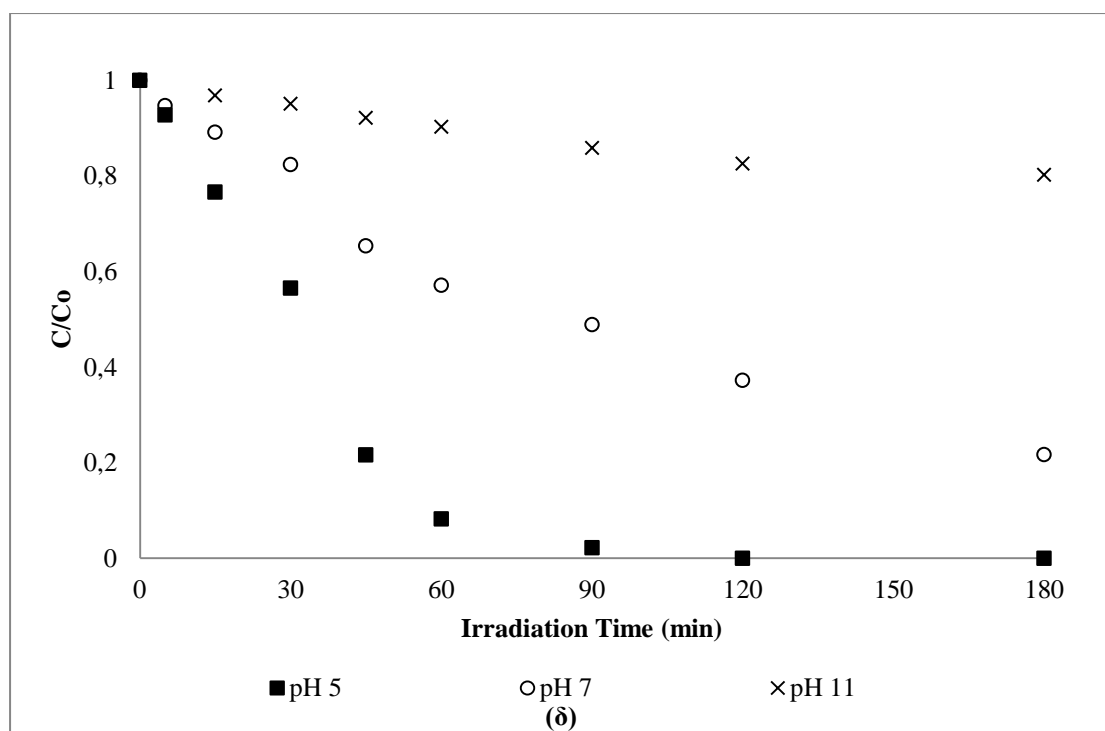
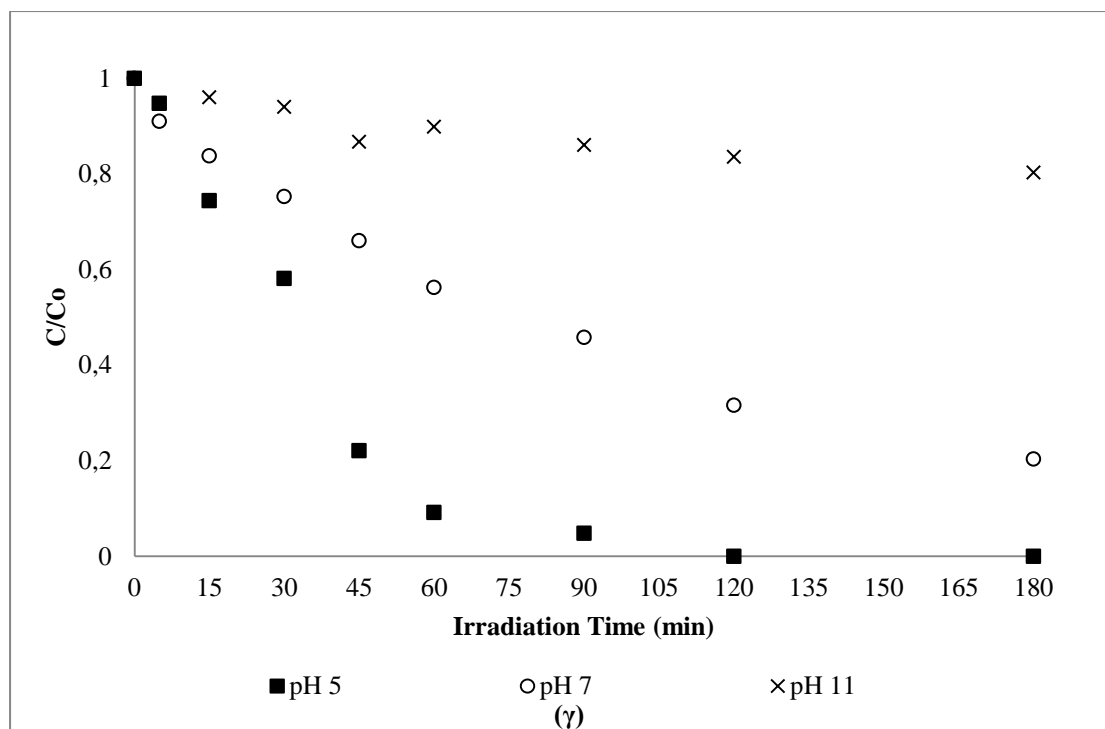
Οι κινητικές σταθερές, που υπολογίστηκαν από τις εξισώσεις **8** του πρώτου κεφαλαίου περιγράφουν αποτελεσματικά το μοντέλο κινητικής ψευδο-πρώτης τάξης στη φωτοαποδόμηση των παραβενίων. Πιο συγκεκριμένα, οι σταθερές ρυθμού k για κάθε παραβένιο συγκέντρωσης $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ ήταν: 0,0250, 0,0187, 0,0187 και 0,0192 με συντελεστές συσχέτισης 0,9932, 0,9919, 0,9999 και 0,9995 για MP, EP, PP και BP, αντίστοιχα. Οι αντίστοιχες σταθερές ρυθμού k για κάθε παραβένιο συγκέντρωσης $5 \mu\text{g mL}^{-1}$ ήταν: 0,0304, 0,0309, 0,0314 και 0,0331 με συντελεστές συσχέτισης 0,9952, 0,9913, 0,9987 και 0,9904 για MP, EP, PP και BP, αντίστοιχα. . Ενώ οι σταθερές ρυθμού k για κάθε παραβένιο συγκέντρωσης $2,5 \mu\text{g mL}^{-1}$ ήταν: 0,0484, 0,0565, 0,0461 και 0,0607 με συντελεστές συσχέτισης 0,9580, 0,9672, 0,9724 και 0,9928 για MP, EP, PP και BP, αντίστοιχα. Επομένως όταν οι συγκεντρώσεις των παραβενίων μειώθηκαν, παρατηρήθηκε αύξηση των σταθερών ρυθμού φωτοαποδόμησης. Οι χρόνοι που απαιτείται για την ελάττωση της συγκέντρωσης των αντιδρώντων κατά το ήμισυ της αρχικής της τιμής υπολογίστηκαν από την **εξίσωση 10** του πρώτου κεφαλαίου. Πιο συγκεκριμένα, οι χρόνοι ημιζωής για κάθε παραβένιο συγκέντρωσης $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ ήταν: 28, 37, 37 και 36 για MP, EP, PP και BP, αντίστοιχα. Οι αντίστοιχοι χρόνοι ημιζωής για κάθε παραβένιο συγκέντρωσης $5 \mu\text{g mL}^{-1}$ ήταν: 23, 22, 22 και 21 για MP, EP, PP και BP, αντίστοιχα. . Ενώ οι χρόνοι ημιζωής για κάθε παραβένιο συγκέντρωσης $2,5 \mu\text{g mL}^{-1}$ ήταν: 14, 12, 15 και 11 για MP, EP, PP και BP, αντίστοιχα. Παρατηρήθηκε ότι οι χρόνοι ημιζωής αυξάνονται με την αύξηση των αρχικών συγκεντρώσεων των παραβενίων γεγονός που είναι αντιφατικό με την κινητική ψευδο-πρώτης τάξης, που περιγράφηκε παραπάνω. Ωστόσο δικαιολογείται γιατί στα συγκεκριμένα πειράματα, ενώ αυξανόταν οι αρχικές συγκεντρώσεις των παραβενίων το πακέτο ενέργειας, στο οποία εκτίθονταν οι ενώσεις παρέμενε σταθερό.

3.3.2.2 Επίδραση του pH

Οι πρώτες σειρές πειραμάτων διεξήχθησαν σε 5 mM ρυθμισμένα διαλύματα υπερκάθαρου νερού με pH 5, 7 και 11. Η αρχική συγκέντρωση του κάθε παραβενίου ήταν $10 \mu\text{g mL}^{-1}$. Το **Σχήμα 3.3** δείχνει τη μεταβολή της αναλυτικής απόκρισης των παραβενίων κατά τη διάρκεια της ακτινοβολήσης σε διαφορετικές τιμές pH. Σε όλες τις περιπτώσεις, η φωτοαποικοδόμηση των παραβενίων φαίνεται να εξαρτάται από το pH. Σε pH 5 και με διάρκεια ακτινοβολήσης 90 λεπτών μπορεί να επιτευχθεί μια πλήρη απομάκρυνση (απώλειες $> 90\%$) του συνόλου των παραβενίων στο νερό. Σε pH 7 υπήρχε μια μείωση της συγκέντρωσης των ουσιών από 42,3% έως 54,2% και σε pH 11, το ποσοστό μειώθηκε από 12,7% έως 15,2%. Για όλες τις προς ανάλυση ουσίες, το υψηλότερο ποσοστό αποδόμησης παρατηρήθηκε σε pH 5 και το χαμηλότερο σε pH 11. Τα αποτελέσματα έδειξαν μια μείωση στο ρυθμό αποδόμησης όλων των παραβενίων καθώς το pH αυξανόταν, επιβεβαιώνοντας ότι η μοριακή μορφή των παραβενίων είναι περισσότερο φωτοευαίσθητη από ότι η ανιονική μορφή τους. Τα ευρήματα αυτά είναι σε συμφωνία με τα αντίστοιχα που προέρχονται από άλλες αναφορές [3,18]. και μπορεί να εξηγηθούν αν παρατηρηθούν τα φάσματα υπεριώδους ακτινοβολίας των παραβενίων. Το **Σχήμα 3.4** δείχνει τα φάσματα απορρόφησης των τεσσάρων παραβενίων σε διαφορετικά pH. Υπολογίστηκε ακόμη η σταθερά της οξεοβασικής ισορροπίας (acid–base equilibrium constant) (**Σχήμα 3.5**) των παραβενίων (8,53, 8,20, 8,33 και 8,48 για MP, EP, PP και BP, αντίστοιχα) και βρέθηκε να είναι σύμφωνη με τις προηγούμενες αναφορές [3,7,18,23]. Κάτω από pH 8 (κοντά στην τιμή pKa), όλα τα παραβένια απορροφώνται στην ίδια φασματική περιοχή με μέγιστη απορρόφηση στα 256 nm περίπου. Πάνω από το pH 8, τα φάσματα των παραβενίων έδειξαν μία ελαφρά μετατόπιση προς το ερυθρό. Πάνω από το pH 9, η κόκκινη μετατόπιση έγινε πιο έντονη και παρατηρήθηκε αύξηση στην

απορρόφηση. Αυτή η βαθοχρωμική μετατόπιση εμφανίζεται λόγω του σχηματισμού των αποπρωτονιομένων μορίων, των οποίων η μέγιστη απορρόφηση μετατοπίστηκε στα 297 nm. Έτσι, η αποπρωτονίωση των παραβενίων δεν διευκολύνει την άμεση φωτοαποδόμηση με UVC ακτινοβολία.

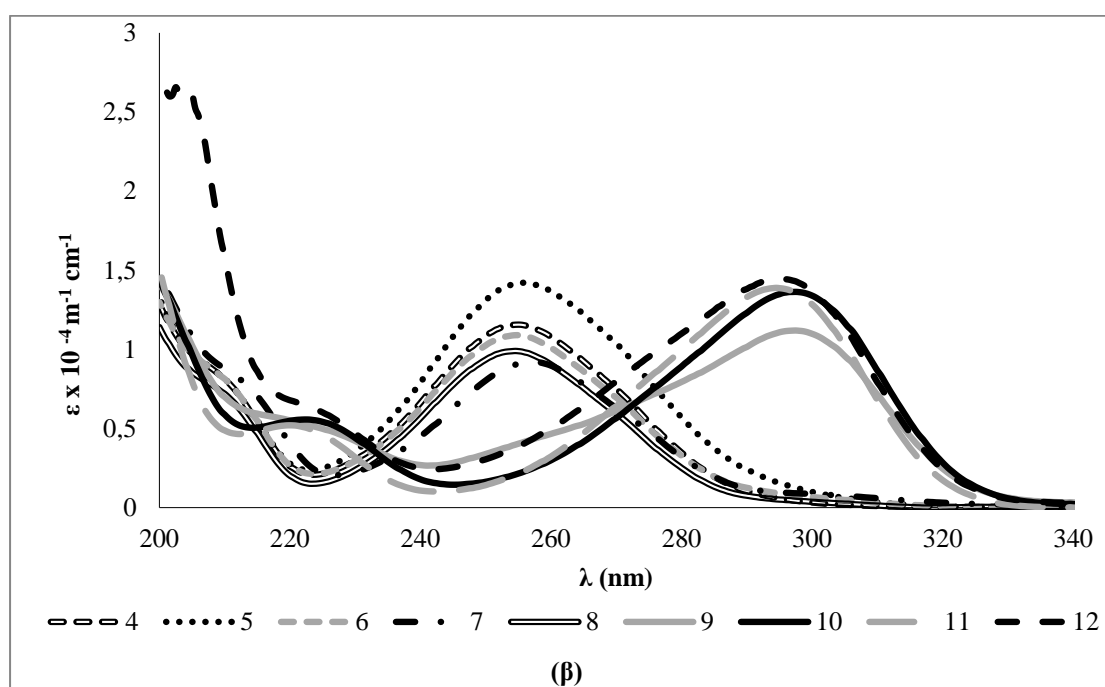
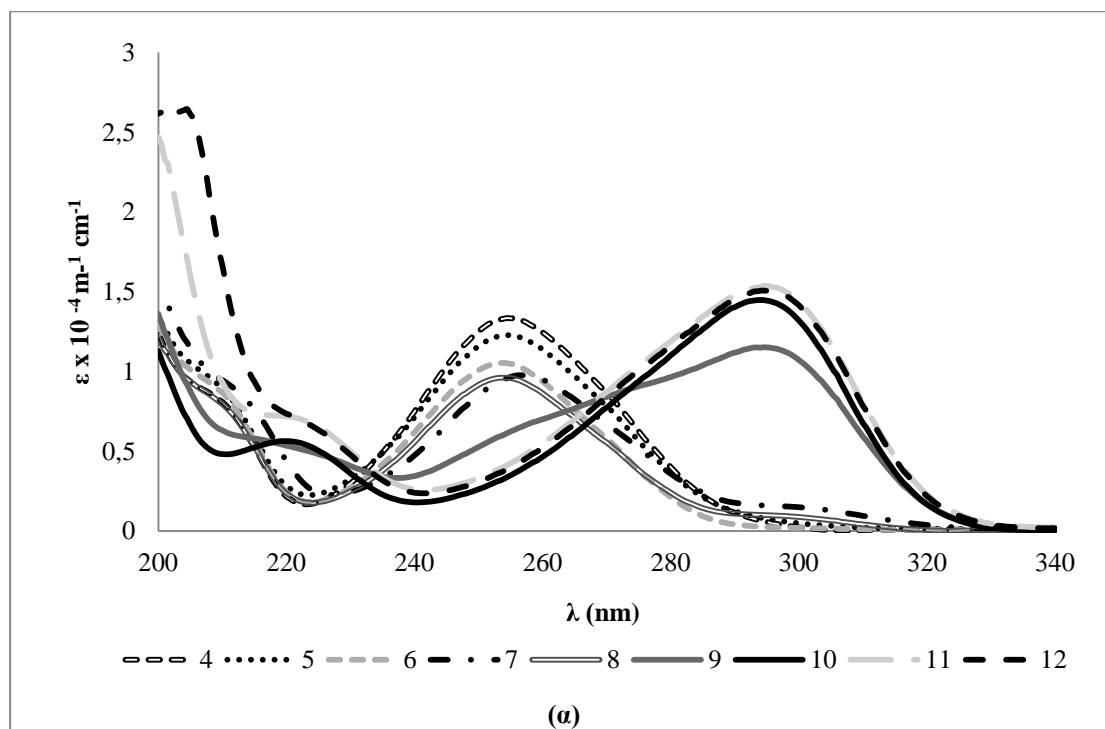


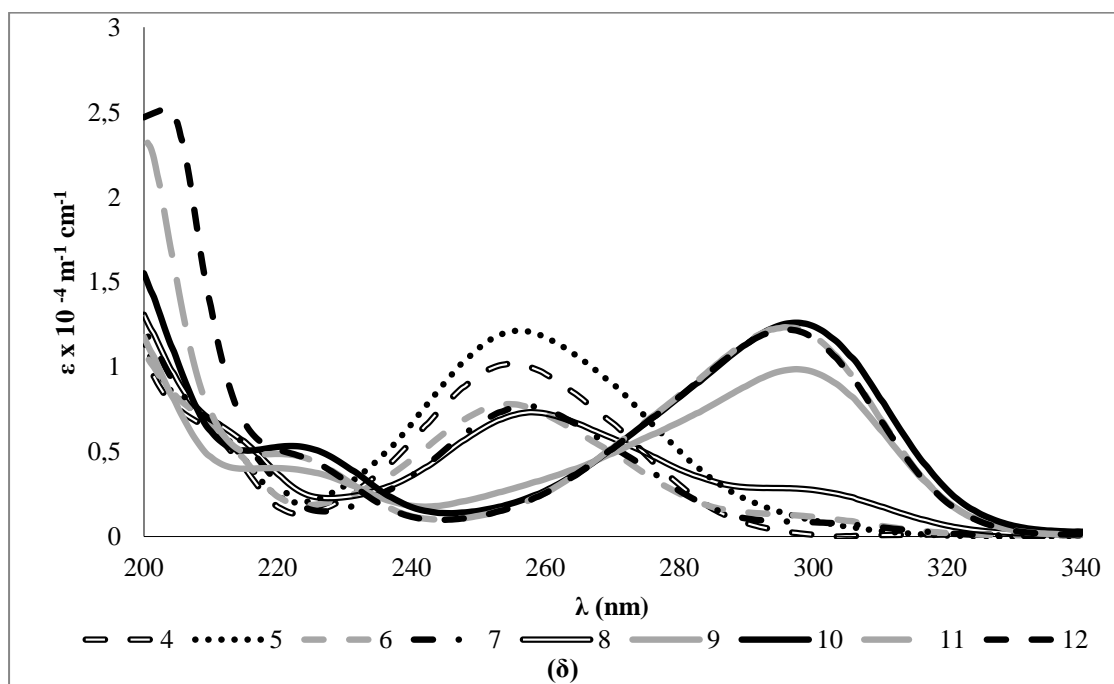
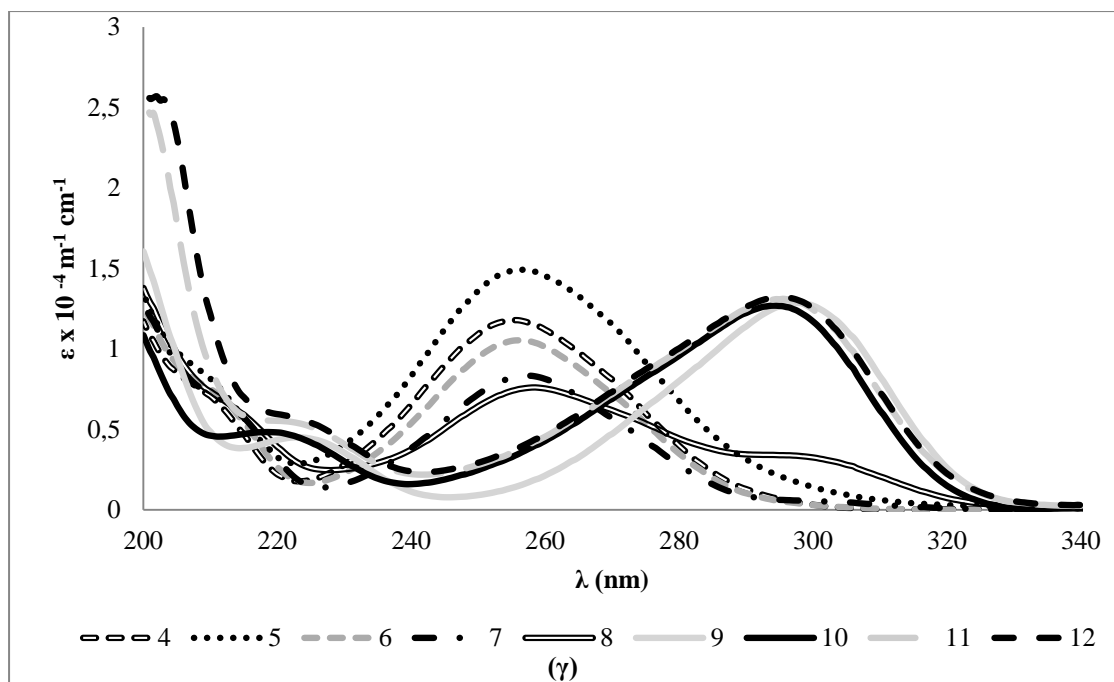


Σχήμα 3.3. Επίδραση του pH στη φωτοαποδόμηση των παραβενίων α) MP, β) EP, γ) PP, δ) BP.

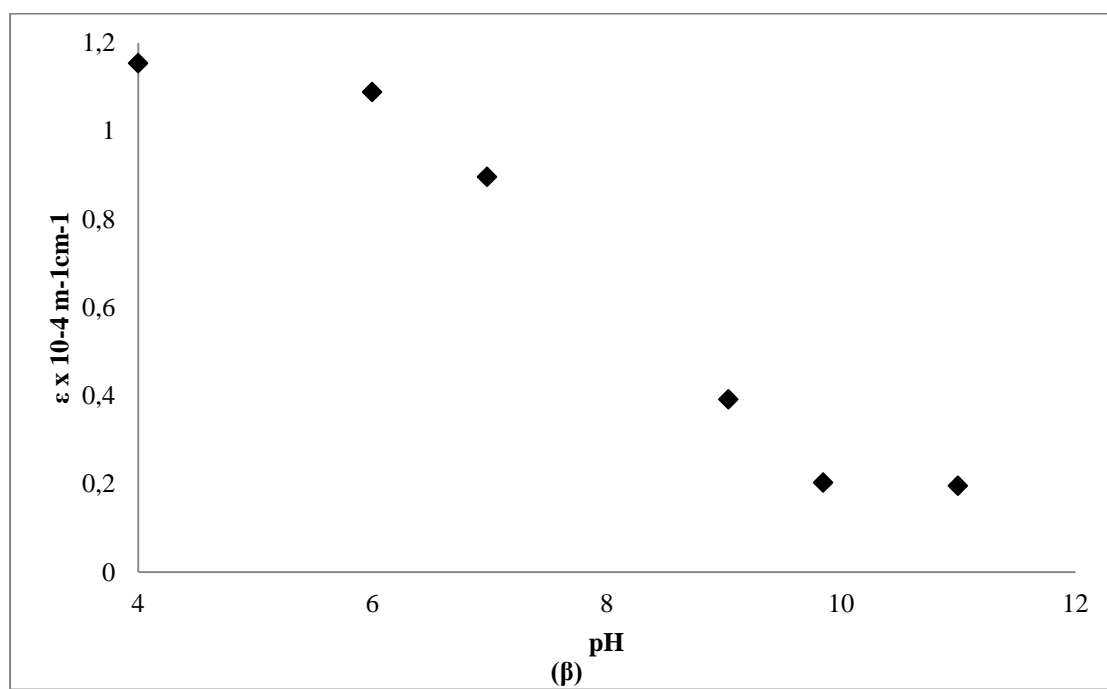
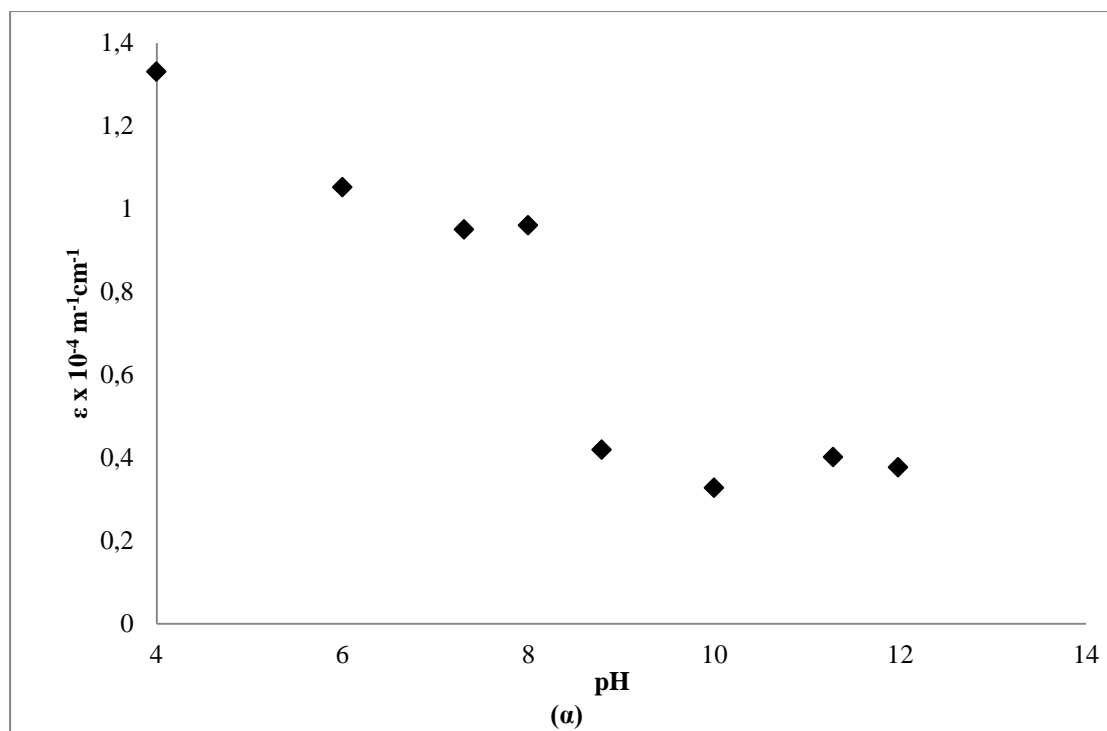
Τα αποτελέσματα που παρατηρήθηκαν σε αυτή την εργασία, δείχνουν επίσης μία μικρή διαφορά μεταξύ του pH 5 και του pH 7, το οποίο δεν είναι σε συμφωνία με την μελέτη των D. Błędzka κ.α. [18]. Ο λόγος για αυτήν την παρατήρηση είναι ότι σε pH

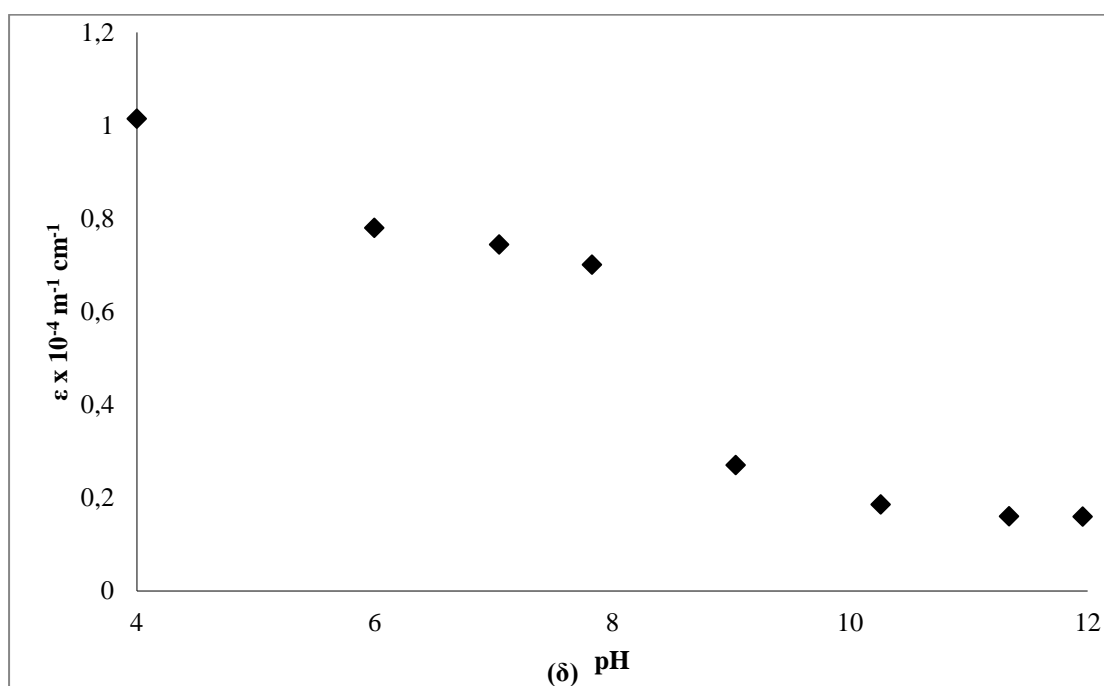
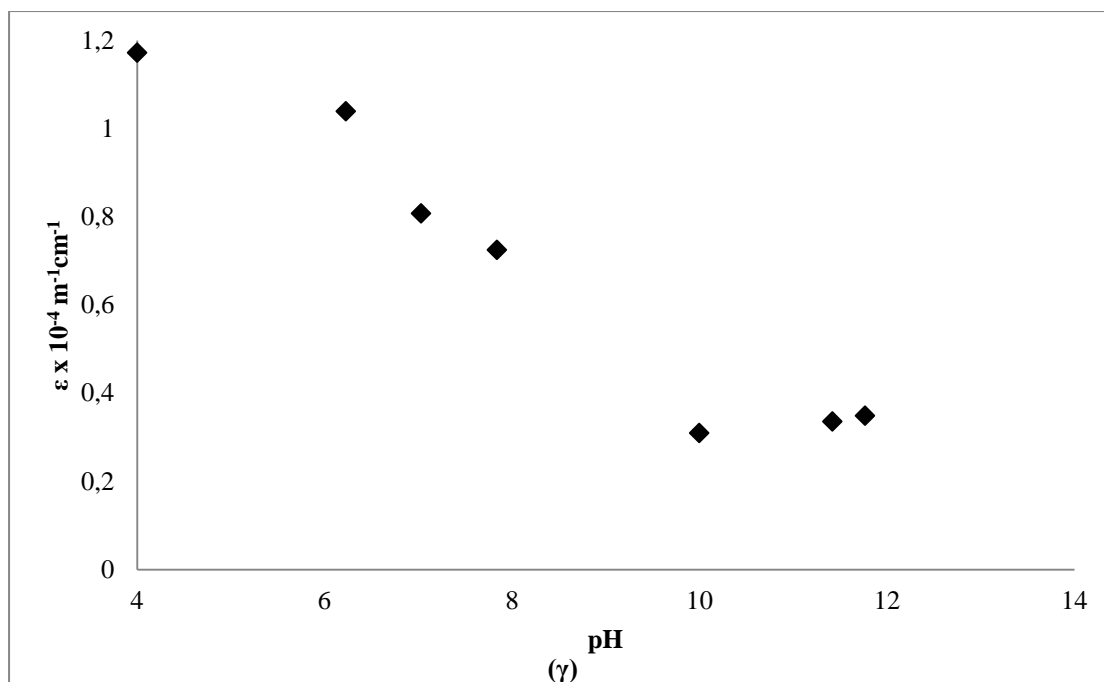
7 τα παραβένια έχουν μόλις αρχίσει (περίπου 3%) να μετατρέπονται στην ανιονική μορφή τους [23], λόγω αποπρωτονίωσης της ομάδας υδροξυλίου τους, διαδικασία, που συμβαίνει σε αλκαλικά διαλύματα. Αντίθετα σε τιμές pH από 3 έως 6,5 τα μόρια των παραβενίων παραμένουν στην ουδέτερη μορφή τους [22].





Σχήμα 3.4. Φάσματα απορρόφησης των παραβενίων α) MP, β) EP, γ) PP, δ) BP.



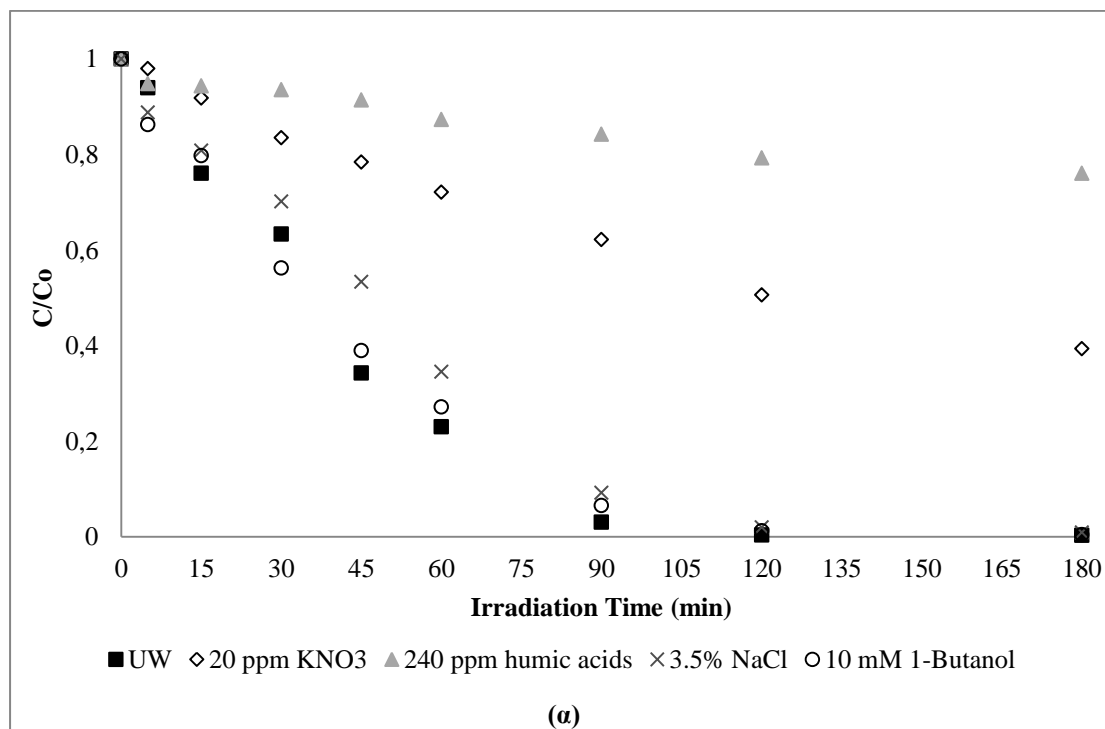


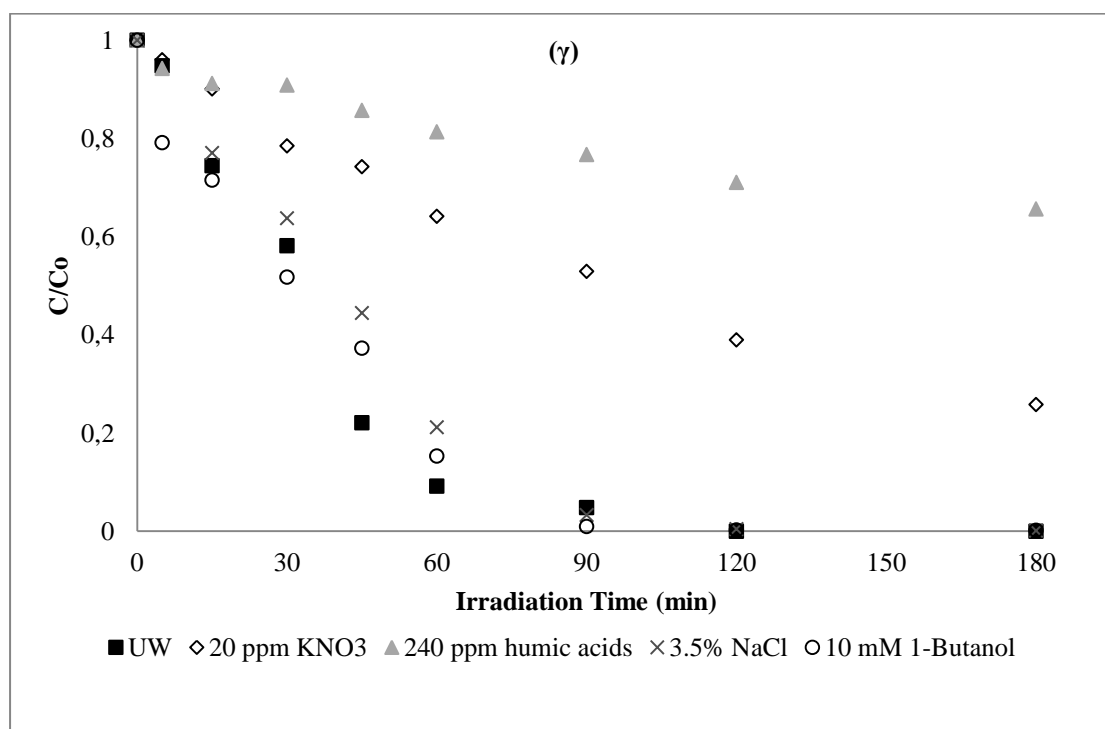
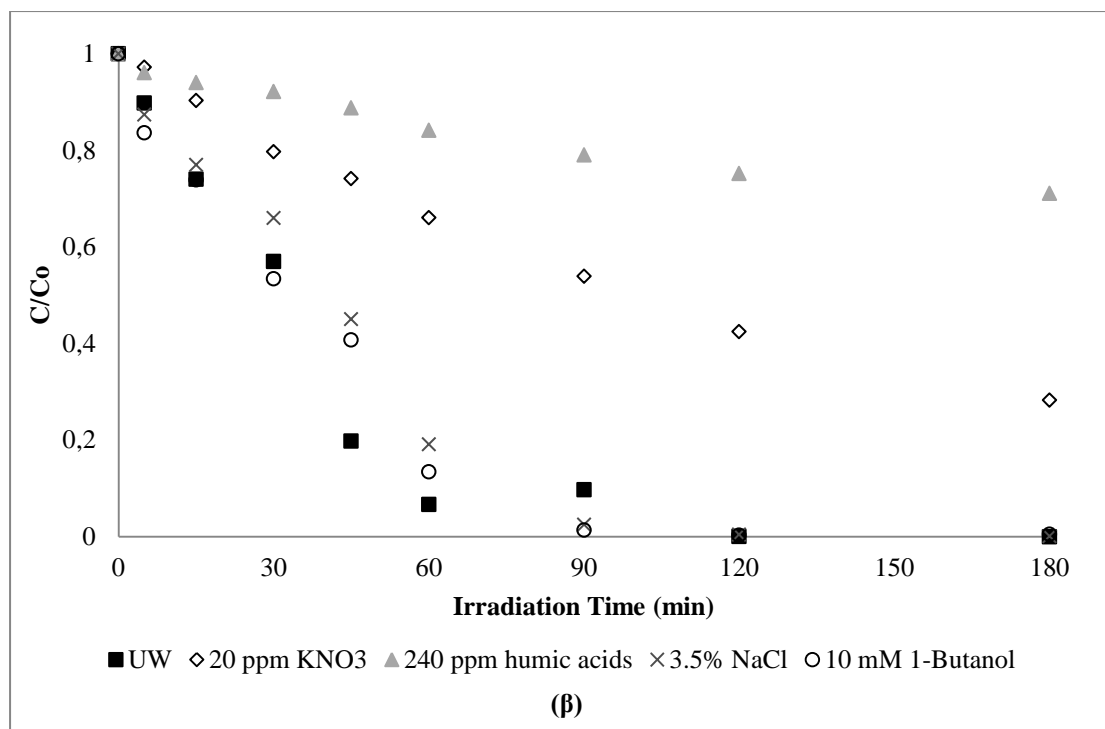
Σχήμα 3.5. Τιτλοδότηση των παραβενίων α) MP, β) EP, γ) PP, δ) BP, ώστε να προσδιοριστεί το pK_a .

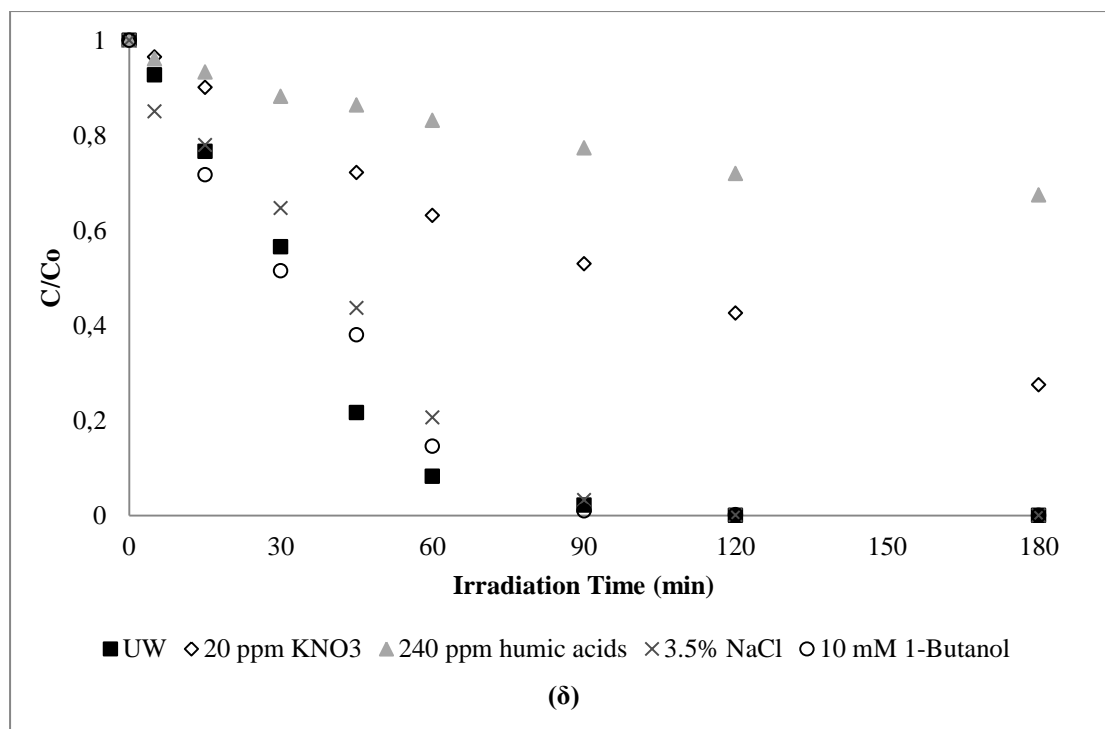
3.3.2.3 Επίδραση δεσμευτή ριζών

Πειράματα απόσβεσης για την φωτοαποδόμηση των παραβενίων διεξήχθησαν σε pH 5 με την αρχική συγκέντρωση $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ για κάθε παραβένιο. 10 mM 1-βουτανόλη προστέθηκε σε διάλυμα νερού, που ενεργεί ως δεσμευτής ριζών υδροξυλίου. Το

Σχήμα 3.6 απεικονίζει την αποδόμηση των παραβενίων απουσία ή παρουσία του δεσμευτή ελευθέρων ριζών, την 1-βουτανόλη. Με την παρουσία της 1-βουτανόλης, τα ποσοστά των παραβενίων που απομακρύνθηκαν ήταν σχεδόν ίσα με εκείνα που βρέθηκαν σε υπερκάθαρο νερό. Εφαρμογή του μοντέλου κινητικής ψευδο-πρώτης τάξης έδωσε συντελεστές συσχέτισης 0,9932, 0,9919, 0,9999 και 0,9995 για MP, EP, PP και BP, αντίστοιχα. Οι χρόνοι ημιζωής βρέθηκαν να είναι πανομοιότυποι με αυτούς σε υπερκάθαρο νερό (31, 34, 32 και 32 min για MP, EP, PP και BP, αντίστοιχα). Μπορεί να επιβεβαιωθεί ότι η προσθήκη της 1-βουτανόλης δεν είχε σημαντική επίδραση στην φωτοαποδόμηση των ρύπων που μελετήθηκαν, υποδεικνύοντας ότι οι ρίζες υδροξυλίου δεν παίζουν κανένα ρόλο στην αποδόμηση των παραβενίων. Το παρόν εύρημα είναι σε συμφωνία με μια προηγούμενη αναφορά, προσδιορίζοντας την επίδραση του δεσμευτή ριζών υδροξυλίου 1-βουτανόλη στην πορεία της αντίδρασης φωτοδιάσπασης του BP [18].







Σχήμα 3.6. Επίδραση διαφόρων παραμέτρων (1-βουτανόλη, νιτρικά ιόντα, HA και NaCl) στην αποδόμηση των παραβενίων α) MP, β) EP, γ) PP, δ) BP υπό την επίδραση UV ακτινοβολίας.

3.3.2.4. Επίδραση των χουμικών οξέων (HA)

Η συνολική επίδραση των χουμικών οξέων στο ρυθμό φωτοαποδόμησης των οργανικών ενώσεων σε υδατικά διαλύματα είναι περίπλοκη, καθώς λόγω της ικανότητάς τους να απορροφούν την υπεριώδη ακτινοβολία σε ένα ευρύ φάσμα μηκών κύματος μπορούν να μειώσουν τη διαθέσιμη ενέργεια για τα οργανικά μόρια που υπάρχουν στο διάλυμα, λειτουργώντας έτσι ως εσωτερικά φίλτρα (inlet filters). Ταυτόχρονα, μπορεί να δράσουν ως καταστολείς ελεύθερων ριζών. Από την άλλη πλευρά, όταν τα μόρια των HA υποβάλλονται στην UVC ακτινοβολία προωθούνται σε μια παροδική διεγερμένη κατάσταση (τριπλή κατάσταση), στην οποία μπορούν να αντιδράσουν με το οξυγόνο στο διάλυμα σχηματίζοντας αντιδραστικά ενδιάμεσα όπως μονήρες οξυγόνο, ή να αντιδράσουν απευθείας με άλλα οργανικά είδη, προωθώντας έτσι τη φωτομετατροπή τους. Το τελευταίο συμβαίνει μόνο όταν οι

ουσίες μπορούν να υποστηρίξουν την μεταφορά ενέργειας από τα μόρια στην τριπλή τους κατάσταση. Ως εκ τούτου, η συνολική επίδραση του χουμικών οξέων στο ρυθμό φωτομετατροπής μιας οργανικής ουσίας θα εξαρτηθεί από την ισορροπία μεταξύ αυτών των δύο αντιφατικών ρόλων. Όταν τα χουμικά οξέα δρουν κυρίως ως εσωτερικά φίλτρα, η προσθήκη τους θα οδηγήσει σε μείωση του ρυθμού φωτοαποδόμησης σε σύγκριση με τον ρυθμό που μετράται σε υπερκάθαρο νερό. Αντίθετα, αν τα HA δράσουν ως φωτο-ευαισθητοποιητές η αποδόμηση των ρύπων θα ενισχυθεί. [24,25].

Η επόμενη σειρά πειραμάτων στόχευε στην αξιολόγηση της επίδρασης των HA στην ταχύτητα φωτοαποδόμησης των επιλεγμένων ουσιών. Έτσι, φωτολυτικά πειράματα διεξήχθησαν με την παρουσία $240 \mu\text{g mL}^{-1}$ HA σε διάλυμα εργασίας που περιείχε $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ από κάθε παραβένιο. Το δείγμα εκτέθηκε σε ακτινοβολία UVC και η απομάκρυνση των προς ανάλυση ουσιών παρακολουθήθηκε ως συνάρτηση του χρόνου έκθεσης. Σε σύγκριση με την άμεση φωτόλυση σε υπερκαθαρό νερό, υπό την επίδραση της UV ακτινοβολίας η παρουσία των HA ανέστειλε σημαντικά την αποδόμηση των παραβενίων. Το **Σχήμα 3.6** απεικονίζει την επίδραση της αναστολής των HA στην φωτοδιάσπαση των παραβενίων. Η φωτοδιάσπαση του παραβενίων σχεδόν ολοκληρώθηκε στα πρώτα 90 min της έκθεσής τους στην UVC, ενώ με την παρουσία των HA, μόνο 33,3%, 38,9%, 45,9% και 46,4% των MP, EP, PP και BP, αντίστοιχα απομακρύνθηκαν μετά από 6 ώρες ακτινοβολίας. Εφαρμογή της γραμμικής παλινδρόμησης του λογαρίθμου της συγκέντρωσης ενάντια στο χρόνο, έδωσε μια κινητική ψευδο-πρώτης τάξεως με συντελεστές συσχέτισης 0,9904, 0,9889, 0,9807 και 0,9920 και χρόνους ημιζώης 365, 301, 257 και 267 min για MP, EP, PP και η BP, αντίστοιχα. Όλα τα παραπάνω δείχνουν ότι η παρουσία των HA έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση του ρυθμού αποδόμησης των παραβενίων λόγω της

ανταγωνιστικότητας των HA και των παραβενίων στην απορρόφηση υπεριώδους ακτινοβολίας [26]. Αυτό αποδεικνύει την ιδιότητά τους ως μέσα ελέγχου του φωτός και καταστολείς ελεύθερων ριζών, όπως συνεπάγεται και από άλλη έκθεση [18]. Μελετώντας την επίδραση των χουμικών οξέων κατά την φωτοαποδόμηση του BP οι C Tixier κ.ά., [27] επίσης διαπίστωσαν ότι η παρουσία της διαλυμένης οργανικής ύλης οδήγησε σε μείωση της τάξης του 20 % του ρυθμού φωτομετατροπής ενός προϊόντος προσωπικής φροντίδας (τρικλοζάνη-triclosan) σε υδατικό διάλυμα.

3.3.2.5. Επίδραση των νιτρικών ιόντων

Προκειμένου να μελετηθεί η φωτοαποδόμηση των παραβενίων σε νιτρικά διαλύματα, διεξήχθη ένα κατάλληλο πείραμα ακτινοβόλησης με την προσθήκη $20 \mu\text{g mL}^{-1}$ νιτρικού ιόντος σε υπερκάθαρο νερό εμπλουτισμένο με $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ από κάθε παραβένιο. Εφαρμογή της γραμμικής παλινδρόμησης του λογαρίθμου της συγκέντρωσης ενάντια στο χρόνο, έδωσε μια ψευδο-πρώτης τάξεως κινητική με συντελεστές συσχέτισης 0,9976, 0,9984, 0,9930 και 0,9977 για MP, EP, PP και BP, αντίστοιχα. Ο απαιτούμενος χρόνος για την απόκριση του 50% της αρχικής συγκέντρωσης των αντιδρώντων βρέθηκε στα 133, 98, 91 και 92 min για MP, EP, PP και BP, αντίστοιχα. Όπως φαίνεται από το Σχήμα 3.6 η παρουσία των νιτρικών ιόντων στο υδατικό διάλυμα αναστέλλει το ρυθμό αποδόμησης για κάθε παραβένιο. Πολλοί ερευνητές [26,28,29], αναφέρουν ότι η παρουσία των νιτρικών ιόντων είναι μια πηγή $\bullet\text{OH}$ σε φυσικά ύδατα υπό την επίδραση της ακτινοβολίας. Σε αυτή τη μελέτη τα νιτρικά ιόντα φαίνεται να δρουν ως οπτικό φίλτρο, με αποτέλεσμα τη μείωση του κλάσματος της UV ακτινοβολίας που απορροφάται από τα παραβένια [29].

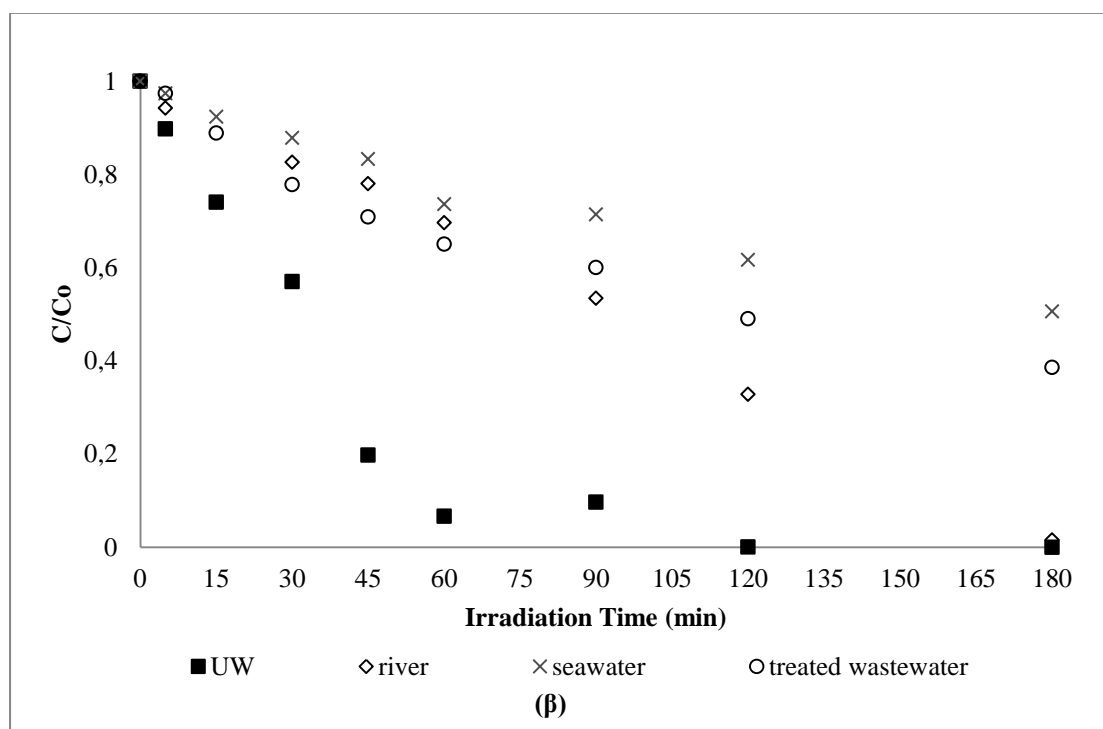
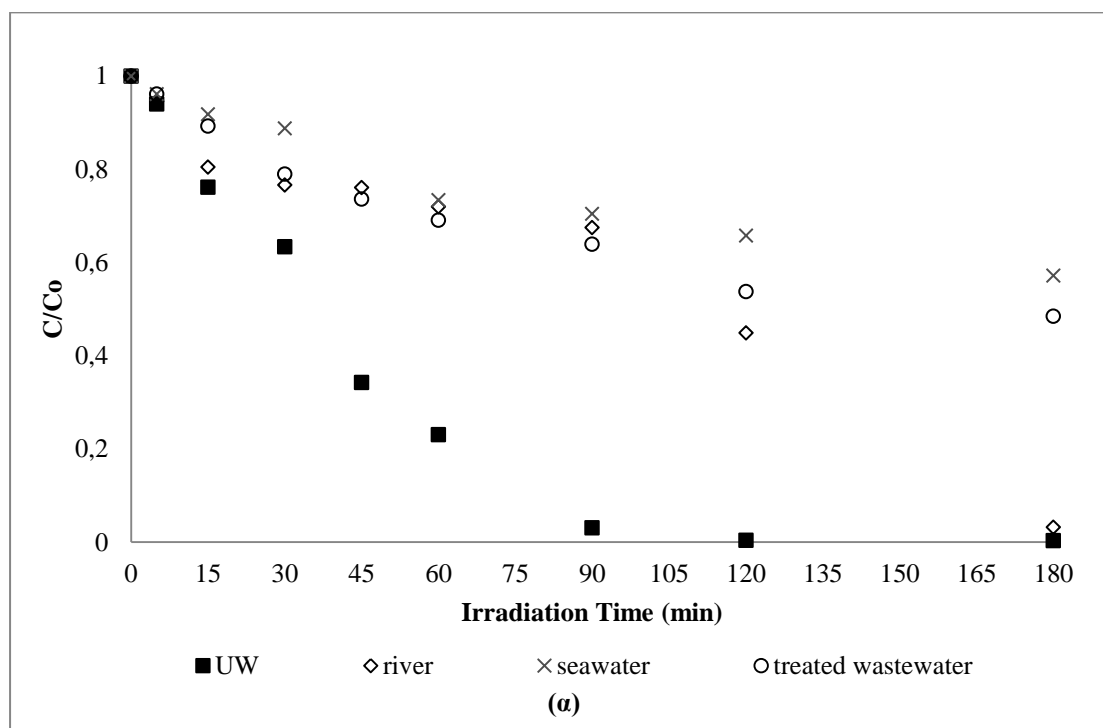
3.3.2.6. Επίδραση της αλατότητας

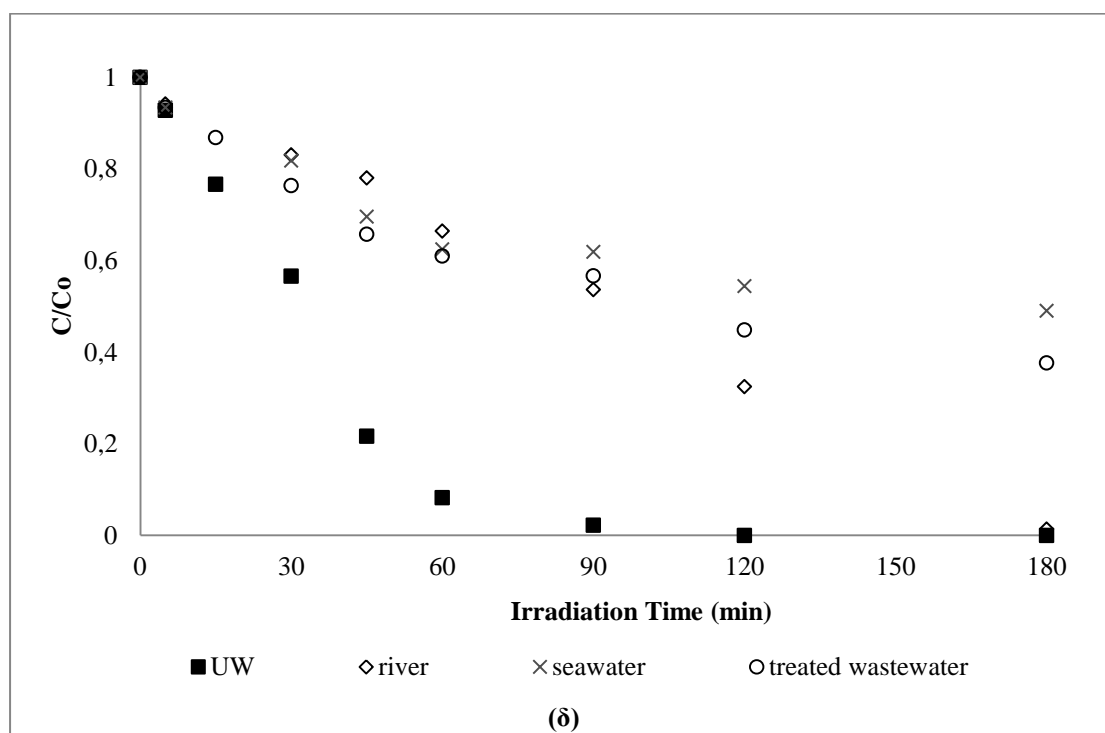
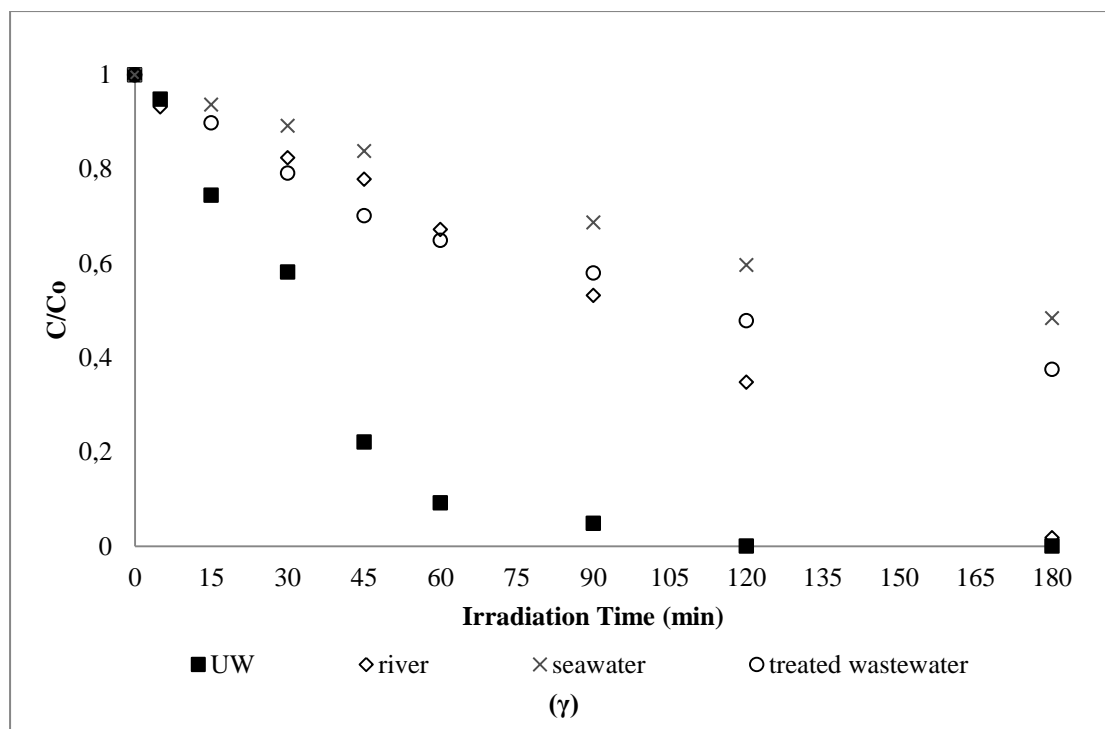
Σε μια ξεχωριστή σειρά πειραμάτων, διερευνήθηκε η επίδραση της ιοντικής ισχύος στην φωτοδιάσπαση των παραβενίων χρησιμοποιώντας χλωριούχο νάτριο ως μοντέλο άλατος. Η αλατότητα των υδατικών διαλυμάτων είχε μικρή επίδραση στις τιμές φωτοαποδόμησης των παραβενίων. Για όλες τις ενώσεις, τα ποσοστά αποδόμησης σε pH 5 μειώθηκαν με την προσθήκη NaCl 3,5% w/w. Εφαρμογή της γραμμικής παλινδρόμησης του λογαρίθμου της συγκέντρωσης ενάντια στο χρόνο έκθεσης, έδωσε μια προφανή ψευδο-πρώτης τάξης κινητική με συντελεστές συσχέτισης 0,9931, 0,9960, 0,9845 και 0,9879 για MP, EP, PP και BP, αντίστοιχα. Τα αποτελέσματα (**Σχήμα 3.6**) έδειξαν ότι οι χρόνοι ημιζωής σε διαλύματα που περιέχουν NaCl (51, 40, 40 και 39 min για MP, EP, PP και BP, αντίστοιχα) είχαν την τάση να αυξάνονται, σε σύγκριση με εκείνους χωρίς NaCl. Αυτό μπορεί να εξηγηθεί από την παρουσία ανιόντων χλωριδίου που μπορεί να αφαιρέσουν ή να απενεργοποιήσουν τα προϊόντα της αντίδρασης από το υδατικό διάλυμα [30] ή να εμποδίσουν την αντίδραση μεταφοράς ηλεκτρονίων στα παραβένια [31].

3.3.2.7. Επίδραση της μήτρας

Προκειμένου να μελετηθεί η επίδραση της περιβαλλοντικής μήτρας για την υποβάθμιση των παραβενίων, συλλέχτηκαν δείγματα θαλασσινού νερού, νερό ποταμού και επεξεργασμένων λυμάτων και στη συνέχεια επιμολύνθηκαν με 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$ από κάθε παραβένιο. Στην συνέχεια εκτέθηκαν σε υπεριώδη ακτινοβολία και παρακολουθήθηκε η συγκέντρωση κάθε παραβενίου ως συνάρτηση του χρόνου έκθεσης. Το pH ρυθμίστηκε στην τιμή 5 με τη χρήση ρυθμιστικού αμμωνίου. Ψευδο-πρώτης τάξεως κινητική συμπεριφορά αποδείχθηκε στο νερό του ποταμού με συντελεστές συσχέτισης 0,9879, 0,9939, 0,9938 και 0,9960 και χρόνο ημιζωής

106,64, 105,02, 103,45 και 101,93 min για MP, EP, PP και BP , αντίστοιχα. Οι χρόνοι ημιζωής της MP, EP, PP και BP στο θαλασσινό νερό ήταν 198, 182, 165 και 151 min με συντελεστές συσχέτισης 0,9919, 0,9976, 0,9972 και 0,9958, αντίστοιχα. Στα πειράματα με δείγματα επεξεργασμένων λυμάτων οι αντίστοιχοι χρόνοι ημιζωής ήταν 112, 94, 90 και 107 min για τα MP, EP, PP και BP, αντίστοιχα, με συντελεστές συσχέτισης 0,9941, 0,9919, 0,9882 και 0,9925. Όπως φαίνεται στο **Σχήμα 3.7**, ο ρυθμός φωτοαποδόμησης όλων των ενώσεων που μελετήθηκαν είναι μειωμένος σε περιβαλλοντικά ύδατα και επεξεργασμένα λύματα σε σχέση με το υπερκάθαρο νερό. Συγκεκριμένα, παρατηρήθηκε ότι η φωτόλυση των παραβενίων υπό την επίδραση UV ακτινοβολίας ενισχύθηκε όταν υπερκάθαρο νερό χρησιμοποιήθηκε ως μήτρα. Παρόλα αυτά, η φωτοδιάσπαση των παραβενίων σε περιβαλλοντικά νερά έδειξε μια ελαφρά επιβράδυνση με τη βραδύτερη φωτόλυση να συμβαίνει στο θαλασσινό νερό. Αυτό υποδηλώνει ότι υπήρχε επίδραση της μήτρα στην φωτοαποικοδόμηση των παραβενίων, λόγω των διαλυμένων ειδών που δρουν ανασταλτικά στην αντίδραση της φωτόλυσης [26,32]. Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, ο ρυθμός φωτόλυσης των παραβενίων σε περιβαλλοντικά και επεξεργασμένα ύδατα φαίνεται να επηρεάζεται επίσης από την παρουσία των HA και διάφορων ιόντων. Οι HA κατά καιρούς αλληλεπιδρούν με μικρορυπαντές εξαλείφοντας τις ή απορροφώντας το μεγαλύτερο μέρος της ενέργειας που εκπέμπεται, προκαλώντας την απόσβεσή της (quenching and scavenging effects), ως συνέπεια να υπάρχει μια καθυστέρηση στη φωτοαποδόμηση των ρύπων [33]. Ιόντα αλογονιδίου μπορούν να δράσουν ως δεσμευτές ρίζων υδροξυλίου [30] και να μπλοκάρουν την αντίδραση μεταφοράς ηλεκτρονίων των οργανικών ουσιών [31]. Η παρουσία των νιτρικών ιόντων στα νερά πολλές φορές προκαλεί φαινόμενα ελέγχου φωτός προκαλώντας αναστολή της αποδόμησης των οργανικών ενώσεων [24], γεγονός που παρατηρήθηκε στη συγκεκριμένη μελέτη.





Σχήμα 4.7. Επίδραση της μήτρας στην αποδόμηση των παραβενίων α) MP, β) EP, γ) PP, δ) BP υπό την επίδραση UV ακτινοβολίας.

3.4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η φωτοαποδόμηση των παραβενίων σε υδατικό διάλυμα πραγματοποιήθηκε μέσω της άμεσης φωτόλυσης υπό την επίδραση της υπεριώδους ακτινοβολίας. Τα αποτελέσματα αποδεικνύουν ότι η απομάκρυνση των παραβενίων επιταχύνθηκε σε pH 5. Η προσθήκη της 1-βουτανόλης δεν επηρεάζει την απόδοση της φωτοαποδόμησης των παραβενίων. Ωστόσο, τα χουμικά οξέα και τα νιτρικά ιόντα ενέργησαν ανασταλτικά στην υδατική φωτόλυση των παραβενίων. Οι βοηθητικές χημικές ουσίες, όπως χλωριούχο νάτριο επηρέασαν ελαφρώς την αποτελεσματικότητα της φωτοαποδόμησης. Όλα τα παραβένια που μελετήθηκαν ακολούθησαν παρόμοια κινητική ψευδο-πρώτης τάξεως. Πρόσθετες μελέτες σχετικά με τη φωτόλυση των παραβενίων έδειξαν ότι η φωτοδιάσπαση σε υπερκάθαρο νερό ήταν αργή, αλλά ταχύτερη από ότι σε περιβαλλοντικά νερά λόγω της χημικής τους σύνθεσης (στα περιβαλλοντικά νερά συνυπάρχουν ιόντα και διαλυμένη οργανική ύλη). Η φωτοαποδόμηση των παραβενίων υπό την επίδραση της υπεριώδους ακτινοβολίας μπορεί να αναδυθεί ως μια βιώσιμη μέθοδος για το μέλλον λόγω της οικονομικής αποδοτικότητάς της.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [1] C. Zwiener, S.D. Richardson, Analysis of disinfection by-products in drinking water by LC-MS and related MS techniques, *TrAC - Trends Anal Chem.* 24 (2005) 613–621.
- [2] M.C. Pietrogrande, G. Basaglia, GC-MS analytical methods for the determination of personal-care products in water matrices, *TrAC - Trends Anal Chem.* 26 (2007) 1086–1094.
- [3] D. Gryglik, M. Lach, J.S. Miller, The aqueous photosensitized degradation of butylparaben., *Photochem Photobiol Sci.* 8 (2009) 549–555.
- [4] J.A. Ocaña-González, M. Villar-Navarro, M. Ramos-Payán, R. Fernández-Torres, M.A. Bello-López, New developments in the extraction and determination of parabens in cosmetics and environmental samples. A review, *Anal Chim Acta.* 858 (2015) 1–15.

- [5] M. Terasaki, M. Makino, Determination of chlorinated by-products of parabens in swimming pool water, *Int J Environ Anal Chem.* 88 (2008) 911–922.
- [6] D. Dobrin, M. Magureanu, C. Bradu, N.B. Mandache, P. Ionita, V.I. Parvulescu, Degradation of methylparaben in water by corona plasma coupled with ozonation, *Environ Sci Pollut Res.* (2014) 12190–12197.
- [7] G. Alvarez-Rivera, M. Llompart, C. Garcia-Jares, M. Lores, Identification of halogenated photoproducts generated after ultraviolet-irradiation of parabens and benzoates in water containing chlorine by solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry, *J Chromatogr A.* 1349 (2014) 105–115.
- [8] D. BŁedzka, D. Gryglik, M. Olak, J.L. Gebicki, J.S. Miller, Degradation of n-butylparaben and 4-tert-octylphenol in H₂O₂/UV system, *Radiat Phys Chem.* 79 (2010) 409–416.
- [9] M. Terasaki, M. Makino, N. Tatarazako, Acute toxicity of parabens and their chlorinated by-products with *Daphnia magna* and *Vibrio fischeri* bioassays, *J Appl Toxicol.* 29 (2009) 242–247.
- [10] M.G. Soni, I.G. Carabin, G. a. Burdock, Safety assessment of esters of p-hydroxybenzoic acid (parabens), *Food Chem Toxicol.* 43 (2005) 985–1015.
- [11] A. Prichodko, K. Jonusaite, V. Vickackaite, Hollow fibre liquid phase microextraction of parabens, *Cent Eur J Chem.* 7 (2009) 285–290.
- [12] E.J. Routledge, J. Parker, J. Odum, J. Ashby, J.P. Sumpter, Some alkyl hydroxy benzoate preservatives (parabens) are estrogenic., *Toxicol Appl Pharmacol.* 153 (1998) 12–19.
- [13] T. Okubo, Y. Yokoyama, K. Kano, I. Kano, ER-dependent estrogenic activity of parabens assessed by proliferation of human breast cancer MCF-7 cells and expression of ER α and PR., *Food Chem Toxicol.* 39 (2001) 1225–1232.
- [14] S. Oishi, Effects of propyl paraben on the male reproductive system, *Food Chem Toxicol.* 40 (2002) 1807–1813.
- [15] P.D. Darbre, Environmental oestrogens, cosmetics and breast cancer, *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 20 (2006) 121–143.
- [16] P. Canosa, I. Rodríguez, E. Rubí, N. Negreira, R. Cela, Formation of halogenated by-products of parabens in chlorinated water, *Anal Chim Acta.* 575 (2006) 106–113.
- [17] I. González-Mariño, J.B. Quintana, I. Rodríguez, R. Cela, Evaluation of the occurrence and biodegradation of parabens and halogenated by-products in wastewater by accurate-mass liquid chromatography-quadrupole-time-of-flight-mass spectrometry (LC-QTOF-MS), *Water Res.* 45 (2011) 6770–6780.
- [18] D. Błedzka, D. Gryglik, J.S. Miller, Photodegradation of butylparaben in aqueous solutions by 254 nm irradiation, *J Photochem Photobiol A Chem.* 203 (2009) 131–136.
- [19] K.S. Tay, N.A. Rahman, M.R.B. Abas, Ozonation of parabens in aqueous solution: Kinetics and mechanism of degradation, *Chemosphere.* 81 (2010) 1446–1453.
- [20] Y. Lin, C. Ferronato, N. Deng, F. Wu, J.M. Chovelon, Photocatalytic degradation of methylparaben by TiO₂: Multivariable experimental design and mechanism, *Appl Catal B Environ.* 88 (2009) 32–41.
- [21] T. Velegraki, E. Hapeshi, D. Fatta-Kassinos, I. Poulios, Solar-induced heterogeneous photocatalytic degradation of methyl-paraben, *Appl Catal B Environ.* (2014) 1–10.
- [22] T. Angelov, A. Vlasenko, W. Tashkov, HPLC Determination of pK_a of Parabens and Investigation on their Lipophilicity Parameters, *J Liq Chromatogr Relat Technol.* 31 (2007) 188–197.

- [23] D.W. Fink, H.C. Fink, J.W. Tolan, J. Blodinger, Difference spectrophotometric determination of p-hydroxybenzoic acid in presence of its esters., *J Pharm Sci.* 67 (1978) 837–839.
- [24] Y. Chen, K. Zhang, Y. Zuo, Direct and indirect photodegradation of estriol in the presence of humic acid, nitrate and iron complexes in water solutions, *Sci Total Environ.* 463-464 (2013) 802–809.
- [25] P.N. Roberto Andreozzi, Marotta Raffaele, Pharmaceuticals in STP effluents and their solar\photodegradation in aquatic environment, *Chemosphere.* 50 (2003) 1319–1330.
- [26] A.D. Dimou, V. a. Sakkas, T. a. Albanis, Trifluralin photolysis in natural waters and under the presence of isolated organic matter and nitrate ions: Kinetics and photoproduct analysis, *J Photochem Photobiol A Chem.* 163 (2004) 473–480.
- [27] C. Tixier, H.P. Singer, S. Canonica, S.R. Müller, Phototransformation of ticlosan in surface waters: a relevant elimination process for this widely used biocide--laboratory studies, field measurements, and modeling., *Environ Sci Technol.* 36 (2002) 3482–3489.
- [28] P.L. Brezonik, J. Fulkerson-Brekken, Nitrate-induced photolysis in natural waters: Controls on concentrations of hydroxyl radical photo-intermediates by natural scavenging agents, *Environ Sci Technol.* 32 (1998) 3004–3010.
- [29] J. Mack, J.R. Bolton, Photochemistry of nitrite and nitrate in aqueous solution: a review, *J Photochem Photobiol A Chem.* 128 (1999) 1–13.
- [30] X. Feng, Y. Chen, Y. Fang, X. Wang, Z. Wang, T. Tao, et al., Photodegradation of parabens by Fe(III)-citrate complexes at circumneutral pH: Matrix effect and reaction mechanism, *Sci Total Environ.* 472 (2014) 130–136.
- [31] K.-H. Wang, Y.-H. Hsieh, M.-Y. Chou, C.-Y. Chang, Photocatalytic degradation of 2-chloro and 2-nitrophenol by titanium dioxide suspensions in aqueous solution, *Catal B Environ.* 21 (1999) 1–8.
- [32] A.Y.-C. Lin, M. Reinhard, Photodegradation of common environmental pharmaceuticals and estrogens in river water., *Environ Toxicol Chem.* 24 (2005) 1303–1309.
- [33] F.H. Frimmel, Photochemical aspects related to humic substances, *Environ Int.* 20 (1994) 373–385.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΤΗΣ ΜΙΚΡΟΕΚΧΥΛΙΣΗΣ ΣΤΕΡΕΑΣ ΦΑΣΗΣ ΓΙΑ ΤΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΦΩΤΟΛΥΣΗΣ ΤΩΝ ΕΝΤΟΜΟΑΠΩΘΗΤΙΚΩΝ ΣΕ ΥΔΑΤΙΝΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ

4. ABSTRACT

The photodegradation of two insect repellents (di-n propylisocinchomeronate, R-326 and butyl-3,4-dihydro-2,2-dimethyl-4-oxo-2H-pyran-6-carboxylate, (butopyronoxyl) was investigated under ultraviolet irradiation in river water, treated sewage as well as in ultrapure water. Solid phase microextraction (SPME) coupled to gas chromatography mass spectrometry (GC-MS), was used to monitor a trace amounts of insect repellents. Several parameteres, which influence the kinetics of degradation were assessed as the effect of the initial concentration of insect repellents and certain environmental factors, including sodium chloride and potassium nitrate. The effect of 1-butanol as radical scavenger in the degradation process of the insect repellents was also studied. It was found that photodegradation proceeds via a pseudo first order reaction and that the degradation amount in the presence of nitrate ions and 1-butanol is not significantly affected. Degradation rate of butopyronoxyl was enhanced by the presence of sodium chloride salt in solution of photolysis, unlike the degradation rate of R326 decreased. Investigations on river and treated wastewater samples spiked with R-326, revealed that photolysis is enhanced in the order river > treatment wastewater.

Obtained results in the photodegradation experiments of R-326 under ultraviolet irradiation were also compared with those obtained in the photodegradation experiments combined with simulated solar irradiation.

4. ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η φωτοαποδόμηση δύο εντομοαπωθητικών, του R-326 και butopyronoxyl διερευνήθηκε υπό την επίδραση της υπεριώδους ακτινοβολίας σε νερό ποταμού, επεξεργασμένο λύμα, καθώς και σε υπερκάθαρο νερό. Η μικροεκχύλιση στερεάς φάσης (SPME) συζευγμένη με αέρια χρωματογραφία φασματομετρία μάζας (GC-MS) χρησιμοποιήθηκε για την παρακολούθηση ιχνών των εντομοαπωθητικών. Αρκετές παράμετροι, που επηρεάζουν την κινητική αποδόμησης αξιολογήθηκαν, όπως η επίδραση της αρχικής συγκέντρωσης των εντομοαπωθητικών και ορισμένων περιβαλλοντικών παραγόντων, συμπεριλαμβανομένων του χλωριούχου νατρίου και του νιτρικού καλίου. Μελετήθηκε επίσης η επίδραση της 1-βουτανόλης ως δεσμευτή ριζών στη διαδικασία αποδόμησης των εντομοαπωθητικών. Διαπιστώθηκε ότι η φωτοαποικοδόμηση προχωρά μέσω μιας αντίδρασης ψευδο-πρώτης τάξης και ότι τα ποσοστά αποδόμησης παρουσία νιτρικών ιόντων και της 1-βουτανόλης δεν επηρεάστηκαν σημαντικά. Ο ρυθμός αποδόμησης του butopyronoxyl ενισχύθηκε με την παρουσία του χλωριούχου νατρίου στο διάλυμα φωτόλυσης, αντίθετα ο ρυθμός αποδόμησης του R326 μειώθηκε. Έρευνες σε δείγματα ποταμού και επεξεργασμένα αστικά λύματα εμβολιασμένα με R-326, αποκάλυψαν ότι η φωτόλυση ενισχύεται ακολουθώντας τη σειρά: ποτάμι>επεξεργασμένα λύματα.

Τα αποτελέσματα που παρατηρήθηκαν στα πειράματα φωτοαποδόμησης του R-326 υπό την επίδραση υπεριώδους ακτινοβολίας συγκρίθηκαν επίσης με εκείνα που λήφθηκαν σε πειράματα φωτοαποδόμησης με προσομοιωμένη ηλιακή ακτινοβολία.

4.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ένα εντομοαπωθητικό παράγει ένα στρώμα ατμού όταν εφαρμόζεται στο δέρμα, τα ρούχα, ή άλλες επιφάνειες [1]. Αυτό έχει μια δυσάρεστη μυρωδιά ή γεύση [1] και

μπορεί να προκαλέσει ένα έντομο (και τα αρθρόποδα γενικότερα) να απομακρυνθεί από την πηγή του [2]. Τα προϊόντα που επισημαίνονται ως απωθητικά δεν έχουν σχεδιαστεί για την εξάλειψη των παρασίτων [3,4] αλλά καθιστούν τους ανθρώπους και τα ζώα λιγότερο ελκυστικά για το έντομο και επομένως τους προστατεύει από τα τσιμπήματα των εντόμων (κουνούπια, τσιμπούρια κ.ά.). Σε όλο τον κόσμο, τα δαγκώματα από έντομα μπορεί να προκαλέσουν διάφορα προβλήματα υγείας, από επιδερμικές αντιδράσεις [5] μέχρι ένα φάσμα από επικίνδυνες ασθένειες, συμπεριλαμβανομένης της ελονοσίας [5–7] της νόσου του Lyme [6,8], του δάγκειου πυρετού και του κίτρινου πυρετού [5], του πυρετού του Δυτικού Νείλου [5,6] και της εγκεφαλίτιδα [5]. Για την πρόληψη αυτών των θανατηφόρων ασθενειών, τα εντομοαπωθητικά είναι ευρέως διαθέσιμα σε μια ποικιλία μορφών, συμπεριλαμβανομένων των αεροζόλ, κρεμών, λοσιόν, έλαια μαυρίσματος, σκονών, μπαστούνια γράσου, και γαλακτώματα πλυντηρίου [1].

Εκχυλίσματα φυτών (έλαια κιτρονέλλα, λεβάντα, μέντα, κανέλα κ.ά.). εξακολουθούν να χρησιμοποιούνται ως εντομοαπωθητικά [3,9]. Λόγω του ότι αυτά τα προϊόντα είναι φυσικής προέλευσης έχουν περιορισμένο χρόνο στη σταθερότητά τους [9] και έτσι προτιμούνται να χρησιμοποιούνται περισσότερο συνθετικές ενώσεις ως δραστικές ουσίες στα εμπορικά διαθέσιμα εντομοαπωθητικά. Ένα από τα πιο ευρέως χρησιμοποιούμενα δραστικά συστατικά των εμπορικών απωθητικών εντόμων είναι το N, N-διαιθυλ-πι-τολουαμίδιο (DEET) [10], λόγω του ότι τις τελευταίες δεκαετίες προσφέρει ένα εξαιρετικό προφίλ ασφάλειας σε ανθρώπους ενάντια σε ένα ευρύ φάσμα ερπόντων και ιπτάμενων παρασίτων [1]. Είναι γνωστό ότι, το DEET απορροφάται γρήγορα από τον άνθρωπο και τα ζώα μέσω του δέρματος [11,12]. Η έκθεση σε DEET έχει συσχετιστεί με ορισμένες αρνητικές επιπτώσεις στην υγεία (π.χ. νευροτοξικότητα, καρδιοτοξικότητα, αναφυλαξία) ακόμη και θάνατο [11,13–

15]. Οι ερευνητές ανέφεραν τη σχέση μεταξύ της χρήσης του DEET με μερικά περιστατικά εγκεφαλοπάθεια σε παιδιά [11,14], καθώς και σε έναν υγιή αρσενικό ενήλικα [15]. Λιγότερο σοβαρές επιπτώσεις στην υγεία, όπως ερεθισμός του δέρματος, αλλεργικές αντιδράσεις και δερματίτιδα εξ επαφής [11,12] έχουν αναφερθεί μετά από ακατάλληλη χρήση ή υπερβολική έκθεση σε DEET και άλλα εντομοαπωθητικά.

Τα εντομοαπωθητικά έχουν ανιχνευθεί σε δείγματα εισροής και εκροής εγκαταστάσεων επεξεργασίας αστικών λυμάτων [16–21] σε υψηλά επίπεδα συγκέντρωσης, ειδικά κατά τη διάρκεια του καλοκαιριού, όπου η κατανάλωση των εν λόγω προϊόντων είναι πιο συχνές. Η απελευθέρωση των λυμάτων από εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων σε επιφανειακά ύδατα αυξάνει την παρουσία των εντομοαπωθητικών στα επιφανειακά ύδατα, όπως το νερό του ποταμού και των θαλασσών [10,16,18,22,23]. Έχει αναφερθεί επίσης η εμφάνιση των εντομοαπωθητικών σε τελικά νερά επεξεργασίας πόσιμου νερού [24]. Εντομοαπωθητικά βρέθηκαν ακόμα και σε υγρά απόβλητα από ρυάκια με έντονη παραγωγική αστικοποίηση και κτηνοτροφία σε επίπεδα συγκεντρώσεων της τάξης των $\mu\text{g L}^{-1}$ [25]. Αυτά τα ευρήματα δείχνουν ότι η αρχικοί οδοί μεταφοράς των εντομοαπωθητικών στο υδάτινο περιβάλλον είναι από οικιακά απόβλητα [16], απορρίψεις της βιομηχανίας, της κτηνοτροφία και της γεωργίας [4,26].

Η παρουσία των εντομοαπωθητικών στο περιβάλλον και ειδικά στο πόσιμο νερό έχει ως αποτέλεσμα την εμφάνιση ανησυχίας σχετικά με την ασφάλεια του πόσιμου νερού, την επαναχρησιμοποίηση των λυμάτων, και των υδάτινων οικοσυστημάτων. Ως εκ τούτου, τα εντομοαπωθητικά πρέπει είτε να απομακρυνθούν από τις παροχές ύδατος ή να αποδομηθούν προκειμένου να μη μολύνουν το υδάτινο περιβάλλον.

Σήμερα, υπάρχουν αρκετές δημοσιεύσεις, που αναφέρουν την παρουσία προϊόντων αποδόμησης των εντομοαπωθητικών και κυρίως του DEET σε διάφορες υδάτινες μήτρες [27,28], όπως νερό ποταμού [29,30]. Ωστόσο, οι αναφορές σχετικά με τη εξάλειψη των εντομοαπωθητικών από τις υδάτινες μήτρες, όπως φυσικά νερά και υγρά απόβλητα είναι περιορισμένη και ασχολούνται κυρίως με μεθόδους απομάκρυνσης του DEET, μερικές από τις οποίες είναι η αποδόμηση με υπεριώδη ακτινοβολία (UV) και συνδυασμός αυτής με υπεροξείδιο του υδρογόνου (UV/H₂O₂), προηγμένες διεργασίες οξείδωσης όπως οζονισμός και φωτοκατάλυση με διοξείδιο του τιτανίου (TiO₂) [29–36].

Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι να διερευνήσει για πρώτη φορά τη φωτοαποδόμηση δυο εντομοαπωθητικών στο νερό υπό την επίδραση της υπεριώδους ακτινοβολίας. Πιο συγκεκριμένα μελετήθηκε κατά πόσον η παρουσία διάφορων συστατικών της μήτρας (νιτρικά ιόντα, χουμικά οξέα, αλάτι) και ενός δεσμευτή ελεύθερων ριζών μπορεί να αλλάξει την αποτελεσματικότητα της αποδόμησης. Ακόμα διερευνήθηκε η επίδραση της πραγματικής μήτρας του δείγματος (νερό ποταμού και εκροή από μονάδα επεξεργασίας αστικών λυμάτων). Για το σκοπό της παρούσας έρευνας η SPME χρησιμοποιήθηκε ως ένα βιώσιμο εργαλείο προετοιμασίας του δείγματος κατά την παρακολούθηση της αποδόμησης των εντομοαπωθητικών.

4.2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

4.2.1 Χημικά και προετοιμασία δειγμάτων

Το R-326 (> 99%) αγοράστηκε από την εταιρεία Fluka (Steinheim, Germany), ενώ το butopyronoxyl (95%) αγοράστηκε από την TCI (Belgium). Το χλωριούχο νάτριο προμηθεύτηκε από την εταιρεία Sigma-Aldrich (Steinheim, Germany). Το χουμικό

οξύ παρασχέθηκε από την Fluka. Η 1-βουτανόλη 99% αγοράστηκε από την Lab-Scan analytical sciences, Dublin. Το υπερκάθαρο νερό, που χρησιμοποιήθηκε για την παρασκευή των διαλυμάτων, παρασκευάστηκε σε ένα σύστημα καθαρισμού νερού EASYpure RF Barnstead/Thermolyne (Dubuque, IA, USA).

Μεμονωμένα πρότυπα διαλύματα (1000 mg L^{-1}) παρασκευάστηκαν σε μεθανόλη υψηλής καθαρότητας. Διαλύματα εργασίας των εντομοαπωθητικών παρασκευάστηκαν με κατάλληλη αραιώση του διαλύματος με υπερκάθαρο νερό.

4.2.2. Η συλλογή των δειγμάτων

Πειράματα φωτοαποδόμησης διεξήχθησαν σε δείγματα φυσικών νερών καθώς και σε επεξεργασμένα λύματα. Τα φυσικά δείγματα νερού συλλέχθηκαν από τοποθεσίες του νομού Χανίων (Κρήτη, Ελλάδα). Δείγμα ποταμού συλλέχθηκε από τον Άγιο Γεώργιο ποταμό (Χανιά). Τα δείγματα επεξεργασμένων λυμάτων συλλέχθηκαν από την έξοδο της δευτεροβάθμιας επεξεργασίας του δημοτικού σταθμού επεξεργασίας λυμάτων Χανίων (που εξυπηρετούν περίπου 70.000 κατοίκους). Όλα τα δείγματα νερού συλλέχθηκαν μια ημέρα πριν τη διεξαγωγή των πειραμάτων, φιλτραρίστηκαν με φίλτρο $0,45 \mu\text{m}$ και φυλάχθηκαν σε γυάλινη φιάλη στους 4°C σφραγισμένη και καλυμμένη εξωτερικά με αλουμινόχαρτο. Τα χαρακτηριστικά των δειγμάτων νερού παρουσιάζονται στον **Πίνακα 4.1**. Πριν από την φωτοαποδόμηση, τα δείγματα εμπλουτίστηκαν με τον αναλύτη, προκειμένου να επιτευχθεί μία αρχική συγκέντρωση $40 \mu\text{g mL}^{-1}$.

Πίνακας 4.1. Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των δειγμάτων νερού

Ιδιότητες	Νερό ποταμού	Έξοδος μονάδας επεξεργασίας αστικών αποβλήτων
pH	7,89	7,25
Αλατότητα (‰ w/v)	0,11	0,42
Αγωγιμότητα (mS cm ⁻¹)	228	851
Ειδική αντίσταση (Ω cm)	4390	1172
TDS (mg L ⁻¹)	108,5	418
TOC (mg L ⁻¹)	0,46	7,76
Cl ⁻ (mg L ⁻¹)	9,29	
N-NO ₂ ⁻ (mg L ⁻¹)	<0,002	0,200
N-NO ₃ ⁻ (mg L ⁻¹)	0,69	10,44
P-PO ₄ ³⁻ (mg L ⁻¹)	<0,02	<0,24
SO ₄ ²⁻ (mg L ⁻¹)	4,76	96,72
N-NH ₃ (mg L ⁻¹)	0,03	0,38
IC (mg L ⁻¹)	21,86	52,86
TC (mg L ⁻¹)	22,31	60,66
TN (mg L ⁻¹)	<0,02	13,51

4.2.3. Διαδικασία φωτοαποδόμησης

Για την εκτέλεση των πειραμάτων, 8 mL της μήτρας εμπλουτίστηκαν με τους αναλύτες και άλλες χημικές ουσίες όπου απαιτήθηκε. Το παραπάνω διάλυμα τοποθετήθηκε σε ένα εργαστηριακό φιαλίδιο χαλαζία των 10 mL και υποβλήθηκε σε υπεριώδη ακτινοβολία τύπου C για επιλεγμένη χρονική περίοδο κάθε φορά. Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν σε ένα εργαστηριακό φωτοαντιδραστήρα (28 cm x 28 cm x 28 cm), εξοπλισμένο με δύο λαμπτήρες υδραργύρου 8 W χαμηλής πίεσης (Philips TUV G8 T5, 254 nm). Μετά τον απαιτούμενο χρόνο ακτινοβολίας, 5 mL του ακτινοβολημένου δείγματος τοποθετήθηκαν σε κλειστό σκουρόχρωμο γυάλινο φιαλίδιο των 7 mL (Supelco, Bellefonte, USA) και υποβλήθηκαν σε διαδικασία SPME, όπως περιγράφεται στη συνέχεια. Όλα τα πειράματα διεξήχθησαν τουλάχιστον εις διπλούν.

4.2.4. Σκοτεινές και θερμικές δοκιμές

Για κάθε σειρά πειραμάτων διεξήχθησαν σκοτεινές και θερμικές δοκιμές στο μέγιστο χρόνο έκθεσης της υπεριώδους ακτινοβολίας, τοποθετώντας το δείγμα στο φωτοαντιδραστήρα. Κατά τη διάρκεια των σκοτεινών δοκιμών οι λάμπες παρέμειναν κλειστές, ενώ κατά τις θερμικές δοκιμές το φιαλίδιο, που περιείχε το δείγμα καλύφθηκε με αλουμινόχαρτο.

4.2.5. Διαδικασία εκχύλισης

Η τεχνική SPME χρησιμοποιήθηκε για την παρακολούθηση των ακτινοβολημένων δειγμάτων. Για τη διαδικασία SPME χρησιμοποιήθηκε η εμπορικά διαθέσιμη συσκευή SPME εφοδιασμένη με ίνα από 65 μm πολυδιμεθυλοσιλοξανίου-διβινυλβενζολίου (PDMS-DVB), τα οποία προμηθεύτηκαν από την εταιρεία Supelco

(Bellefonte, PA, USA). Πριν από την πρώτη χρήση, η ίνα ενεργοποιήθηκε σύμφωνα με τις συστάσεις του παραγωγού. Κάθε ημέρα και πριν από την εκχύλιση των δειγμάτων, μια τυφλή μέτρηση διεξήχθη για να εξασφαλιστεί ότι η ίνα ήταν ελεύθερη από προσμίξεις. Στις βέλτιστες συνθήκες εκχύλισης, το σύστημα συσκευής - ίνας SPME σταθεροποιείται σε μία σταθερή θέση πάνω από ένα κλειστό σκουρόχρωμο γυάλινο φιαλίδιο των 7 mL, που περιέχει 5 mL του ακτινοβολημένου διαλύματος και 0.125gr NaCl και αναδεύεται σε 1000 rpm. Η ίνα SPME βυθίζεται εντός του δείγματος (μικροεκχύλιση στερεής φάσης με άμεση εμβάπτιση, DI-SPME) για 60 min σε θερμοκρασία δωματίου. Μετά την εκχύλιση, η ίνα ανασύρεται και μεταφέρεται στον εισαγωγέα (260°C) του GC για περαιτέρω χρωματογραφική ανάλυση. Ο χρόνος εκρόφησης ορίστηκε στα 5 min.

4.2.7. Αναλυτική διαδικασία

Οι συγκεντρώσεις των αναλυτών παρακολουθήθηκαν με τη χρήση ενός συστήματος αέριου χρωματογράφου Shimadzu GC-17A, Version 3 (Shimadzu, Kyoto, Japan), εφοδιασμένο με τριχοειδή στήλη τύπου Equity TM-S (Supelco, USA) με διαστάσεις 30 m μήκος, 0,25 mm εσωτερική διάμετρο και 0,25 μm πάχος, ο οποίος συζεύχθηκε με ένα τετραπολικό φασματόμετρο μάζας τύπου QP-5050A (Shimadzu, Kyoto, Japan) για ανίχνευση.

Τα δείγματα εγχύθηκαν στο GC, που λειτουργούσε σε κατάσταση μη διαμερισμού δείγματος (splitless) με θερμοκρασία εγχυτήρα στους 260 °C. Ήλιο (>99,999% καθαρό) χρησιμοποιήθηκε ως φέρον αέριο με ταχύτητα ροής 1 mL min⁻¹. Ο φούρνος της στήλης ρυθμίστηκε για τα πρώτα 2 λεπτά στους 70 °C και προγραμματίστηκε να φτάσει τους 180 °C με ρυθμό 20 °C min⁻¹. Ακολούθως αυξήθηκε σταδιακά στους 220 °C με ρυθμό 5 °C min⁻¹ και στη συνέχεια, στους 280 °C με ρυθμό 10 °C min⁻¹. Ο

ιονισμός του δείγματος γίνεται με σύγκρουση ηλεκτρονίων (70 eV). Η θερμοκρασία διεπιφάνειας ορίστηκε στους 300 °C και η τάση του ανιχνευτή στα 1,40 kV. Η ανάλυση ξεκινούσε από τα 6 min, ώστε να μην παρεμβάλλονται οι διαλύτες. Τα αποτελέσματα καταγράφηκαν σε πλήρη λειτουργία σάρωσης στην περιοχή ιοντικών θραυσμάτων (m/z) 50-350. Τα χρωματογραφικά δεδομένα υπέστησαν επεξεργασία χρησιμοποιώντας το λογισμικό Class 5000.

4.3.ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

4.3.1 Προκαταρκτικά πειράματα

Σε κάθε σειρά πειραμάτων οι σκοτεινές και οι θερμικές δοκιμές συγκρίθηκαν με το δείγμα ελέγχου, για να επικυρωθεί ότι η μείωση στην αναλυτική απόκριση του οργάνου μετά την επίδραση της υπεριώδους ακτινοβολίας ήταν μόνο λόγω της δράσης των φωτονίων και όχι λόγω εξάτμισης ή θερμικής αποδόμησης των αναλυτών [37]. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι οι απώλειες της μάζας κατά τη διάρκεια των παραπάνω δοκιμών ήταν αμελητέες, αποδεικνύοντας ότι η φωτοαποικοδόμηση είναι η κύρια αντίδραση, που λαμβάνει χώρα κατά τη διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας.

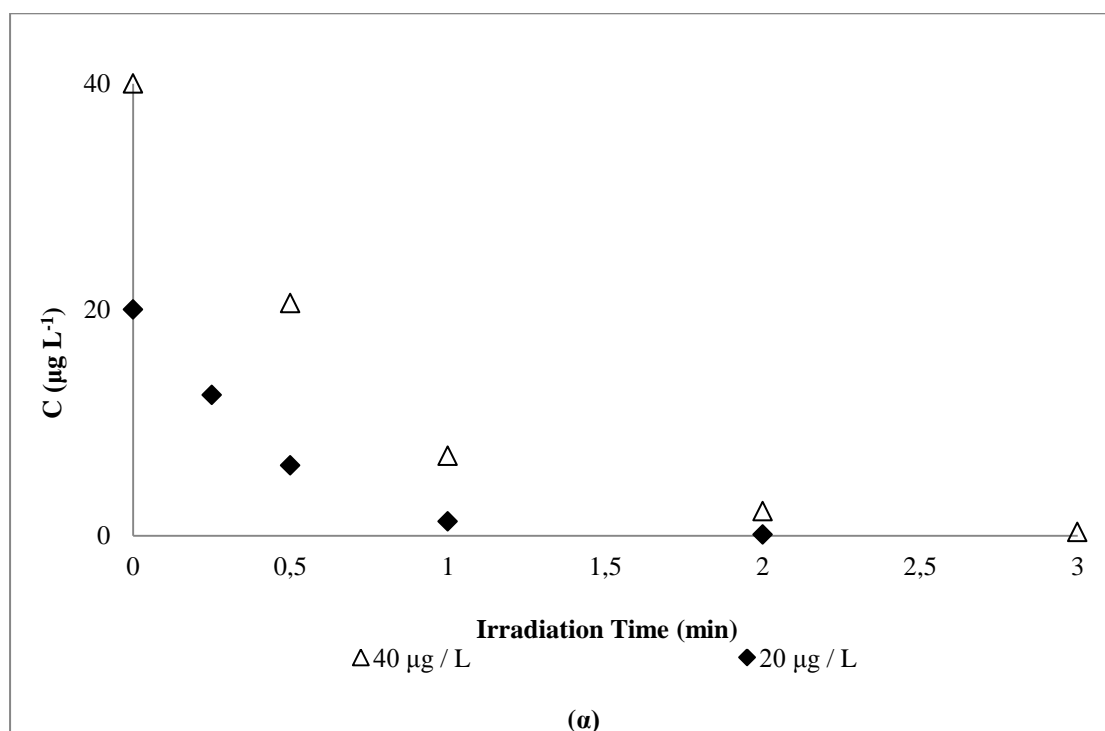
4.3.2. Επίδραση διαφόρων παραμέτρων στην φωτοαποδόμηση

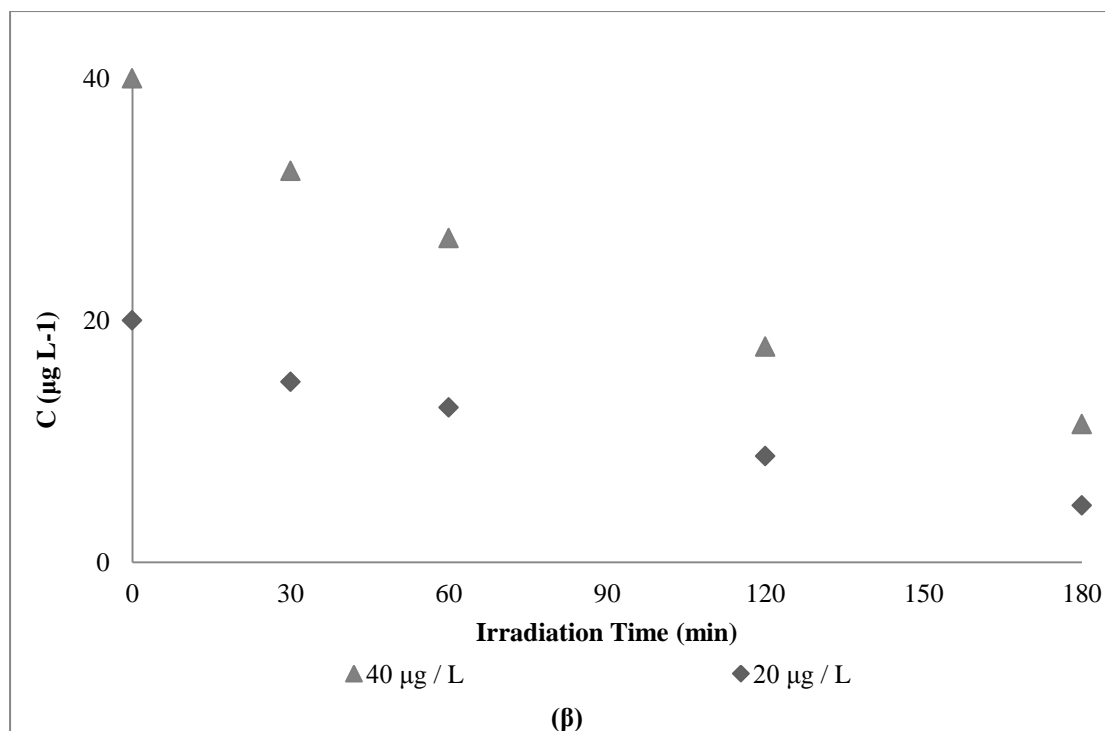
Αρκετοί παράγοντες που επηρεάζουν τη διαδικασία αποδόμησης αξιολογήθηκαν για την περίπτωση αποδόμησης των εντομοαπωθητικών και αναφέρονται παρακάτω.

4.3.2.2. Επίδραση της συγκέντρωσης

Είναι αναγκαίο να διερευνηθεί η επίδραση της συγκέντρωσης ενός ρύπου, καθώς έχει σημασία σε κάθε διαδικασία επεξεργασίας νερού [38]. Έτσι η επίδραση της αρχικής

συγκέντρωσης των εντομοαπωθητικών μελετήθηκε χρησιμοποιώντας δυο διαφορετικές τιμές συγκεντρώσεων, 40 και 20 $\mu\text{g L}^{-1}$. Το **Σχήμα 4.1** παρουσιάζει την επίδραση της αρχικής συγκέντρωσης των εντομοαπωθητικών ύστερα από ακτινοβολία του δείγματος με UVC ακτινοβολία. Τα αποτελέσματα έδειξαν μείωση του ρυθμού αποδόμησης των εντομοαπωθητικών αυξάνοντας την αρχική συγκέντρωση του υποστρώματος. Μάλιστα σχεδόν πλήρη απομάκρυνση του R-326 επιτυγχάνεται μετά από 2 (99,05%) και 3 (99,21%) min της αντίδρασης σε συγκεντρώσεις των 20 και 40 $\mu\text{g L}^{-1}$, αντίστοιχα. Επίσης όταν η αρχική συγκέντρωση του butoxyronoxyl αυξήθηκε από 20 σε 40 $\mu\text{g mL}^{-1}$, τα ποσοστά απομάκρυνσης μετά από 180 min ακτινοβολίας μειώθηκαν από 76,44% σε 71,42%.





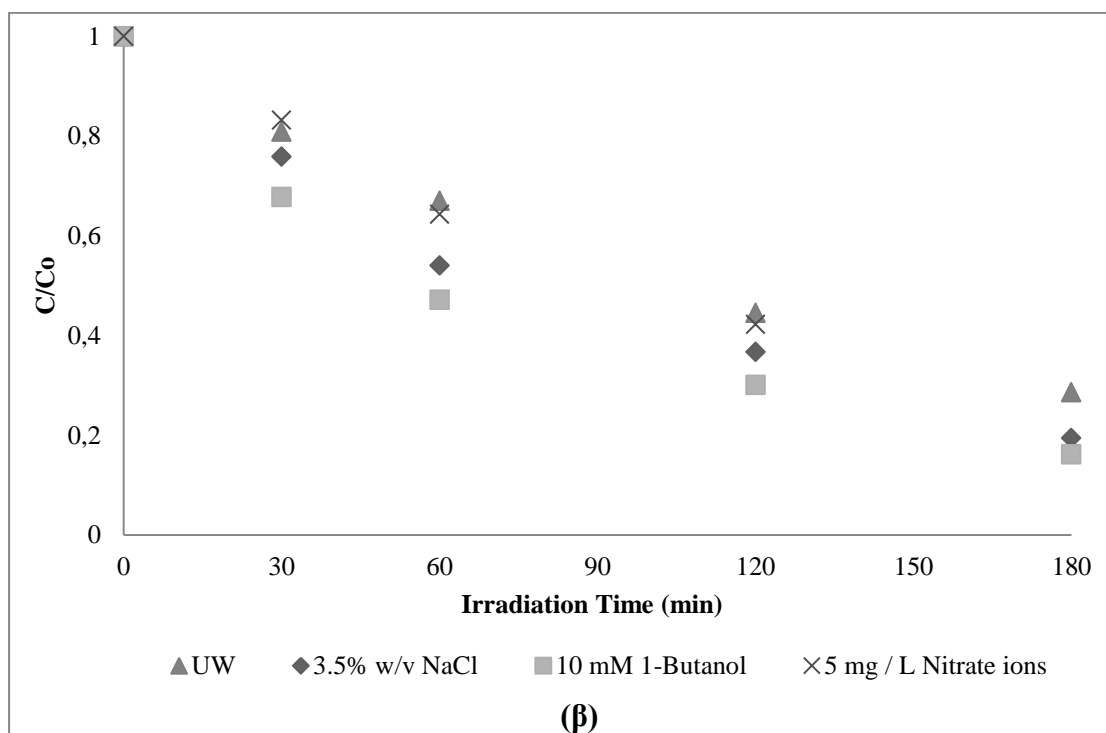
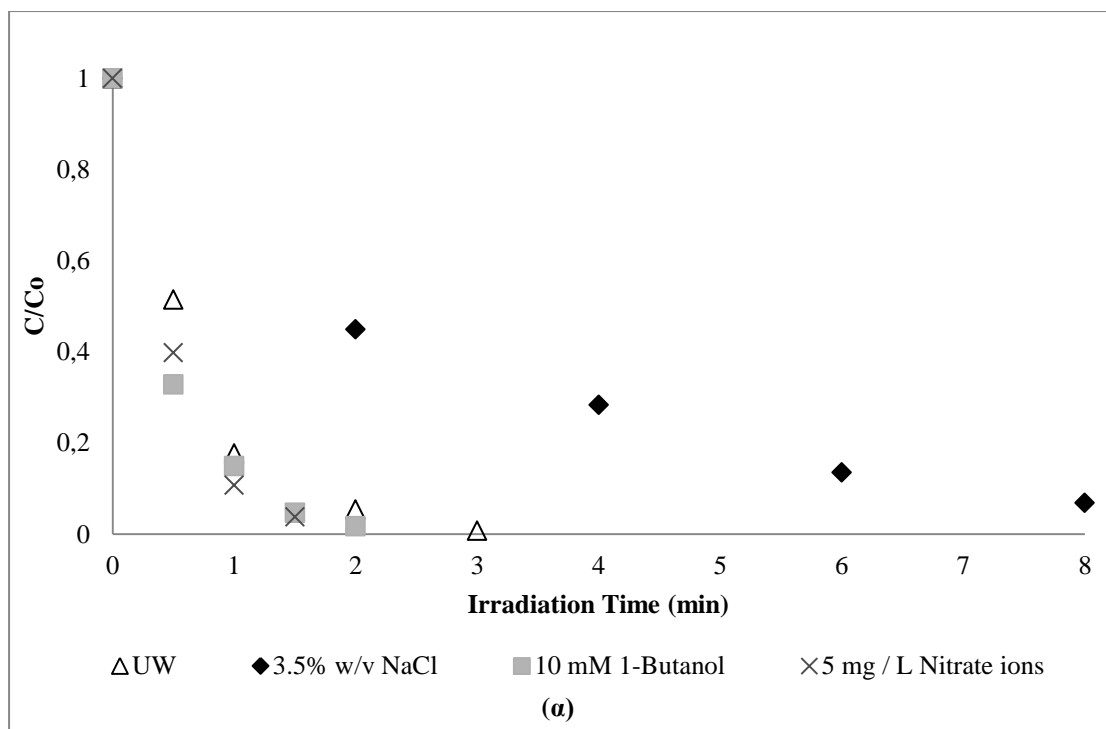
Σχήμα 4.1. Επίδραση της αρχικής συγκέντρωσης των εντομοαπωθητικών α) R-326, β) butoxyronoxyl ύστερα από επίδραση της υπεριώδους ακτινοβολίας.

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η διαδικασία αποδόμησης των εντομοαπωθητικών ακολουθεί κινητική ψευδο- τάξεως. Οι κινητικές σταθερές, που υπολογίστηκαν από την **εξίσωση 8** του πρώτου κεφαλαίου για κάθε εντομοαπωθητικό συγκέντρωσης 40 $\mu\text{g L}^{-1}$ ήταν: 1,6301 και 0,0069 με συντελεστές συσχέτισης (Squared regression coefficients, r^2) 0,9976, και 0,9994 για R-326 και butoxyronoxyl, αντίστοιχα. Ενώ οι αντίστοιχοι χρόνοι ημιζωής που υπολογίστηκαν από την **εξίσωση 10** του πρώτου κεφαλαίου ήταν: 0,43 και 100, αντίστοιχα. Υπήρξε μια αύξηση των σταθερών ρυθμού φωτοαποδόμησης με τη μείωση των συγκεντρώσεων των εντομοαπωθητικών. Οι χρόνοι ημιζωής μειώθηκαν με τη μείωση των αρχικών συγκεντρώσεων των αναλυτών. Συγκεκριμένα οι κινητικές σταθερές, για κάθε αναλύτη συγκέντρωσης 20 $\mu\text{g L}^{-1}$ ήταν: 2,723401 και 0,0079 με συντελεστές συσχέτισης 0,9984, και 0,9967 και χρόνους ημιζωής 0,25 και 88 για R-326 και butoxyronoxyl, αντίστοιχα. Το γεγονός

αυτό οφείλεται στο σταθερό πακέτο ενέργειας, που χρησιμοποιήθηκε κατά τη διάρκεια των πειραμάτων στις διαφορετικές συγκεντρώσεις.

4.3.2.3 Επίδραση της 1-βουτανόλης

Τα υπό μελέτη εντομοαπωθητικά υποβλήθηκαν το καθένα ξεχωριστά σε μελέτη φωτόλυσης υπό την επίδραση της υπεριώδους ακτινοβολίας με αρχική συγκέντρωση $40 \mu\text{g L}^{-1}$ και με παρουσία 10 m M 1-βουτανόλη στο υδατικό διάλυμα. Ο ρόλος της 1-βουτανόλης είναι η περισυλλογή ριζών υδροξυλίου (scavenger of hydroxyl radicals) [39] και άμεση φωτόλυση αναμένεται να είναι η μοναδική σημαντική οδός για τη διαδικασία φωτοαποικοδόμησης όταν η 1-βουτανόλη είναι παρούσα στην αντίδραση [31]. Το **Σχήμα 4.2** απεικονίζει τη γραφική παράσταση της κανονικοποιημένης συγκέντρωσης ως προς το χρόνο ακτινοβολήσης κατά την αποδόμηση των εντομοαπωθητικών απουσία και παρουσία, της 1-βουτανόλης. Με την παρουσία της 1-βουτανόλης, το ποσοστό απομάκρυνσης του R-326 ήταν σχεδόν ίσο με εκείνο που βρέθηκαν στο υπερκάθαρο νερό. Αυτό επιβεβαιώνεται και από τη κινητική μελέτη της φωτοχημικής αντίδρασης των αναλυτών. Εφαρμογή της γραμμικής παλινδρόμησης του λογαρίθμου της συγκέντρωσης ενάντια στο χρόνο, έδωσε ψευδο-πρώτης τάξεως κινητική με συντελεστή συσχέτισης 0,9994. Ο χρόνος ημιζωής υπολογίστηκε από την **εξίσωση 10** του πρώτου κεφαλαίου και βρέθηκε ίσος με 0,35 min, τιμή κοντινή με αυτή που υπολογίστηκε σε υπερκάθαρο νερό. Μπορεί να επιβεβαιωθεί έτσι ότι, η προσθήκη της 1-βουτανόλης δεν είχε σημαντική επίδραση στην φωτοαποδόμηση του R-326, υποδεικνύοντας ότι οι ρίζες υδροξυλίου δεν παίζουν κανένα ρόλο στην αποδόμησης του. Όσον αφορά το butotopyronoxyl η παρουσία της 1-βουτανόλης στο αρχικό διάλυμα αύξησε σημαντικά το ρυθμό αποδόμησης του. Ο αντίστοιχος συντελεστής συσχέτισης ήταν 0,9975 και ο χρόνος ημιζωής υπολογίστηκε στα 70 min.



Σχήμα 4.2. Επίδραση διαφόρων παραμέτρων (1-βουτανόλη, νιτρικά ιόντα and HA, NaCl) στην αποδόμηση των εντομοαπωθητικών α) R-326, β) butorygonoxyl υπό την επίδραση υπεριώδους ακτινοβολίας.

4.3.2.4. Επίδραση των νιτρικών ιόντων

Προκειμένου να μελετηθεί η φωτοαποδόμηση των εντομοαπωθητικών σε νιτρικά διαλύματα, διεξήχθησαν δυο πειράματα ακτινοβολήσης με την προσθήκη 5 mg L^{-1} νιτρικού ιόντος σε υπερκάθαρο νερό εμπλουτισμένο με 40 μg L^{-1} από κάθε αναλύτη ξεχωριστά κάθε φορά. Οι απαιτούμενοι χρόνοι για την απόκριση του 50% της αρχικής συγκέντρωσης των αντιδρώντων βρέθηκαν στα 0,30 και 95 min και εφαρμογή της γραμμικής παλινδρόμησης του λογαρίθμου της συγκέντρωσης ενάντια στο χρόνο, έδωσε ψευδο-πρώτης τάξεως κινητική με συντελεστές συσχέτισης 0,9959 και 0,9978 για το R-326 και το butoxyronoxyl, αντίστοιχα. Όπως φαίνεται από το **Σχήμα 4.2** η παρουσία των νιτρικών ιόντων στο υδατικό διάλυμα δεν βρέθηκε να επηρεάζει σημαντικά τους φωτολυτικούς ρυθμούς των εντομοαπωθητικών, ωστόσο υπήρχε μια μικρή τάση να τους μειώσει. Αυτό ίσως οφείλεται στο γεγονός ότι το μήκος κύματος της UV ακτινοβολίας, που χρησιμοποιήθηκε δεν ήταν ικανό να προκαλέσει φωτόλυση των νιτρικών και νιτρωδών ιόντων προς σχηματισμό ριζών υδροξυλίου, τα οποία με τη σειρά τους θα επιτάχυναν την αποσύνθεση των αναλυτών [40–44]. Επίσης το φαινόμενο ελέγχου φωτός (light screening effect) ήταν αμελητέο, λόγω του πολύ χαμηλού συντελεστή μοριακής απόσβεσης των νιτρικών αλάτων στην UVC περιοχή [44].

4.3.2.5. Επίδραση του χλωριούχου νατρίου

Η αλατότητα των υδατικών διαλυμάτων έχει σημαντική επίδραση στους ρυθμούς φωτοαποδόμησης των αναλυτών. Έτσι, σε μια ξεχωριστή σειρά πειραμάτων, αξιολογήθηκε η επίδραση του αλατιού στην αποδόμηση των εντομοαπωθητικών. Για το σκοπό αυτό, υδατικό διάλυμα από κάθε εντομοαπωθητικό ξεχωριστά με αρχική συγκέντρωση 40 mg L^{-1} υποβλήθηκε σε υπεριώδη ακτινοβολία με την παρουσία 3,5

% w/w NaCl. Τα αποτελέσματα (**Σχήμα 4.2**) έδειξαν ότι για το R-326, τα ποσοστά αποδόμησης μειώθηκαν με την προσθήκη NaCl 3,5% w/w. Αυτό μπορεί να εξηγηθεί από την παρουσία ανιόντων χλωριδίου που μπορεί να αφαιρέσουν ή να απενεργοποιήσουν τα προϊόντα της αντίδρασης από το υδατικό διάλυμα [45] ή να εμποδίσουν την αντίδραση μεταφοράς ηλεκτρονίων στο R-326 [46]. Αντίθετα, για το butopyronoxyl οι ρυθμοί αποδόμησης αυξήθηκαν με αύξηση της ιονικής ισχύος στο αρχικό διάλυμα. Αυτό ίσως οφείλεται στο γεγονός ότι η προσθήκη άλατος στο διάλυμα μπορεί να μειώσει τη διαλυτότητα των μικρορύπων και ως εκ τούτου αυξάνει την υδροφοβικότητά τους. Αυτό το φαινόμενο ονομάζεται εξαλάτωση και λιγότερα μόρια νερού είναι διαθέσιμα για τη διάλυση των μορίων του αναλύτη, αφού προτιμούν να σχηματίζουν σφαίρες γύρω από τα ιόντα του αλατιού μέσα στο διάλυμα [39]. Εφαρμογή της γραμμικής παλινδρόμησης του λογαρίθμου της συγκέντρωσης ενάντια στο χρόνο έκθεσης, έδωσε μια προφανή ψευδο-πρώτης τάξης κινητική με συντελεστές συσχέτισης 0,9989 και 0,9977 και χρόνους ημιζωής 2,07 και 78 min για το R-326 και το butopyronoxyl, αντίστοιχα.

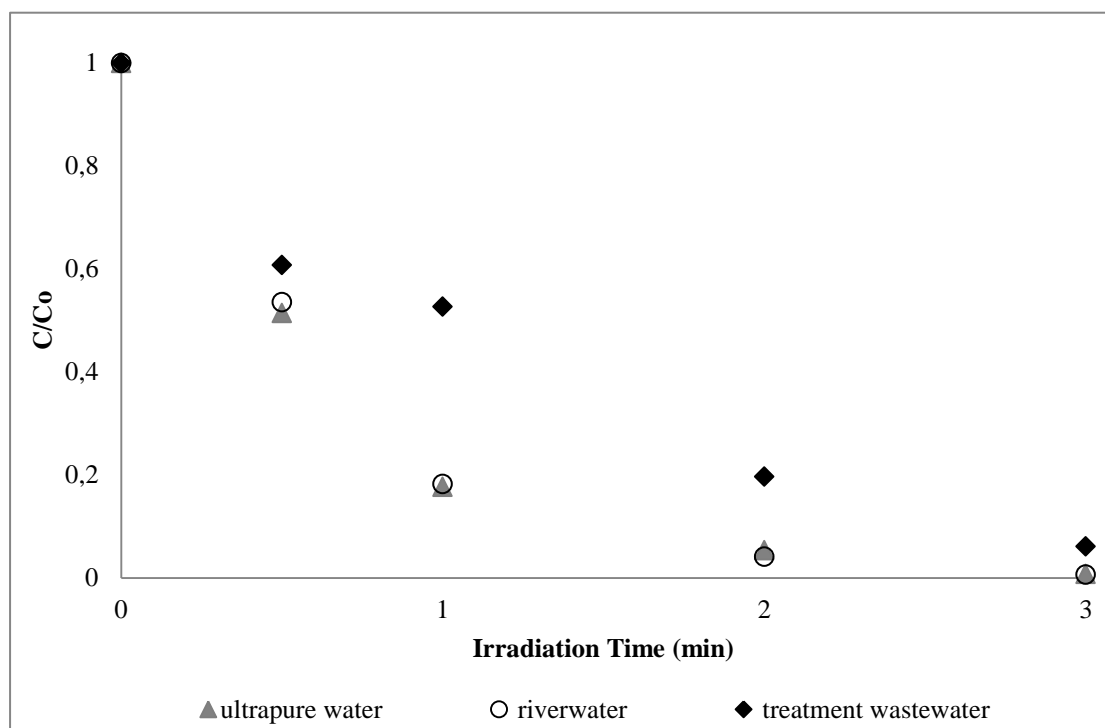
4.3.2.6. Επίδραση της μήτρας

Προκειμένου να μελετηθεί η επίδραση της περιβαλλοντικής μήτρας για την υποβάθμιση των εντομοαπωθητικών, συλλέχτηκαν δείγματα από νερό ποταμού και εκροή από δευτεροβάθμια επεξεργασία αστικών λυμάτων πριν τη χλωρίωση, τα οποία στη συνέχεια επιμολύνθηκαν με $40 \mu\text{g L}^{-1}$ από κάθε εντομοαπωθητικό και εκτέθηκαν σε υπεριώδη ακτινοβολία. Τα δεδομένα παρίστανται γραφικώς ως η κανονικοποιημένη συγκέντρωση συναρτήσει του χρόνου ακτινοβολήσης. Εφαρμογή της γραμμικής παλινδρόμησης του λογαρίθμου της συγκέντρωσης του R-326 ενάντια στο χρόνο έκθεσης, έδωσε ψευδο-πρώτης τάξης κινητική με συντελεστή συσχέτισης r^2 0,9985 και χρόνο ημιζωής 0,42 min για το νερό του ποταμού. Στα πειράματα με

δείγματα επεξεργασμένων λυμάτων ο χρόνος ημιζωής ήταν 0,77 min, με συντελεστή συσχέτισης r^2 0,9911. Το **Σχήμα 4.3** απεικονίζει τις καμπύλες αποδόμησης του R-326 σε νερό ποταμού και επεξεργασμένο λύμα, καθώς και σε υπερκάθαρο νερό. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα η φωτοδιάσπαση του R-326 σε επεξεργασμένα λύματα έδειξε μια ελαφρά επιβράδυνση σε σχέση με το υπερκάθαρο νερό και το νερό του ποταμού, όπου οι χρόνοι ημιζωής στις δυο μήτρες ταυτίζονται. Αυτό υποδηλώνει ότι υπήρχε επίδραση της μήτρας στη φωτοαποικοδόμηση του R-326, λόγω της διαλυμένης ύλης που δρα ανασταλτικά στην αντίδραση της φωτόλυσης. [40,47]. Στη διαλυμένη οργανική ύλη περιλαμβάνονται τα HA, τα οποία κατά καιρούς αλληλεπιδρούν με χημικές ενώσεις εξαλείφοντάς τις ή απορροφώντας το μεγαλύτερο μέρος της ενέργειας που εκπέμπεται, προκαλώντας την απόσβεσή της (quenching and scavenging effects) ως συνέπεια υπάρχει μια καθυστέρηση στη φωτοαποδόμηση των ρύπων [48]. Επιπλέον, τα αιωρούμενα σωματίδια στο νερό μπορεί να διασκορπίσουν το προσπίπτον φως, μειώνοντας σημαντικά τη διείσδυσή του κάτω από την επιφάνεια του νερού, οπότε τα φωτόνια δεν είναι διαθέσιμα για την αποδόμηση των ρύπων [40]. Η παρουσία των διάφορων ιόντων μπορεί επίσης να επηρεάσει σημαντικά τη φωτομετατροπή των ρύπων στις διάφορες υδάτινες μήτρες. Για παράδειγμα τα ιόντα αλογονιδίου μπορούν να δράσουν ως δεσμευτές ρίζων υδροξυλίου [45] και να μπλοκάρουν την αντίδραση μεταφοράς ηλεκτρονίων των οργανικών ουσιών [46].

Σε αυτό το σημείο πρέπει να σημειωθεί ότι υπήρξε σημαντική επίδραση της μήτρας κατά τον προσδιορισμό του butopyronoxyl εφαρμόζοντας την SPME. Μειωμένη αποδοτικότητα εκχύλισης του butopyronoxyl έχει παρατηρηθεί και στο παρελθόν εφαρμόζοντας τη μικροεκχύλιση με χρήση ράβδου ρόφησης (Stir bar sorptive extraction, SBSE) [4]. Έτσι τελικά δεν ήταν εφικτό να διερευνηθεί η επίδραση της

περιβαλλοντικής μήτρας για την φωτοαποδόμηση του συγκεκριμένου αναλύτη.



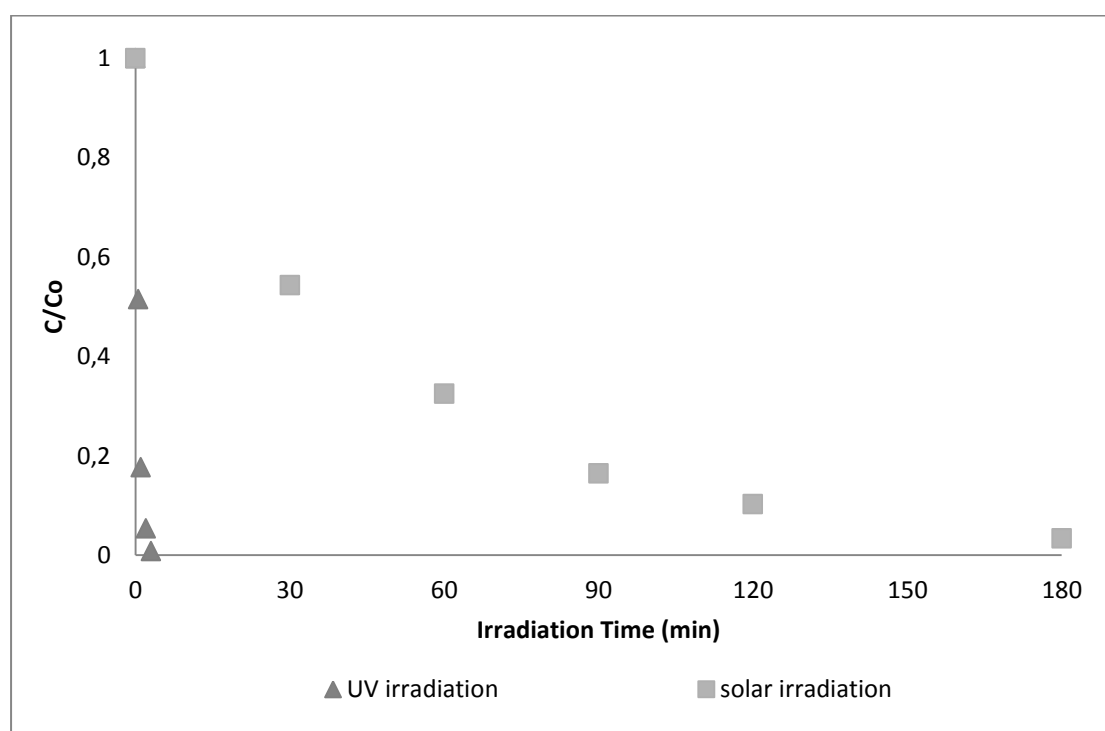
Σχήμα 4.3. Επίδραση της μήτρας στην αποδόμηση του R-326 υπό την επίδραση υπεριώδους ακτινοβολίας.

4.3.2.7. Επίδραση της πηγής ακτινοβολίας

Πραγματοποιήθηκε επίσης, πείραμα φωτόλυσης του R-326 υπό την επίδραση προσομοιωμένης ηλιακής ακτινοβολίας και συγκρίθηκε με τη φωτοαποδόμηση με υπεριώδη ακτινοβολία. Για το σκοπό αυτό 300 mL διαλύματος εμποτισμένα με 40 $\mu\text{g L}^{-1}$ R-326 τοποθετήθηκαν σε αντιδραστήρα, οποίος ήταν ένα κυλινδρικό διπλότοιχο ποτήρι ζέσεως Ace Glass (Vineland, NJ, USA). Μεταξύ των τοιχωμάτων κυκλοφορούσε νερό μέσω ενός ψυγείου–κυκλοφορητή προκειμένου το μίγμα να διατηρηθεί σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Κατά τη διάρκεια του πειράματος ο αντιδραστήρας παραμένει ανοικτός στην ατμόσφαιρα. Τα εξωτερικά τοιχώματα του αντιδραστήρα καλύπτονται από αλουμινόχαρτο έτσι ώστε η εξερχόμενη ακτινοβολία να ανακλάται πίσω στο διάλυμα, αλλά και για μέτρο προστασίας. Ο αντιδραστήρας

τοποθετήθηκε πάνω σε μαγνητικό αναδευτήρα έτσι ώστε να πραγματοποιείται πλήρης ανάδευση καθ' όλη την διάρκεια του πειράματος. Ως πηγή φωτός χρησιμοποιήθηκε προσομοιωτής ηλιακής ακτινοβολίας (solar reactor) του οίκου Newport, ο οποίος φέρει λάμπα ατμών Ξένου ισχύος 150 W.

Κατά τακτά χρονικά διαστήματα λήφθηκαν δείγματα των 5 mL, ώστε να πραγματοποιηθεί SPME για περαιτέρω ανάλυση. Τα αποτελέσματα (**Σχήμα 4.4**) έδειξαν ότι η ταχύτητα αποδόμησης του R-326, κάτω από την επίδραση της ηλιακής ακτινοβολίας, ήταν σημαντικά βραδύτερη από αυτή με UV ακτινοβολία, γεγονός το οποίο οφείλεται στο φάσμα απορρόφησης του αναλύτη που προτιμά τις περιοχές του υπεριώδους φωτός με μέγιστα απορρόφησης στα 230 και 273 nm. Εφαρμογή της γραμμικής παλινδρόμησης του λογαρίθμου της συγκέντρωσης ενάντια στο χρόνο έκθεσης, έδωσε ψευδο-πρώτης τάξης κινητική με συντελεστές συσχέτισης r^2 0,9987 και χρόνο ημιζωής 37min.



Σχήμα 4.4. Αποδόμηση του R-326 υπό την επίδραση UV και ηλιακής ακτινοβολίας.

4.4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η μέθοδος SPME σε συνδυασμό με τη GC-MS για τον εντοπισμό των εντομοαπωθητικών είναι αρκετά ευαίσθητη και γραμμική μέθοδος και μπορεί να είναι ένα γρήγορο και αποτελεσματικό εργαλείο για τον προσδιορισμό των εντομοαπωθητικών στα λύματα και τα δείγματα πόσιμου νερού.

Η φωτοαποδόμηση των εντομοαπωθητικών σε νερό υπό την επίδραση της υπεριώδους ακτινοβολίας ήταν αρκετά αποτελεσματική. Επιτεύχθηκε σχεδόν πλήρης απομάκρυνση του R-326 σε υπερκαθαρό νερό μέσα σε 3 min ακτινοβολήσης, ενώ για το butorygonoxyl χρειάστηκαν περισσότερα από 180 min. Οι κινητικές καμπύλες για τα δύο εντομοαπωθητικά, καταδείξαν ψευδο- τάξεως κινητική συμπεριφορά από τη χάραξη του νεπέριου λογάριθμου του ποσοστού της μη διασπασμένης ένωσης έναντι του χρόνου ακτινοβολήσης. Η φωτοαποδόμηση των εντομοαπωθητικών φάνηκε να εξαρτάται από την παρουσία άλατος στο αρχικό διάλυμα. Η παρουσία νιτρικών ιόντων και 1-βουτανόλη επηρέασαν ελαφρώς τη φωτόλυση των εντομοαπωθητικών. Οι ρυθμοί φωτοαποδόμησης του R-326 σε υπερκάθαρο νερό και νερό ποταμού ταυτίστηκαν και ήταν ταχύτεροι από τους ρυθμούς που παρατηρήθηκαν σε επεξεργασμένα λύματα. Οι παρούσες έρευνες αποκάλυψαν ότι η DOM, τα αιωρούμενα σωματίδια και η παρουσία διάφορων ιόντων στις υδάτινες μήτρες φαίνεται να αναστέλλουν τη φωτοαποικοδόμηση των εντομοαπωθητικών υπό τις συνθήκες που μελετήθηκαν.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [1] M. Brown, a. a. Hebert, Insect repellents: An overview, J Am Acad Dermatol. 36 (1997) 243–249.

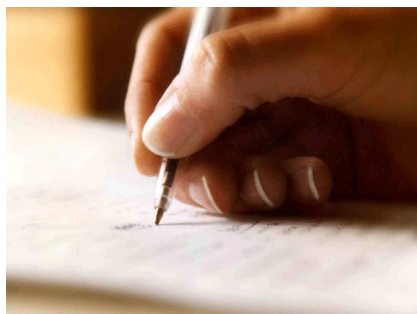
- [2] B.W. Bissinger, R.M. Roe, Tick repellents: Past, present, and future, *Pestic Biochem Physiol.* 96 (2010) 63–79.
- [3] A. Sandler, A. Schatzl, C.W. Klampfl, W. Buchberger, Determination of the insect repellent bayrepel?? in pool and lake water by gas chromatography after preconcentration with solid-phase extraction and stir-bar-sorptive extraction, *Microchim Acta.* 148 (2004) 151–156.
- [4] R. Rodil, M. Moeder, Stir bar sorptive extraction coupled to thermodesorption-gas chromatography-mass spectrometry for the determination of insect repelling substances in water samples, *J Chromatogr A.* 1178 (2008) 9–16.
- [5] M. Govindarajan, R. Sivakumar, Laboratory evaluation of Indian medicinal plants as repellents against malaria, dengue, and filariasis vector mosquitoes, *Parasitol Res.* 114 (2014) 601–612.
- [6] M. Debboun, D. Strickman, Insect repellents and associated personal protection for a reduction in human disease, *Med Vet Entomol.* 27 (2013) 1–9.
- [7] A.L. Wilson, V. Chen-Hussey, J.G. Logan, S.W. Lindsay, Are topical insect repellents effective against malaria in endemic populations? A systematic review and meta-analysis, *Malar J.* 13 (2014) 446.
- [8] C. Bhate, R. a. Schwartz, Lyme disease: Part II. Management and prevention, *J Am Acad Dermatol.* 64 (2011) 639–653.
- [9] M. Semmler, F. Abdel-Ghaffar, J. Schmidt, H. Mehlhorn, Evaluation of biological and chemical insect repellents and their potential adverse effects, *Parasitol Res.* 113 (2014) 185–188.
- [10] L. Dsikowitzky, E. Heruwati, F. Ariyani, H.E. Irianto, J. Schwarzbauer, Exceptionally high concentrations of the insect repellent N,N-diethyl-m-toluamide (DEET) in surface waters from Jakarta, Indonesia, *Environ Chem Lett.* 12 (2014) 407–411.
- [11] P.J. Robbins, M.G. Cherniack, Review of the biodistribution and toxicity of the insect repellent N,N-diethyl-m-toluamide (DEET)., *J Toxicol Environ Health.* 18 (1986) 503–525.
- [12] K.S. Menon, A.E. Brown, Exposure of children to deet and other topically applied insect repellents, *Am J Ind Med.* 47 (2005) 91–97.
- [13] G. Briassoulis, M. Narlioglou, T. Hatzis, Toxic encephalopathy associated with use of DEET insect repellents: a case analysis of its toxicity in children., *Hum Exp Toxicol.* 20 (2001) 8–14.
- [14] E.H. Roland, J.E. Jan, J.M. Rigg, after brief exposure to insect repellents, *Can Med Assoc J.* 132 (1985) 155–156.
- [15] L.C. Hampers, E. Oker, J.B. Leikin, Topical use of DEET insect repellent as a cause of severe encephalopathy in a healthy adult male., *Acad Emerg Med.* 6 (1999) 1295–1297.
- [16] Y. Luo, W. Guo, H.H. Ngo, L.D. Nghiem, F.I. Hai, J. Zhang, et al., A review on the occurrence of micropollutants in the aquatic environment and their fate and removal during wastewater treatment, *Sci Total Environ.* 473-474 (2014) 619–641.
- [17] Q. Sui, J. Huang, S. Deng, G. Yu, Q. Fan, Occurrence and removal of pharmaceuticals, caffeine and DEET in wastewater treatment plants of Beijing, China, *Water Res.* 44 (2010) 417–426.
- [18] D. Aronson, J. Weeks, B. Meylan, P.D. Guiney, P.H. Howard, Environmental release, environmental concentrations, and ecological risk of N,N-diethyl-m-toluamide (DEET), *Integr Environ Assess Manag.* 8 (2012) 135–166.
- [19] D. Wang, Q. Sui, S.G. Lu, W.T. Zhao, Z.F. Qiu, Z.W. Miao, et al., Occurrence and removal of six pharmaceuticals and personal care products in a wastewater treatment plant employing anaerobic/anoxic/aerobic and UV processes in Shanghai, China, *Environ Sci Pollut Res.* 21 (2014) 4276–4285.
- [20] R. a. Trenholm, B.J. Vanderford, J.E. Drewes, S. a. Snyder, Determination of household chemicals using gas chromatography and liquid chromatography with tandem mass spectrometry, *J Chromatogr A.* 1190 (2008) 253–262.

- [21] T.P. Knepper, Analysis and mass spectrometric characterization of the insect repellent Bayrepel and its main metabolite Bayrepel-acid, *J Chromatogr A*. 1046 (2004) 159–166.
- [22] S. Weigel, J. Kuhlmann, H. Hühnerfuss, Drugs and personal care products as ubiquitous pollutants: Occurrence and distribution of clofibric acid, caffeine and DEET in the North Sea, *Sci Total Environ*. 295 (2002) 131–141.
- [23] Y. Yoon, J. Ryu, J. Oh, B.G. Choi, S. a. Snyder, Occurrence of endocrine disrupting compounds, pharmaceuticals, and personal care products in the Han River (Seoul, South Korea), *Sci Total Environ*. 408 (2010) 636–643.
- [24] P.E. Stackelberg, J. Gibbs, E.T. Furlong, M.T. Meyer, S.D. Zaugg, R.L. Lippincott, Efficiency of conventional drinking-water-treatment processes in removal of pharmaceuticals and other organic compounds, *Sci Total Environ*. 377 (2007) 255–272.
- [25] M.W. Sandstrom, D.W. Kolpin, E.M. Thurman, S.D. Zaugg, Widespread detection of N,N-diethyl-m-toluamide in U.S. streams: comparison with concentrations of pesticides, personal care products, and other organic wastewater compounds., *Environ Toxicol Chem*. 24 (2005) 1029–1034.
- [26] S.D. Costanzo, a. J. Watkinson, E.J. Murby, D.W. Kolpin, M.W. Sandstrom, Is there a risk associated with the insect repellent DEET (N,N-diethyl-m-toluamide) commonly found in aquatic environments?, *Sci Total Environ*. 384 (2007) 214–220.
- [27] W. Song, W.J. Cooper, B.M. Peake, S.P. Mezyk, M.G. Nickelsen, K.E. O'Shea, Free-radical-induced oxidative and reductive degradation of N,N'-diethyl-m-toluamide (DEET): Kinetic studies and degradation pathway, *Water Res*. 43 (2009) 635–642.
- [28] K.S. Tay, N.A. Rahman, M.R. Bin Abas, Degradation of DEET by ozonation in aqueous solution, *Chemosphere*. 76 (2009) 1296–1302.
- [29] P. Calza, C. Medana, E. Raso, V. Giancotti, C. Minero, N,N-diethyl-m-toluamide transformation in river water, *Sci Total Environ*. 409 (2011) 3894–3901.
- [30] C. Medana, P. Calza, F. Dal Bello, E. Raso, C. Minero, C. Baiocchi, Multiple unknown degradants generated from the insect repellent DEET by photoinduced processes on TiO₂, *J Mass Spectrom*. 46 (2011) 24–40.
- [31] F.J. Benitez, J.L. Acero, F.J. Real, G. Roldan, E. Rodriguez, Photolysis of model emerging contaminants in ultra-pure water: Kinetics, by-products formation and degradation pathways, *Water Res*. 47 (2013) 870–880.
- [32] I. Kim, N. Yamashita, H. Tanaka, Photodegradation of pharmaceuticals and personal care products during UV and UV/H₂O₂ treatments, *Chemosphere*. 77 (2009) 518–525.
- [33] I. Kim, H. Tanaka, Photodegradation characteristics of PPCPs in water with UV treatment, *Environ Int*. 35 (2009) 793–802.
- [34] W. a. Adams, C. a. Impellitteri, The photocatalysis of N,N-diethyl-m-toluamide (DEET) using dispersions of Degussa P-25 TiO₂ particles, *J Photochem Photobiol A Chem*. 202 (2009) 28–32.
- [35] W. Song, W.J. Cooper, B.M. Peake, S.P. Mezyk, M.G. Nickelsen, K.E. O'Shea, Free-radical-induced oxidative and reductive degradation of N,N'-diethyl-m-toluamide (DEET): Kinetic studies and degradation pathway, *Water Res*. 43 (2009) 635–642. doi:10.1016/j.watres.2008.11.018.
- [36] K.S. Tay, N.A. Rahman, M.R. Bin Abas, Degradation of DEET by ozonation in aqueous solution, *Chemosphere*. 76 (2009) 1296–1302. doi:10.1016/j.chemosphere.2009.06.007.
- [37] L. Sanchez-Prado, M. Llompарт, M. Lores, C. Garcia-Jares, R. Cela, Application of solid-phase microextraction to the study of the photochemical behaviour of five priority pesticides: “on-fiber” and aqueous photodegradation, *J Chromatogr A*. 1047 (2004) 271–279.
- [38] D. Chen, A.K. Ray, Photodegradation kinetics of 4-nitrophenol in TiO₂ suspension, *Water Res*. 32 (1998) 3223–3234.
- [39] E. Manousaki, E. Psillakis, N. Kalogerakis, D. Mantzavinos, Degradation of sodium dodecylbenzene sulfonate in water by ultrasonic irradiation, *Water Res*. 38 (2004) 3751–3759.

- [40] A.D. Dimou, V. a. Sakkas, T. a. Albanis, Trifluralin photolysis in natural waters and under the presence of isolated organic matter and nitrate ions: Kinetics and photoproduct analysis, *J Photochem Photobiol A Chem.* 163 (2004) 473–480.
- [41] P.L. Brezonik, J. Fulkerson-Brekken, Nitrate-induced photolysis in natural waters: Controls on concentrations of hydroxyl radical photo-intermediates by natural scavenging agents, *Environ Sci Technol.* 32 (1998) 3004–3010.
- [42] J. Mack, J.R. Bolton, Photochemistry of nitrite and nitrate in aqueous solution: a review, *J Photochem Photobiol A Chem.* 128 (1999) 1–13.
- [43] P.N. Roberto Andreozzi, Marotta Raffaele, Pharmaceuticals in STP effluents and their solar\photodegradation in aquatic environment, *Chemosphere.* 50 (2003) 1319–1330.
- [44] Y. Chen, K. Zhang, Y. Zuo, Direct and indirect photodegradation of estriol in the presence of humic acid, nitrate and iron complexes in water solutions, *Sci Total Environ.* 463-464 (2013) 802–809.
- [45] X. Feng, Y. Chen, Y. Fang, X. Wang, Z. Wang, T. Tao, et al., Photodegradation of parabens by Fe(III)-citrate complexes at circumneutral pH: Matrix effect and reaction mechanism, *Sci Total Environ.* 472 (2014) 130–136.
- [46] K.-H. Wang, Y.-H. Hsieh, M.-Y. Chou, C.-Y. Chang, Photocatalytic degradation of 2-chloro and 2-nitrophenol by titanium dioxide suspensions in aqueous solution, *Catal B Environ.* 21 (1999) 1–8.
- [47] A.Y.-C. Lin, M. Reinhard, Photodegradation of common environmental pharmaceuticals and estrogens in river water., *Environ Toxicol Chem.* 24 (2005) 1303–1309.
- [48] F.H. Frimmel, Photochemical aspects related to humic substances, *Environ Int.* 20 (1994) 373–385.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5

ΓΕΝΙΚΑ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΕΣ ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΕΙΣ



Η τεχνική μικροεκχύλισης HF-LPME αποδείχτηκε μια αξιόπιστη τεχνική για τον προσδιορισμό των παραβενίων σε υδάτινα δείγματα. Ανάμεσα στα πλεονεκτήματά της συγκαταλέγονται η ταχύτερη εκχύλιση των αναλυτών, η μικρότερη κατανάλωση οργανικού διαλύτη, η οποία είναι σύμφωνη με τις αρχές της Πράσινης Χημείας, που θέλει κάθε χημική δραστηριότητα να είναι σχεδιασμένη έτσι ώστε να μειώνεται ή να εξαλείφεται η χρήση ή η δημιουργία επικίνδυνων ουσιών. Επίσης είναι μια τεχνική απλή στην εφαρμογή της και δεν υπάρχει ανάγκη χρήσης ακριβού εξοπλισμού κατά την εφαρμογή της.

Ωστόσο αν και η HF-LPME επέτρεψε χαμηλά επίπεδα συγκέντρωσης κατά τον προσδιορισμό των παραβενίων σε υδάτινα δείγματα δεν κατάφερε τον αποτελεσματικό καθαρισμό των περιβαλλοντικών δειγμάτων. Επομένως σε αυτό το σημείο χρειάζεται περισσότερη μελέτη με ανάπτυξη νέων μεθόδων, που θα επιτρέπουν τον προσδιορισμό των παραβενίων σε πιο σύνθετα περιβαλλοντικά δείγματα (π.χ. λύματα, εδάφη κ.λπ.), χωρίς παρεμβολές από τη μήτρα. Μια τέτοια μέθοδος μπορεί να είναι η μικροεκχύλιση ηλεκτρομεμβράνης (electron membrane microextraction, EMME), η οποία αποτελεί μια ενδιαφέρουσα μελλοντική κατεύθυνση για προσυγκέντρωση των ρύπων στα πλαίσια της αναλυτικής χημείας. Αυτό οφείλεται στην υψηλή ταχύτητα, την επιλεκτικότητα της μεθόδου, τους μεγάλους παράγοντες εμπλουτισμού και το πολύ χαμηλό κόστος εφαρμογής της. Μάλιστα ο συνδυασμός της με απλές μεθόδους ανάλυσης, όπως η ανάλυση με έγχυση σε ροή (flow injection analysis, FIA) συζευγμένη με την υψηλής ευαισθησίας ανίχνευση με χημειοφωτάυγεια (chemiluminescence, CL) και τη χρωματογραφία χαμηλής πίεσης για τον προσδιορισμό των παραβενίων θα μπορούσε να εφαρμοστεί για τακτικές αναλύσεις δειγμάτων.

Μελετήθηκε για πρώτη φορά η φωτοαποδόμηση των τεσσάρων βασικών παραβενίων υπό την επίδραση της υπεριώδους ακτινοβολίας σε περιβαλλοντικά νερά. Κινητικές καμπύλες της φωτοαποδόμησης αποκάλυψαν ψευδο-πρώτης τάξεως κινητική συμπεριφορά για όλους τους αναλύτες. Η ευρεία χρήση των παραβενίων σε διάφορους τύπους προϊόντων έχει ως αποτέλεσμα την συνεχή εμφάνισή τους στα περιβαλλοντικά ύδατα. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της παρούσας έρευνας κάποια συστατικά των φυσικών νερών μπορεί να αποτελούν ανασταλτικό παράγοντα στη διάσπαση των παραβενίων. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την παραμονή τους στο υδατικό περιβάλλον. Ως εκ τούτου, τα παραβένια πρέπει είτε να απομακρυνθούν από τις παροχές ύδατος ή να αποδομηθούν προκειμένου να μη μολύνουν το υδάτινο περιβάλλον. Οι συμβατές μέθοδοι επεξεργασίας και απολύμανσης δεν έχουν αποδειχτεί επαρκείς για την εξάλειψή τους. Η φωτοαποδόμηση των παραβενίων υπό την επίδραση της υπεριώδους ακτινοβολίας μπορεί να αναδυθεί ως μια βιώσιμη μέθοδος στο μέλλον λόγω της οικονομικής αποδοτικότητάς της, όμως είναι σημαντικό να μελετηθούν και άλλοι παράμετροι που πιθανά επηρεάζουν την τύχη των αναλυτών στο υδατικό περιβάλλον με σκοπό την εύρεση των κατάλληλων συνθηκών για την διάσπασή τους. Ωστόσο ο προσδιορισμός των σχηματιζόμενων φωτοπροϊόντων και ο χαρακτηρισμός της τοξικότητάς τους είναι εξίσου αναγκαίος και συμβάλει στην καλύτερη κατανόηση της συμπεριφοράς των αναδύομενων ρύπων στο περιβάλλον. Μελέτες φωτόλυσης σε υδάτινα δείγματα των παραβενίων θα μπορούσαν να πραγματοποιηθούν με χρήση διάφορων μεθόδων μικροεκχύλισης για πιο εύκολο προσδιορισμό των παραπροϊόντων.

Η φωτοαποδόμηση δυο εντομοαπωθητικών (R-326 και butopyronoxyl) μελετήθηκε για πρώτη φορά υπό την επίδραση της υπεριώδους ακτινοβολίας σε νερό ποταμού, επεξεργασμένο λύμα, καθώς και σε υπερκάθαρο νερό. Η SPME-GC-MS

χρησιμοποιήθηκε για την παρακολούθηση των ιχνών των εντομοαπωθητικών. Η παρούσα διδακτορική διατριβή υπήρξε μια σημαντική συμβολή στη γνώση της φωτοχημικής συμπεριφοράς των εντομοαπωθητικών, δεδομένου ότι οι σχετικές πληροφορίες που αναφέρονται από άλλους συγγραφείς είναι λιγοστές και περιορίζονται στην αποδόμηση του πιο ευρέως χρησιμοποιούμενου εντομοαπωθητικού του DEET σε διάφορες υδάτινες μήτρες. Κινητικές καμπύλες της φωτοαποδόμησης αποκάλυψαν ψευδο-πρώτης τάξεως κινητική συμπεριφορά για όλους τους αναλύτες. Σε αυτό το στάδιο της μελέτης οι προσπάθειές μας εστιάστηκαν περισσότερο στον προσδιορισμό των ρυθμών αποσύνθεσης και επίδρασης της περιβαλλοντικής μήτρας στη διαδικασία της φωτόλυσης και όχι στον προσδιορισμό των πιθανών προϊόντων που σχηματίζονται. Μελλοντικές έρευνες μπορούν να εστιαστούν στον προσδιορισμό των φωτοπροϊόντων και να προταθούν οι μηχανισμοί φωτοαποδόμησης των αναδιδόμενων ρύπων και να διερευνηθεί αν τα παραγόμενα προϊόντα είναι πιο τοξικά στο περιβάλλον από τις μητρικές ενώσεις. Μια τεχνική αποδόμησης, που θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί είναι αυτή πάνω στην ίνα της SPME φωτοαποδόμηση (photo-SPME photodegradation), κατά την οποία αποφεύγονται μακρές και επίπονες διαδικασίες εκχύλισης μετά το στάδιο ακτινοβόλησης, οπότε εξαλείφεται εντελώς η χρήση οργανικού διαλύτη με ταυτόχρονη ανάλυση τόσο των φωτοπροϊόντων όσο και των μητρικών ενώσεων.

Ωστόσο επειδή κατά την ποσοτικοποίηση του butoxyronoxyl σε περιβαλλοντικά δείγματα με SPME υπήρξε σημαντική επίδραση της μήτρας, ώστε να μη γίνει εφικτή η διερεύνηση της επίδρασης της περιβαλλοντικής μήτρας για την φωτοαποδόμηση του συγκεκριμένου αναλύτη, τίθεται η ανάγκη να αναπτυχθούν νέα, πιο ισχυρά πρωτόκολλα ανίχνευσης του butoxyronoxyl σε περιβαλλοντικά δείγματα. Μάλιστα θα μπορούσε σε κάθε εφαρμογή νέας τεχνικής μικροεκχύλισης να υιοθετηθεί η

διαδικασία προσθήκης προτύπου στο αρχικό διάλυμα για να αποφευχθούν τα προβλήματα ανάκτησης, λόγω επίδρασης της μήτρας.

ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ

K. Tsourounaki and E. Psillakis, ‘‘Application of solid phase microextraction for studying the photolysis of di-n-propylisocinchomeronate in water’’, 8th International Conference on Instrumental Methods of Analysis Modern Trends and Applications (IMA 2013), Thessaloniki, Greece, September 15-19 2013.

K. Tsourounaki, G. Aroniada, E. Psillakis, ‘‘Photodegradation of methylparaben in various environmental aqueous solutions by 254 nm irradiation’’, 3rd International Conference on Industrial and Hazardous Waste Management (CRETE 2012) Chania, Crete, Greece, September 12-14 2012.

K. Tsourounaki and E. Psillakis, ‘‘Application of three phase hollow fiber liquid-phase microextraction for the extraction of four parabens in water samples’’7th International Conference on Instrumental Methods of Analysis-Modern Trends and Applications (IMA 2011), Chania, Crete, Greece, September 18-22 2011.