



ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ ΚΡΗΤΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΠΕΡΙΒΑΛΟΝΤΟΣ

Φωτολυτική τύχη φουλλερενίου σε περιβαλλοντικά υδατικά δείγματα

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Εκπόνηση

Ελένη Δόβρου

Επιβλέπουσα καθηγήτρια

Ελευθερία Ψυλλάκη

Μέλη επιτροπής:

Καθηγήτρια Ελευθερία Ψυλλάκη

Καθηγητής Ευάγγελος Διαμαντόπουλος

Καθηγητής Νικόλαος Καλογεράκης

ΧΑΝΙΑ, ΙΟΥΝΙΟΣ 2016

Ευχαριστίες

Με την ολοκλήρωση της παρούσας διπλωματικής εργασίας θα ήθελα να ευχαριστήσω τους ανθρώπους που με στήριξαν.

Οφείλω ένα μεγάλο ευχαριστώ στην επιβλέπουσα καθηγήτριά μου κα. Ελευθερία Ψυλλάκη για την εμπιστοσύνη και την καθοδήγησή της καθ' όλη τη διάρκεια της συνεργασίας μας. Η επιστημονική και πνευματική αρωγή της ήταν πολύτιμη για την βέλτιστη ολοκλήρωση της διπλωματικής μου εργασίας.

Θα ήθελα επίσης να απευθύνω τις ευχαριστίες μου στα μέλη της επιτροπής αξιολόγησης, τον καθηγητή Ευάγγελο Διαμαντόπουλο και τον καθηγητή Νικόλαο Καλογεράκη, για την σημαντική βοήθεια που μου πρόσφεραν.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον καθηγητή Γεώργιο Καρατζά, τον Δρ. Εμμανουήλ Βαρουχάκη, την καθηγήτρια Δάφνη Μανουσάκη και τον καθηγητή Κωνσταντίνο Συνολάκη για την πολύτιμη συμβολή και καθοδήγηση που μου πρόσφεραν για την μετέπειτα ακαδημαϊκή μου πορεία.

Νιώθω την ανάγκη να ευχαριστήσω τους φίλους μου, ιδιαίτερα τις Άννα, Υρώ, Χριστίνα, Μαρκέλλα και τον Αντώνη για το ενδιαφέρον και τη στήριξη που μου παρείχαν.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω την Δρ. Ευαγγελία Γιαντζή για τις πολύτιμες συμβουλές και τη βοήθεια που μου προσέφερε. Επιπλέον, ευχαριστώ τις Ροδόπη Ζουμπουλάκη και Έφη Κουρουνιώτη για την συνεργασία που είχαμε.

Το πιο μεγάλο ευχαριστώ οφείλω στους γονείς μου Νίκο και Σοφία και στην αδερφή μου Κατερίνα, για την ηθική και υλική υποστήριξη που μου πρόσφεραν καθ' όλη την διάρκεια των σπουδών μου.

Περίληψη

Τα τελευταία χρόνια έχει παρατηρηθεί αυξημένη χρήση νανοϋλικών στην καθημερινή ζωή του ανθρώπου. Λόγω της εναπόθεσής τους στο υδάτινο περιβάλλον και της άμεσης ή έμμεσης επίδρασής τους στα φυσικά οικοσυστήματα η επιστημονική κοινότητα έχει εκδηλώσει ενδιαφέρον για τη μελέτη της συμπεριφοράς τους. Τα φουλλερένια αποτελούν μια κατηγορία νανοϋλικών με ευρεία χρήση σε βιομηχανικούς και ιατρικούς τομείς καθώς και στον τομέα της αισθητικής. Στην παρούσα εργασία εξετάζεται το φουλλερένιο C_{60} και πιο συγκριμένα, η φωτολυτική του τύχη σε υδατικά δείγματα μέσω της ανάλυσης των δειγμάτων με τη μέθοδο υγρής χρωματογραφίας σε συνδυασμό με την μέθοδο Vortex Assisted Liquid Liquid Mikroextraction (VALLME), για την προετοιμασία των δειγμάτων. Τα αποτελέσματα της έρευνας έδειξαν ταχεία αποδόμηση κάτω από την επίδραση UV-C ακτινοβολίας σε χρονικό διάστημα 30 min και μικρή παρεμπόδιση της υπό την ύπαρξη αλκαλικών pH. Επίσης, σύμφωνα με τα αποτελέσματα που προέκυψαν, παρατηρούνται ενδείξεις για παρεμπόδιση της φωτολυτικής διαδικασίας υπό την ύπαρξη βουτανόλης και νιτρικών ιόντων. Η κινητική της αποδόμησης μπορεί να χαρακτηριστεί ως ψευδο-πρώτης τάξης. Παράλληλα, μελέτη της φωτόλυσης του C_{60} σε περιβαλλοντικά δείγματα παρουσίασε αύξηση του ρυθμού αποδόμησης. Παρόμοια συμπεριφορά παρατηρήθηκε και σε δείγμα επεξεργασμένων λυμάτων από βιολογικό καθαρισμό.

Abstract

Due to the increase in the use of nanomaterials and their release in the aquatic environment, it is essential to study their fate and behavior which affects directly and indirectly the natural ecosystems. Fullerenes such as C_{60} are nanomaterials with extended use in industry, medicine and cosmetics. The present project examines the behavior of fullerene aggregates (nC_{60}) and their photolytic fate in environmental and engineered water samples under controlled laboratory conditions. Trace level determination of nC_{60} was achieved using Vortex Assisted Liquid Liquid Microextraction (VALLME), which was used as a sample preparation method prior to liquid chromatography. The results of this research indicated that nC_{60} presents a high photochemical transformation within 30 min of UV-C irradiation time and low quenching in the presence of alkalic pH. There were also observed indications of quenching in the presence of butanol and nitrates. The photolysis of nC_{60} followed a pseudo-first order kinetics. In addition, the study of environmental samples and waste water effluent samples indicated an enhancement in the rate of degradation.

Περιεχόμενα

Εικόνες	6
Πίνακες.....	6
Γραφήματα.....	7
1 Εισαγωγή	8
1.1 Φωτολυτική τύχη-Φωτόλυση	10
1.2 Υδατικά διαλύματα	11
1.3 Ρυθμιστικά διαλύματα.....	11
1.4 Φουλλερένια	13
1.4.1 Νανοϋλικά.....	13
1.4.2 Γενικά στοιχεία	14
1.4.3 Μόριο C ₆₀	15
1.4.3.1 Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά.....	16
1.4.4 Περιβαλλοντική τύχη	18
1.4.4.1 Περιβαλλοντική τύχη του nC ₆₀ στο έδαφος.....	18
1.4.4.2 Περιβαλλοντική τύχη του nC ₆₀ με τη μορφή αεροζόλ.....	18
1.4.4.3 Φωτολυτική τύχη του nC ₆₀ στο υδατικό περιβάλλον	19
1.4.5 Τοξικότητα	21
1.4.6 Ιατρικές εφαρμογές	22
1.4.7 Νομοθεσία	23
2 Σκοπός και αναγκαιότητα έρευνας	24
3 Πειραματικό μέρος.....	25
3.1 Αντιδραστήρια και όργανα	25
3.2 Παρασκευή stock διαλυμάτων	26
3.3 Παρασκευή δειγμάτων για ανάλυση.....	27
3.3.1 Παρασκευή δειγμάτων για πρώτη σειρά πειραμάτων	27
3.3.2 Παρασκευή δειγμάτων για δεύτερη σειρά πειραμάτων	28
3.4 Περιγραφή μεθόδου ανάλυσης με φασματοφωτόμετρο	29
3.5 Περιγραφή μεθόδου μέτρησης της συγκέντρωσης του υδατικού stock διαλύματος nC ₆₀	30
3.6 Περιγραφή μεθόδου ανάλυσης της φωτόλυσης.....	32
3.7 Περιγραφή μεθόδου εκχύλισης με τη μέθοδο VALLME.....	33

3.8	Περιγραφή μεθόδου ανάλυσης της LC-MS	33
3.9	Προσαρμογή pH για ανάλυση στην LC-MS.....	34
3.9.1	Συγκεντρωτικός πίνακας pH ανάλυσης και φωτόλυσης	35
4	Αποτελέσματα και συζήτηση	36
4.1	Φωτόλυση του φουλλερενίου C ₆₀	36
4.1.1	Φωτόλυση του φουλλερενίου C ₆₀ σε υπερκάθαρο νερό και επίδραση του pH στην φωτόλυση	37
4.1.2	Επίδραση προσθήκης άλατος.....	43
4.1.3	Επίδραση προσθήκης βουτανόλης.....	44
4.1.4	Επίδραση προσθήκης νιτρικών ιόντων	45
4.1.5	Επίδραση προσθήκης χουμικών οξέων	46
4.2	Φωτόλυση nC ₆₀ σε περιβαλλοντικά δείγματα και σε δείγμα βιολογικού καθαρισμού.....	47
5	Συμπεράσματα	52
6	Μελλοντικές κατευθύνσεις	52
7	Βιβλιογραφία.....	53

Εικόνες

Εικόνα 1.	C ₆₀ - Fullerene, VRML gallery of Fullerenes (Website 1).....	14
Εικόνα 2.	Νανοσωλήνες- Fullerene, Google images for Fullerene (18/7/2015)	15

Πίνακες

Πίνακας 1.	Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά C ₆₀	16
Πίνακας 2.	Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά περιβαλλοντικών δειγμάτων.....	28
Πίνακας 3.	pH ανάλυσης και pH φωτόλυσης για κάθε εξεταζόμενη παράμετρο	35
Πίνακας 4.	Σταθερές κινητικών. χρόνοι ημιζωής και συντελεστές R ² για την παράμετρο pH.....	41
Πίνακας 5.	Σταθερές κινητικών. χρόνοι ημιζωής και συντελεστές R ² για τις υδατικές μήτρες	50
Πίνακας 6.	Απομάκρυνση του nC ₆₀ σε κάθε εξεταζόμενη μήτρα σε διάστημα φωτόλυσης 30 min	51

Γραφήματα

Γράφημα 1. Φάσμα απορρόφησης τολουολικού διαλύματος C ₆₀ συγκέντρωσης 10 mg·L ⁻¹	29
Γράφημα 2. Φάσμα απορρόφησης οκτανολικού διαλύματος C ₆₀ συγκέντρωσης 26 mg·L ⁻¹	29
Γράφημα 3. Καμπύλη βαθμονόμησης τολουολικού διαλύματος (toluene-C ₆₀ stock)31	
Γράφημα 4. Καμπύλη βαθμονόμησης οκτανολικού διαλύματος (octanol-C ₆₀ stock) 31	
Γράφημα 5. Επίδραση pH στη φωτόλυση υδατικού διαλύματος nC ₆₀ συγκέντρωσης 200 μg·L ⁻¹	37
Γράφημα 6. Κινητική ψευδο-πρώτης τάξης της φωτόλυσης του υδατικού διαλύματος nC ₆₀ συγκέντρωσης 200 μg·L ⁻¹ με pH 6.5, 3 και 10	38
Γράφημα 7. Επίδραση άλατος στη φωτόλυση υδατικού διαλύματος nC ₆₀ συγκέντρωσης 200 μg·L ⁻¹	43
Γράφημα 8. Επίδραση βουτανόλης στη φωτόλυση υδατικού διαλύματος nC ₆₀ συγκέντρωσης 200 μg·L ⁻¹	44
Γράφημα 9. Επίδραση νιτρικών στη φωτόλυση υδατικού διαλύματος nC ₆₀ συγκέντρωσης 200 μg·L ⁻¹	45
Γράφημα 10. Επίδραση υδατικής μήτρας στη φωτόλυση του διαλύματος nC ₆₀ συγκέντρωσης 200 μg·L ⁻¹	47
Γράφημα 11. Κινητική ψευδο-πρώτης τάξης της φωτόλυσης του διαλύματος nC ₆₀ συγκέντρωσης 200 μg·L ⁻¹ σε περιβαλλοντικά υδατικά δείγματα	48

1 Εισαγωγή

Η απελευθέρωση οργανικών νανοϋλικών, όπως τα φουλλερένια, στο περιβάλλον, μέσω ανθρώπινων δραστηριοτήτων, όπως για παράδειγμα η βιομηχανία, η χρήση καλλυντικών και η κατασκευή υλικών μονώσεων έχει οδηγήσει στη διερεύνηση της τύχης, μεταφοράς και παραμονής τους στο περιβάλλον. Τα φουλλερένια είναι ανθρακικές δομές, οι οποίες έχουν σφαιρικό σχήμα και ανακαλύφθηκαν το 1985 από τον Sir Harold W. Kroto και τους συνεργάτες του. Τα φουλλερένια, λοιπόν, χρησιμοποιούνται ευρέως στην βιομηχανία οπτικών, πλαστικών, καλλυντικών και ηλεκτρονικών, καθώς και σε ιατρικές και βιολογικές εφαρμογές (Kong et al., 2009). Παρατηρούμενο φουλλερένιο σε όλους αυτούς τους τομείς είναι το buckminsterfullerene (C_{60}) με ιδιαίτερα χαρακτηριστικά που διεγείρουν το ενδιαφέρον της επιστημονικής κοινότητας, κυρίως λόγω της ικανότητάς του να δημιουργεί συσσωματώματα και να μεταφέρει στο εσωτερικό του ποικίλες ενώσεις και στοιχεία. Η ιδιότροπη συμπεριφορά του εν λόγω μορίου αποτελεί ερευνητική πρόκληση, καθώς δύναται να μεταφέρει στο εσωτερικό του ποικίλα μόρια και ενώσεις, γεγονός που τονίζει την αναγκαιότητα μελέτης της φωτο-αποδόμησής του. Με την απελευθέρωσή του στο υδατικό περιβάλλον, η τύχη το nC_{60} εξαρτάται από ποικίλους παράγοντες, όπως τον βαθμό συσσωμάτωσής του, τις χημικές συνθήκες που λαμβάνουν χώρα στο περιβάλλον και στις υδροδυναμικές συνθήκες που δύναται να συνδέονται με το μέγεθος της ανάδευσης που λαμβάνει χώρα.

Η φωτολυτική τύχη του μορίου του C_{60} είναι σημαντική, καθώς αποτελεί φωτο-ευαίσθητοποιητή που παράγει οξυγονούχα παράγωγα υπό την παρουσία φωτός (Hotze et al., 2007). Προηγούμενες έρευνες παρουσίασαν ότι τα συσσωματώματα του υδατικού C_{60} , nC_{60} , υφίσταται μετατροπή λόγω ύπαρξης φωτός παράγοντας υδατοδιαλυτά παράγωγα, τα οποία παρουσιάζουν υψηλότερη φωτολυτική ενεργότητα σε σύγκριση με το nC_{60} (Hou et al., 2010).

Όσον αφορά την τοξικότητα του μορίου C_{60} , έρευνες που έχουν πραγματοποιηθεί παρουσιάζουν αντικρουόμενες απόψεις. Δεν είναι πλήρως κατανοητή η επίδρασή του στο φυσικό περιβάλλον, αλλά υπάρχουν ενδείξεις που υποδεικνύουν ότι το μόριο αυτό δύναται να έχει τοξική επίδραση σε διάφορους οργανισμούς και σε ανθρώπινα κύτταρα (Li et al., 2009). Επιπροσθέτως, έχει παρατηρηθεί ότι έκθεση σε συσσωματώματα nC_{60} δύναται να προκαλέσει αλλοιώσεις στο DNA των οργανισμών, λόγω της παραγωγής οξειδωτικών ενώσεων (Wang et al., 2010). Επομένως, είναι αναγκαία η εξέταση των επιδράσεων που μπορεί να επιφέρει η φωτόλυση του nC_{60} στο περιβάλλον και στον ανθρώπινο οργανισμό και αποτελεί αδήριτη ανάγκη η μελέτη της φωτολυτικής τύχης του nC_{60} , καθώς και τον παραμέτρων που μπορούν να επηρεάσουν αυτή τη διαδικασία.

Στην παρούσα εργασία παρουσιάζεται η φωτολυτική τύχη του nC_{60} σε ποικίλες υδατικές μήτρες, καθώς και υπό την παρουσία ποικίλων παραγόντων που μπορούν να επηρεάσουν την αποδόμηση του μορίου αυτού. Οι παράγοντες που εξετάζονται συνδέονται με το pH της υδατικής μήτρας, με την ύπαρξη άλατος, βουτανόλης, νιτρικών ιόντων και χουμικών οξέων στο εξεταζόμενο διάλυμα.

1.1 Φωτολυτική τύχη-Φωτόλυση

Με τον όρο φωτολυτική τύχη νοείται η μελέτη διάσπασης ή διάλυσης μιας ουσίας, στην παρούσα μελέτη του C₆₀, υπό την επίδραση του φωτός. Αναφέρεται και με τον όρο φωτόλυση, που αποτελεί χημική διεργασία κατά την οποία τα μόρια της εξεταζόμενης ουσίας διασπώνται σε μικρότερες μονάδες μέσω της απορρόφησης του φωτός.

Η φωτόλυση μπορεί να διακριθεί σε άμεση ή έμμεση. Κατά την άμεση φωτόλυση η ηλιακή ή τεχνητή ακτινοβολία απορροφάται από την ίδια την ουσία και οι χημικές αντιδράσεις που ακολουθούν συνεπάγονται τη θραύση του μορίου της σε μικρότερα τμήματα. Κατά την έμμεση φωτόλυση, η ακτινοβολία δεν απορροφάται απευθείας από τη χημική ένωση. Αντίθετα, το φως απορροφάται από φυσικά μόρια που υπάρχουν στη διαλυμένη οργανική ύλη του νερού ή του διαλύματος. Τα μόρια αυτά του νερού, τα οποία είναι χουμικές ενώσεις καλούνται «ευαισθητοποιητές» και αμέσως μετά την απορρόφηση της ακτινοβολίας διεγείρονται και ακολούθως αντιδρούν χημικά με την ουσία σχηματίζοντας νέα προϊόντα. Κατά την έμμεση φωτόλυση, η ουσία αντιδρά με κάποιο δραστικό μέσο, όπως είναι οι ρίζες υπεροξειδίου και υδροξειδίου και το ατομικό οξυγόνο, το οποίο σχηματίζεται εξαιτίας των αλληλεπιδράσεων που λαμβάνουν χώρα μεταξύ του φωτός, των χουμικών ενώσεων και του διαλυμένου οξυγόνου. (Γατίδου, 2005)

Η φωτόλυση έχει χρησιμοποιηθεί για την μελέτη διάσπασης ποικίλων ουσιών όπως σουλφοναμίδες (Lian et al., 2015), 2,4-δινιτροτολουόλιο (Mihai; Kalogerakis; Psillakis, 2007) και φαρμακευτικά προϊόντα (Fatta-Kassinos; Vaquez; Kümmerer, 2011). Αξίζει να σημειωθεί, πως παρουσιάζει ενδιαφέρον η μελέτη της φωτολυτικής τύχης ενώσεων σε υποστρώματα, όπως και αυτό του πάγου. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί πρόσφατη έρευνα που ασχολήθηκε με την φωτολυτική διάσπαση της ουσίας 2,2',4,4',6-πενταβρωμοδιφαινύλιου (Sanchez-Prado et al., 2012). Συμπεραίνεται, λοιπόν, πως η φωτόλυση αποτελεί πόλο έλξης για την μελέτη ουσιών με διαφορετικά χαρακτηριστικά.

1.2 Υδατικά διαλύματα

Διάλυμα μπορεί να χαρακτηριστεί ένα ομοιογενές μίγμα δυο ή περισσότερων ουσιών που μπορεί να βρίσκεται στην υγρή, την αέρια ή την στερεή κατάσταση της ύλης. Αποτελείται από το μέσο διασποράς, το οποίο ονομάζεται διαλύτης, και την ουσία που διαλύεται σε αυτό το μέσο, η οποία καλείται διαλυμένη ουσία. Αν ο διαλύτης είναι το νερό τότε το διάλυμα είναι υδατικό.

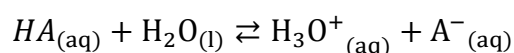
Στην παρούσα ερευνητική μελέτη το C₆₀ διαλύεται σε υπερκάρθαρο νερό, ώστε να εξεταστεί η φωτολυτική του τύχη λαμβάνοντας υπόψη το pH του διαλύματος, την προσθήκη χλωριούχου νατρίου, βουτανόλης, νιτρικών ιόντων και χουμικών οξέων. Επίσης, για την διερεύνηση της συμπεριφοράς του σε περιβαλλοντικά δείγματα το C₆₀ διαλύθηκε σε φιλτραρισμένο δείγμα θαλάσσης, ποταμού και εκροής βιολογικού καθαρισμού.

1.3 Ρυθμιστικά διαλύματα

Ρυθμιστικά διαλύματα (Buffers) ονομάζονται τα διαλύματα που χαρακτηρίζονται από την ικανότητα να αντιστέκονται στις μεταβολές του pH, όταν προστεθούν σε αυτά μικρές ποσότητες οξέος ή βάσης. Περιέχουν ένα ασθενές οξύ και τη συζυγή του βάση ή μια ασθενή βάση και το συζυγές της οξύ. Συνεπώς, σε ένα ρυθμιστικό διάλυμα υπάρχει μια όξινη και βασική συνιστώσα σε ισορροπία.

Δυο βασικά χαρακτηριστικά ενός ρυθμιστικού διαλύματος είναι το pH του και η ρυθμιστική χωρητικότητά του, δηλαδή η ποσότητα οξέος ή βάσης στην οποία μπορεί να εξουδετερώσει το ρυθμιστικό διάλυμα πριν το pH του αρχίσει να μεταβάλλεται αισθητά.

Κρίνεται απαραίτητη η παρουσίαση των περιπτώσεων προσθήκης ασθενούς οξέως και ασθενούς βάσης σε ένα ρυθμιστικό διάλυμα. Στην περίπτωση που προστίθεται ασθενές οξύ HA η ισορροπία ιονισμού του οξέος είναι:



και η σταθερά ισορροπίας του είναι:

$$K_a = \frac{[H_3O^+] \cdot [A^-]}{[HA]} \rightarrow \log K_a = \log[H_3O^+] + \log[A^-] - \log[HA]$$

συνεπώς:

$$pH = -\log K_a - \log \frac{[A^-]}{[HA]} \rightarrow pH = pK_a - \log \frac{[A^-]}{[HA]}$$

Η συγκέντρωση του HA μπορεί να θεωρηθεί ίση με την αρχική συγκέντρωση του οξέως και η συγκέντρωση του A⁻ ίση με τη συγκέντρωση του άλατος:

$$pH = pK_a - \log \frac{[\text{Άλας}]}{[\text{Οξύ}]} \quad (1)$$

Με την ίδια λογική πορεία στην περίπτωση προσθήκης ασθενούς βάσης ΜΟΗ στο ρυθμιστικό διάλυμα ισχύει ότι:

$$pH = pK_a - \log \frac{[\text{Άλας}]}{[\text{Βάση}]} \quad (2)$$

Οι εξισώσεις (1) και (2) καλούνται εξισώσεις Henderson-Hasselbach. (Ebbing, Gammon).

1.4 Φουλλερένια

1.4.1 Νανοϋλικά

Τα νανοϋλικά είναι υλικά τα οποία διαθέτουν διάμετρο μικρότερη ή ίση των 100 nm. Μπορούν να κατηγοριοποιηθούν σε τρεις βασικές κατηγορίες:

- i. Φυσικά νανοϋλικά (natural nanomaterials)
- ii. Συμπτωματικά νανοϋλικά (incidental nanomaterials)
- iii. Μηχανικά νανοϋλικά (engineered nanomaterials)

Αναλυτικότερα, τα φυσικά νανοϋλικά είναι εκείνα τα οποία συναντώνται στη φύση και μπορούν να βρίσκονται στο περιβάλλον για εκατομμύρια χρόνια. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελούν τα φουλλερένια, τα οποία ανιχνεύθηκαν σε γεωλογικές αποθήκες από την Κρητιδική εποχή και σε δείγμα πάγου παλαιότητας 10000 ετών στην Γροιλανδία.

Τα συμπτωματικά νανοϋλικά παράγονται είτε τυχαία μέσω βιομηχανικών διαδικασιών είτε ως επακόλουθο μηχανικής ρύπανσης. Πηγές μπορούν να αποτελέσουν οι εκπομπές από κινητήρες καύσης diesel και οι καμινάδες εργοστασίων παραγωγής γενικής βιομηχανίας.

Τέλος, τα μηχανικά νανοϋλικά και οι νανοδομές παράγονται σκόπιμα και συνεπώς διαφέρουν κατασκευαστικά.

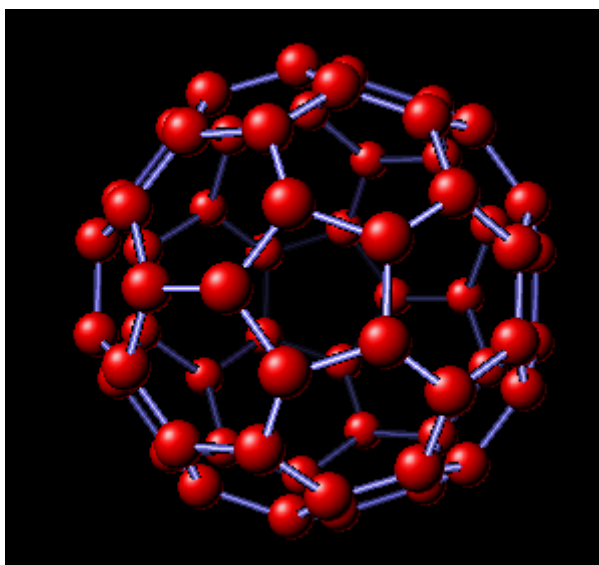
Τα φουλλερένια ανήκουν και στις τρεις κατηγορίες που προαναφέρθηκαν και είναι νανοϋλικά με βάση τον άνθρακα.

(Perez et al., 2009)

1.4.2 Γενικά στοιχεία

Τα φουλλερένια, όπως προαναφέρθηκε, είναι μια κατηγορία νανοϋλικών από άνθρακα που υπάρχουν ως κενές σφαίρες, ελλειψοειδή ή σωλήνες και κατέχουν πολλά υποσχόμενες δυνατότητες, όπως υψηλή αντοχή, ηλεκτρικές και οπτικές ιδιότητες. Οι δυνατότητες αυτές αναμένεται να ωθήσουν την μεγάλη χρήση νέων υλικών υψηλής αντοχής, ηλεκτρονικών και οπτικών συσκευών καθώς και σε εφαρμογές στην βιοϊατρική και την βιομηχανία καλλυντικών. (Wang; Shang; Westerhoff, 2010).

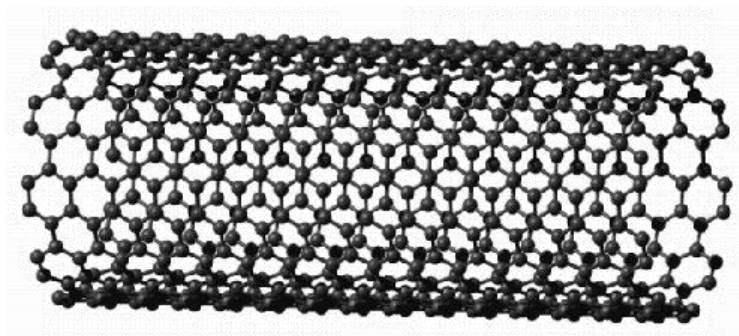
Το πρώτο φουλλερένιο ανακαλύφθηκε το 1985 από τους Sir Harold W. Kroto, Richard E. Smalley και Robert F. Curl Jr., οι οποίοι χρησιμοποιώντας ένα λέιζερ για την εξάτμιση ράβδων από γραφίτη σε ατμόσφαιρα αέριου ηλίου πέτυχαν τον σχηματισμό μορίων αποτελούμενα από 60 άτομα άνθρακα το καθένα. Κάθε μόριο καλείται C_{60} (Εικόνα 1), λόγω των 60 ατόμων άνθρακα που περιέχει, τα οποία ενώνονται μεταξύ τους με απλούς και διπλούς δεσμούς σχηματίζοντας μια κοίλη σφαίρα με 12 πεντάγωνα και 20 εξάγωνα. Ο σχηματισμός αυτός παρομοιάζεται με μπάλα ποδοσφαίρου.



Εικόνα 1. C_{60} - Fullerene, VRML gallery of Fullerenes (Website 1)

Αξίζει να σημειωθεί πως το 1996 οι τρεις επιστήμονες τιμήθηκαν με το βραβείο Νόμπελ Χημείας. Το μόριο C_{60} ονομάστηκε buckminsterfullerene ή εν συντομία buckyball προς τιμήν του αμερικανού αρχιτέκτονα R. Buckminster Fuller, ο οποίος είχε σχεδιάσει γεωδαιτικούς θόλους που διέθεταν τις ίδιες δομικές αρχές με το εν λόγω μόριο. Μετά το πέρας πέντε ετών, το 1991, ο Iijima Sumio από την Ιαπωνία αναγνώρισε τους νανοσωλήνες άνθρακα (Εικόνα 2), οι οποίοι αποτελούν κατηγορία φουλλερενίων. Μεταγενέστερες μελέτες παρουσίασαν την ύπαρξη και άλλων

δομών φουλλερενίων, αποτελούμενων από περισσότερα και λιγότερα των εξήντα άτομα άνθρακα. Χαρακτηριστικά είναι τα C_{70} , C_{28} , C_{36} και C_{50} .



Εικόνα 2. Νανοσωλήνες- Fullerene, Google images for Fullerene (18/7/2015)

1.4.3 Μόριο C_{60}

Το μόριο C_{60} είναι εξαιρετικά σταθερό και υφίσταται ένα μεγάλο φάσμα χημικών αντιδράσεων. Τα εξήντα άτομα άνθρακα που περιέχει ενώνονται μεταξύ τους με απλούς και διπλούς δεσμούς σχηματίζοντας μια κοίλη σφαίρα με 12 πεντάγωνα και 20 εξαγωνα.

Ιδιαίτερο χαρακτηριστικό του φουλλερενίου C_{60} είναι η ποικιλομορφία όσον αφορά το χρώμα που προσδίδει σε διαλύματα. Χαρακτηριστικά παραδείγματα που παρασκευάστηκαν κατά την διάρκεια της εν λόγω έρευνας είναι το τολουολικό διάλυμα, το οποίο διαθέτει εξαιρετικά έντονο μωβ χρώμα, το οκτανολικό διάλυμα, που παρουσιάζει ελαφρύ ροζ χρώμα και τα υδατικά διαλύματα, τα οποία έχουν καφέ χρώμα και έπειτα από φιλτράρισμα διατηρούν ανοιχτό καφέ, το οποίο μπορεί να χαρακτηριστεί ως κίτρινο χρώμα.

Αξίζει να αναφερθεί πως το μόριο C_{60} μπορεί να δεχτεί και να αποβάλει εύκολα ηλεκτρόνια, γεγονός που θα μπορούσε να αξιοποιηθεί σε πιθανές εφαρμογές ηλεκτρικών συσκευών καθώς και σε μπαταρίες. Επίσης, το C_{60} ενώνεται με άτομα υδρογόνου και με αλογονομένα στοιχεία, τα οποία μπορούν να αντικατασταθούν με άλλες ομάδες, όπως την ομάδα φαινύλ που είναι κυκλική ομάδα ατόμων με τύπο C_6H_5 , οδηγώντας σε ποικίλα νέα παράγωγα φουλλερενίων.

1.4.3.1 Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά

Σημαντικό ενδιαφέρον παρουσιάζουν οι φυσικοχημικές ιδιότητες του φουλλερενίου C_{60} . Η διαλυτότητά του στο νερό είναι μικρότερη του $10^{-9} \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (Chen; Ding, 2012) και υπάρχουν αναφορές που εκτιμάται στο εύρος τιμών $1.11\cdot 10^{-11}$ έως $1.8\cdot 10^{-20} \text{ M}$ ((Abraham et al., 2000)(Heymann, 1996)(Jafvert; Kulkarni, 2008)). Γίνεται αντιληπτό ότι η διαλυτότητα του C_{60} στο νερό είναι πολύ μικρή, γεγονός που επιτρέπει την διατύπωση της θεώρησης ότι είναι ουσιαστικά αδιάλυτο. Αξίζει να αναφερθεί πως παρόλο που η διαλυτότητα του μορίου είναι πολύ μικρή, το C_{60} έχει τη δυνατότητα να διαχέεται στο νερό καθώς μεταφέρεται σε έναν οργανικό διαλύτη μέσω υπερήχων (Chen; Ding, 2012). Επίσης, παρόλο τη πολύ μικρή διαλυτότητά του στο νερό, το C_{60} έχει τη δυνατότητα να σχηματίζει σχετικά σταθερά συσσωματώματα, τα οποία έχουν εύρος διαμέτρου 25-500 nm (nC_{60}) και διαθέτουν φορτίο. (Fortner et al., 2005). Αυτό παρατηρείται έπειτα από μεγάλο χρονικό διάστημα επαφής του με το νερό ή έπειτα από παρατεταμένη ανάδευσή του στο υδατικό μέσο. ((Fortner et al., 2005)(Hwang; Li, 2010)). Σημειώνεται, πως η απόκτηση αρνητικά φορτισμένης επιφάνειας σε συσσωματώματα, λόγω απωστικών αλληλεπιδράσεων, προκαλεί σταθερότητα στα nC_{60} . ((Brant et al., 2006)(Ma; Bouchard, 2009)).

Στον πίνακα 1 παρουσιάζονται τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του μορίου C_{60} .

Πίνακας 1. Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά C_{60}

Χαρακτηριστικό	Τιμή	Μονάδα μέτρησης
Μοριακό βάρος	760.642	$\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$
Διαλυτότητα στο νερό (Chen; Ding, 2012)	$1.11\cdot 10^{-11} - 1.8\cdot 10^{-20}$	M
Διαλυτότητα στο τολουόλιο (Sivaraman et al., 1992)	2150	$\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$
Κρυσταλλική μορφή	Πεντάγωνα και εξάγωνα	-
Πυκνότητα (Open Chemistry Database)	1.65	$\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$
$\log(Kow)$ (Open Chemistry Database)	6.67	-

Είναι ιδιαίτερα σημαντικό να αναφερθεί ότι το φουλλερένιο C_{60} έχει μελετηθεί ως προς την ικανότητα μεταφοράς ρύπων που παρουσιάζει. Αναλυτικότερα, λόγω της ιδιαίτερης μορφής του το μόριο εγκλωβίζει στο εσωτερικό του ρύπους και τους μεταφέρει καθ' όλη την πορεία που δύναται να ακολουθήσει με βάσει τις συνθήκες που συναντά. Τα μόρια που σχηματίζονται καλούνται ενδοφουλλερένια και έχουν κεντρίσει το ενδιαφέρον του επιστημονικού κόσμου. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον εκδηλώνεται από τον τομέα της βιοϊατρικής, καθώς τα ενδοφουλλερένια θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν για την μεταφορά φαρμακευτικών ουσιών, οι οποίες θα απελευθερώνονται στις κατάλληλες συνθήκες. Βέβαια, αναλογιζόμενοι το περιβάλλον, γίνεται αντιληπτό ότι αυτή η ικανότητα του C_{60} μπορεί να συμβάλει στην μεταφορά ρυπογόνων ουσιών και απελευθέρωσή τους, όταν οι συνθήκες το ευνοούν, σε αυτό με αρνητικές επιδράσεις στη φύση και τον άνθρωπο. Μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί έχουν αποδείξει το εγκλωβισμό στο μόριο C_{60} των μορίων H_2O , H_2 , N_2 και HeN και του ατόμου He σε κλειστό μόριο ((Kurotobi; Murata, 2011),(Murata et al.,2003)) και μορίων CO , CH_4 και N_2 και του ατόμου N σε ανοιχτό μόριο ((Shi et al., 2013),(Suetsuna et al., 2002).

Μια από τις σημαντικότερες φυσικοχημικές ιδιότητες των φουλλερενίων είναι η τάση τους να υποστούν συσσωμάτωση, οδηγώντας στον σχηματισμό σφαιρικών συσσωματωμάτων ή ομάδων. Αυτά τα συσσωματώματα έχουν διαφορετικές διαμέτρους στο εύρος των 10-100 nm. Επί του παρόντος, η επίδραση της συσσωμάτωσης έχει μελετηθεί εκτενώς σε σχέση με τις κινητικές της συγκέντρωσης και της κατανομής ισορροπίας των φουλλερενίων C_{60} . (Prylutskyy et al., 2013).

1.4.4 Περιβαλλοντική τύχη

Το nC_{60} μπορεί να βρίσκεται ελεύθερο στη φύση ή να απελευθερωθεί μέσω ανθρωπογενών παραγόντων στο περιβάλλον και πιο συγκεκριμένα μέσω καθαριστικών προϊόντων και προϊόντων προσωπικής φροντίδας, όπως κρέμες και αντηλιακά.

1.4.4.1 Περιβαλλοντική τύχη του nC_{60} στο έδαφος

Βασικές διεργασίες για την μελέτη του nC_{60} στο έδαφος είναι η ρόφηση, η εκρόφηση, η βιοαποδόμηση και η πρόσληψή του από τα φυτά. Πρόσφατη μελέτη (Narasimha, 2010) παρουσιάζει ότι η ρόφηση του nC_{60} σε εδάφη τύπου μάργας είναι πολύ υψηλή σε σχέση με αυτή σε αμμοπηλώδη και λασπώδη εδάφη. Αντίθετα, μέγιστη εκρόφηση παρατηρήθηκε σε αμμοπηλώδη εδάφη. Όσον αφορά την απορρόφηση στα φυτά αποδείχθηκε πολύ χαμηλή (<10%), με περισσότερη συγκέντρωση στη ρίζα των φυτών. Τα αποτελέσματα που σχετίζονται με την βιοαποδόμηση δεν ήταν σαφή και δεν ήταν δυνατή η εξαγωγή γενικού συμπεράσματος. (Narasimha, 2010)

1.4.4.2 Περιβαλλοντική τύχη του nC_{60} με τη μορφή αεροζόλ

Σημαντικό τομέα εξέτασης αποτελεί και η μεταφορά του nC_{60} με τη μορφή αεροζόλ. Τα αεροζόλ είναι λεπτά σωματίδια στερεού ή υγρού, τα οποία είναι διασπαρμένα σε αέρα ή αέριο. Το nC_{60} έχει τη ικανότητα να σχηματίζει φιλμ στην διεπιφάνεια νερού-αέρα, γεγονός που παρουσιάζει την τάση των φουλλερενίων να συσσωματώνονται σε αυτή την διεπιφάνεια ((Back; Lennox, 1992), (Obeng; Bard, 1991)). Μελέτες έχουν αποδείξει ότι παρατηρούνται υψηλές συγκεντρώσεις φουλλερενίων υπό τη μορφή αεροζόλ σε περιοχές με υψηλή βιομηχανική δραστηριότητα κατά μήκος της Μεσογείου (Sanchís et al., 2011). Γεννιέται, λοιπόν, ένας τομέας που αφορά την μεταφορά των φουλλερενίων από υδατικά μέσα, όπως η θάλασσα, στην ατμόσφαιρα με τη μορφή αεροζόλ. Σύμφωνα με τους Donaldson και Vaida (Donaldson; Vaida, 2006), το αεροζόλ που προέρχεται από την θάλασσα δημιουργείται από την καταστροφή των φυσαλίδων που έχουν παραχθεί όταν οι συνθήκες οδηγούν σε σχηματισμό κυμάτων. Συνεπώς, το nC_{60} δύναται να μεταφερθεί στην ατμόσφαιρα.

1.4.4.3 Φωτολυτική τύχη του nC_{60} στο υδάτινο περιβάλλον

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η φωτολυτική τύχη του μορίου C_{60} στο υδάτινο περιβάλλον, η οποία αποτελεί το αντικείμενο έρευνας της παρούσας εργασίας. Επιλέγεται η παράθεση των στοιχείων που προκύπτουν από ανάλογες έρευνες και εν συνεχεία στα κεφάλαια 'Πειραματικό μέρος' και 'Συμπεράσματα' παρατίθενται τα αποτελέσματα τις παρούσας έρευνας και πραγματοποιείται σύγκρισή τους με τα παρακάτω.

Σύμφωνα με την έρευνα και το δημοσιευθέν άρθρο των Hotze, Labille, Alvarez και Wiesner (Hotze et al., 2008), το nC_{60} αποτελεί φωτο-ευαισθητοποιητή που παράγει ενεργές οξυγονούχες ενώσεις υπό την παρουσία φωτός. Στην ίδια έρευνα γίνεται αναφορά στην δυνατότητα του μορίου να μεταφέρει ενέργεια φωτός για την πραγματοποίηση της διαδικασίας της οξειδωσης και όταν η μεταφορά πραγματοποιείται προς ένα άτομο οξυγόνου, το αποτέλεσμα είναι η δημιουργία ενός μορίου οξυγόνου. Επίσης, έχει αποδειχθεί ότι υπό τη μορφή υδατικού διαλύματος και με έντονη ανάμειξη το μέγεθος των σφαιρικών σωματιδίων nC_{60} μειώνεται με την επίδραση του φωτός (Li et al., 2009). Έχει παρατηρηθεί ότι η αντίδραση υδατικού διαλύματος nC_{60} με το φως έχει ως αποτέλεσμα τον σχηματισμό υδατοδιαλυτών παραγώγων (Hou et al., 2010). Επιπροσθέτως, ακτινοβολία σε μήκος κύματος μεγαλύτερο ή ίσο των 400 nm οδηγεί σε φωτομετροπή του μορίου και παραγωγή μοριακού οξυγόνου (Hou et al., 2010). Βέβαια, για την διεξαγωγή πειραμάτων, ακτινοβολία φωτός κάτω από 300 nm προσδίδει ορθά αποτελέσματα για μηχανικά συστήματα, ενώ άνω των 300 nm είναι πιθανόν να είναι λιγότερο αποτελεσματική για την ευαισθητοποίηση των μορίων nC_{60} (Hotze et al., 2008). Αυτό επιβεβαιώνεται και από μετέπειτα έρευνα που παρατηρήθηκε, με βάση την οποία η απορρόφηση φωτός από τα μόρια σε μήκος κύματος μικρότερο από το φάσμα του ορατού (400 nm- 800 nm) είναι μεγαλύτερη και αυξάνεται καθώς μειώνεται η ακτινοβολία, με αποτέλεσμα να προκύπτουν τιμές καλύτερα αξιοποιήσιμες και μετρήσιμες από τα όργανα (Hou et al., 2010). Η τιμές συνήθως αναφέρονται σε εμβαδόν που παρουσιάζεται σε όργανα όπως όργανα υγρής χρωματογραφίας.

Το 2009 δημοσιεύθηκε μια έρευνα όπου για πρώτη φορά παρουσιάστηκαν στοιχεία που αποδεικνύουν την ανοργανοποίηση του φουλλερενίου C_{60} κάτω από περιβαλλοντικές συνθήκες μέσω άμεσης φωτόλυσης (Kong et al., 2009). Διαλυμένος οργανικός άνθρακας ορίστηκε ως το βασικό προϊόν της φωτόλυσης, αλλά τα αποτελέσματα της έρευνας έδειξαν ότι αντιδράσεις που περιλαμβάνουν διάχυση σε υδατικό διάλυμα μοριακού οξυγόνου, υπεροξειδίου και φουλλερενίου είναι πολύ αργές υπό την παρουσία φωτός (Kong et al., 2009). Στην ίδια έρευνα παρατηρήθηκε εξάρτηση του pH του διαλύματος με το βαθμό φωτοδιάσπασης.

Επομένως, η φωτόλυση εξαρτάται και από την παρουσία διαλυμένου οξυγόνου στο δείγμα. Η παραγωγή μονήρους οξυγόνου σε συνδυασμό με την ακτινοβόληση επιταχύνει την διαδικασία αυτή. Τα φουλλερένια, λοιπόν, παράγουν μονήρες οξυγόνο, O_2 , κατά την ακτινοβόληση και ο σχηματισμός του ακολουθεί δυο στάδια:

- i. Μεταφορά e^- που οδηγεί στην παραγωγή O_2^-
- ii. Μεταφορά ενέργειας που οδηγεί στη δημιουργία O_2

Δεδομένου ότι η φωτόλυση του nC_{60} εξαρτάται από την παρουσία μονήρους οξυγόνου, έρευνες παρουσιάζουν την επίδρασή του σε σύγκριση με το pH του εξεταζόμενου διαλύματος. Αναλυτικότερα, σύμφωνα με την έρευνα των Kong και Zerr (Kong; Zerr, 2012), η παραγωγή μονήρους οξυγόνου εξαρτάται από το pH. Έχει παρατηρηθεί υψηλή παραγωγή O_2 σε όξινο pH, ενώ χαμηλότερη σε ουδέτερο και βασικό pH.

Επιπλέον, η παραγωγή μονήρους οξυγόνου από το nC_{60} ενισχύεται εν μέρει από φθορίζον φωτοπροϊόντα, τα οποία συσσωρεύονται κατά τη διάρκεια της ακτινοβόλησης. Γίνεται αντιληπτό ότι περιβαλλοντικές συνθήκες, όπως η παρουσία φωτός, επηρεάζουν την παραγωγή ενεργών προϊόντων οξυγόνου και οδηγούν στην ταχύτερη φωτόλυση του nC_{60} . (Kong; Zerr, 2012)

Αξίζει να σημειωθεί ότι η φωτόλυση του nC_{60} υποδηλώνει μεταβολή της ηλεκτρονιακής δομής του φουλλερενίου. Αυξημένο αρνητικό δυναμικό συσχετίζεται με την αυξημένη απώθηση μεταξύ του nC_{60} και των παραγόμενων προϊόντων κατά τη φωτόλυση, γεγονός που οδηγεί σε αυξημένη από-συσσωμάτωση του nC_{60} κατά τη διάρκεια της αντίδρασης (Lee et al., 2009). Βέβαια, αξίζει να σημειωθεί ότι ο ακριβής μηχανισμός δεν είναι γνωστός. Σύμφωνα με την έρευνα των Lee et al. (Lee et al., 2009), κατά την φωτόλυση τα συσσωματώματα διασπώνται εξαιτίας της UV ακτινοβολίας σε πιο υδρόφιλες μορφές.

Επιπροσθέτως, κινητικές μελέτες (Kong et al., 2013) παρουσιάζουν την έναρξη φωτο-αντιδράσεων του διαλύματος με άλας, NaCl, εξαιτίας της ακτινοβολίας και ιδιαίτερα παρεμπόδιση της αποδόμησης του nC_{60} υπό την παρουσία φωτός. Η παρεμπόδιση αυτή συμβαίνει μέσω ενός στατικού μηχανισμού που περιλαμβάνει τα μόρια του άλατος προσροφημένα στην επιφάνεια του nC_{60} . Η παρουσία άλατος οδηγεί σε διεγερμένη τριπλή κατάσταση των ηλεκτρονίων, η οποία συμβάλει στις φωτολυτικές αντιδράσεις, όμως η εγγύτητα των συσσωματωμάτων nC_{60} σε συνδυασμό με την παρουσία άλατος έχει ως αποτέλεσμα της καταστροφής της ενδομοριακής τριπλέτας (τριπλής κατάστασης), με συνέπεια τη μείωση της ζώνης της φωτο-διεγερμένης τριπλέτας. Το φαινόμενο αυτό έχει ως αποτέλεσμα την μείωση της κβαντικής απόδοσης της διεγερμένης κατάστασης και των διαδικασιών που λαμβάνουν χώρα, όπως η μεταφορά ενέργειας από τη διεγερμένη τριπλέτα nC_{60} σε οξυγονούχα παράγωγα. (Kong et al., 2013). Αξίζει να σημειωθεί πως σε μια

συγκέντρωση άλατος, γνωστή ως κρίσιμη συγκέντρωση πήξης (CCC), η απωθητική ισχύ από αρνητικό φορτίο των συσσωματωμάτων nC_{60} εξουδετερώνεται πλήρως υπό την παρουσία άλατος. Σε αυτό το σημείο η ταχύτητα συσσωμάτωσης γίνεται μέγιστη με αποτέλεσμα την παρεμπόδιση αποδόμησης του nC_{60} .

Τέλος, σύμφωνα με την έρευνα των Lee et al. (Lee et al., 2009), κατά τη φωτόλυση του φουλλερενίου C_{60} η ποσότητα ολικού οργανικού άνθρακα δεν μειώνεται. Πιο συγκεκριμένα, το nC_{60} μπορεί να οξειδωθεί σε CO και CO₂ και τα προϊόντα που δύναται να παραχθούν κατά τη διαδικασία της φωτόλυσης διατηρούν δομή με βάση τον άνθρακα.

Είναι αδήριτη ανάγκη να σημειωθεί πως η έρευνες που αφορούσαν τη φωτολυτική τύχη του nC_{60} πραγματοποιήθηκαν σε εργαστηριακό επίπεδο με την κατασκευή διαλυμάτων με υπερκάθαρο νερό, ενώ στη φύση το νερό των ποταμών και θαλασσών αποτελεί πιο πολύπλοκη μήτρα. Γι' αυτό στην παρούσα έρευνα εξετάστηκαν και δείγματα από θάλασσα, ποτάμι και βιολογικό καθαρισμό.

1.4.5 Τοξικότητα

Η τοξικότητα του nC_{60} αποτελεί μια πρόκληση για τον επιστημονικό κόσμο, καθώς είναι ένας τομέας που είναι ακόμα υπό έρευνα. Έχει αποδειχθεί ότι η *in vitro* τοξικότητα των φουλλερενίων σχετίζεται με την ικανότητά τους να σχηματίζουν συσσωματώματα (Prylutskyy et al., 2013). Σημειώνεται, πως με τον όρο *in vitro* νοείται η τεχνική της διεξαγωγής πειραμάτων κάτω από ελεγχόμενες συνθήκες και όχι σε ζωντανούς οργανισμούς.

Η τοξικότητα των παραγώγων του nC_{60} των φυσικών συστημάτων, από βακτήρια σε ανθρώπινο οργανισμό, πιθανόν να ενεργοποιείται από την αλληλεπίδρασή τους με την επιφάνεια των κυττάρων. Συνεπώς, ποικίλες διάμετροι των συσσωματωμάτων σε υδατικά εναιωρήματα σε συνδυασμό με τις φυσικοχημικές ιδιότητες του nC_{60} μπορούν να επηρεάσουν την βιολογική αντίδραση του εκάστοτε οργανισμού. Αναλυτικότερα, το μέγεθος, οι χημικές ιδιότητες της επιφάνειας του μορίου C_{60} και το επιφανειακό του φορτίο έχουν αναγνωριστεί ως ιδιότητες του C_{60} φουλλερενίου που δύναται να επηρεάσουν την τοξικότητά του απέναντι σε βακτηριακά κύτταρα. (Deryabin et al., 2015).

Σύμφωνα με την έρευνα των Perez et al. (Perez et al., 2009), κάτω από ορισμένες συνθήκες το nC_{60} μπορεί να διαπεράσει την κυτταρική μεμβράνη των οργανισμών προκαλώντας επιβλαβής συνέπειες, όπως φλεγμονώδεις και ινωτικές αντιδράσεις.

Όπως αναφέρθηκε στο κεφάλαιο 1.4.4.3 'Φωτολυτική τύχη του C_{60} στο υδάτινο περιβάλλον', ο ρυθμός αποδόμησης του φουλλερενίου C_{60} υπό την παρουσία

φωτός εξαρτάται από την παρουσία οξυγόνου και την παραγωγή μονήρους οξυγόνου, O_2 . Η μείωση μονήρους οξυγόνου μπορεί να οδηγήσει στην παραγωγή ριζών ανιόντος υπεροξειδίου, το οποίο είναι εξαιρετικά τοξικό ιδιαίτερα υπό την παρουσία ιόντων μετάλλων. (Kong; Zepp, 2012)

1.4.6 Ιατρικές εφαρμογές

Το φουλλερένιο C_{60} παρουσιάζει σημαντικές φωτολυτικές, ηλεκτροχημικές και φυσικές ιδιότητες, οι οποίες μπορούν να αξιοποιηθούν σε ποικίλους ιατρικούς τομείς. Το nC_{60} έχει τη δυνατότητα να εισχωρήσει στην υδρόφοβη κοιλότητα των πρωτεασών HIV, αναστέλλοντας την πρόσβαση των υποστρωμάτων στην καταλυτική θέση του ενζύμου. Αξίζει να σημειωθεί πως οι πρωτεάσες, γνωστές και ως πρωτεϊνάσες, αποικοδομούν τις πρωτεΐνες ενεργοποιώντας τη δράση πρωτεολυτικών ενζύμων. Επιπροσθέτως, το nC_{60} μπορεί να χρησιμοποιηθεί ώστε να πραγματοποιηθεί η συλλογή ελευθέρων ριζών και να δράσει ως αντιοξειδωτικό. (Bakry et al., 2007)

Παράλληλα, στην περίπτωση έκθεσης του μορίου C_{60} στο φως, το μόριο παράγει μονήρες οξυγόνο. Η δράση αυτή, σε συνδυασμό με την άμεση μεταφορά ηλεκτρονίων από διεγερμένη κατάσταση των μορίων C_{60} και των βάσεων του DNA, μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη διάσπαση του DNA. Επίσης, τα φουλλερένια C_{60} έχουν αξιοποιηθεί ως φορείς συστήματα γονιδίων και μεταφοράς φαρμακευτικών ουσιών. (Bakry et al., 2007)

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η αντι-ικική δράση του nC_{60} και των παραγώγων του, που βασίζεται σε ποικίλες βιολογικές δραστηριότητες, όπως η μοναδική αρχιτεκτονική του δομή και η αντιοξειδωτική δράση του. Το nC_{60} και τα παράγωγά του μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε σημαντικές εφαρμογές για την θεραπεία της λοίμωξης του ιού της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας (HIV), ο οποίος είναι υπεύθυνος για την εμφάνιση του συνδρόμου της επίκτητης ανοσοανεπάρκειας (AIDS). Τα παράγωγα του C_{60} έχουν την ικανότητα να αναστέλλουν την δράση του HIV και να δημιουργούν σύμπλοκα με πρωτεάσες του HIV. (Bakry et al., 2007)

Κρίνεται ωφέλιμο να αναφερθεί ότι το nC_{60} είναι ιδιαίτερα αποτελεσματικός φωτο-ευαίσθητοποιητής για την θανάτωση καρκινικών κυττάρων με ταχεία απόπτωση τους έπειτα από φωτισμό. Επίσης, χρησιμοποιείται ως κυτταροπροστατευτικό ενάντια σε ακτίνες UV-A ακτινοβολίας (320-400 nm), οι οποίες δύναται να οδηγήσουν σε βλάβη ακόμη και νέκρωση των κυττάρων. (Bakry et al., 2007)

Σημειώνεται ότι το nC_{60} προστατεύει τα κύτταρα από το οξειδωτικό στρες. Πιο συγκεκριμένα, παρεμποδίζει την καταστροφή ελεύθερων ριζών μέσω της συλλογής

τους με την ικανότητά του να εγκλωβίζει ουσίες στο εσωτερικό του. (Kong; Zerr, 2012)

1.4.7 Νομοθεσία

Είναι επιβαλλόμενη ανάγκη να θεσπίζονται νομοθετικά όρια για τις επιτρεπόμενες συγκεντρώσεις ουσιών που δύναται να καταλήξουν στο περιβάλλον από ανθρώπινες δραστηριότητες. Λόγω, όμως, έλλειψης πληροφοριών για τα φουλλερένια δεν υπάρχει ακριβής νομοθεσία. Κρίνεται ωφέλιμο να πραγματοποιηθεί έρευνα επικινδυνότητας για κάθε νανοϋλικό, γεγονός που καθιστά την διαδικασία αυτή ιδιαίτερα χρονοβόρα και πολυδάπανη. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα να τίθεται το περιβάλλον και κατά συνέπεια και ο άνθρωπος σε πιθανό κίνδυνο.

2 Σκοπός και αναγκαιότητα έρευνας

Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι η μελέτη της φωτολυτικής τύχης του nC_{60} σε πρότυπα και περιβαλλοντικά υδατικά δείγματα μέσω της έκθεσής τους σε UV ακτινοβολία στα 254 nm (UV-C). Η πειραματική διαδικασία αποτελείται από δυο σκέλη. Στο πρώτο σκέλος, εξετάζεται η συμπεριφορά του nC_{60} κατά τη διάρκεια φωτόλυσής του, σε συγκεκριμένα χρονικά διαστήματα, σε πρότυπα υδατικά διαλύματα συναρτήσει ποικίλων παραμέτρων, όπως το pH του διαλύματος, η ύπαρξη άλατος με προσθήκη χλωριούχου νατρίου, η προσθήκη βουτανόλης, νιτρικών ιόντων και χουμικών οξέων. Σε δεύτερο επίπεδο, μελετάται η φωτόλυση του nC_{60} σε σύνθετα υδατικά διαλύματα και αναλυτικότερα σε δείγματα θαλάσσης, ποταμού και εκροής βιολογικού καθαρισμού. Τέλος, στόχος αποτελεί και ο προσδιορισμός της κινητικής της φωτοδιάσπασης για κάθε εξεταζόμενο παράγοντα.

Η αναγκαιότητα της παρούσας έρευνας έγκειται στο γεγονός ότι τα φουλλερένια και ειδικότερα το C_{60} χρησιμοποιούνται σε ποικίλους τομείς της ζωής του ανθρώπου και η φωτολυτική τους τύχη είναι μείζονος σημασίας. Μερικές εφαρμογές τους είναι στην ιατρική για χορήγηση φαρμάκων, στην μηχανική για την εφαρμογή αισθητήρων και σε ηλεκτρονικές και φωτονικές διατάξεις, στην βιομηχανία ως συστατικό χρωστικών ουσιών και στην φαρμακοβιομηχανία ως υλικό καλλυντικών προϊόντων (van Wezel et al., 2011). Τα περισσότερα απόβλητα των αναφερθέντων εφαρμογών καταλήγουν σε υδάτινα οικοσυστήματα στα οποία έχουν άμεση πρόσβαση οι άνθρωποι καθώς και η χλωρίδα και η πανίδα του οικοσυστήματος. Η εισροή του nC_{60} στα υδάτινα οικοσυστήματα έχει ως αποτέλεσμα να έρχονται σε άμεση επαφή με το ηλιακό φως. Επομένως, αποτελεί αδήριτη ανάγκη ο προσδιορισμός της συμπεριφοράς του nC_{60} υπό την παρουσία φωτός.

3 Πειραματικό μέρος

3.1 Αντιδραστήρια και όργανα

Τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα έρευνα είναι τα εξής:

- Φουλλερένιο C₆₀ σε μορφή σκόνης και ποσότητας 1.5 gr, καθαρότητας 99.5% του οίκου Sigma-Aldrich (Steinheim, Germany)
- Τολουόλιο καθαρότητας >99.5% του οίκου Sigma-Aldrich (Steinheim, Germany)
- Οκτανόλη (octanol-1) καθαρότητας >99.0% του οίκου Sigma-Aldrich (Steinheim, Germany)
- Ακετονιτρίλιο καθαρότητας 99.9% του οίκου Sigma-Aldrich (Steinheim, Germany)
- Όξινο φωσφορικό κάλιο καθαρότητας >98.0% του οίκου Sigma-Aldrich (Steinheim, Germany)
- Οξικό οξύ καθαρότητας $\geq 99.0\%$ του οίκου Sigma-Aldrich (Steinheim, Germany)
- Υδροχλωρικό οξύ καθαρότητας $\geq 99.999\%$ του οίκου Sigma-Aldrich (Steinheim, Germany)
- Οξικό νάτριο του οίκου Merch (Darmstadt, Germany)
- Υδροξείδιο του νατρίου του οίκου Merch (Darmstadt, Germany)
- Χλωριούχο νάτριο του οίκου Panreac (Barcelona, Spain)
- Ορθοφωσφορικό οξύ καθαρότητας 85.0% του οίκου Riedel de Haën (Seelze, Germany)
- Νιτρικό κάλιο καθαρότητας $\geq 99.0\%$ του οίκου Fluka (Steinheim, Germany)
- Βουτανόλη (Butan-1-ol) του οίκου Lab-Scan (Dublin, Ireland)

Τα όργανα που χρησιμοποιήθηκαν είναι τα εξής:

- Φασματοφωτόμετρο UV-vis Perkin Elmer με λογισμικό Lambda 25
- Φασματοφωτόμετρο UVmini-1240 της εταιρείας Shimadzu, Japan
- Μαγνητική πλάκα ανάδευσης Heidolph MR Hei-standard
- Συσκευή vortex Reax Control 2500 rpm (Heidolph, Germany)
- Αντλία κενού
- Φίλτρο πόρων 1 μm , διαμέτρου 47 mm, Whatman - GE healthcare, Little Chalfont, UK
- LC-DAD του οίκου Agilent Technologies σειράς 1200 Series με λογισμικό ChemStation με στήλη Betasil C18 με L x I.D. (μήκος x εσωτερική διάμετρο): 100 mm x 2.1 mm του οίκου Thermo Scientific, USA

- Ανιχνευτής μάζας LC/MS 6110 Single Quadrupole Detector της εταιρείας Agilent
- Όργανα παρασκευής υπερκάθαρου νερού EASYpure RF και EASYpure II της εταιρείας Barnstead
- Ζυγός Precisa XT 120A
- Φυγόκεντρος Labofuge 400 Heraeus, Kendro Laboratory Products, (Germany)
- Αυτοσχέδια συσκευή φωτόλυσης διαστάσεων 28 cm x 28 cm x 28 cm με δυο λάμπες 8 W (pressure mercury lamps) ακτινοβολίας 254 nm

3.2 Παρασκευή stock διαλυμάτων

Το υδατικό διάλυμα nC_{60} παρασκευάστηκε ακολουθώντας τη μέθοδο των Chang και Vikesland (Chang; Vikesland, 2011) κατά την οποία χρησιμοποιείται η τεχνική της παρατεταμένης ανάδευσης. Η επιλογή της μεθόδου βασίζεται στο γεγονός ότι προσομοιάζει αποτελεσματικότερα την μετατροπή του C_{60} υπό περιβαλλοντικές συνθήκες από την σωματιδιακή ή εμπορική μορφή στην υδατική μορφή, καθώς αντιστοιχεί σε φυσικές διεργασίες όπως η ανάμειξη με την δράση των κυμάτων και η διάτμηση κατά τη διάρκεια των διαδικασιών ροής. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τον σχηματισμό πιο σταθερών συσσωματωμάτων nC_{60} σε σύγκριση με άλλες μεθόδους, όπως η μέθοδος παρασκευής τολουολικού διαλύματος που περιγράφεται παρακάτω ((Bouchard; Ma, 2008), (van Wezel et al., 2011)).

Αναλυτικότερα, C_{60} υπό τη μορφή μαύρης σκόνης προστέθηκε σε υπερκάθαρο νερό και το μείγμα που προέκυψε αναδευόταν για 30 μέρες σε μαγνητική πλάκα ανάδευσης στα 300 rpm σε σκοτεινό χώρο και σε θερμοκρασία δωματίου, 25 °C. Η συγκέντρωση του διαλύματος ήταν 400 mg·L⁻¹. Την 31^η ημέρα η ανάδευση σταμάτησε και το διάλυμα είχε λάβει ένα έντονο σκούρο καφέ χρώμα. Εν συνεχεία, το διάλυμα υπέστη διήθηση με φίλτρο πόρων 1μm, με αποτέλεσμα να αποκτήσει κίτρινο χρώμα. Το διάλυμα αυτό αποτέλεσε το stock διάλυμα, το οποίο αποθηκεύτηκε σε σκοτεινό χώρο και επικαλυμμένο με αλουμινόχαρτο.

Παρόλο που δεν χρησιμοποιήθηκε για την διεξαγωγή των πειραμάτων, παρασκευάστηκε και τολουολικό διάλυμα διαλύοντας 30 mg C_{60} υπό τη μορφή μαύρης σκόνης σε 50 mL τολουολίου. Το μείγμα τοποθετήθηκε στο ψυγείο σε θερμοκρασία 5 °C. Έπειτα, 10 mL από το διάλυμα που προέκυψε προστέθηκαν σε 40 mL υπερκάθαρο νερό και αφέθηκε για 3 ημέρες ώστε να εξατμιστεί το τολουόλιο. Το διάλυμα διηθήθηκε σε φίλτρο πόρων 1 μm. (van Wezel et al., 2011). Επιλέχθηκε να χρησιμοποιηθεί το υδατικό διάλυμα ώστε να προσομοιάζονται καλύτερα οι πραγματικές συνθήκες.

3.3 Παρασκευή δειγμάτων για ανάλυση

3.3.1 Παρασκευή δειγμάτων για πρώτη σειρά πειραμάτων

Η πρώτη σειρά πειραμάτων αναφέρεται στις αναλύσεις που πραγματοποιήθηκαν για την εξέταση των παραμέτρων pH του διαλύματος, ύπαρξη άλατος, δηλαδή προσθήκη χλωριούχου νατρίου, προσθήκη βουτανόλης, νιτρικών ιόντων και χουμικών οξέων. Με βάση τον νόμο της αραιώσης $C_1 * V_1 = C_2 * V_2$ από το stock υδατικό διάλυμα λαμβανόταν ποσότητα διαλύματος έτσι ώστε να προκύψει τελικό διάλυμα προς εξέταση συγκέντρωσης $200 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$.

Αρχικά, μελετήθηκε η επίδραση του pH στην φωτολυτική τύχη του nC_{60} . Οι τιμές pH που εξετάστηκαν ήταν 3, 6.5 και 10. Για την διεξαγωγή των αναλύσεων για pH 3 και 10 έγινε χρήση ρυθμιστικών φωσφορικών διαλυμάτων.

Εν συνεχεία, μελετήθηκε η επίδραση του άλατος με προσθήκη χλωριούχου νατρίου σε ποσοστό 3.5 % w/v.

Επιπλέον, μια ακόμη παράμετρος που εξετάστηκε ήταν η επίδραση προσθήκης βουτανόλης. Η συγκέντρωση που χρησιμοποιήθηκε ήταν 1 mM.

Η επόμενη εξεταζόμενη παράμετρος ήταν η προσθήκη νιτρικών ιόντων. Χρησιμοποιήθηκε $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ νιτρικού καλίου (KNO_3).

Τέλος, εξετάστηκε η επίδραση χουμικών οξέων. Η συγκέντρωση των χουμικών ήταν $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$.

Οι αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν για χρόνους 0 min, 5 min, 10 min, 15 min και 30 min.

3.3.2 Παρασκευή δειγμάτων για δεύτερη σειρά πειραμάτων

Για την δεύτερη σειρά πειραμάτων εξετάστηκε η φωτόλυση του nC_{60} σε περιβαλλοντικές μήτρες. Αναλυτικότερα, χρησιμοποιήθηκαν δείγματα από την εγκατάσταση βιολογικού καθαρισμού Χανίων πριν το στάδιο της χλωρίωσης, από τον ποταμό Κουλιάρη, ο οποίος εκβάλει στην θάλασσα Κυανή ακτή, και από την Κυανή ακτή. Τα δείγματα υπέστησαν διήθηση πριν από την παρασκευή της απαιτούμενης συγκέντρωσης. Η διήθηση έγινε με φίλτρο πόρων 1 μm . Η συγκέντρωση που μελετήθηκε ήταν 200 $\mu g \cdot L^{-1}$ nC_{60} . Για κάθε μήτρα χρησιμοποιήθηκαν 200 mL.

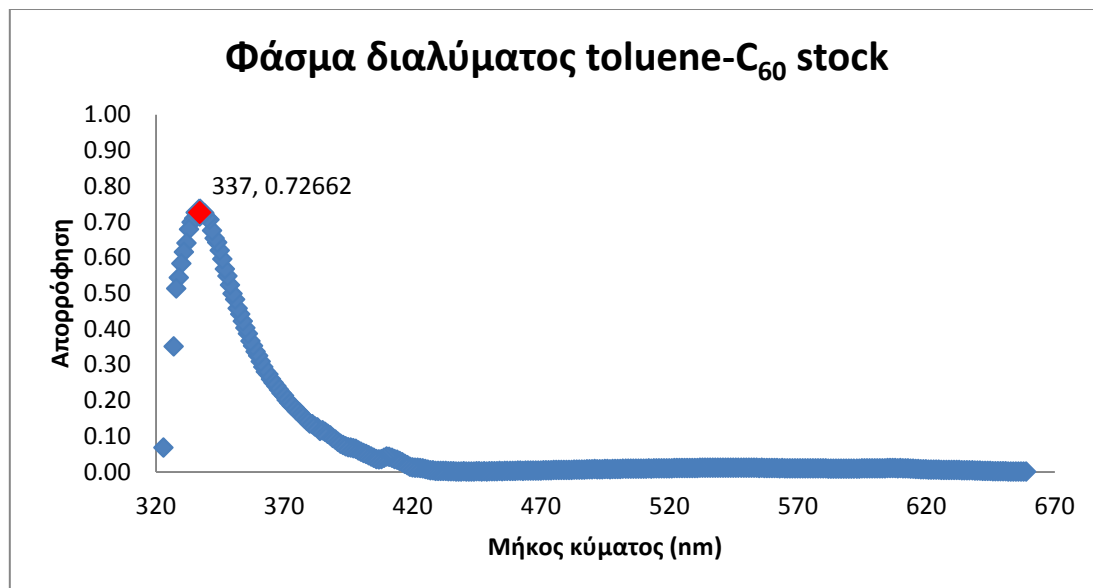
Τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των περιβαλλοντικών μητρών παρουσιάζονται στον πίνακα 2.

Πίνακας 2. Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά περιβαλλοντικών δειγμάτων

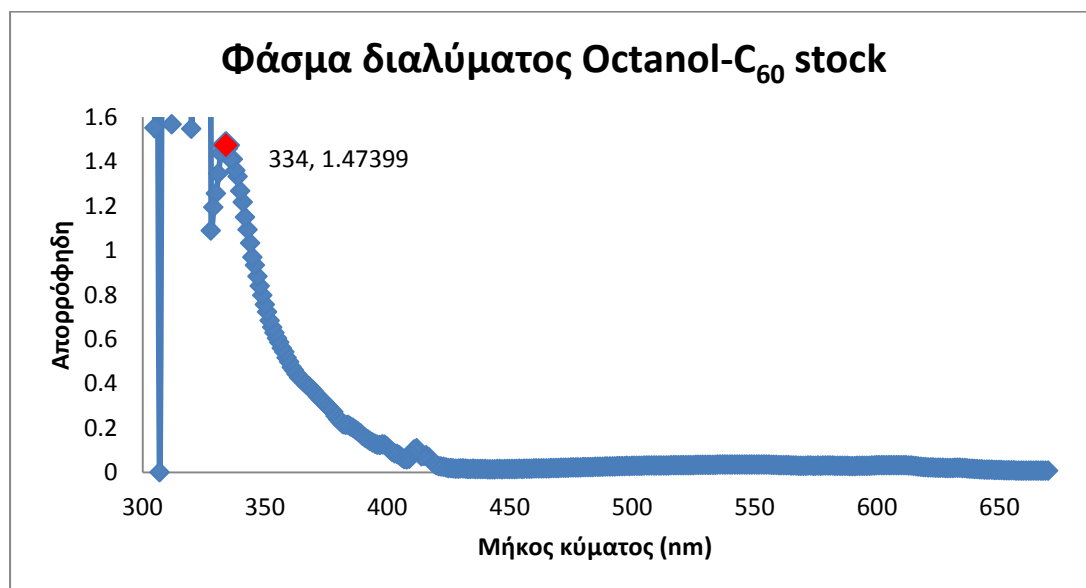
Ιδιότητες	Μονάδες	Θαλασσινό νερό	Νερό Ποταμού	Νερό Εξόδου Βιολογικού Καθαρισμού
Cl^-	$mg \cdot L^{-1}$	21675	246	116.19
SO_4^{2-}	$mg \cdot L^{-1}$	3000	30	64.62
$N-NO_3^-$	$mg \cdot L^{-1}$	0.24	0.680	3.42
$N-NO_2^-$	$mg \cdot L^{-1}$	0.003	0.003	0.072
$P-PO_4^{3-}$	$mg \cdot L^{-1}$	<DL	<DL	0.07
$N-NH_4^+$	$mg \cdot L^{-1}$	0.11	0.120	2.05
HCO_3^-	$mg \cdot L^{-1}$	-	-	225.22
COD (Χημικά απαιτούμενο οξυγόνο)	$mg \cdot L^{-1}$	-	-	16
pH		8.04	8.140	7.34
Αγωγιμότητα	$\mu S \cdot cm^{-1}$	53300	1195	952
Θερμοκρασία	$^{\circ}C$	23.6	23.700	20.1
Αλατότητα	‰	35.2	0.590	0.47
Αντίσταση	$\Omega \cdot cm$	18.70	837	1051
TSS (Total Suspended Solids)	$mg \cdot L^{-1}$	10	3	4
TDS (Total Dissolved Solids)	$mg \cdot L^{-1}$	33800	592	468
DO (Dissolved Oxygen)	$mg \cdot L^{-1}$	8.07	8.020	8.75
Ολικός οργανικός άνθρακας	$mg \cdot L^{-1}$	-	-	10.7

3.4 Περιγραφή μεθόδου ανάλυσης με φασματοφωτόμετρο

Για την λήψη του φάσματος του φουλλερενίου C_{60} χρησιμοποιήθηκε φασματοφωτόμετρο Perkin Elmer σε θερμοκρασία δωματίου $25\text{ }^{\circ}\text{C}$. Οι κυψελίδες που χρησιμοποιήθηκαν ήταν από χαλαζία και διαμέτρου 1 cm . Ανά 1 nm μετρήθηκε το φάσμα σε διαλύτες τολουόλιο, οκτανόλη και υπερκάθαρο νερό. Στα γραφήματα 1 και 2 παρουσιάζεται το φάσμα απορρόφησης τολουολικού και οκτανολικού διαλύματος.



Γράφημα 1. Φάσμα απορρόφησης τολουολικού διαλύματος C_{60} συγκέντρωσης $10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$.

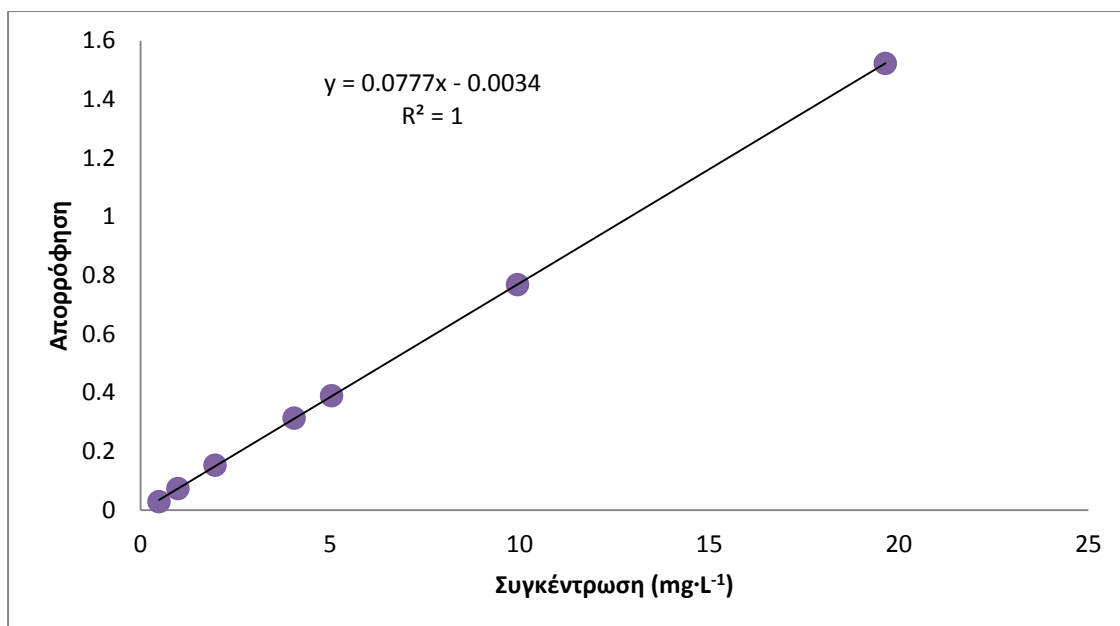


Γράφημα 2. Φάσμα απορρόφησης οκτανολικού διαλύματος C_{60} συγκέντρωσης $26\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$.

Παρατηρείται ότι το φάσμα του φουλλερενίου είναι διαφορετικό για τους διαφορετικούς οργανικούς διαλύτες, γεγονός που οφείλεται στο φαινόμενο του διαλυτοχρωματισμού (solvatochromism). Σύμφωνα με το φαινόμενο του διαλυτοχρωματισμού, μια χημική ουσία, στην παρούσα έρευνα το φουλλερένιο C_{60} , έχει την ικανότητα μεταβολής χρώματος λόγω της αλλαγής της πολικότητας του διαλύτη (Marini et al., 2010). Συνεπώς, με την ανάμειξη του C_{60} σε τολουόλιο, οκτανόλη και υπερκάθαρο νερό μεταβάλλεται η πολικότητά τους και ανιχνεύεται από το φασματοφωτόμετρο διαφορετική τιμή απορρόφησης.

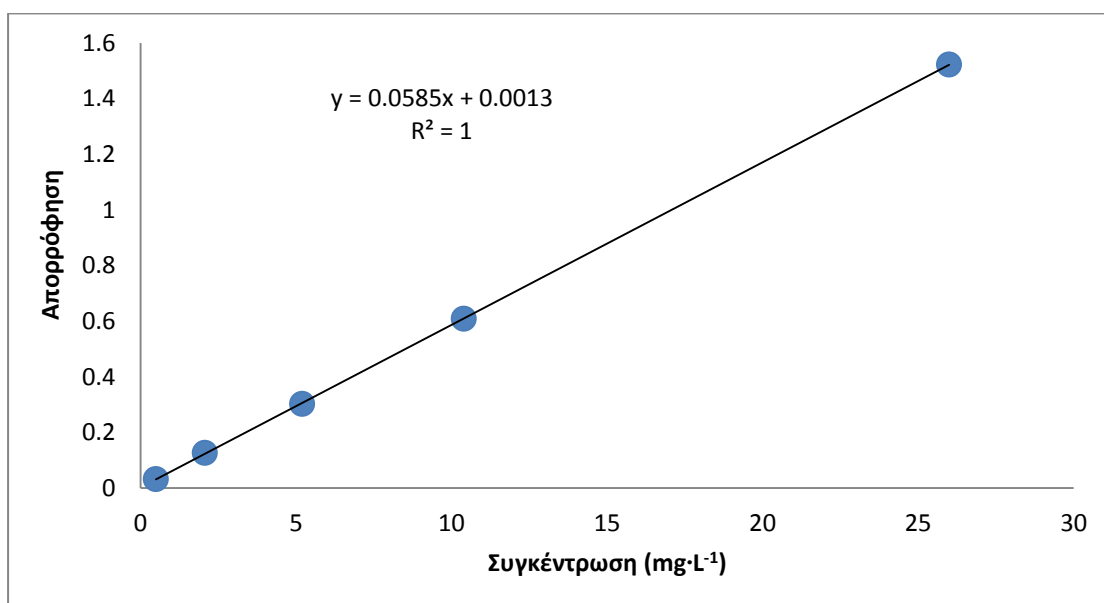
3.5 Περιγραφή μεθόδου μέτρησης της συγκέντρωσης του υδατικού stock διαλύματος nC_{60}

Κατά τη παρασκευή των stock διαλυμάτων κρίθηκε απαραίτητος ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης του υδατικού διαλύματος nC_{60} , η οποία δεν ήταν γνωστή έπειτα από την διαδικασία της διήθησης. Συνεπώς, 5 mL nC_{60} stock, 5 mL διαλύματος 2% χλωριούχου νατρίου (NaCl) και 5 mL τολουολίου υπέστησαν ανάδευση σε μαγνητική πλάκα για 30 min. Στη συνέχεια, το δείγμα που προέκυψε αφέθηκε σε ηρεμία μέχρι να γίνει διαχωρισμός της οργανικής και ανόργανης φάσης. Από την άνω φάση του τολουολίου απομακρύνθηκε ποσότητα ικανή να συμπληρώσει μια κυψελίδα διαμέτρου 1 cm. Η απορρόφηση της ποσότητας μετρήθηκε στο φασματοφωτόμετρο σε μήκος κύματος 337 nm. Η τεχνική αυτή βασίζεται στη βιβλιογραφία και συγκεκριμένα στην μελέτη των Wang, Shang και Westerhoff (Wang et al., 2010). Η τεχνική που παρουσιάζεται στην μελέτη των Wang, Shang και Westerhoff διαθέτει σφάλμα, το οποίο όμως είναι μικρό και δεν επηρεάζει σημαντικά την ακρίβεια των αποτελεσμάτων. Το σφάλμα έγκειται στο γεγονός ότι θεωρείται πλήρης μεταφορά μάζας του C_{60} από την υδατική στην τολουολική φάση. Για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης του τολουολίου χρησιμοποιήθηκε η καμπύλη βαθμονόμησης που παρουσιάζεται στο γράφημα 3. Γίνεται η θεώρηση ότι η συγκέντρωση του υδατικού διαλύματος ισούται με αυτή του τολουολικού λόγω της εκχύλισης με ίδιο όγκο φάσεων.



Γράφημα 3. Καμπύλη βαθμονόμησης τολουολικού διαλύματος (toluene-C₆₀ stock)

Αξίζει να σημειωθεί πως για λόγους ερευνητικούς παρασκευάστηκε και οκτανολικό διάλυμα, το οποίο διέθετε έντονο μωβ χρώμα, και υπολογίστηκε η συγκέντρωσή του κατασκευάζοντας την αντίστοιχη καμπύλη βαθμονόμησης (Γράφημα 4). Η απορρόφηση της ποσότητας μετρήθηκε στο φασματοφωτόμετρο σε ίδιο μήκος κύματος, 337 nm.



Γράφημα 4. Καμπύλη βαθμονόμησης οκτανολικού διαλύματος (octanol-C₆₀ stock)

Θα ήταν εφικτή η χρήση μιας άλλης μεθόδου, η οποία όμως είναι πιο χρονοβόρα και πιθανόν να παρουσιάζει μεγαλύτερο σφάλμα λόγω της αστάθειας των συσσωματωμάτων που δημιουργούν τα φουλλερένια. Αναλυτικότερα, το stock υδατικό διάλυμα θα μπορούσε να ξηρανθεί και να γίνει μέτρηση του βάρους του φίλτρου. Αυτή η διαδικασία λόγω αστάθειας των συσσωματωμάτων κρίνεται απαραίτητο να εφαρμόζεται καθημερινά. Η τεχνική αυτή παρουσιάζεται από τους Chen, Westernoff και Herckes (Chen et al., 2008) και δεν εφαρμόστηκε για την αποφυγή των προαναφερθέντων δυσκολιών.

3.6 Περιγραφή μεθόδου ανάλυσης της φωτόλυσης

Η φωτόλυση πραγματοποιούνταν σε ειδικά διαμορφωμένο χώρο, ο οποίος αποτελεί μια τετράγωνη μεταλλική κατασκευή με διαστάσεις 28 cm x 28 cm x 28cm. Εντός αυτής υπήρχαν δυο λάμπες υδραργύρου UV-C ακτινοβολίας (υπεριώδους ακτινοβολία UV-C: 200-280 nm), 254 nm. Η κάθε λάμπα διέθετε ένταση 8 W (Philips TUV 8 W, G8, T5). 8.5 mL από το εκάστοτε υπό εξέταση διάλυμα τοποθετούνταν σε ειδικό φιαλίδιο από χαλαζία χωρητικότητας 9 mL, το οποίο έκλεινε με ειδική βαλβίδα. Έπειτα, το φιαλίδιο εναποτίθεντο στην κατασκευή φωτόλυσης, όπου παρέμενε για το επιθυμητό χρονικό διάστημα φωτόλυσης. Οι χρόνοι φωτόλυσης ήταν 5 min, 10 min, 15 min και 30 min. Στη συνέχεια, 8 mL από το διάλυμα που είχε υποστεί φωτόλυση τοποθετούνται σε φιαλίδιο των 10 mL, προσαρμόζεται το pH ανάλυσης για την LC-MS και πραγματοποιείται η ανάλυση VALLME (Vortex Assisted Liquid Liquid Mikroextraction), όπως περιγράφετε στο αντίστοιχο κεφάλαιο.

3.7 Περιγραφή μεθόδου εκχύλισης με τη μέθοδο VALLME

Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε για την εκχύλιση του C₆₀ ονομάζεται μέθοδος VALLME (Vortex Assisted Liquid Liquid Microextraction) (Yiantzi et al., 2010). Σύμφωνα με αυτή 50 μ L οκτανόλης εισάγονται σε 8 mL υδατικού δείγματος C₆₀, το οποίο έχει υποστεί φωτόλυση. Η οκτανόλη δρα ως διαλύτης εκχύλισης. Αμέσως μετά την εισαγωγή της οκτανόλης στο διάλυμα, αυτή παίρνει το σχήμα μικροσταγόνας. Έπειτα, το μείγμα ανακινείται με τη βοήθεια vortex δημιουργώντας μια δύνη σε όλο το ύψος του φιαλιδίου και με ταχύτητα στροφών 2500 rpm. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα, πολλές μικρές σταγόνες οκτανόλης να σχηματίζονται ενεργοποιώντας τη μεταφορά του C₆₀ στην οκτανόλη, η οποία αποτελεί σε αυτό το σημείο τον οργανικό δέκτη. Εν συνεχεία, το μείγμα τοποθετείται σε φυγόκεντρο, όπου περιστρέφεται με ταχύτητα 3500 rpm για 2 min. Τελικά, οι δύο φάσεις διαχωρίζονται και η οκτανόλη ανακτά το αρχικό της σχήμα. Χρησιμοποιώντας μια μικροσύριγγα των 100 μ L, συλλέγονται 30 μ L οκτανόλης και διαβιβάζονται προς ανάλυση στην LC-MS.

3.8 Περιγραφή μεθόδου ανάλυσης της LC-MS

Για τις αναλύσεις της παρούσας έρευνας, χρησιμοποιήθηκε ένα σύστημα υγρής χρωματογραφίας, LC, που κατασκευάστηκε από την Agilent Technologies. Το σύστημα περιλαμβάνει έναν ανιχνευτή σάρωσης υπεριώδους ακτινοβολίας UV-DAD (Diode Array Detector) με αντλία δυο διαλυτών, σύστημα έκχυσης και θερμοστάτη για εύρος θερμοκρασίας 4-40 °C. Επίσης, το σύστημα διαθέτει έναν ανιχνευτή μάζας Agilent LC/MS 6110 με μονό τετραπολικό ανιχνευτή και πολύτροπη πηγή.

Τα δείγματα αναλύθηκαν σε μια στήλη C18 Betasil με L x I.D. : 100 mm x 2.1 mm, μέγεθος σωματιδίων 5 μ m και μέγεθος πόρου 100 Å (Thermo Scientific, USA). Χρησιμοποιήθηκε 60:40 (%) τολουόλιο:ακετονιτρίλιο ως μια ισοκρατική κινητή φάση με παροχή 0.25 mL·min⁻¹ και σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Η ουσία εκλουόταν στα 3.9-4 min. Ο όγκος έκχυσης ήταν 20 μ L και η ανίχνευση επιτεύχθηκε με τον ανιχνευτή DAD σε μήκος κύματος λειτουργίας τα 337 nm. Η ποσοτικοποίηση επιτεύχθηκε χρησιμοποιώντας τη μέθοδο εξωτερικού προτύπου βαθμονόμησης. Δείγματα οκτανόλης (blank) τοποθετούνταν περιοδικά για ανάλυση για να επιβεβαιώσουν την μη ύπαρξη υπολειμμάτων από προηγούμενη ανάλυση.

Ο ανιχνευτής μάζας, MS, λειτουργούσε με επιλογή αρνητικών ιόντων και λόγο μάζας προς φορτίο m/z=720.

3.9 Προσαρμογή pH για ανάλυση στην LC-MS

Το pH των δειγμάτων κατά τη διάρκεια της φωτόλυσης ήταν 6.5 και ρυθμιζόταν σε pH=4 για την ανάλυση στην LC-MS. Η ρύθμιση γινόταν προσθέτοντας στο φωτολυθέν διάλυμα C₆₀ των 8 mL 0.55 g οξικού νατρίου, 0.2 g χλωριούχου νατρίου και 0.5 mL οξικού οξέος. Για να εξετασθεί η επίδραση του pH κατά τη διάρκεια της φωτόλυσης χρησιμοποιήθηκαν φωσφορικά ρυθμιστικά διαλύματα συγκέντρωσης 0.05 M σε pH 3 και 10, το pH δεν προσαρμόστηκε για ανάλυση στην LC για όξινα δείγματα, ενώ για τα αλκαλικά προσαρμόστηκε σε pH=5.

Όσον αφορά τα περιβαλλοντικά δείγματα το pH προσαρμόστηκε για ανάλυση στην LC σε pH=3 χρησιμοποιώντας υδροχλωρικό οξύ.

Μετά την κατάλληλη ρύθμιση του pH τα δείγματα αναλύθηκαν χρησιμοποιώντας την μέθοδο εκχύλισης VALLME και εν συνεχεία τοποθετώντας την απαιτούμενη ποσότητα στην LC-MS.

Σημειώνεται ότι οι προσαρμογές του pH πραγματοποιήθηκαν ώστε να είναι εφικτή η λήψη σήματος από την LC-MS εξαιτίας της μικρής μελετώμενης συγκέντρωσης, 200 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$.

3.9.1 Συγκεντρωτικός πίνακας pH ανάλυσης και φωτόλυσης

Όπως προαναφέρθηκε κατά τη διάρκεια των πειραμάτων κρίθηκε αναγκαία η προσαρμογή του pH για τη λήψη καλύτερου σήματος. Οι τιμές παρουσιάζονται στον πίνακα 3.

Πίνακας 3. pH ανάλυσης και pH φωτόλυσης για κάθε εξεταζόμενη παράμετρο

	pH ανάλυσης στην LC	pH φωτόλυσης
200 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ (pH=6.5)	4	6.5
3.5% w:v NaCl	4	6.5
pH=3	3	3
pH=10	5	10
Βουτανόλη 1mM	4	6.5
KNO_3 1 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	4	6.5
Εκροή βιολογικού καθαρισμού	3	7.34
Δείγμα θαλάσσης	3	8.04
Δείγμα ποταμού	3	8.14

4 Αποτελέσματα και συζήτηση

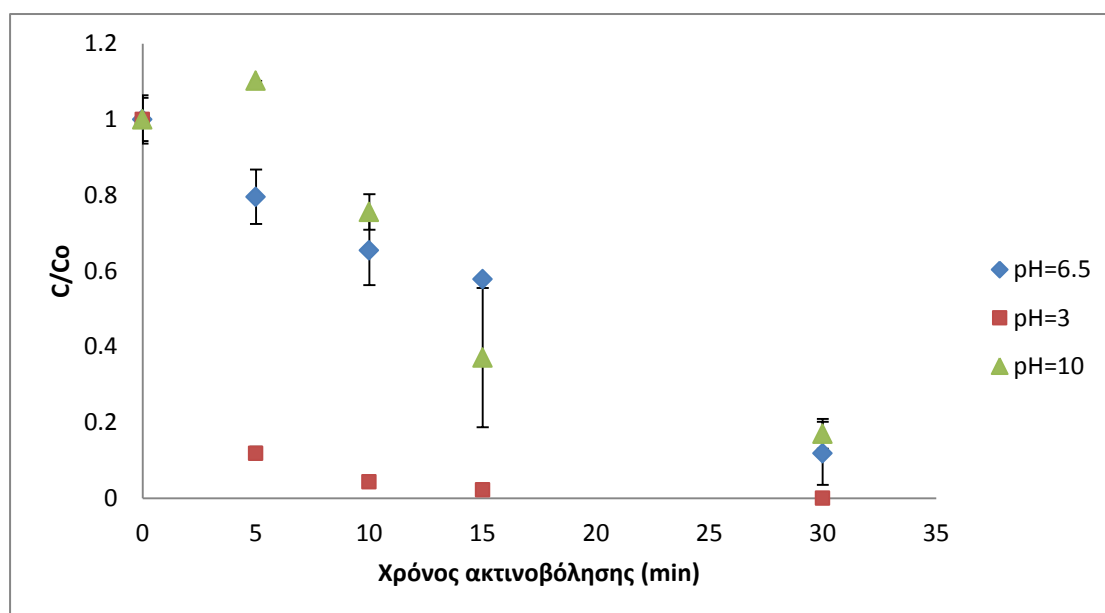
4.1 Φωτόλυση του φουλλερενίου C_{60}

Έχει παρατηρηθεί σχετική σταθερότητα των συσσωματωμάτων C_{60} , nC_{60} , που δημιουργούνται στα υδατικά διαλύματα για μεγάλο χρονικό διάστημα. Το γεγονός αυτό φαίνεται να οφείλεται στην παρουσία αρνητικού σθένους ηλεκτρονίων στην επιφάνεια αυτών των συσσωματωμάτων στο νερό. Αξίζει να σημειωθεί πως ο μηχανισμός σχηματισμού του αρνητικού σθένους δεν είναι πλήρως γνωστός. Πρόσφατες μελέτες παρουσιάζουν ότι ο σχηματισμός των συσσωματωμάτων δύναται να εξηγηθεί από τις υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις μεταξύ του nC_{60} και των μορίων του νερού (Perez et al., 2009). Συνεπώς, η φωτόλυση των φουλλερενίων εξαρτάται σημαντικά από τη συσσωμάτωση των μορίων C_{60} , καθώς παρατηρείται μείωση του nC_{60} , λόγω της αποδυνάμωσης των δεσμών που μπορεί να συμβεί στα συσσωματώματα και οδηγεί στην φωτο-αποδόμησή τους.

Αξίζει να σημειωθεί ότι τα συσσωματώματα nC_{60} παρουσιάζουν διαφορετικές φυσικοχημικές ιδιότητες από τα μόρια C_{60} . Για παράδειγμα, παρόλο που το μοριακό C_{60} φωτο-παράγει μονήρες οξυγόνο, στην έρευνα των Kong και Zerr (Kong; Zerr, 2012) δεν ανιχνεύτηκε παραγωγή ενεργών ειδών οξυγόνου από συσσωματώματα nC_{60} μέσω μετρήσεων συγκέντρωσης O_2 και O_2^- . Αυτό οφείλεται στην αυξημένη φθορά της διεγερμένης τριπλής κατάστασης του nC_{60} , γεγονός το οποίο αποτελεί το έναυσμα για τον σχηματισμό των συσσωματωμάτων.

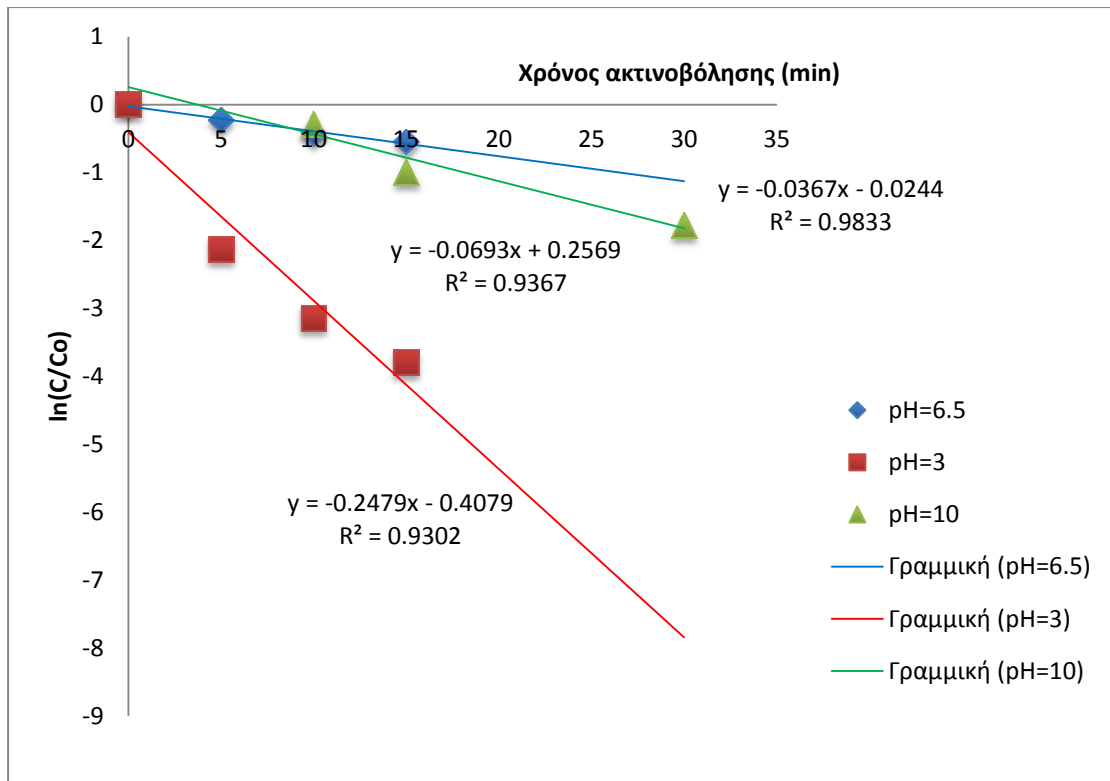
4.1.1 Φωτόλυση του φουλλερενίου C_{60} σε υπερκάθαρο νερό και επίδραση του pH στην φωτόλυση

Από το υδατικό διάλυμα C_{60} παρασκευάστηκε διάλυμα $200 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ σε υπερκάθαρο νερό ($\text{pH}=6.5$), το οποίο φωτολύθηκε στον ειδικά διαμορφωμένο χώρο υπό την επίδραση της υπεριώδους ακτινοβολίας UV-C με μήκος κύματος 254 nm ($2\times 8\text{W}$). Προκειμένου να μελετηθεί η επίδραση του pH στη φωτόλυση του nC_{60} παρασκευάστηκαν δυο ρυθμιστικά διαλύματα με pH 3 και 10. Τα ρυθμιστικά διαλύματα που χρησιμοποιήθηκαν ήταν φωσφορικά συγκέντρωσης 0.05 M . Κατά την επίδραση της υπεριώδους ακτινοβολίας παρατηρήθηκε μείωση της συγκέντρωσης του υδατικού δείγματος nC_{60} στο χρονικό διάστημα των 30 min . Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται γραφικά στο γράφημα 5.



Γράφημα 5. Επίδραση pH στη φωτόλυση υδατικού διαλύματος nC_{60} συγκέντρωσης $200 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$

Πραγματοποιείται ο υπολογισμός των σταθερών της κινητικής κάθε εξεταζόμενης τιμής pH και τους αντίστοιχους χρόνους ημιζωής (Γράφημα 6). Η κινητική της παρατηρούμενης διάσπασης μπορεί να περιγραφεί ως κινητική ψευδο-πρώτης τάξης, καθώς δεν παρουσιάζεται ενιαία κινητική για κάθε περίπτωση εξεταζόμενου pH. Σημειώνεται πως για την εξαγωγή της τάξης της κινητικής τα αποτελέσματα μελετήθηκαν ως προς τη δυνατότητα περιγραφής τους με κινητική μηδενικής, πρώτης και δεύτερης τάξης. Καλύτερη προσαρμογή παρουσίαζαν τα αποτελέσματα για κινητική πρώτης τάξης.



Γράφημα 6. Κινητική ψευδο-πρώτης τάξης της φωτόλυσης του υδατικού διαλύματος nC_{60} συγκέντρωσης $200 \mu g \cdot L^{-1}$ με pH 6.5, 3 και 10

Με βάση το γράφημα 6 και την θεώρηση κινητικής ψευδο-πρώτης τάξης προκύπτουν η σταθερά κινητικής και ο χρόνος ημιζωής:

pH=6.5

$$\ln\left(\frac{C}{C_0}\right) = -0.0367t - 0.0244 \rightarrow \frac{C}{C_0} = e^{(-0.0367t - 0.0244)} \rightarrow$$

$$\rightarrow C = C_0 \cdot e^{(-0.0367t)} \cdot e^{(-0.0244)} \rightarrow C \cong C_0 \cdot e^{(-0.0367t)} (1)$$

Δεδομένου ότι η κινητική είναι ψευδο-πρώτης τάξης ισχύει η εξίσωση $\frac{dC}{dt} = -k \cdot C$ (2) όπου

$$k = 0.0367 \text{ min}^{-1}$$

$$C_0 = 962$$

Η λύση της (2) είναι:

$$\ln\left(\frac{C}{C_0}\right) = -kt + A (3)$$

Όπου A είναι σταθερά και ισούται με $A = -0.0244$ με βάση τη βέλτιστη γραμμή προσαρμογής των αποτελεσμάτων, η οποία παρουσιάζει το σφάλμα που προκύπτει από την γραμμή προσαρμογής.

Ο χρόνος ημιζωής ορίζεται ως τη χρονική στιγμή που η συγκέντρωση της μελετώμενης ουσίας ισούται με το μισή τιμή της αρχικής συγκέντρωσης.

$$C = \frac{C_o}{2} \quad (4)$$

$$C = C_o * e^{-k*t} \quad (5)$$

Από τις εξισώσεις (4) και (5) προκύπτει ότι:

$$\frac{C_o}{2} = C_o * e^{-k*t_{1/2}} \rightarrow t_{1/2} = -\frac{\ln(\frac{1}{2})}{k} = \frac{\ln(2)}{k} = 18.9 \text{ min}$$

pH=3

$$\ln\left(\frac{C}{C_o}\right) = -0.2479t - 0.4079 \rightarrow \frac{C}{C_o} = e^{(-0.2479t - 0.4079)} \rightarrow$$

$$\rightarrow C = C_o \cdot e^{(-0.2479t)} \cdot e^{(-0.4079)} \rightarrow C \cong C_o \cdot e^{(-0.2479t)} \quad (6)$$

Δεδομένου ότι η κινητική είναι ψευδο-πρώτης τάξης ισχύει η εξίσωση $\frac{dC}{dt} = -k \cdot C$ (2) όπου

$$k = 0.2479 \text{ min}^{-1}$$

$$C_o = 587.9$$

Η λύση της (2) είναι:

$$\ln\left(\frac{C}{C_o}\right) = -kt + A \quad (3)$$

Όπου A είναι σταθερά και ισούται με $A = -0.4079$ με βάση τη βέλτιστη γραμμή προσαρμογής των αποτελεσμάτων.

Ο χρόνος ημιζωής ισούται με:

$$t_{1/2} = \frac{\ln(2)}{k} = 2.8 \text{ min}$$

pH=10

$$\ln\left(\frac{C}{C_o}\right) = -0.0693t + 0.2569 \rightarrow \frac{C}{C_o} = e^{(-0.0693t+0.2569)} \rightarrow$$

$$\rightarrow C = C_o \cdot e^{(-0.0693t)} \cdot e^{(0.2569)} \rightarrow C \cong C_o \cdot e^{(-0.0693t)} (7)$$

Δεδομένου ότι η κινητική είναι ψευδο-πρώτης τάξης ισχύει η εξίσωση (2) όπου

$$k = 0.0693 \text{ min}^{-1}$$

$$C_o = 514.6$$

Η λύση της (2) είναι η εξίσωση (3):

$$\ln\left(\frac{C}{C_o}\right) = -kt + A (3)$$

Όπου A είναι σταθερά και ισούται με A=0.2569 με βάση τη βέλτιστη γραμμή προσαρμογής των αποτελεσμάτων.

Ο χρόνος ημιζωής ισούται με:

$$t_{1/2} = \frac{\ln(2)}{k} = 10 \text{ min}$$

Συγκεντρωτικά στοιχεία:

Στον πίνακα 4 παρουσιάζονται οι σταθερές κινητικών, οι χρόνοι ημιζωής και οι συντελεστές R^2 :

Πίνακας 4. Σταθερές κινητικών, χρόνοι ημιζωής και συντελεστές R^2 για την παράμετρο pH

	$k \text{ (min}^{-1}\text{)}$	$t_{1/2} \text{ (min)}$	R^2
pH=3	0.2479	2.8	0.9302
pH=6.5	0.0367	18.9	0.9833
pH=10	0.0693	10	0.9367

Τα αποτελέσματα που προκύπτουν συμβαδίζουν με προηγούμενες έρευνες που παρουσιάζονται παρακάτω. Πιο συγκεκριμένα, παρατηρείται ταχεία αποδόμηση σε εξεταζόμενο διάλυμα nC_{60} με pH=3, ενώ η φωτόλυση καθυστερεί σε ουδέτερο και βασικό pH, pH=6.5 και 10 αντίστοιχα.

Η φωτόλυση του nC_{60} εξαρτάται και από τον βαθμό συσσωμάτωσης των μορίων. Τα μόρια C_{60} σε υδατικό διάλυμα nC_{60} είναι στενά κατανεμημένα, γεγονός που υποδεικνύει χαμηλή απόδοση παραγωγής ενεργών ειδών οξυγόνου, όπως μονήρες οξυγόνο και υπεροξείδιο, το οποίο οφείλεται στην αποτελεσματική παρεμπόδιση των τριπλών καταστάσεων του nC_{60} (Κεφάλαιο 1.4.4.3 'Φωτολυτική τύχη του C_{60} στο υδάτινο περιβάλλον'). Η παρεμπόδιση αυτή οδηγεί σε μείωση των συσσωματωμάτων και κατά συνέπεια σε μείωση της συγκέντρωσης του φουλλερενίου στο νερό. (Kong; Zerrp, 2012). Το nC_{60} σε φυσικές συνθήκες, ουδέτερο pH, παρουσιάζει αρνητικά φορτία στην επιφάνειά του διατηρώντας τα σχηματιζόμενα συσσωματώματα σε σταθερή κατάσταση. (Andrievsky et al., 2002)

Παρατηρείται ότι μείωση του pH συνεπάγεται αύξηση του ρυθμού αποδόμησης. Η φωτόλυση του nC_{60} υποδηλώνει μεταβολή της ηλεκτρονιακής δομής του φουλλερενίου. Σε χαμηλό pH έχει παρατηρηθεί αυξημένη δραστηριότητα πρωτονίων, η οποία οδηγεί σε εξουδετέρωση των αρνητικών φορτίων στην επιφάνεια των συσσωματωμάτων nC_{60} . Αυτό έχει ως αποτέλεσμα, τα συσσωματώματα να αυξάνουν σε μέγεθος και σε τιμές pH κοντά στο ισοηλεκτρικό σημείο του nC_{60} , $pH_{IEP} \approx 2$, παρατηρείται μείωση των ηλεκτροστατικών δυνάμεων με αποτέλεσμα την ενίσχυση της από-συσσωμάτωσης του nC_{60} και την ταχεία φωτόλυση. ((Fortner et al., 2005)(Andrievsky et al., 2002))

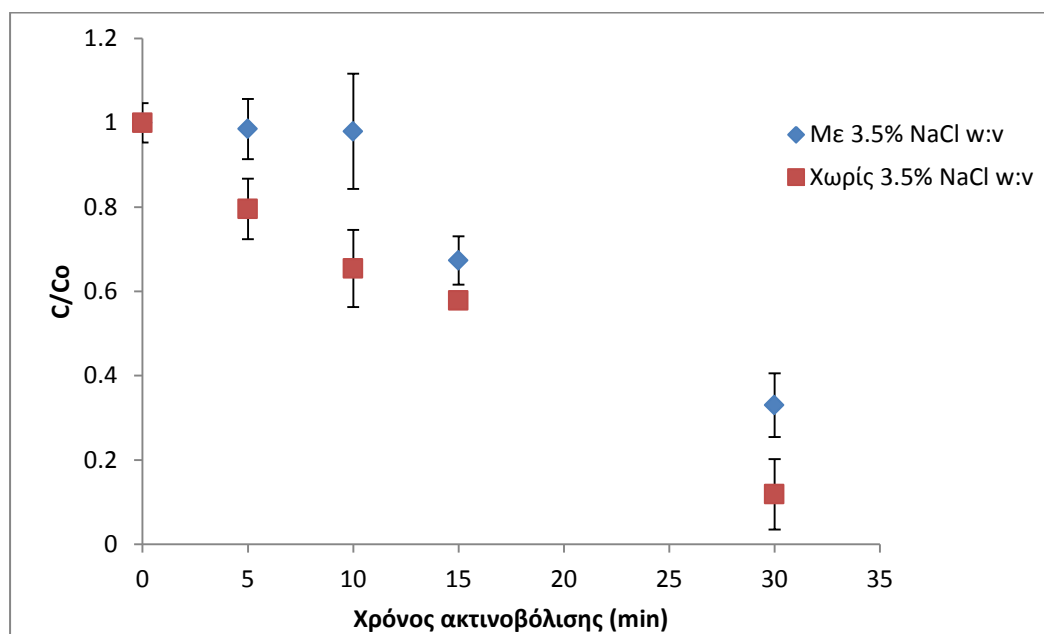
Αντίθετα, σε ουδέτερο και υψηλό pH το αρνητικό φορτίο στην επιφάνεια των συσσωματωμάτων C_{60} διατηρεί τα συσσωματώματα σε μια κατάσταση σταθερής διασποράς τους στο νερό. Συνεπώς, τα συσσωματώματα διασπώνται με σταθερό ρυθμό με αποτέλεσμα την βραδύτερη αποδόμηση του nC_{60} . ((Fortner et al., 2005)(Andrievsky et al., 2002))

Βέβαια, σημειώνεται πως ο ακριβής μηχανισμός αποδόμησης των συσσωματωμάτων nC_{60} δεν είναι γνωστός.

Αξίζει να σημειωθεί πως σύμφωνα με την έρευνα των Kong και Zerr (Kong; Zerr, 2012), η μορφή της σχέσης $\ln(C/C_0)$ σε συνάρτηση με τον χρόνο ακτινοβολήσης (Γράφημα 6) αποδίδεται στον σχηματισμό υδροξυλιωμένων φωτο-προϊόντων nC_{60} , τα οποία διαθέτουν ισχυρότερη ικανότητα παραγωγής O_2 . Δεδομένου ότι η παραγωγή μονήρους ενισχύει την φωτο-αποδόμηση του nC_{60} (Κεφάλαιο 1.4.4.3 *‘Φωτολυτική τύχη του C_{60} στο υδάτινο περιβάλλον’*), επιβεβαιώνονται τα αποτελέσματα που προέκυψαν στην παρούσα έρευνα κατά τα οποία σε όξινο pH παρατηρείται ταχεία αποδόμηση, ενώ σε ουδέτερο και βασικό η φωτόλυση καθυστερεί.

4.1.2 Επίδραση προσθήκης άλατος

Εξετάστηκε η προσθήκη άλατος και συγκεκριμένα ποσότητας 3.5% w:v NaCl. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στο γράφημα 7.



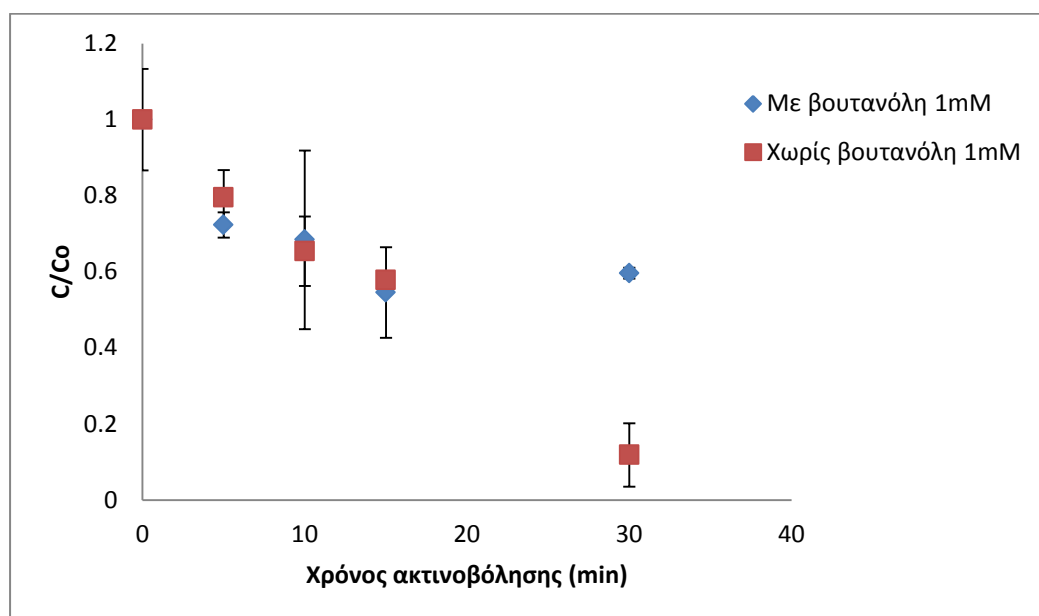
Γράφημα 7. Επίδραση άλατος στη φωτόλυση υδατικού διαλύματος nC_{60} συγκέντρωσης $200 \mu g \cdot L^{-1}$

Η προσθήκη NaCl αναμένεται να οδηγήσει σε ταχεία συσσωμάτωση του φουλλερενίου, καθώς η συγκέντρωση των κατιόντων Na^+ προκαλεί εξουδετέρωση του αρνητικού δυναμικού που παρατηρείται στην επιφάνεια του nC_{60} και η συγκέντρωση των ανιόντων Cl^- συμπιέζει την διπλή ηλεκτροστατική επιφάνεια που σχηματίζεται γύρω από τα σωματίδια (Kong et al., 2009). Με βάση τα αποτελέσματα που προέκυψαν από την παρούσα έρευνα, παρατηρείται ότι η επίδραση του 3.5% w:v NaCl παρουσιάζει μια ιδιομορφία. Πιο συγκεκριμένα φαίνεται να καθυστερεί η αποδόμηση του nC_{60} τα 10 πρώτα λεπτά, γεγονός που υποδεικνύει πως ποικίλες αντιδράσεις λαμβάνουν χώρα κατά την προσθήκη άλατος. Μετά το πέρας των 10 min η μείωση της φωτοχημικής απόδοσης πιθανόν, με βάση προηγούμενη μελέτη, αντισταθμίζεται από την παραγωγή φωτοπροϊόντων nC_{60} που ενεργοποιούν την παραγωγή μονήρους οξυγόνου (Kong;Zerrp.2012), με αποτέλεσμα να παρατηρείται ταχεία αποδόμηση του nC_{60} . Λόγω της προαναφερθείσας ιδιομορφίας φαίνεται να ακολουθούνται διαφορετικές κινητικές κατά την φωτόλυση του nC_{60} υπό την παρουσία NaCl, γεγονός που δεν επιτρέπει την εξαγωγή γενικού συμπεράσματος ως προς μια ενιαία κινητική.

4.1.3 Επίδραση προσθήκης βουτανόλης

Η βουτανόλη έχει την ιδιότητα του αναστολέα ριζών υδροξυλίου ($\text{OH}\cdot$), οι οποίες αποτελούν οξειδωτικά μέσα με τα οποία πραγματοποιείται η φωτόλυση. Αναμένεται, λοιπόν, καθυστέρηση της αποδόμησης του nC_{60} . Επομένως, είναι αδήριτη ανάγκη η μελέτη επίδρασης της στην διαδικασία της φωτόλυσης.

Μελετήθηκε η προσθήκη 1-βουτανόλης συγκέντρωσης 1 mM σε υδατικό διάλυμα nC_{60} συγκέντρωση $200 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στο γράφημα 8.



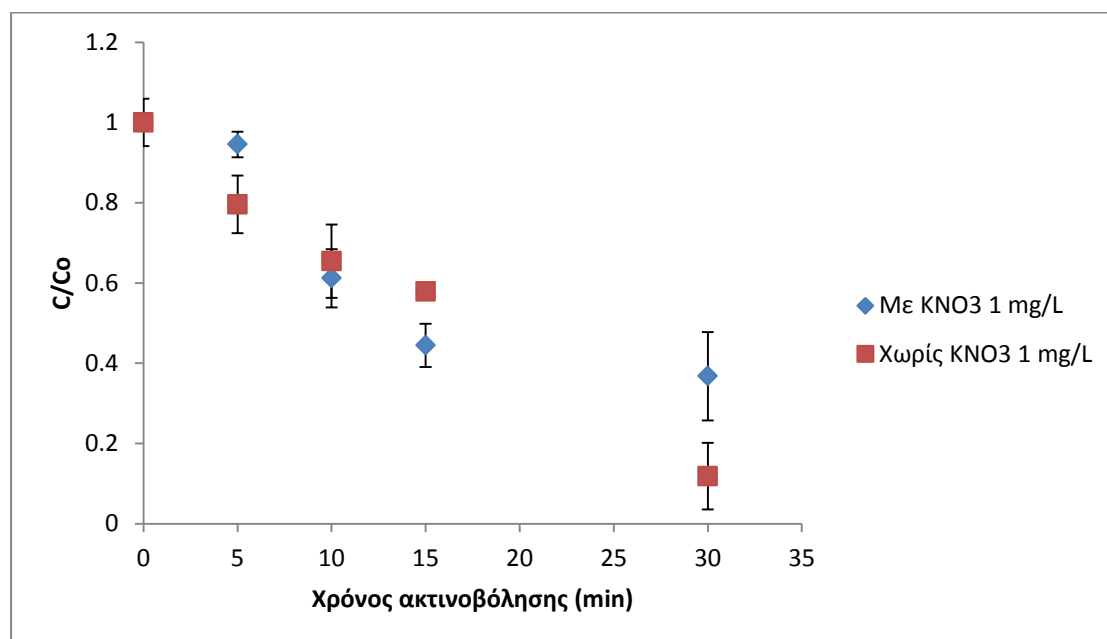
Γράφημα 8. Επίδραση βουτανόλης στη φωτόλυση υδατικού διαλύματος nC_{60} συγκέντρωσης $200 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$

Επιβεβαιώνεται η αναμενόμενη καθυστέρηση στην αποδόμηση του nC_{60} σε διάστημα φωτόλυσης 30 min, καθώς παρόλο που σε πρώτο στάδιο φαίνεται να ακολουθείται ταχεία αποδόμηση στα 30 min η ουσία δεν έχει φτάσει σε μεγάλο ποσοστό αποδόμησης. Αντίθετα, παρατηρείται σχετική σταθερότητα με μικρή αύξηση μεταξύ των 15 και 30 λεπτών, η οποία οφείλεται στην αναστολή των ριζών υδροξυλίου. Σε αύξηση του χρόνου φωτόλυσης παρατηρήθηκε σταθερότητα. Συνεπώς, η φωτόλυση στο εν λόγω δείγμα παρουσιάζει συνδυασμό κινητικών. Λόγω αυτής της συμπεριφοράς δεν μπορεί να εξαχθεί ασφαλές συμπέρασμα για την κινητική της ουσίας υπό προσθήκη βουτανόλης.

4.1.4 Επίδραση προσθήκης νιτρικών ιόντων

Κρίθηκε απαραίτητη η εξέταση της προσθήκης νιτρικών ως παραμέτρου επηρεασμού της φωτόλυσης του nC_{60} . Τα νιτρικά ιόντα δύναται να επηρεάσουν τη φωτόλυση των οργανικών ουσιών, καθώς απορροφούν την UV ακτινοβολία με αποτέλεσμα να δημιουργούνται οξειδωτικά μέσα, όπως ασταθείς ρίζες O_2 , H_2O_2 και/ή OH , τα οποία αντιδρούν με οργανικές ενώσεις και λειτουργούν ως φωτο-ευαισθητοποιητές ευνοώντας τη φωτόλυση των οργανικών ουσιών. Αντιθέτως, τα νιτρικά μπορούν να λειτουργήσουν και ως παρεμποδιστές αποτρέποντας την απορρόφηση ακτινοβολίας λόγω των αντιδράσεων που λαμβάνουν χώρα στο εξεταζόμενο διάλυμα, και κατά συνέπεια εμποδίζουν την φωτόλυση των οργανικών ουσιών.

Χρησιμοποιήθηκε νιτρικό κάλιο (KNO_3) συγκέντρωσης $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, το οποίο προστέθηκε σε υδατικό διάλυμα nC_{60} συγκέντρωσης $200 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$. Τα αποτελέσματα παρουσιάζουν μικρή καθυστέρηση στη φωτόλυση σε σύγκριση με την αποδόμηση που παρατηρείται χωρίς την προσθήκη νιτρικού καλίου, γεγονός που υποδεικνύει ότι στην περίπτωση του C_{60} τα νιτρικά λειτουργούν ελαφρώς ως παρεμποδιστές (Γράφημα 9).



Γράφημα 9. Επίδραση νιτρικών στη φωτόλυση υδατικού διαλύματος nC_{60} συγκέντρωσης $200 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$

Όπως στην περίπτωση μελέτης προσθήκης βουτανόλης έτσι και στην εν λόγω παράμετρο παρατηρείται σταθερότητα μετά τα 15 min και επιπλέον καθυστέρηση διάσπασης της ουσίας τα 5 πρώτα λεπτά. Συνεπώς, η φωτόλυση στο εν λόγω δείγμα παρουσιάζει συνδυασμό κινητικών. Λόγω αυτής της συμπεριφοράς δεν μπορεί να

εξαχθεί ασφαλές συμπέρασμα για την κινητική της ουσίας με την προσθήκη νιτρικών.

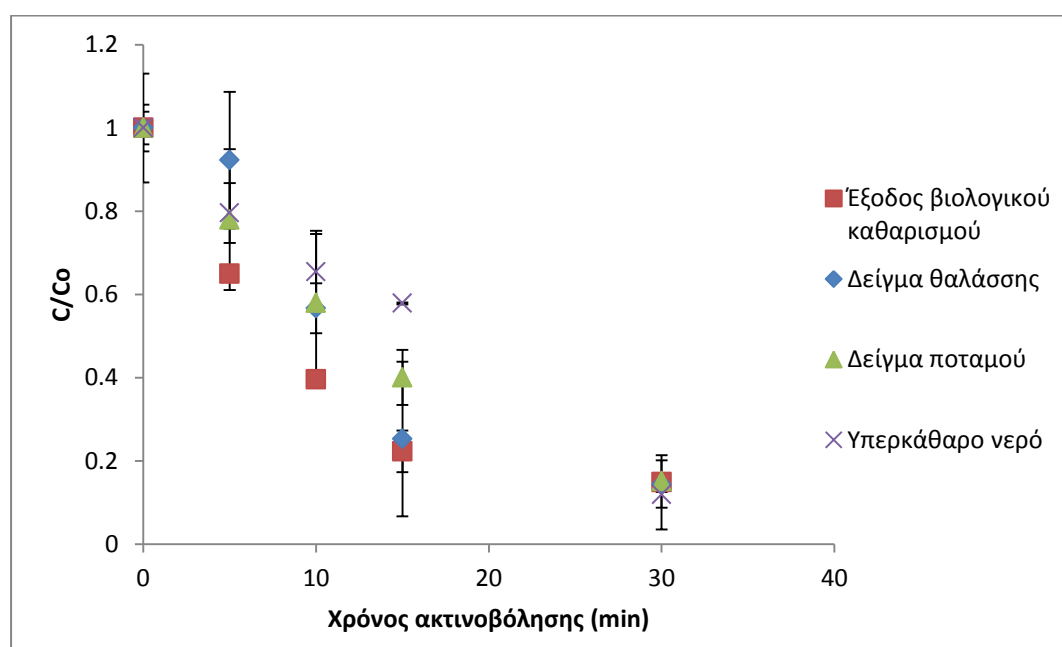
4.1.5 Επίδραση προσθήκης χουμικών οξέων

Τα χουμικά οξέα, όπως και τα νιτρικά ιόντα, μπορούν να λειτουργήσουν ως παρεμποδιστές ή ως φωτο-ευαισθητοποιητές στην φωτόλυση των οργανικών ουσιών. Είτε απορροφούν την UV ακτινοβολία με αποτέλεσμα να μειώνουν τον ρυθμό αποδόμησης, είτε αντιδρούν με οργανικά μόρια ή με οξυγόνο παράγοντας οξειδωτικές ρίζες.

Πραγματοποιήθηκε προσθήκη χουμικών οξέων συγκέντρωσης $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ σε υδατικό διάλυμα nC_{60} συγκέντρωσης $200 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. Η εν λόγω συγκέντρωση των χουμικών οξέων επιλέχθηκε λόγω της προσομοίωσής της σε πραγματικές περιβαλλοντικές συνθήκες. Τα $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ χουμικών οξέων οδήγησαν σε διάλυση της σταγόνας οκτανόλης που χρησιμοποιούνταν, όπως αναλύθηκε στο κεφάλαιο της μεθόδου VALLME, για την πραγματοποίηση των μετρήσεων με αποτέλεσμα να μην είναι δυνατή η μελέτη της φωτολυτικής τύχης του nC_{60} παρουσία χουμικών οξέων.

4.2 Φωτόλυση nC_{60} σε περιβαλλοντικά δείγματα και σε δείγμα βιολογικού καθαρισμού

Τελικό στάδιο των πειραματικών μετρήσεων αποτέλεσε η μελέτη της φωτολυτικής τύχης του nC_{60} σε περιβαλλοντικά δείγματα ποταμού και θαλάσσης και σε δείγμα εκροής βιολογικού καθαρισμού. Αναλυτικότερα, συλλέχτηκαν δείγματα από την Κυανή ακτή Χανίων και συγκεκριμένα σχετικά κοντά στο σημείο που εκβάλλει ο Κοιλιάρης ποταμός, από τον Κοιλιάρη ποταμό και από την έξοδο, πριν το στάδιο της χλωρίωσης, του βιολογικού καθαρισμού των λυμάτων των Χανίων. Τα δείγματα που μελετήθηκαν ήταν συγκέντρωσης $200 \mu g \cdot L^{-1}$ και τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στο γράφημα 10.

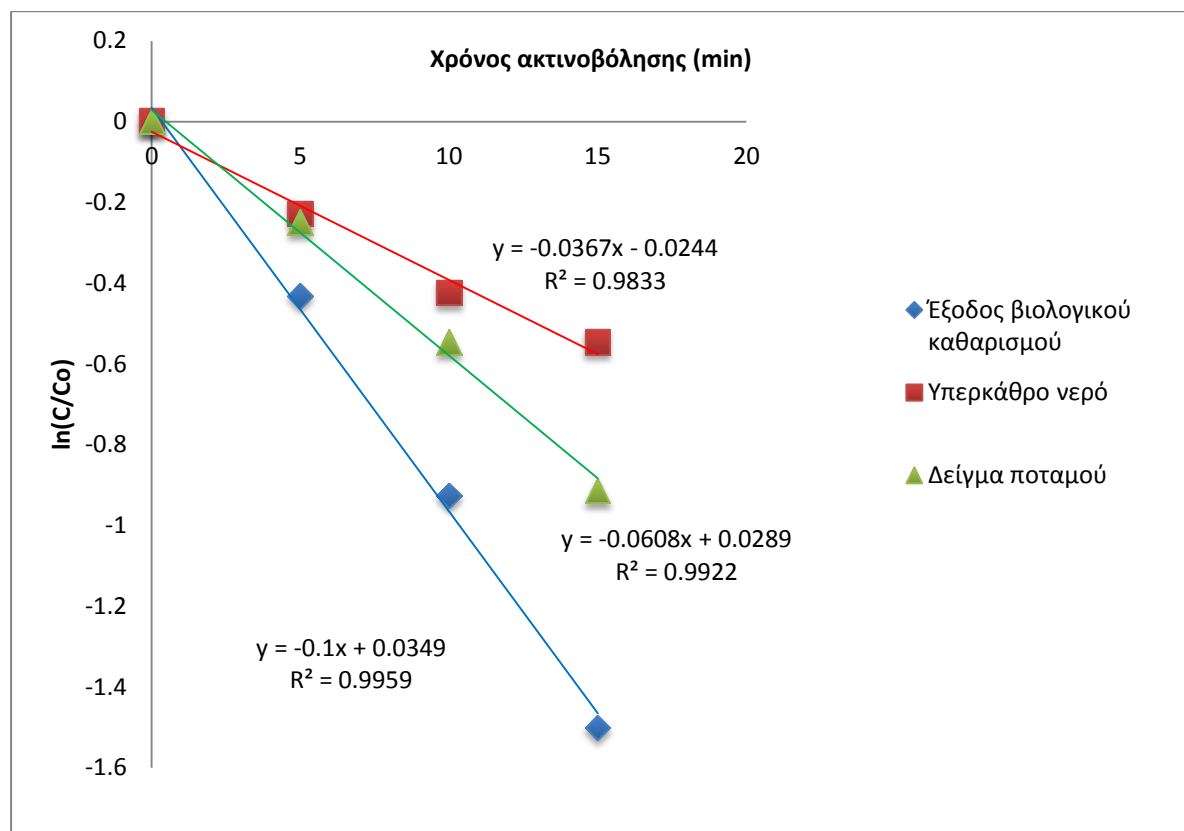


Γράφημα 10. Επίδραση υδατικής μήτρας στη φωτόλυση του διαλύματος nC_{60} συγκέντρωσης $200 \mu g \cdot L^{-1}$

Παρατηρείται ότι η απόδοση της φωτόλυσης του nC_{60} ενισχύεται στα περιβαλλοντικά δείγματα και στο δείγμα βιολογικού καθαρισμού σε σύγκριση με το υπερκάθαρο νερό. Στην περίπτωση του δείγματος θαλάσσης μετά το πέρας των 5 min έκθεσης σε UV-C ακτινοβολία μπορεί να παρατηρηθεί κινητική ψευδο-πρώτης τάξης. Στα υπόλοιπα δείγματα μπορεί να υποτεθεί κινητική ψευδο-πρώτης τάξης.

Σε αυτό το σημείο θα θέλαμε να σημειώσουμε πως κάθε δείγμα, όπως και κάθε παράμετρος, αντιμετωπίστηκε ως ξεχωριστό πείραμα και οι κινητικές που προκύπτουν αναφέρονται στην εκάστοτε συνθήκη και δεν αποτελούν γενική ενιαία κινητική φωτόλυσης του nC_{60} .

Με βάση τα γράφημα 11, που ακολουθεί, και θεωρώντας κινητική ψευδο-πρώτης τάξης υπολογίζονται οι παράμετροι της κινητικής για κάθε δείγμα.



Γράφημα 11. Κινητική ψευδο-πρώτης τάξης της φωτόλυσης του διαλύματος nC_{60} συγκέντρωσης $200 \mu g \cdot L^{-1}$ σε περιβαλλοντικά υδατικά δείγματα

Δείγμα ποταμού

$$\ln\left(\frac{C}{C_0}\right) = -0.0608t - 0.0289 \rightarrow \frac{C}{C_0} = e^{(-0.0608t - 0.0289)} \rightarrow$$

$$\rightarrow C = C_0 \cdot e^{(-0.0608t)} \cdot e^{(-0.0289)} \rightarrow C \cong C_0 \cdot e^{(-0.0608t)} \quad (8)$$

Δεδομένου ότι η κινητική είναι ψευδο-πρώτης τάξης ισχύει η εξίσωση (2) όπου

$$k = 0.0608 \text{ min}^{-1}$$

$$C_0 = 225.2$$

Η λύση της (2) είναι (3):

$$\ln\left(\frac{C}{C_0}\right) = -kt + A \quad (3)$$

Όπου A είναι σταθερά και ισούται με $A = -0.0289$ με βάση τη βέλτιστη γραμμή προσαρμογής των αποτελεσμάτων.

Ο χρόνος ημιζωής ισούται με:

$$t_{1/2} = \frac{\ln(2)}{k} = 11.4 \text{ min}$$

Δείγμα από έξοδο βιολογικού καθαρισμού

$$\ln\left(\frac{C}{C_o}\right) = -0.1t + 0.0349 \rightarrow \frac{C}{C_o} = e^{(-0.1t+0.0349)} \rightarrow$$

$$\rightarrow C = C_o \cdot e^{(-0.1t)} \cdot e^{(0.0349)} \rightarrow C \cong C_o \cdot e^{(-0.1t)} \quad (9)$$

Δεδομένου ότι η κινητική είναι ψευδο-πρώτης τάξης ισχύει η εξίσωση (2) όπου

$$k = 0.1 \text{ min}^{-1}$$

$$C_o = 427.5$$

Η λύση της (2) είναι η εξίσωση (3):

$$\ln\left(\frac{C}{C_o}\right) = -kt + A \quad (3)$$

Όπου A είναι σταθερά και ισούται με $A = 0.0349$ με βάση τη βέλτιστη γραμμή προσαρμογής των αποτελεσμάτων.

Ο χρόνος ημιζωής ισούται με:

$$t_{1/2} = \frac{\ln(2)}{k} = 6.9 \text{ min}$$

Δείγμα θαλάσσης

Όπως προαναφέρθηκε στην υδατική μήτρα θάλασσα παρατηρήθηκε σταθερότητα στα 5 πρώτα λεπτά ακτινοβολίας με UV-C ακτινοβολία και έπειτα μπορεί να θεωρηθεί ότι ακολουθείται κινητική ψευδο-πρώτης τάξης. Συνεπώς, η φωτόλυση στο εν λόγω δείγμα παρουσιάζει συνδυασμό κινητικών. Επιλέγεται να μην παρουσιαστεί η εν λόγω κινητική λόγω του γεγονότος ότι δεν αντιπροσωπεύει το συνολικό αριθμό πειραμάτων που έγιναν γι' αυτή τη μήτρα.

Συγκεντρωτικά στοιχεία:

Στον πίνακα 5 παρουσιάζονται οι σταθερές κινητικών, οι χρόνοι ημιζωής και οι συντελεστές R^2 :

Πίνακας 5. Σταθερές κινητικών, χρόνοι ημιζωής και συντελεστές R^2 για τις υδατικές μήτρες

	k (min^{-1})	$t_{1/2}$ (min)	R^2
Υπερκάθαρο νερό	0.0367	18.9	0.9833
Δείγμα ποταμού	0.0608	11.4	0.9922
Έξοδος βιολογικού καθαρισμού	0.1	6.9	0.9959

Στα περιβαλλοντικά δείγματα η επιφάνεια των συσσωματωμάτων nC_{60} μεταβάλλεται λόγω της φωτο-μετατροπής. Οι αλλαγές αυτές αναμένεται να μεταβάλλουν την συμπεριφορά του nC_{60} , συμπεριλαμβανομένης της συσσωμάτωσης, της εναπόθεσης καθώς και της βιοδιαθεσιμότητας και της τοξικότητας, οδηγώντας σε παρεμπόδιση της φωτόλυσης. (Hwang; Li, 2010)

Παρατηρείται ότι η φωτόλυση είναι ταχύτερη στο δείγμα εξόδου βιολογικού καθαρισμού, ενώ η πιο αργή αποδόμηση παρατηρείται στη φωτόλυση σε υπερκάθαρο νερό. Η φωτόλυση στο δείγμα ποταμού εμφανίζει σχετική καθυστέρηση. Αυτό οφείλεται στην ύπαρξη των διαφορετικών ενώσεων που υπάρχουν στα δείγματα και αντιδρούν με το nC_{60} . Οι διαφορετικοί χρόνοι ημιζωής του nC_{60} παρατηρούνται λόγω των διαλυτών που υπάρχουν στα δείγματα και επηρεάζουν τη δυνατότητα δημιουργίας συσσωματωμάτων nC_{60} και κατά τη συνέπεια τη διαδικασία της φωτόλυσης. Επίσης, η οξειδωτική φύση της διαδικασίας της φωτόλυσης του nC_{60} υποδεικνύει, όπως προαναφέρθηκε, την ύπαρξη οξειδωτικού. Προηγούμενη έρευνα παρουσίασε ότι υπό ανοξικές συνθήκες η αποδόμηση του nC_{60} ήταν αμελητέα, ενώ υπό την παρουσία διαλυμένου οξυγόνου διαπιστώθηκε ταχεία φωτο-αποδόμηση (Hwang; Li, 2010).

Στον πίνακα 6 παρουσιάζονται τα ποσοστά απομάκρυνσης για όλες τις εξεταζόμενες μήτρες. Μεγαλύτερη απομάκρυνση σε 30 min UV-C ακτινοβολήσης επιτυγχάνονται στο υπερκάθαρο νερό, ενώ στις υπόλοιπες μήτρες η απομάκρυνσης είναι ισοδύναμη. Σε όλες τις μήτρες επιτυγχάνεται απομάκρυνση μεγαλύτερη του 80%.

Πίνακας 6. Απομάκρυνση του nC60 σε κάθε εξεταζόμενη μήτρα σε διάστημα φωτόλυσης 30 min

	Υπερκάθαρο νερό	Δείγμα ποταμού	Δείγμα θαλάσσης	Έξοδος βιολογικού καθαρισμού
Απομάκρυνση (%)	88	85	86	85

5 Συμπεράσματα

Η σταθερότητα των συσσωματωμάτων nC_{60} στο υδάτινο περιβάλλον ορίζει τον βαθμό φωτόλυσης της μελετώμενης ουσίας. Βέβαια, ο ακριβής μηχανισμός δεν είναι γνωστός. Έχει αποδειχθεί ότι μεταφορά των ηλεκτρονίων σε τριπλή κατάσταση κατά τη διάρκεια της ακτινοβόλησης οδηγεί σε ταχύτερη φωτόλυση του nC_{60} .

Μετά το πέρας των πειραμάτων γίνεται αντιληπτό ότι η φωτόλυση του nC_{60} αποτελεί μια γρήγορή διαδικασία, καθώς παρατηρούνται υψηλά ποσοστά απομάκρυνσης σε χρονικά διάστημα 30 min. Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν σε εργαστηριακό περιβάλλον και η ακτινοβολία στην οποία εκτέθηκαν τα δείγματα ήταν υπεριώδης, μήκους κύματος 254 nm. Αύξηση του pH οδήγησε σε μείωση του ρυθμού αποδόμησης. Πιο συγκεκριμένα, όξινο pH συνεπάγεται αύξηση του μεγέθους των συσσωματωμάτων nC_{60} και αύξηση του ρυθμού αποδόμησης. Προσθήκη άλατος στο διάλυμα nC_{60} οδήγησε σε καθυστέρηση της αποδόμησης τα 10 πρώτα λεπτά και εν συνεχεία σε ταχεία αποδόμηση της ουσίας. Με την προσθήκη βουτανόλης και νιτρικών ιόντων παρατηρήθηκε σχετική καθυστέρηση στην φωτόλυση του nC_{60} . Τέλος, η μελέτη περιβαλλοντικών δειγμάτων και δείγματος βιολογικού καθαρισμού παρουσίασε ταχύτερη αποδόμηση του C_{60} με υψηλά ποσοστά απομάκρυνσης (>80%), γεγονός που έγκειται στην ύπαρξη ποικίλων ενώσεων σε αυτές τις μήτρες.

6 Μελλοντικές κατευθύνσεις

Μελλοντικές κατευθύνσεις στον τομέα της φωτόλυσης του nC_{60} θα μπορούσαν να αποτελέσουν:

- Εξέταση της φωτόλυσης του nC_{60} υπό το φυσικό φως του ηλίου.
- Εξέταση της φωτόλυσης του nC_{60} σε μικρότερα και μεγαλύτερα μήκη κύματος σε εργαστηριακό επίπεδο.
- Εξέταση σε βάθος της συμπεριφοράς σχηματισμού των συσσωματωμάτων nC_{60} καθώς και του μηχανισμού αποδόμής τους.
- Μελέτη παραπροϊόντων με οργανολογίας δυνατότητας ακριβής ανάλυσης.
- Περεταίρω έρευνα για την εύρεση του συνδυασμού κινητικών που παρατηρούνται κατά τη φωτόλυση του nC_{60} υπό την παρουσία βουτανόλης και νιτρικών ιόντων.

7 Βιβλιογραφία

- Abraham, M. H., Green, C. E., Acree, W. E., (2000), Correlation and prediction of the solubility of Buckminsterfullerene in organic solvents; estimation of some physicochemical properties, *J. Chem. Soc.. Perkin Trans, 2*, 281-286
- Andrievsky, G.V., Klochkov, V.K., Bordyuh, A.B., Dovbeshko, G.I., (2002), Comparative analysis of two aqueous-colloidal solutions of C₆₀ fullerene with help of FTIR reflectance and UV–Vis spectroscopy, *Chem. Phys.Lett.*, 364, 8-17
- Back, R., Lennox, RB., (1992), Fullerenes, C₆₀ and C₇₀ at the air-water interface, *The Journal of Physical Chemistry*.
- Barky, Rania, Vallant, Rainer M., Najam-ul-Haq, Muhammad, Rainer, Matthias, Szabo, Zoltan, Huck Christian W., Bonn Günther K., (2007), Medical applications of fullerenes, *International Jurnal of Nanomedicine*, 2(4), 639-649
- Brant, J. A., Labille, J., Bottero, J. Y., Wiesner, M. R., (2006), Characterizing the Impact of Preparation Method on Fullerene Cluster Structure and Chemistry, *Langmuir*, 22(8), 3878-3885
- Buckminsterfullerene, PubChem, Open Chemistry Database
- Chang, Xiaojun, Vikesland, Peter J., (2011), UV-vis Spectroscopic Properties of nC₆₀ Produced via Extended Mixing, *Environmental Science &Technology*, 45, 9967-9974
- Chen, Hsin-Chang, Ding, Wang-Hsien, (2012), Deterioration of aqueous fullerene aggregates in water by ultrasound-assisted dispersive liquid-liquid microextraction with liquid chromatography-atmospheric pressure photoionization-tandem mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*, 1223, 15-23
- Chen, Zhuo, Westerhoff, Paul, Herckes, Pierre, (2008), Quantification of C₆₀ Fullerene Concentrations in Water, *Nanomaterials in the Environment*, 9, 1852-1859
- Deryabin, Dmitry G., Efremova, Ludmila V., Vasilchenko, Alexey S., Saidakova, Evgeniya V., Sizova, Elena A., Troshin, Pavel A., Zhilenkov, Alexander V., Khakina, Ekaterina E., (2015), A zeta potential value determines the aggregate's size of penta-substituted [60] fullerene derivatives in aqueous suspension whereas positive charge is required for toxicity against bacterial cells, *Journal of Nanobiotechnology*

- Donaldson, D.J., Vaida, V., (2006), The influence of organic films at the air-aqueous boundary on atmospheric processes, *Chemical reviews*.
- Ebbing, D., Gammon, S., Γενική Χημεία, ΤΡΑΥΛΟΣ, 6.
- Fatta-Kassinos, D., Vasquez, M.I., Kümmerer, (2011), Transformation products of pharmaceuticals in surface waters and wastewater formed during photolysis and advanced oxidation processes – Degradation, elucidation of byproducts and assessment of their biological potency, *Chemosphere*, 85, 693-709.
- Fortner, J., Lyon, D., Sayes, C, Boyd, A., Falkner, J., Hotze, E., Alemany, L., Tao, Y., Guo, W., Aysman, K., Colvin, V., Hughes, J., (2005), C₆₀ in Water: Nanocrystal Formation and Microbial Response, *Environ. Sci. Technol.*, 39, 4307-4316
- Heymann, D., (1996), Solubility of fullerenes C₆₀ and C₇₀ in seven normal alcohols and their deduced solubility in water, *Fullerene Sci. Technol.*, 4, 509-515
- Hotze, Ernest M., Labille, Jerome, Alvarez, Pedro, Wiesner, Mark R., (2008), Mechanisms of Photochemistry and Reactive Oxygen Production by Fullerene Suspensions in Water, *Environ. Sci. Technol.*, 42, 4175-4180
- Hou, Wen-Che, Kong, Lingjun, Wepasnick, Kevin A., Zepp, Richard G., Fairbrother, Howard D., Javfvert, Chad T., (2010), Photochemistry of Aqueous C₆₀ Clusters: Wavelength Dependency and Product Characterization, *Environ. Sci. Technol.*, 44, 8121-8127
- Hwang, Y.S., Li, Q., (2010), Characterizing Photochemical Transformation of Aqueous nC₆₀ under Environmentally Relevant Conditions, *Environ. Sci. Technol.*, 44, 3008-3013
- Jafvert, C. T., Kulkarni, P. P., (2008), Buckminsterfullerene's (C₆₀) octanol-water partition coefficient (K_{ow}) and aqueous solubility, *Environ. Sci. Technol.*, 42, 5945-5950
- Kong, Lingjun, Tedrow, O' Niell, Chan, Yau Fong (Kyle), Zepp, Richard G., (2009), Light-Initiated Transformations Of Fullerenol in Aqueous Media, *Environ. Sci. Technol.*, 43, 9155-9160
- Kong, Lingjun, Zepp, Richard G., (2012), Production and consumption of reactive oxygen species by fullerenes, *Environmental Toxicology and Chemistry*, 31, 136-143
- Kong, Lingjun, Mukherjee, Biplab, Chan, Yau Fong, Zepp, Richard G., (2013), Quenching and Sensitizing Fullerene Photoreactions by Natural Organic Matter, *Environmental Science & Technology*, 47, 6189-6196

- Kurotobi, K., Murata, Y., (2011), A single molecule of water encapsulated in fullerene C₆₀, *Science*, 333, 613-616
- Lee, Jaesang, Cho, Min, Fortner, John D., Hughes, Joseph B., Kim, Jae-Hong, (2009), Transformation of Aggregates C₆₀ in the Aqueous Phase by UV Irradiation, *Environ. Sci. Technol.*, 43, 4878-4883
- Li, Qilin, Xie, Bin, Hwang, Yu Sik, Xu, Yuankai, (2009), Kinetics of C₆₀ Fullerene Dispersion in Water Enhanced by Natural Organic Matter and Sunlight, *Environ. Sci. Technol.*, 43, 3574-3579
- Lian, Junfeng, Qiang, Zhimin, Li, Mengkai, Boltin, James R., Qu, Jiuhui, (2015), UV photolysis kinetics of sulfonamides in aqueous solution based on optimized fluence quantification, *Water Research*, 75, 43-50.
- Ma, X, Bouchard, D., (2009), Formation of Aqueous Suspensions of Fullerenes, *Environ. Sci. Technol.*, 43, 330-336
- Marini, Alberto, Munoz-Losa, Aurora, Biancardi, Alessandro, Mennucci, Benedetta, (2010), What is Solvatochromism?, *The Journal of Physical Chemistry B*, 51, 17128-17135
- Mihas, Orestis, Kalogerakis Nicolas, Psillakis, Eleftheria, (2007), Photolysis of 2,4-dinitrotoluene in various water solutions: effect of dissolved species, *Journal of Hazardous Materials*, 146, 535-539.
- Murata, Y, Murata, M, Komatsu, K, (2003), 100% encapsulation of a hydrogen molecule into an open-cage fullerene derivative and gas-phase generation of H₂@ C₆₀, *Journal of the American*
- Narasimha, Raghavendhran A., (2010), Environmental Fate of Fullerene C₆₀: Sorption to Soil, Desorption from Soil, Biodegradation and Plant Uptake, *Graduate Faculty of Texas Tech University*
- Obeng, YS., Bard, AJ., (1991), Langmuir films of C₆₀ at the air-water interface, *Journal of the American Chemical Society*.
- Perez, Sandra, Farre, Marinella, Barcelo, Damia, (2009), Analysis, behavior, and ecotoxicity of carbon-based nanomaterials in the aquatic environment, *Trends in Analytical Chemistry*, 28, 820-832
- Prylutskyy, Yuriy I., Buchelnikov, Anatoly S., Voronin, Dmitry P., Kostjukov, Viktor V., Ritter, Uwe, Parkinson, John A., Evstigneev, Maxim P., (2013), C₆₀ fullerene aggregation in aqueous solution, *PCCP RSC Publishing*, 15, 9351-9360

- Sanchez-Prado, Lucia, Kalafata, Konstantina, Risticvic, Sanja, Pawliszyn, Janusz, Lores, Marta, Llompart, Maria, Kalogerakis, Nicolas, Psillakis, Elefteria, (2012), Ice photolysis of 2,2',4,4',6-pentabromodiphenyl ether (BDE-100): Laboratory investigations using solid phase microextraction, *Analytica Chimica Acta*, 742, 90-96.
- Sanchís, J., Berrojalbiz, N., Caballero, G., (2011), Occurrence of Aerosol-Bound Fullerenes in the Mediterranean Sea Atmosphere, *Environ. Sci. Technol*, 46, 1335-1343
- Shi, L., Yang, D., Colombo, F., Yu, Y., Zhang, W., Gan, L., (2013), Punching a Carbon Atom of C₆₀ into its Own Cavity to Form an Endohedral Complex CO@ C₅₉O₆ under Mild Conditions, *Chemistry-A European Journal*, 19, 16545–16549.
- Sivaraman, N., Dhamodaran, R., Kaliappan, I., Srinivasan, T.G., Vasudeva Rao, P.R., Mathews, C.K., (1992), Solubility of C₆₀ in organic solvents, *The Journal of Organic Chemistry*, 57, 6077-6079
- Suetsuna, Tomohiro, Dragoe, Nita, Harneit, Wolfgang, Weidinger, Alois, Shimotani, Hidekazu, Ito, Seitaro, Takagi, Hidenori, Kitazawa Koichi, (2002), Separation of N₂@C₆₀ and N@C₆₀, *A European Journal*, 8, 5079-5083
- van Wezel AP, Moriniere V, Emke E, ter Laak T, Hogenboom AC., (2011), Quantifying summed fullerene nC₆₀ and related transformation products in water using LC LTQ Orbitrap MS and application to environmental samples, *Environmental International*, 37, 1063–1067.
- Wang, Chao, Shang, Chii, Westerhoff, Paul, (2010), Quantification of fullerene aggregate nC₆₀ in wastewater by high-performance liquid chromatography with UV-vis spectroscopic and mass spectrometric detection, *Chemosphere*, 80, 334-339.
- Website: www.britannica.com/science/fullerene, 18/7/2015
- Website 1: <http://jcrystal.com/steffenweber/gallery/Fullerenes/Fullerenes.html>, 18/7/2015
- Yiantzi, Evangelia, Psillakis, Elefteria, Tyrovola, Konstantina, Kalogerakis, Nicolas, (2010), Vortex-assisted liquid-liquid microextraction of octylphenol, nonylphenol and bisphenol-A, *Talanta*, 80, 2057-2062
- Γατίδου Γ., (2005), Ανάπτυξη μεθόδων βιοκτόνων ουσιών των υφαλοχρωμάτων, Μελέτη της τοξικότητας τους και ανίχνευσή τους στο περιβάλλον, Διδακτορική Διατριβή, Τμήμα Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο Αιγαίου, Μυτιλήνη