



Πολυτεχνείο Κρήτης

Σχολή Μηχανικών Περιβάλλοντος

**Δειγματοληψία υπερκείμενης φάσης υπό συνθήκες κενού πτητικών  
ενώσεων (BTEX) στο νερό**

**Headspace microextraction sampling of volatile analytes (BTEX)**

Διπλωματική εργασία

Φουντούλη Ευδοκία

**Εξεταστική Επιτροπή:**

Καθηγήτρια Ελευθερία Ψυλλάκη (Επιβλέπουσα)

Καθηγητής Νικόλαος Καλογεράκης

Δρ. Κωνσταντίνα Τυροβολά

Χανιά, Ιούλιος, 2019

## Περιεχόμενα

Περιεχόμενα εικόνων.....	3
Περιεχόμενα πινάκων .....	3
Περιεχόμενα διαγραμμάτων .....	4
Περίληψη .....	5
Abstract .....	5
<b>1. Εισαγωγή.....</b>	<b>6</b>
1.1. Εκχύλιση .....	7
1.1.1. Υγρή – υγρή εκχύλιση (Liquid – Liquid Extraction, LLE) .....	7
1.1.2. Εκχύλιση στερεής φάσης (Solid Phase Extraction, SPE).....	8
1.1.3. Μικροεκχύλιση.....	10
1.1.4. Μικροεκχύλιση υγρής φάσης - Liquid Phase Microextraction .....	10
1.1.5. Μικροεκχύλιση στερεάς φάσης – Solid Phase Microextraction .....	13
1.2. Τρόποι δειγματοληψίας για την μέθοδο SPME .....	15
1.3. Τύποι ίνας SPME.....	17
1.4 Βασική αρχή SPME .....	19
1.5 Επίδραση πειραματικών παραμέτρων κατά την HSSPME .....	23
1.5.1 Επίδραση θερμοκρασίας δείγματος .....	23
1.5.2 Επίδραση ανάδευσης.....	25
1.5.3 Επίδραση διεπιφάνειας αέριας φάσης - δείγματος .....	25
1.5.4 Επίδραση χαμηλής πίεσης – Vac-HSSPME .....	26
1.6 Θεωρία VAC- HSSPME .....	28
1.7 Κριτήριο Henry .....	32
1.8 Χαρακτηριστικά των πρότυπων ενώσεων BTEX .....	34
1.8.1 Βενζόλιο.....	34
1.8.2 Τολουόλιο.....	35
1.8.3 Αιθυλοβενζόλιο .....	35
1.8.4 Ξυλένιο .....	35
1.9. Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας.....	36
<b>2. Πειραματικό μέρος.....</b>	<b>37</b>
2.1 Αντιδραστήρια.....	37
2.2. Όργανα και συσκευές.....	37
2.3 Πειραματική διαδικασία .....	38
2.3.1. Vac – HSSPME διαδικασία.....	38
2.3.2. Ανάλυση με GC – FID.....	39

<b>3. Πειραματικά αποτελέσματα και συζήτηση.....</b>	<b>40</b>
3.1. Επίδραση αφαίρεσης του κενού πριν και μετά την εισαγωγή του δείγματος.....	41
3.2. Επίδραση ανάδευσης.....	43
3.3. Επίδραση χρόνου εκχύλισης.....	46
<b>4. Συμπεράσματα .....</b>	<b>53</b>
<b>5. Βιβλιογραφία.....</b>	<b>54</b>

## Περιεχόμενα εικόνων

Εικόνα 1: Τεχνική διαχωρισμού LLE διαλύματος ουσίας χ με οργανικό διαλύτη σε διαχωριστική χοάνη .....	8
Εικόνα 2: Διαχωρισμός με SPE αντίστροφης φάσης.....	9
Εικόνα 3: (α) Χαρακτηριστικοί σωλήνες/στήλες SPE .....	9
Εικόνα 4: Απευθείας μικροεκχύλιση υγρής φάσης μονής σταγόνας – direct SDME.....	11
Εικόνα 5: Σχηματική απεικόνιση της Hollow Fiber-LPME .....	12
Εικόνα 6: Μικροεκχύλιση υγρής φάσης του υπερκείμενου χώρου μονής σταγόνας – HSSDME .....	13
Εικόνα 7: (α) Απευθείας μικροεκχύλιση στερεάς φάσης – Direct Solid Phase Microextraction και (β) Μικροεκχύλιση υπερκείμενου χώρου στερεάς φάσης -Headspace Solid Phase Microextraction .....	17
Εικόνα 8: Προετοιμασία δείγματος με SPME .....	20
Εικόνα 9: Σχηματική απεικόνιση της συσκευής Cold fiber SPME .....	24
Εικόνα 10: Σχηματική απεικόνιση διαδικασίας εκκένωσης για χρήση μεθόδου Vac-HSSPME .....	27
Εικόνα 11 Διάγραμμα χρόνου συναρτήσει της ποσότητας ουσίας- στόχου που έχει εκχυλιστεί.....	28
Εικόνα 12 : Αντίσταση φάσεων σε σχέση με την σταθερά Henry .....	33
Εικόνα 13: Χημική δομή βενζολίου, τολουολίου και των τριών ισομερών του ξυλενίου ...	34
Εικόνα 14: Χημική δομή βενζολίου .....	34
Εικόνα 15: Χημική δομή τολουολίου .....	35
Εικόνα 16: Χημική δομή αιθυλοβενζολίου .....	35
Εικόνα 17: Χημική δομή όρθο, μέτα, πάρα - ξυλενίου .....	35
Εικόνα 18: Τροποποιημένο πώμα για την μέθοδο SPME .....	38

## Περιεχόμενα πινάκων

Πίνακας 1: Προτεινόμενοι τύποι ίνας ανάλογα με ουσίες στόχοι.....	18
Πίνακας 2: Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά ουσιών BTEX.....	40

## Περιεχόμενα διαγραμμάτων

Διάγραμμα 1: Χρόνος συναρτήσεως της ποσότητας ουσίας-στόχου που έχει εκχυλιστεί. ....	22
Διάγραμμα 2: Μείωση της πίεσης για διάρκεια εκκένωσης 30, 45 και 50 δευτερόλεπτα πριν την εισαγωγή του δείγματος.....	42
Διάγραμμα 3: Μείωση της πίεσης για διάρκεια εκκένωσης 30, 45 και 50 δευτερόλεπτα μετά την εισαγωγή του δείγματος.....	42
Διάγραμμα 4: Επίδραση της ανάδευσης του διαλύματος υπό συνθήκες μειωμένης πίεσης με Vac-HSSPME. ....	44
Διάγραμμα 5: Επίδραση της ανάδευσης του διαλύματος υπό συνθήκες ατμοσφαιρικής πίεσης με HSSPME.....	44
Διάγραμμα 6: Προφίλ χρόνου της μάζας που απορροφάται από την ίνα με συγκέντρωση 1 ppm of BTEX υδατικού διαλύματος με HSSPME.....	45
Διάγραμμα 7: Επίδραση χρόνου στη δειγματοληψία Vac-HSSPME .....	47
Διάγραμμα 8: Επίδραση χρόνου στη δειγματοληψία HSSPME .....	47
Διάγραμμα 9: Προφίλ χρόνου της μάζας που απορροφάται από την ίνα με συγκέντρωση 1 ppm of BTEX υδατικού διαλύματος με αναδευόμενη υδατική φάση με HSSPME.....	48
Διάγραμμα 10: Επίδραση χρόνου δειγματοληψίας των PAHs στην μέθοδο Vac-HSSPME....	50
Διάγραμμα 11: Επίδραση χρόνου δειγματοληψίας των PAHs στην μέθοδο HSSPME .....	50
Διάγραμμα 12: Επίδραση χρόνου δειγματοληψίας των PCBs με Vac-HSSPME .....	51
Διάγραμμα 13: Επίδραση χρόνου δειγματοληψίας των PCBs με HSSPME. ....	52

## Περίληψη

Η παρούσα διπλωματική εργασία βασίζεται στη θεωρία του κριτηρίου του Henry στα πλαίσια δειγματοληψίας υπερκείμενου χώρου των πτητικών ενώσεων BTEX με χρήση στερεάς μικροεκχύλισης υπό συνθήκες κενού. Πιο συγκεκριμένα στο πρώτο κεφάλαιο γίνεται περιγραφή των βασικών αρχών εκχύλισης, καθώς επίσης αναφέρονται και διάφορα είδη εκχυλίσεων. Στη συνέχεια ακολουθούν οι τρόποι δειγματοληψίας και γίνεται αναφορά των διαφόρων παραγόντων που μπορεί να επιδράσουν θετικά ή αρνητικά κατά την διαδικασία της εκχύλισης. Η συνέχεια του κεφαλαίου πραγματεύεται την θεωρία της μεθόδου εκχύλισης που χρησιμοποιήθηκε στα πειράματα και περιγράφονται τα χαρακτηριστικά και οι ιδιότητες των ουσιών των πειραμάτων. Στο τέλος του πρώτου κεφαλαίου, βρίσκεται ο σκοπός εκπόνησης της παρούσας διπλωματικής εργασίας. Στο δεύτερο κεφάλαιο ακολουθεί το πειραματικό μέρος της εργασίας, όπου περιγράφονται τα αντιδραστήρια, τα όργανα και οι συσκευές που χρησιμοποιήθηκαν στα πειράματα καθώς και η πειραματική διαδικασία. Στο επόμενο κεφάλαιο εξετάζονται τα αποτελέσματα των πειραμάτων και τέλος ακολουθούν τα συμπεράσματα και η βιβλιογραφία της εργασίας.

## Abstract

This thesis is based on the theory of Henry's criterion of sampling in the headspace area of the volatile compounds BTEX by using solid microextraction under regular and vacuum conditions. In particular, the first chapter describes the basic principles of extraction, as well as the types of extractions. Moreover in this chapter there are the sampling methods and the various factors that may influence positively or negatively the extraction process. This chapter deals also with the theory of the extraction method used in the experiments and describes the characteristics and properties of the analytes. At the end of the first chapter, the aim of this thesis is being developed. The second chapter describes the experimental part of the project, mentions the reagents, instruments and devices that were used in the experiments as well as the experimental procedure. In the following chapters there are the results of the experiments and finally the discussion and the bibliography of the project.

## 1. Εισαγωγή

Για την διεξαγωγή αξιόπιστων αποτελεσμάτων σε μια αναλυτική διαδικασία πρέπει να ακολουθηθούν συγκεκριμένα βήματα. Αν αριθμούσαμε τα βήματα αυτά, θα ήταν τέσσερα και θα αποτελούνταν από την δειγματοληψία, την συντήρηση, την προετοιμασία και την ανάλυση του δείγματος. Κατά την δειγματοληψία πρέπει το δείγμα να είναι όσο το δυνατόν πιο αντιπροσωπευτικό της μήτρας από την οποία λαμβάνεται. Για την συντήρηση απαιτείται μελέτη των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών των ουσιών – στόχων ώστε να διατηρηθούν μέχρι την ανάλυση.

Στην αναλυτική διαδικασία, η προετοιμασία του δείγματος θεωρείται συχνά ο σκελετός ολόκληρης της αναλυτικής μεθόδου. Η αξιοπιστία των τελικών αποτελεσμάτων της ανάλυσης συνδέεται άμεσα από την προσοχή που θα δοθεί σε αυτό το βήμα. Πιο συγκεκριμένα, πρέπει να εξεταστεί ο τύπος των ουσιών προς ανάλυση, δηλαδή: οι φυσικοχημικές ιδιότητες τους (διαλυτότητα, πτητικότητα, πολικότητα), οι περιβαλλοντικές συνθήκες και τα συστατικά στοιχεία της μήτρας του δείγματος.

Διάφορες μέθοδοι προετοιμασίας δειγμάτων έχουν αναπτυχθεί βάσει εξαντλητικών ή μη εκχύλισεων. Αναμφίβολα, μεταξύ όλων των προσεγγίσεων προετοιμασίας ενός δείγματος, η εκχύλιση, συμπεριλαμβανομένου της υγρής-υγρής (LLE) και της εκχύλισης στερεάς φάσης (SPE), είναι οι περισσότερο διαδεδομένες, ευρέως χρησιμοποιούμενες και κοινώς αποδεκτές μέθοδοι από πολλούς διεθνείς οργανισμούς και διαπιστευμένα εργαστήρια. Ωστόσο, οι τεχνικές αυτές δεν είναι ικανές να ανταπεξέλθουν για όλων των ειδών τα δείγματα. Παραδείγματος χάριν, σε περίπτωση ουσιών – στόχων που βρίσκονται εντός σύνθετων μήτρων δεν είναι εύκολη η προετοιμασία του δείγματος με αυτές τις κλασσικές προσεγγίσεις.

Τις τελευταίες δύο δεκαετίες, η χρήση της μικροεκχύλισης στερεάς φάσης (SPME) έχει επιτύχει σημαντική πρόοδο κατά την προετοιμασία δειγμάτων. Είναι μια μέθοδος που είναι ικανή να αντιμετωπίσει πολλούς από τους περιορισμούς των παλιότερων κλασικών μεθόδων προετοιμασίας. Επίσης υπάρχουν εμπορικά διαθέσιμες πολλών ειδών επικαλύψεις ινών που έχουν την δυνατότητα της εκχύλισης από πολύπλοκες μήτρες [1-2].

Στις μέρες μας υπάρχουν αρκετά διαθέσιμα όργανα για την επίτευξη του τελικού βήματος μιας αναλυτικής διαδικασίας δηλαδή για την ανάλυση του δείγματος. Τα όργανα αυτά μπορούν να ανιχνεύσουν και να ταυτοποιήσουν αναρίθμητες ενώσεις από περίπλοκες μήτρες. Τα πιο δημοφιλή και εύκολα στην χρήση αναλυτικά όργανα είναι εκείνα της αέριας χρωματογραφίας το GC ή GC/MS και της υγρής χρωματογραφίας υψηλής αποδοτικότητας το HPLC ή LC/MS. Το μεγάλο μειονέκτημα των αναλυτικών αυτών οργάνων είναι ότι δεν υπάρχει δυνατότητα της απευθείας ανάλυσης των δειγμάτων. Το παραπάνω πρόβλημα αντιμετωπίζεται με την ορθή προετοιμασία των δειγμάτων [3-4].

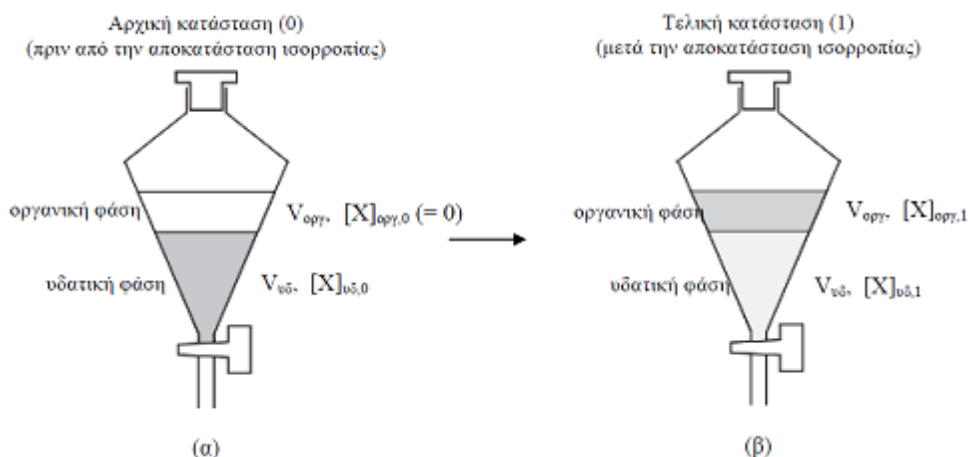
## 1.1. Εκχύλιση

Η τεχνική της εκχύλισης είναι μία φυσική μέθοδος και ανήκει στις πιο κλασικές τεχνικές διαχωρισμού. Βασίζεται στην ισορροπία κατανομής μιας ουσίας μεταξύ δύο φάσεων, που αναμιγνύονται ελάχιστα μεταξύ τους. Η μέθοδος αυτή είναι αρκετά δημοφιλής καθώς έχει πλεονεκτήματα όπως την απλότητα, την ταχύτητα, την ευελιξία και τη δυνατότητα εφαρμογής της σε δείγματα που περιέχουν από ίχνη μέχρι και μεγάλες ποσότητες μιας ουσίας. Αύτη η μέθοδος συναντάται με πολλές και διαφορετικές εκδοχές ανάλογα με την φυσική κατάσταση του εκχυλιστικού μέσου και της φάσης του δότη. Στις τεχνικές εκχυλίσεων συμπεριλαμβάνεται η υγρή – υγρή εκχύλιση (Liquid – Liquid Extraction, LLE) και η εκχύλιση στερεής φάσης (Solid Phase Extraction, SPE) [4].

### 1.1.1. Υγρή – υγρή εκχύλιση (Liquid – Liquid Extraction, LLE)

Η τεχνική διαχωρισμού LLE, είναι η εκχύλιση ενός διαλύματος με έναν υγρό διαλύτη. Βασίζεται στην κατανομή της ένωσης υπό ανάλυση, δηλαδή της διαλυμένης ουσίας του διαλύματος με τον υγρό διαλύτη. Τα δύο υγρά είναι μη αναμίξιμα μεταξύ τους, δημιουργώντας έτσι δύο φάσεις. Κατά την LLE εκχύλιση, ορισμένος όγκος του προς εκχύλιση διαλύματος έρχεται σε επαφή με ορισμένο όγκο εκχυλιστικού μέσου μέσα σε μια διαχωριστική χοάνη, όπως φαίνεται στην εικόνα 1. Στην συνέχεια, το σύστημα αναταράσσεται και αφήνεται σε ηρεμία. Ύστερα από την αποκατάσταση της ισορροπίας, οι φάσεις της υδατικής και της οργανικής διαχωρίζονται και λαμβάνεται η οργανική φάση η οποία περιέχει την ένωση στόχο [1].

Η μέθοδος LLE προσφέρει την δυνατότητα μεγάλης χωρητικότητας ως προς το δείγμα αλλά μειονεκτεί στο γεγονός ότι είναι χρονοβόρα διαδικασία. Αποτελείται από αρκετά στάδια με αποτέλεσμα να έχει μειωμένη ευαισθησία σαν μέθοδος, ενώ παράλληλα δίνει μικρές αναλογίες όγκου δείγματος/διαλύτη. Επιπλέον, απαιτείται κατανάλωση μεγάλου όγκου διαλυτών υψηλής καθαρότητας. Τέλος, οι συνήθεις διαλύτες της μεθόδου είναι δαπανηροί και τοξικοί, με αποτέλεσμα να αυξάνουν την παραγωγή επικίνδυνων εργαστηριακών αποβλήτων [1,4-5].



Εικόνα 1: Τεχνική διαχωρισμού LLE διαλύματος ουσίας  $\chi$  με οργανικό διαλύτη σε διαχωριστική χοάνη. (α) Αρχική κατάσταση, (β) Τελική κατάσταση αφού έχει αναταραχθεί, έχει επέλθει ισορροπία κατανομής και διαχωρισμός των φάσεων [5].

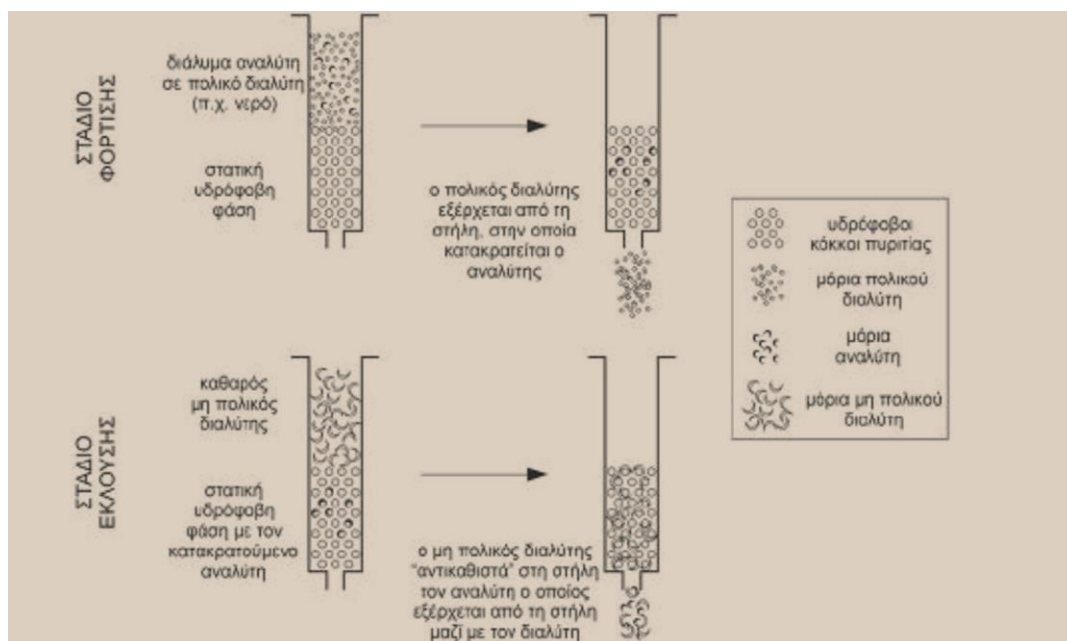
### 1.1.2. Εκχύλιση στερεής φάσης (Solid Phase Extraction, SPE)

Η τεχνική εκχύλισης στερεής φάσης SPE, εισήχθη στο εμπόριο την δεκαετία του 80'. Η SPE έχει ως εκχυλιστικό μέσο ένα στερεό προσροφητικό υλικό, στο οποίο εκχυλίζονται οι οργανικές ενώσεις από υδατικά δείγματα. Η τεχνική έγινε γρήγορα δημοφιλής, καθώς έκανε την διαδικασία της εκχύλισης αισθητά πιο σύντομη και μείωσε την κατανάλωση μεγάλου όγκου διαλυτών, σε σχέση με τις προηγούμενες μεθόδους [3].

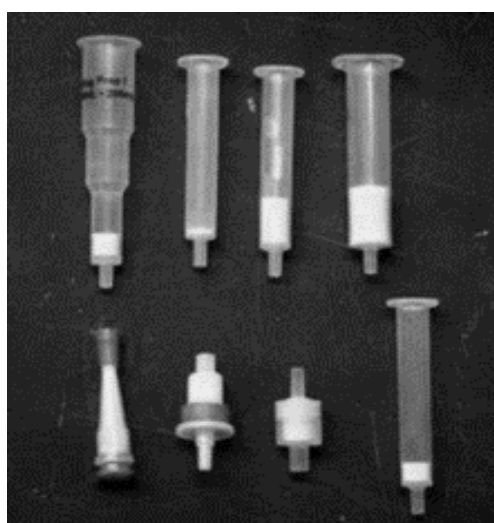
Στις μέρες μας υπάρχει η δυνατότητα αυτοματοποίησης της μεθόδου. Με αυτόν τον τρόπο τα αποτελέσματα είναι μεγαλύτερης ακρίβειας καθώς μειώνονται τα ανθρώπινα σφάλματα μεταξύ του σταδίου προ-επεξεργασίας και του σταδίου ανάλυσης. Υπάρχουν αρκετές εμπορικά διαθέσιμες συσκευές για την μέθοδο SPE. Επιπλέον, οι αναλύτες κάνουν μια σταθερή σύνδεση με την εκχυλιστική φάση και αυτό δίνει την ικανότητα αποθήκευσης της εκχυλιστικής φάσης μετά την εκχύλιση και πριν την εισαγωγή της στο όργανο για ανάλυση [6-7].

Σημαντικό είναι να αναφερθεί ότι η διαδικασία της SPE, δεν είναι ιδανική για την εκχύλιση ημι-πτητικών και μη πτητικών ενώσεων και ότι συμβαίνουν πολλές απώλειες της ποσότητας των αναλυτών κατά το στάδιο της εξάτμισης. Τέλος, η SPE αποτελείται από αρκετά βήματα που αυξάνουν τον κίνδυνο σφάλματος κατά την διαδικασία και η μέθοδος αυτή καταλήγει σε μικρότερη ευαισθησία [7,9].

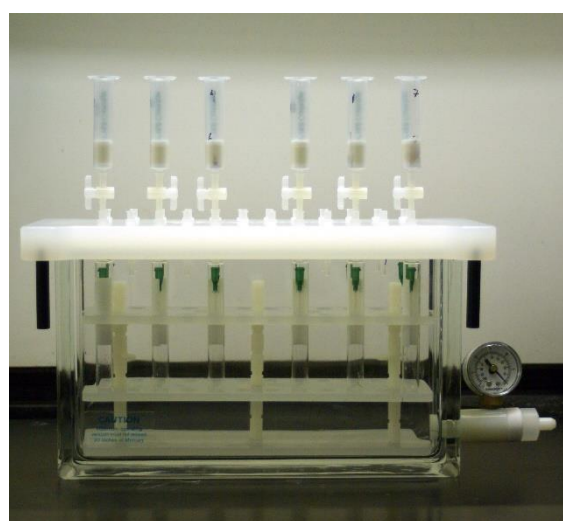




Εικόνα 2: Διαχωρισμός με SPE αντίστροφης φάσης [1]



(α)



(β)

Εικόνα 3: (α) Χαρακτηριστικοί σωλήνες/στήλες SPE. (β) Συσκευή ταυτόχρονου χειρισμού στηλών SPE (υπάρχει δυνατότητα επιτάχυνσης της ροή με εφαρμογή κενού). [5]

### 1.1.3. Μικροεκχύλιση

Τα τελευταία χρόνια έχει σημειωθεί σημαντική προσπάθεια ώστε να γίνει βελτιστοποίηση των ήδη υπάρχοντων κλασικών μεθόδων προετοιμασίας δείγματος με στόχο την εξοικονόμηση πόρων, χρόνου και εργασίας. Για αυτόν τον λόγο αναπτύχθηκε μια νέα μέθοδος, η μικροεκχύλιση, η οποία επιτυγχάνει αρκετά τους παραπάνω στόχους κατά την προετοιμασία ενός δείγματος. Οι σύγχρονες μέθοδοι προ-συγκέντρωσης και προ-επεξεργασίας δείγματος είναι στην πραγματικότητα μικρογραφίες των LLE και SPE. Χρησιμοποιώντας τις κλασικές τεχνικές εκχύλισης αλλά σε σμίκρυνση ελαχιστοποιήθηκαν επίσης πολλά σφάλματα κατά την ανάλυση [5].

Η μικροεκχύλιση είναι μία μέθοδος διαχωρισμού διαλυμάτων με την διαφορά ότι μειώνεται η απαιτούμενη ποσότητα του δείγματος και η κατανάλωση του εκχυλιστικού μέσου. Αυτό έχει ως συνέπεια την μείωση του συνολικού κόστους της διεργασίας, καθώς χρησιμοποιούνται ελάχιστες ποσότητες οργανικού διαλύτη [6-8].

Στις τεχνικές αυτές συμπεριλαμβάνονται η μικροεκχύλιση στερεάς φάσης ή Solid Phase Microextraction, SPME και η μικροεκχύλιση υγρής φάσης ή Liquid Phase Microextraction, LPME. Πλεονεκτήματα και των δύο μεθόδων μικροεκχύλισης είναι η ταχύτητα, η απλότητα, το χαμηλό κόστος, καθώς και η χαμηλή τους επιβάρυνση στο περιβάλλον [8 -10].

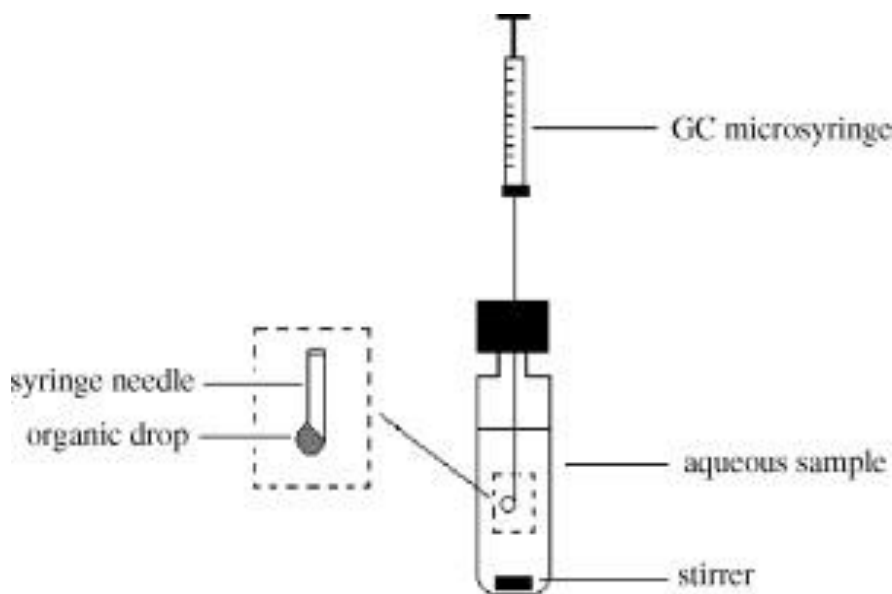
### 1.1.4. Μικροεκχύλιση υγρής φάσης - Liquid Phase Microextraction

Η μικροεκχύλιση υγρής φάσης (LPME) είναι μέθοδος διαχωρισμού μιας διαλυμένης ουσίας σε έναν διαλύτη και βασίζεται στην διαφορετική κατανομή των ουσιών. Αποτελεί, μια μικρογραφία της κλασικής μεθόδου υγρή-υγρή εκχύλισης. Βασικό χαρακτηριστικό της LPME είναι η χρήση πολύ μικρών ποσοτήτων διαλύτη κατά την εκχύλιση. Η LPME είναι γρήγορη και απλή διαδικασία. Η αποκατάσταση της ισορροπίας μπορεί να επιτευχθεί εντός μερικών λεπτών, με αποτέλεσμα να αυξάνεται η ακρίβεια και η ευαισθησία της σαν μέθοδος διαχωρισμού. Επίσης, μειώνει το συνολικό χρόνο προσδιορισμού του συντελεστή κατανομής οκτανόλης/νερού. Συμπερασματικά, η LPME τεχνική συνδυάζει το χαμηλό κόστος ταχύτητα, την ευκολία στην χρήση, και είναι παράλληλα και φιλική προς το περιβάλλον. Επιπλέον, με τις τεχνικές αυτές καθίσταται πλέον δυνατή η ανάλυση ρύπων σε πραγματικά περιβαλλοντικά δείγματα, όπου συνήθως απαντώνται σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις [3,11].

Έχει παρατηρηθεί, όμως, ότι η μέθοδος LPME δεν είναι αρκετά ικανοποιητική λόγω των προβλημάτων που προκύπτουν από την αστάθεια της μικροσταγόνας. Τα προβλήματα αυτά μεγιστοποιούνται όταν η ανάδευση είναι σε πολύ υψηλούς ρυθμούς και κυρίως όταν οι περιβαλλοντικές μήτρες είναι πολύπλοκες [12].

Η συνεχόμενη έρευνα για την βελτιστοποίηση της τεχνικής LPME δημιούργησε πολλές παραλλαγές της μεθοδολογίας. Παράδειγμα των παραλλαγών αυτών είναι:

- Η αρχική ιδέα της μεθόδου LPME που ξεκίνησε από τους Jeannot and Cantwell το 1996 ήταν η απευθείας δειγματοληψία μονής σταγόνας, ή Direct Single Drop Microextraction, Direct-SDME. Η σταγόνα του οργανικού διαλύτη τοποθετείται με τη βοήθεια μιας μικροσύριγγας μέσα στο διάλυμα καθ' όλη την διάρκεια της εκχύλισης, όπως φαίνεται στην εικόνα 4. Σε αυτή τη μέθοδο υπάρχουν δύο μη αναμίξιμες υγρές φάσεις, η υδατική και η οργανική. Κατά τη διεργασία της μικροεκχύλισης γίνεται μεταφορά μάζας από την υδατική απευθείας στην οργανική φάση. Οι ενώσεις-στόχοι μεταφέρονται από το υδατικό διάλυμα στην σταγόνα του οργανικού διαλύτη μέχρις ότου επέλθει η θερμοδυναμική ισορροπία ή σταματήσει η εκχύλιση. Μετά το τέλος της δειγματοληψίας η οργανική φάση οδηγείται στο κατάλληλο όργανο για ανάλυση [8].



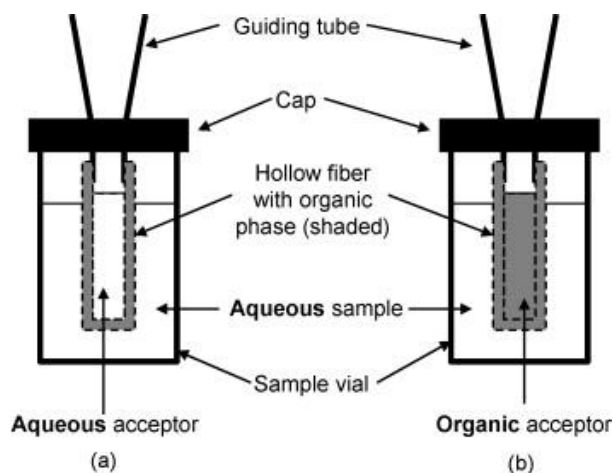
Εικόνα 4: Απευθείας μικροεκχύλιση υγρής φάσης μονής σταγόνας – direct SDME [12]

- Hollow Fiber - LPME είναι μία τεχνική μικροεκχύλισης υγρής-υγρής φάσης

Ο H.K.Lee [13], ήταν εκείνος που εισήγαγε την εναλλακτική ιδέα για την LPME το 1999 και αναπτύχθηκε από τον Thordarson [15] και τους Pedersen-Bjergaard και Rasmussen [13]. Η ιδέα βασίστηκε στην χρήση απλής, χαμηλού κόστους, μιας χρήσης πορώδους κοίλης ίνας

από πολυπροπυλένιο. Σε αυτή την ιδέα, οι ουσίες-στόχοι εξάγονται από το υδατικό διάλυμα μέσω ενός λεπτού στρώματος οργανικού διαλύτη, μερικών μικρολίτρων. Ο οργανικός διαλύτης βρίσκεται ακινητοποιημένος μέσα στους πόρους μιας πορώδους κοίλης ίνας και σε ένα διάλυμα δέκτη μέσα στον αυλό της κοίλης ίνας. Στην HF-LPME, η οργανική φάση προστατεύεται από την ίνα και φαίνεται ότι η κοίλη ίνα επιβραδύνει τη διαδικασία διαλυτοποίησης του οργανικού διαλύτη στο υδατικό διάλυμα. Η αναλώσιμη φύση της κοίλης ίνας εξαλείφει το φαινόμενο «carry over» της μεταφοράς δηλαδή μιας ουσίας από ένα δείγμα στο επόμενο. Επιπροσθέτως, το μικρό μέγεθος πόρων εμποδίζει τα μεγάλα μόρια και τα σωματίδια που υπάρχουν στο διάλυμα δότη να εισέλθουν στη εκχυλιστική φάση. Επίσης τα περισσότερα μακρομόρια δεν εισέρχονται στην κοίλη ίνα επειδή δεν είναι διαλυτά στην οργανική φάση που υπάρχει στους πόρους, αποδίδοντας έτσι πολύ καθαρά εκχυλίσματα [13].

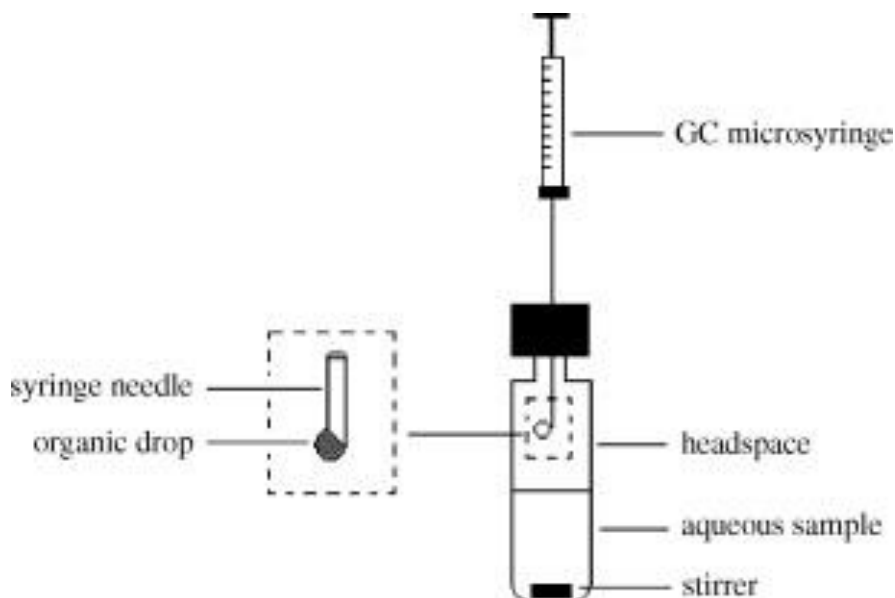
Υπάρχουν δύο τεχνικές που χρησιμοποιούνται: η τεχνική δύο φάσεων HF-LPME και η τεχνική τριών φάσεων HF-LPME. Στις δύο φάσεις HF-LPME, οι ουσίες - στόχοι εξάγονται με παθητική διάχυση από το δείγμα στον υδρόφοβο οργανικό διαλύτη που υποστηρίζεται από την ίνα και στη τριφασική HF-LPME οι ουσίες - στόχοι εξάγονται μέσω ενός οργανικού διαλύτη ακινητοποιημένου στους πόρους της ίνας και περαιτέρω σε μια νέα υδατική φάση στον αυλό των ινών [13].



Εικόνα 5: Σχηματική απεικόνιση της Hollow Fiber-LPME (a) τριών φάσεων (b) δύο φάσεων [17]

- Μία παραλλαγή της μεθόδου LPME εφευρέθηκε το 2001 από τους Jeanot και Cantwell [8], η οποία βασίζεται στη μικροεκχύλιση μονής σταγόνας όπου η φάση εκχύλισης είναι μία σταγόνα ενός μη αναμίξιμου με το νερό διαλύτη αιωρούμενη πάνω από το υδατικό διάλυμα για την εκχύλιση των ζητούμενων ενώσεων. Ονομάστηκε μικροεκχύλιση μονής

σταγόνας ή Headspace Single Drop Microextraction, HSSDME. Η πειραματική διάταξη φαίνεται στην εικόνα 6 [8,12].



Εικόνα 6: Μικροεκχύλιση υγρής φάσης του υπερκείμενου χώρου μονής σταγόνας – HSSDME [12]

#### 1.1.5. Μικροεκχύλιση στερεάς φάσης – Solid Phase Microextraction

Η τεχνική της μικροεκχύλισης στερεάς φάσης αποτελεί μία σχετικά καινούρια μέθοδο ανίχνευσης ουσιών και ανάλυσης δειγμάτων. Αυτή η τεχνική εκχύλισης βασίζεται στην ρόφηση των αναλυτών από στερεό προσροφητικό υλικό. Η τεχνική αυτή πρωτοεμφανίστηκε το 1990 από τους Arthur και Pawliszyn, όπου εφηύραν μια μέθοδο δειγματοληψίας κατά την οποία δεν χρησιμοποιείται καθόλου οργανικός διαλύτης. [18-19]

Η Sigma Aldrich σχεδίασε την εμπορικά διαθέσιμη συσκευή της SPME το 93', η οποία βασίστηκε σε μία επαναχρησιμοποιούμενη μικροσύριγγα που συνδεόταν με μία ίνα στην επιφάνεια της οποίας βρίσκεται το ροφητικό υλικό (στατική φάση ή φάση εκχύλισης). Πιο συγκεκριμένα, η συσκευή που χρησιμοποιείται, αποτελείται από μια τριχοειδή επικαλυμμένη ίνα 1 cm, η οποία επικαλύπτεται εξωτερικά από τη στατική φάση. Η ίνα είναι συνδεδεμένη με ένα ατσάλινο έμβολο και μια συσκευή συγκράτησης που μοιάζει με μικροσύριγγα [21].

Η τεχνική αυτή στηρίζεται στην κατανομή των εκχυλιζόμενων συστατικών μεταξύ φάσης του δείγματος και της στερεάς στατικής φάσης όπου είναι το πολυμερές υλικό, με το οποίο είναι επικαλυμμένη η ίνα. Η τεχνική αυτή βασιζόμενη στις αρχές της ισορροπίας, δεν προκαλεί την εξαντλητική εκχύλιση

των ενώσεων-στόχων από το δείγμα, καθώς ο όγκος της εκχυλιζόμενης φάσης είναι πολύ μικρός σε σχέση με τον όγκο του δείγματος. Μετά από καθορισμένο χρόνο, επέρχεται ισορροπία στο σύστημα, δηλαδή μεταξύ των ενώσεων-στόχων του δείγματος και της εκχυλιζόμενης φάσης. Σε περίπτωση διακοπής της εκχύλισης προτού επέλθει η ισορροπία του συστήματος, το ποσό της προς ανάλυση ουσίας που εκχυλίζεται είναι ανάλογο του χρόνου [18-19,22].

Πολύ συχνά τυχαίνει, η μήτρα να είναι αρκετά περίπλοκη όπως για παράδειγμα, σε ένα δείγμα που αποτελείται από την υδατική φάση αλλά παράλληλα έχει και αιωρούμενα στερεά σωματίδια. Τα σωματίδια αυτά μπορεί να έχουν διάφορες προσρόφητικές αλληλεπιδράσεις με τις ουσίες – στόχους. Σε ορισμένες περιπτώσεις, πρέπει να ληφθούν υπόψη διάφοροι παράγοντες, όπως η απώλεια των ουσιών – στόχων λόγω βιοαποικοδόμησης ή προσρόφησης στα τοιχώματα του δοχείου δειγματοληψίας. Στη συζήτηση που ακολουθεί, θεωρείται ότι υπάρχουν μόνο τρεις φάσεις: η επίστρωση της ίνας, ο χώρος της υπερκείμενης φάσης και μια ομοιογενής μήτρα. Κατά την εκχύλιση, οι ουσίες - στόχοι μετακινούνται μεταξύ και των τριών φάσεων μέχρις ότου επιτευχθεί η ισορροπία [23].

Τα πλεονεκτήματα της SPME είναι η απλότητα, η αποτελεσματικότητα και η ταχύτητα της ως μέθοδος δειγματοληψίας. Η SPME χαρακτηρίζεται και αυτή ως μία φιλική προς το περιβάλλον μέθοδος καθώς δεν χρησιμοποιείται διαλύτης. Στην μέθοδο αυτή υπάρχει μεγάλη ευαισθησία, καθώς μπορούν να ανιχνευθούν ακόμη και πολύ μικρές συγκεντρώσεις ρύπων. Η SPME είναι δυνατόν να χρησιμοποιηθεί και σε πολλά πεδία της αναλυτικής χημείας όπως σε αναλύσεις τροφίμων και περιβαλλοντικών δειγμάτων. Τέλος, είναι μία αναλυτική μέθοδος που εφαρμόζεται για την ανίχνευση μεγάλης ποικιλίας αναλυτών από πολλές και διαφορετικές μήτρες [6,7,17-20].

Ως κύριο μειονέκτημα της μεθόδου είναι το κόστος της ίνας και η διάρκεια ζωής της, καθώς τα υλικά της στερεάς φάσης αποικοδομούνται με τη χρήση της. Επιπλέον, η μερική απώλεια της στερεάς φάσης της SPME ίσως οδηγήσει σε κορυφές που μπορούν να εκλουστούν μαζί με τις ενώσεις που αναλύονται και με αυτόν τον τρόπο η ίνα να χάσει την γραμμικότητά της και να προκύπτουν μη αξιόπιστα αποτελέσματα. Επίσης, ενώσεις υψηλού μοριακού βάρους συχνά προσδένονται με την ίνα αλλάζοντας τα χαρακτηριστικά του υλικού επικάλυψης της ίνας με τέτοιο τρόπο ώστε να μη μπορεί να χρησιμοποιηθεί ξανά [20-21].

Η τεχνική αποτελείται από δύο στάδια. Το στάδιο δειγματοληψίας / εκχύλισης και το στάδιο της εκρόφησης / μέτρησης [7,18].

- Κατά το στάδιο δειγματοληψίας / εκχύλισης:  
Στην αρχή η ίνα βρίσκεται μέσα σε μια ειδική σύριγγα της στερεής φάσης που ονομάζεται SPME fiber holder. Ο βασικός λόγος που βρίσκεται εσωτερικά αυτής της μικροσύριγγας είναι η προστασία της καθώς είναι

αρκετά ευαίσθητη κατασκευαστικά. Στη συνέχεια η σύριγγα, με την ίνα στο εσωτερικό της, διαπερνά το ελαστικό διάφραγμα-πώμα του φιαλιδίου με το δείγμα. Το πώμα αυτό ονομάζεται septum και συνήθως είναι κατασκευασμένο από ελαστικό σιλικόνης. Με μια κίνηση του εμβόλου προς τα κάτω η ίνα εξάγεται από τη σύριγγα και βυθίζεται στο διάλυμα για δειγματοληψία/εκχύλιση μη πτητικών ουσιών ή παραμένει στην υπερκείμενη φάση για δειγματοληψία/ εκχύλιση πτητικών ουσιών για ορισμένο χρονικό διάστημα. Ύστερα από ορισμένο χρονικό διάστημα δειγματοληψίας η ίνα εισάγεται ξανά εσωτερικά της σύριγγας μικρο-εκχύλισης στερεής φάσης για προστασία, με κίνηση του εμβόλου προς τα επάνω. Τέλος, η σύριγγα εξέρχεται από το φιαλίδιο της δειγματοληψίας. Στη συνέχεια δίνεται είτε η δυνατότητα αποθήκευσης της ίνας για μικρό χρονικό διάστημα είτε συνεχίζει η διαδικασία στο επόμενο στάδιο.

- Κατά το στάδιο της εκρόφησης / μέτρησης:  
Η σύριγγα με την ίνα στο εσωτερικό της διαπερνά το septum του εισαγωγέα δείγματος της αέριας ή υγρής χρωματογραφίας και εξάγεται η ίνα στο εσωτερικό του εισαγωγέα. Με αυτόν τον τρόπο πραγματοποιείται η θερμική εκρόφηση αν η ανάλυση γίνει με αέριο χρωματογράφο και υγρή εκρόφηση με υγρό χρωματογράφο των αναλυτών για συγκεκριμένο χρόνο, συνήθως μερικών λεπτών. Τέλος, η ίνα εισέρχεται πάλι εντός της σύριγγας και εξάγεται από τον εισαγωγέα της υγρής ή αέριας χρωματογραφίας. Οι ουσίες - στόχοι περνάνε μέσω της κινητής φάσης προς τη χρωματογραφική στήλη για τον χρωματογραφικό τους διαχωρισμό και την ποσοτικοποίηση τους.

## 1.2. Τρόποι δειγματοληψίας για την μέθοδο SPME

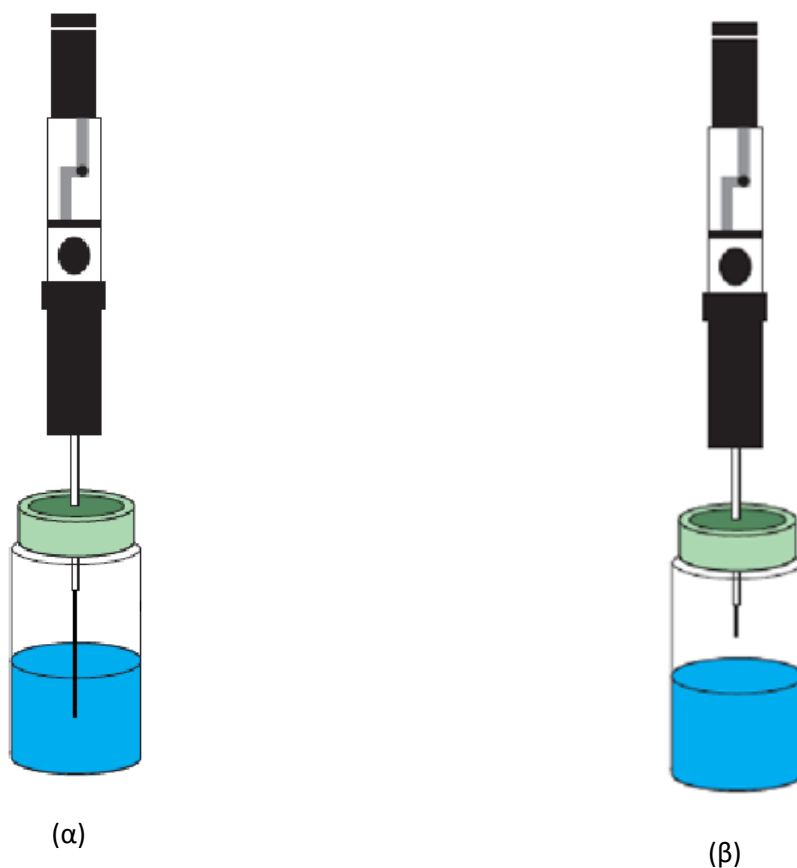
Οι δύο τρόποι δειγματοληψίας με την μέθοδο SPME είναι η απευθείας δειγματοληψία και η δειγματοληψία στην υπερκείμενη φάση.

- Κατά την απευθείας δειγματοληψία, Direct-SPME, η εκχύλιση πραγματοποιείται με βύθιση της ίνας στο διάλυμα του δείγματος. Με αυτόν τον τρόπο οι ουσίες-στόχοι μεταφέρονται απευθείας από την μήτρα στην ίνα. Με αυτόν τρόπο μειώνεται αισθητά ο χρόνος που απαιτείται για την αποκατάσταση της ισορροπίας. Αυτό συμβαίνει καθώς οι ουσίες δεν χρειάζεται να πραγματοποιήσουν το επιπλέον βήμα της μεταφοράς τους από την μήτρα στην αέρια φάση και μετά στην ίνα. Στην περίπτωση αυτή, λόγω της άμεσης επαφής της ίνας με το διάλυμα του δείγματος, θα πρέπει να αποφεύγονται οι ιδιαίτερα όξινες ή αλκαλικές

συνθήκες, για την αποφυγή καταστροφής της ίνας. Συνήθως η Direct SPME εφαρμόζεται όταν η υπό εξέταση ουσία εμφανίζει πολύ μικρή ή καθόλου πτητικότητα. Η μέθοδος αυτή μειονεκτεί καθώς είναι πιθανή η καταστροφή της ίνας από πολύπλοκες μήτρες με πολλές προσμίξεις [22].

- Κατά την δειγματοληψία στην υπερκείμενη φάση - Headspace Solid Phase Microextraction (HSSPME) όπου η ίνα, κρατείται καθ' όλη την διάρκεια της δειγματοληψίας πάνω από το υδατικό διάλυμα με την βοήθεια της συσκευής συγκράτησης. Σε αυτή την περίπτωση οι ενώσεις διανέμονται σε τρεις φάσεις. Μεταφέρονται από το δείγμα στην αέρια φάση και στη συνέχεια στην ίνα. Αυτό το επιπλέον βήμα της μεταφοράς των ουσιών - στόχων στην αέρια φάση που απαιτείται, οδηγεί στην αύξηση του συνολικού χρόνου ισορροπίας, σε σχέση με την μέθοδο Direct-SPME. Ο χρόνος μπορεί να μειωθεί όμως με αύξηση της θερμοκρασία εκχύλισης ή/και εφαρμογής ανάδευσης. Η τεχνική αυτή μπορεί να χρησιμοποιηθεί για ενώσεις που ανήκουν στο πτητικό και ημι-πτητικό φάσμα. Το πλεονέκτημα της μεθόδου αυτής είναι ότι η ίνα προστατεύεται από την πιθανή καταστροφή της λόγω του υποστρώματος του δείγματος και παράλληλα δεν μεταφέρονται σε αυτήν μη πτητικά μεγαλομόρια. Με αυτήν τη μέθοδο είναι δυνατή η αλλαγή παραμέτρων της μήτρας του δείγματος, χωρίς να υπάρχει κίνδυνος αλλοίωσης του υλικού επικάλυψης της ίνας, όπως παραδείγματος χάριν το pH. Η μέθοδος της HSSPME περιορίζεται όταν οι ενώσεις-στόχοι είναι ημι-πτητικές καθώς δυσκολεύονται κατά την μεταφορά τους από την μήτρα στην υπερκείμενη φάση. Αυτή η δυσκολία κατά την μεταφορά εξαρτάται από τον συντελεστή διάχυσης της κάθε ουσίας προς την υπερκείμενη φάση και επιδρά στον χρόνο εκχύλισης [7,19].





Εικόνα 7: (α) Απευθείας μικροεκχύλιση στερεάς φάσης – Direct Solid Phase Microextraction και (β) Μικροεκχύλιση υπερκείμενου χώρου στερεάς φάσης -Headspace Solid Phase Microextraction

### 1.3. Τύποι ίνας SPME

Για την επιλογή του τύπου της ίνας πρέπει πρώτα να μελετηθεί το μοριακό βάρος, η πολικότητα της ίνας και της ουσίας, το εύρος των συγκεντρώσεων και ο τύπος του ανιχνευτή. Οι εμπορικά διαθέσιμες επικαλύψεις ίνας είναι [27] :

- Polydimethylsiloxane/Divinylbenzene (PDMS/DVB)
- Carbowax/Divinylbenzene CW/DVB),
- Divinylbenzene/Carboxen/ Polydimethylsiloxane (DVB/CAR/PDMS),
- Carboxen/Polydimethylsiloxane(Carboxen/PDMS),
- Polyacrylate,
- PolyethyleneGlycol (PEG)
- Polycrate (PA)

Ο προσδιορισμός του τύπου της καταλληλότερης ίνας που σχετίζεται με τα μοριακά βάρη και την πολικότητα των ουσιών-στόχων [20]. Παρακάτω παρατίθεται ο σχετικός πίνακας 1.

Πίνακας 1: Προτεινόμενοι τύποι ίνας ανάλογα με ουσίες στόχοι [20]

Ουσίες στόχοι	Προτεινόμενες ίνες
Gases and low molecular weight compounds (MW 30-225)	75 µm/85 µm Carboxen/PDMS
Volatiles (MW 60-275)	100 µm PDMS
Volatiles, amines and nitro-aromatic compounds (MW 50-300)	65 µm PDMS / DVB
Polar semi-volatiles (MW 80-300)	85 µm polyacrylate
Non-polar high molecular weight compounds (MW 125-600)	7 µm PDMS
Non-polar semi-volatiles (MW 80-500)	30 µm PDMS
Alcohols and polar compounds (MW 40-275)	60 µm Carbowax (PEG)
Flavor compounds: volatiles and semi-volatiles, C3-C20 (MW 40-275)	50/30 µm DVB /Carboxen PDMS on a StableFlex fiber 1 cm
Trace compound analysis (MW 40-275)	50/30 µm DVB/Carboxen on PDMS on a 2 cm StableFlex fiber
Amines and polar compounds (HPLC use only)	60 µm PDMS / DVB

- Οι χαμηλού μοριακού βάρους ή οι πτητικές ενώσεις συνήθως απαιτούν μία ίνα επικαλυμμένη με PDMS 100 µm.
- Ενώσεις με μεγαλύτερες μοριακές μάζες ή ημιπολικές ενώσεις εκχυλίζονται πιο αποτελεσματικά με ίνα PDMS 30 µm ή με ίνα PDMS 7 µm.

- Για πολύ πολικούς αναλύτες από πολικά δείγματα, χρησιμοποιείται η ίνα με επικάλυψη πολυακρυλικού 85  $\mu\text{m}$ .
- Πτητικοί πολικοί αναλύτες, όπως αλκοόλες ή αμίνες, απορροφώνται αποτελεσματικότερα και απελευθερώνονται γρηγορότερα με 65  $\mu\text{m}$  PDMS/DVB επικαλυμμένες ίνες.
- Για γενική χρήση με χρωματογράφο HPLC χρησιμοποιείται η ίνα PDMS / DVB 60  $\mu\text{m}$ .
- Για την ανάλυση πτητικών επιπέδων ίχνους, χρησιμοποιείται ίνα PDMS / Carboxen 75  $\mu\text{m}$ .
- Για μια εκτεταμένη περιοχή ιδιοτήτων (C3-C20), χρησιμοποιείται 50/30 DVB / Carboxen σε ίνες PDMS.

#### 1.4 Βασική αρχή SPME

Η εκχύλιση με την SPME είναι μια μέθοδος που λειτουργεί κατά την ισορροπία των φάσεων που κατανέμεται η ουσία - στόχος. Η εκχύλιση δεν εξαντλεί την ουσία - στόχο από το δείγμα δηλαδή δεν εκχυλίζεται όλη η ποσότητα της ουσίας - στόχου από το υδατικό διάλυμα.

Τυπικά, η διαδικασία της μικροεκχύλισης θεωρείται πλήρης όταν η ουσία - στόχος έχει φτάσει σε ισορροπία με την μήτρα του δείγματος και την επικάλυψη της ίνας. Οι συνθήκες ισορροπίας μπορούν να περιγραφτούν με την εξίσωση (1) σύμφωνα με τον νόμο της διατήρησης της μάζας, εάν ληφθούν υπόψιν μόνο 2 φάσεις, εκείνη της μήτρας του δείγματος και εκείνη της ίνας [23].

$$C_0 V_s = C_s^\infty V_s + C_f^\infty V_f \quad (1)$$

Όπου:

$C_0$  , η αρχική συγκέντρωση της ουσίας στόχου στο δείγμα

$V_s$ , ο όγκος του δείγματος

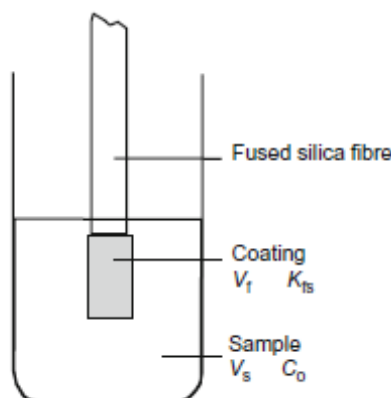
$C_s^\infty$ , η συγκέντρωση της ουσίας στόχου στο υδατικό διάλυμα κατά την ισορροπία

$C_f^\infty$  , η συγκέντρωση της ουσίας στόχου στην ίνα κατά την ισορροπία

$V_f$  , ο όγκος της επίστρωσης της ίνας

Ο συντελεστής κατανομής  $K_{fs}$  της ουσίας - στόχου μεταξύ της επικάλυψης της ίνας και της μήτρας δείγματος ορίζεται ως:

$$K_{fs} = \frac{C_f^\infty}{C_s^\infty} \quad (2)$$



Εικόνα 8: Προετοιμασία δείγματος με SPME

Συνδυάζοντας τις εξισώσεις (1) και (2), προκύπτει η εξής εξίσωση:

$$C_f^\infty = C_0 \frac{K_{fs}V_s}{K_{fs}V_f + V_s} \quad (3)$$

Τέλος, μπορεί να υπολογιστεί ο αριθμός των γραμμομορίων  $n$  της ουσίας – στόχου που εκχυλίζεται από την ίνα από την εξίσωση (4):

$$n = C_f^\infty V_f = C_0 \frac{K_{fs}V_s V_f}{K_{fs}V_f + V_s} \quad (4)$$

Η εξίσωση (4) υποδεικνύει ότι η ποσότητα της εκχυλιζόμενης ουσίας που βρίσκεται στην ίνα ( $n$ ) είναι γραμμικώς ανάλογη με τη συγκέντρωση της αναλυόμενης ουσίας στο δείγμα ( $C_0$ ), η οποία είναι η αναλυτική βάση για την ποσοτικοποίηση χρησιμοποιώντας την SPME [23].

Όταν ο όγκος δείγματος είναι πολύ μεγάλος, δηλ.  $V_s \gg K_{fs}V_f$ , η εξ. (4) μπορεί να απλοποιηθεί ως εξής:

$$n = K_{fs}V_f C_0 \quad (5)$$

Συμπεραίνουμε, λοιπόν, τη χρησιμότητα της τεχνικής αυτής όταν ο όγκος του δείγματος δεν είναι γνωστός. Στην πράξη, αυτό σημαίνει ότι η ίνα

μπορεί να εκτεθεί απευθείας σε αίμα που ρέει, αέρα περιβάλλοντος, νερό και ούτω καθεξής. Η ποσότητα της εκχυλιζόμενης ουσίας θα αντιστοιχεί απευθείας στη συγκέντρωσή της στη μήτρα χωρίς να υπάρχει εξάρτηση από τη ποσότητα του δείγματος.

Η ουσία – στόχος πρέπει να περάσει από 3 φάσεις (από το υδατικό διάλυμα στην αέρα φάση και τέλος στην ίνα) και 2 διεπιφάνειες (από την διεπιφάνεια υδατικού διαλύματος – υπερκείμενης φάσης στην διεπιφάνεια υπερκείμενης φάσης – ίνας).

Επειδή η συνολική μάζα της ουσίας πρέπει να παραμείνει σταθερή κατά τη διάρκεια της εκχύλισης, ισχύει το εξής:

$$C_0 V_s = C_f^\infty V_f + C_h^\infty V_h + C_s^\infty V_s \quad (6)$$

Όπου  $C_0$  είναι η αρχική συγκέντρωση της ουσίας στη μήτρα,  $C_f^\infty$ ,  $C_h^\infty$  και  $C_s^\infty$  είναι οι συγκεντρώσεις κατά την ισορροπία της ουσίας - στόχου στην επικάλυψη της ίνας, στον υπερκείμενο χώρο και στην μήτρα αντίστοιχα.

Τα  $V_f$ ,  $V_h$  και  $V_s$  είναι οι όγκοι της ίνας, του υπερκείμενου χώρου και της μήτρας, αντίστοιχα.

Αν καθορίσουμε τη σταθερά κατανομής ίνας / υπερκείμενης φάσης ως

$$K_{fh} = \frac{C_f^\infty}{C_h^\infty} \quad (7)$$

και τη σταθερά κατανομής υπερκείμενης φάσης / μήτρας δείγματος ως

$$K_{hs} = \frac{C_h^\infty}{C_s^\infty} \quad (8)$$

η μάζα της ουσίας στόχου που απορροφάται από την ίνα,  $n = C_f^\infty V_f$ , μπορεί να είναι εκφραστεί ως εξής:

$$n = \frac{K_{fh} K_{hs} V_f C_0 V_s}{K_{fh} K_{hs} V_f + K_{hs} V_h + V_s} \quad (9)$$

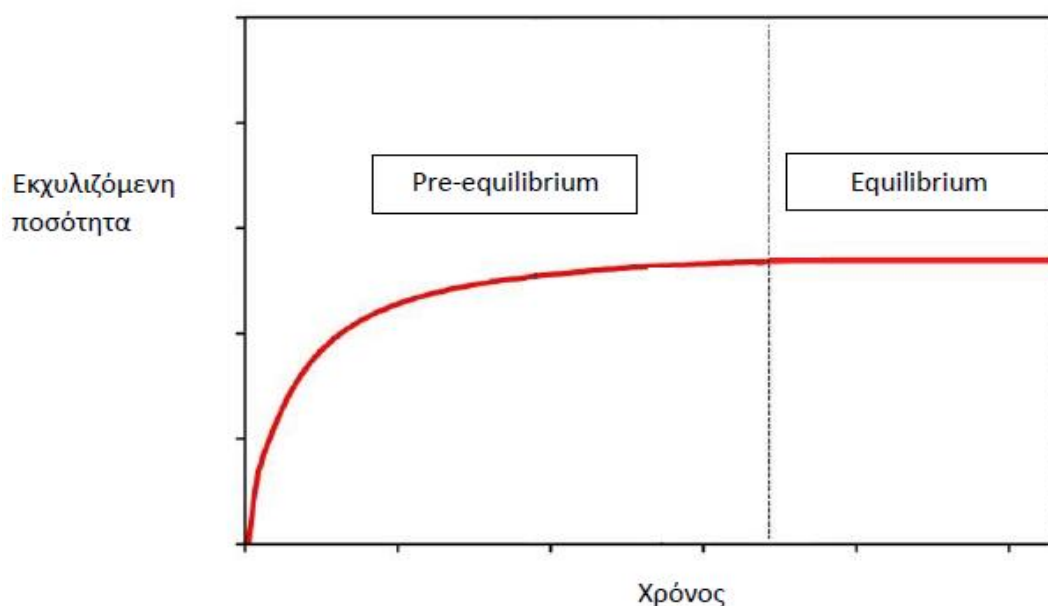
Επίσης,

$$K_{fs} = K_{fh} K_{hs} = K_{fg} K_{gs} \quad (10)$$

επειδή η  $K_{fh}$ , μπορεί να προσεγγιστεί από την  $K_{fg}$  και,  $K_{hs}$ , από  $K_{gs}$ , εάν η επίδραση της υγρασίας στον υπερκείμενο χώρο μπορεί να παραμεληθεί. Έτσι, η εξ. (9) μπορεί να ξαναγραφεί ως:

$$n = \frac{K_{fs}V_fC_0V_s}{K_{fs}V_f + K_{hs}V_h + V_s} \quad (11)$$

Η εξίσωση (11) δηλώνει, όπως αναμένεται από τις συνθήκες ισορροπίας, ότι η ποσότητα της εκχυλιζόμενης ουσίας είναι ανεξάρτητη από τη θέση της ίνας στο σύστημα. Μπορεί να τοποθετηθεί στον κεντρικό χώρο ή απευθείας στο δείγμα, εφόσον το οι όγκοι της ίνας, του κενού χώρου και του δείγματος διατηρούνται σταθεροί [23].



Διάγραμμα 1: Χρόνος συναρτήσει της ποσότητας ουσίας-στόχου που έχει εκχυλιστεί.

Επίδραση όγκου υπερκείμενου χώρου κατά την δειγματοληψία με SPME:

Στην περίπτωση των πτητικών ενώσεων, οι ενώσεις έχουν την τάση να συγκεντρώνονται στον υπερκείμενο χώρο. Για αυτό το λόγο οι ουσίες – στόχοι που εκχυλίζονται κατά την HSSPME είναι εκείνες που βρίσκονται στην υπερκείμενη φάση και ο χρόνος μέχρι να επέλθει η ισορροπία είναι μικρός. Η ποσότητα των ουσιών – στόχων που εκχυλίζονται είναι αμελητέα αν συγκριθεί με την ποσότητα που υπάρχει στην αέρια φάση. Έτσι δεν απαιτείται αναπλήρωση ποσότητας από την υδατική στην υπερκείμενη φάση, με συνέπεια ο όγκος του υπερκείμενου χώρου να είναι αμελητέος.

Στην περίπτωση των ενώσεων – στόχων που τείνουν να συγκεντρώνονται στην υδατική φάση, η ποσότητα τους στην αέρια φάση είναι μικρή. Για αυτό το λόγο κατά την εισαγωγή της ίνας στον υπερκείμενο χώρο αλλάζει η ισορροπία του συστήματος. Το σύστημα καθυστερεί να βρεθεί σε ισορροπία με αποτέλεσμα η εκχύλιση να πραγματοποιείται και από την υδατική

φάση. Σε αυτή τη περίπτωση ο υπερκείμενος χώρος όχι μόνο δεν είναι αμελητέος όπως στην προηγούμενη περίπτωση αλλά είναι και καθοριστικός παράγοντας για την ευαισθησία της μεθόδου. Όταν ο υπερκείμενος χώρος είναι μεγάλος παρατηρείται μειωμένη ποσότητα ουσιών – στόχων που εκχυλίζονται [18,44].

### 1.5 Επίδραση πειραματικών παραμέτρων κατά την HSSPME

Οι σημερινοί περιβαλλοντικοί ρύποι βρίσκονται σε όλο και πιο πολύπλοκες μήτρες. Κατά την HSSPME πρέπει να μελετηθεί, για την βελτιστοποίηση της μεθόδου, η επίδραση διαφόρων πειραματικών παραμέτρων. Με τον όρο βελτιστοποίηση εννοείται ο μικρότερος δυνατός χρόνος διεξαγωγής αποτελεσμάτων και παράλληλα η μέγιστη ευαισθησία στις αναλύσεις.

#### 1.5.1 Επίδραση θερμοκρασίας δείγματος

Η θερμοκρασία εκχύλισης είναι μια σημαντική παράμετρος που πρέπει να ληφθεί υπόψη κατά τη διάρκεια της δειγματοληψίας με SPME. Η αύξηση της θερμοκρασίας της εκχύλισης μπορεί να μειώσει σημαντικά τον χρόνο μέχρι το σύστημα να βρεθεί σε ισορροπία. Κατά αυτόν τον τρόπο μειώνεται και ο ολικός χρόνος της διεργασίας. Κατά την αύξηση της θερμοκρασίας του δείγματος συμβαίνουν δύο αντίθετα φαινόμενα:

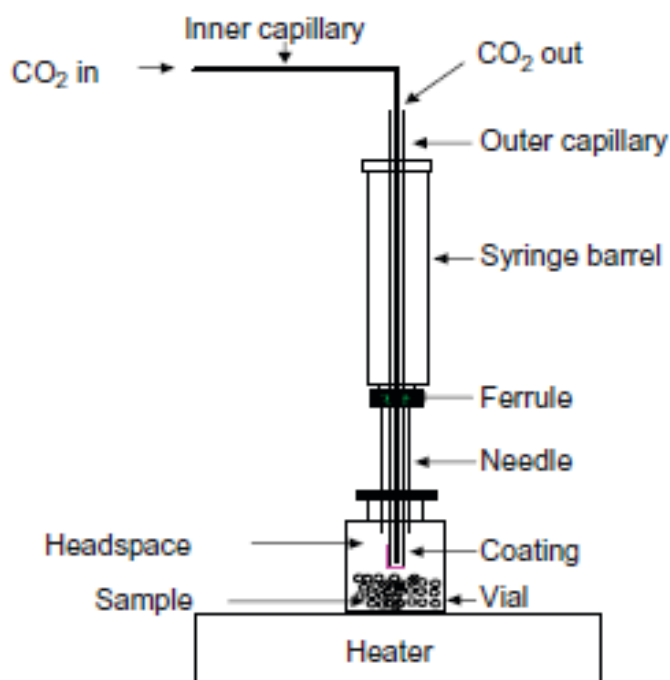
- η θετική επίδραση καθώς η χωρητικότητα του υπερκείμενου χώρου και / ή ο συντελεστής διάχυσης της αναλυόμενης ουσίας αυξάνεται, και με αυτόν τον τρόπο αυξάνεται και ο ρυθμός της εκχύλισης
- η αρνητική επίδραση της θερμοκρασίας που σχετίζεται με τη σταθερά κατανομής

Αυτά τα δύο ανταγωνιστικά φαινόμενα πρέπει να βελτιστοποιηθούν προκειμένου να επιτευχθεί η υψηλότερη δυνατή ευαισθησία. Παρακάτω αναλύεται ένας τρόπος κατά τον οποίο μπορεί να γίνει αυτό εφικτό:

Σε αυξημένες θερμοκρασίες, οι ουσίες-στόχοι μπορούν να μεταφερθούν στον υπερκείμενο χώρο και να προχωρήσουν γρήγορα στην

προσρόφηση τους στην ίνα. Ωστόσο, ο συντελεστής κατανομής επίστρωσης/δείγματος μπορεί να μειωθεί κατά την αύξηση της θερμοκρασίας. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την μείωση της ποσότητας της ουσίας που εκχυλίζεται. Για την αποφυγή αυτής της απώλειας ευαισθησίας, η ίνα μπορεί να ψύχεται ταυτόχρονα με τη θέρμανση του δείγματος. Αυτή η ιδέα υλοποιήθηκε στο σχεδιασμό της συσκευής που φαίνεται στην εικόνα 9.

Σε αυτή τη συσκευή, ένας σωλήνας διοξειδίου του πυριτίου σφραγίζεται και επικαλύπτεται στο ένα άκρο (την εξωτερική επιφάνεια του τριχοειδούς). Το υγρό διοξείδιο του άνθρακα απελευθερώνεται μέσω του εσωτερικού τριχοειδούς σωλήνα, με αποτέλεσμα η θερμοκρασία επικάλυψης να είναι χαμηλότερη από εκείνη του δείγματος. Αυτό το φαινόμενο «ψυχρού δακτύλου» έχει ως αποτέλεσμα τη συσσώρευση της ουσίας - στόχου στην ίνα. Η προσέγγιση της εσωτερικά ψυχρής ίνας μπορεί να χρησιμοποιηθεί αποτελεσματικά για την αύξηση της ευαισθησίας και ταχύτητα εκχύλισης του SPME [23,24].



Εικόνα 9: Σχηματική απεικόνιση της συσκευής Cold fiber SPME [23]

Επιπλέον, είναι σημαντικό να αναφερθεί, ότι οι εξαιρετικά υψηλές θερμοκρασίες του δείγματος μπορεί να οδηγήσουν σε αποσύνθεση ορισμένων ενώσεων ή / και σε δημιουργία κάποιων παραπροϊόντων. Στη περίπτωση λοιπόν υψηλών θερμοκρασιών υπάρχει πιθανότητα αλλαγής του χαρακτήρα



του δείγματος. Αυτό οδηγεί σε ένα εκχύλισμα, το οποίο δεν είναι αντιπροσωπευτικό του αρχικού δείγματος. Όπως αναμένεται, για την επιλογή της βέλτιστης θερμοκρασίας του δείγματος, θα πρέπει πρώτα να μελετηθούν οι φυσικοχημικές ιδιότητες των ουσιών προς ανάλυση καθώς και η μέθοδος δειγματοληψίας με εξέταση όλων των παραμέτρων της.

### 1.5.2 Επίδραση ανάδευσης

Για τη επίτευξη ταχείας μεταφοράς των ουσιών - στόχων από το δείγμα στην υπερκείμενη αέρια φάση και στην συνέχεια στην ίνα, απαιτείται τυπικά η ανάδευση του δείγματος. Στην περίπτωση της HSSPME η ανάδευση ομογενοποιεί εκτός από την υδατική φάση (μήτρα) και την υπερκείμενη αέρια φάση. Με την ανάδευση γίνεται ενίσχυση της διάχυσης των ουσιών – στόχων από το υδατικό διάλυμα στην ίνα και αναμένεται μείωση του χρόνου που απαιτείται μέχρι το σύστημα να βρεθεί σε ισορροπία.

Σε περίπτωση ημι-πτητικών ουσιών – στόχου, δηλαδή για ουσίες με χαμηλό συντελεστή κατανομής  $K_{fh}$  μεταξύ της υπερκείμενης φάσης και της ίνας, αναμένεται η δράση της ανάδευσης να είναι θετική και να παρατηρηθεί μείωση του χρόνου ισορροπίας. Στην περίπτωση των πτητικών ουσιών, οι ουσίες φτάνουν γρήγορα από μόνες τους στην υπερκείμενη αέρια φάση χωρίς την δράση της ανάδευσης. Συνεπώς η ανάδευση αναμένεται να αυξήσει την μεταφορά μάζας προς την ίνα και να μειώσει τον χρόνο που απαιτείται για την ισορροπία για ουσίες με χαμηλούς συντελεστές κατανομής  $k_{fh}$  [25-27].

Υπάρχουν αρκετά είδη ανάδευσης όπως ανάδευση διαμέσου ροής, μηχανική ανάδευση, με χρήση υπερήχων και με κίνηση της ίνας. Η πιο δημοφιλής είναι η μαγνητική ανάδευση. Η μαγνητική ανάδευση να συνδυαστεί και με τις δύο μορφές της SPME την απευθείας και την υπερκείμενης φάσης. Είναι αποτελεσματική και για μικρούς όγκους δειγμάτων αλλά και για μεγάλους. Ο απαιτούμενος εξοπλισμός ανήκει στους κλασικούς εξοπλισμούς εργαστηρίων. Σημαντικό είναι να διατηρείται σταθερή η ταχύτητα περιστροφής του μαγνήτη και η θερμοκρασία της μαγνητικής πλάκας σε όλη την διάρκεια της εκχύλισης [28].

### 1.5.3 Επίδραση διεπιφάνειας αέριας φάσης - δείγματος

Η εξάτμιση οργανικών ενώσεων από υδάτινο περιβάλλον θεωρείται αντίδραση πρώτης τάξεως:

$$C_s = C_s^0 e^{-kt} \quad (12)$$

Όπου, ο όρος  $C_s$  είναι η μεταβολή της συγκέντρωσης της ένωσης σε σχέση με τον χρόνο (t) και ο όρος k αποτελεί την σταθερά ταχύτητας της εξάτμισης.

Ολοκληρώνοντας την εξίσωση (12) ως προς τον χρόνο, η εξίσωση που προκύπτει αποτελεί την μεταβολή της συγκέντρωσης της ένωσης στη διεπιφάνεια που δημιουργείται μεταξύ του δείγματος και της υπερκείμενης φάσης.

$$V_s \frac{dc_s}{dt} = -K_L A (C_s - C_i) \quad (13)$$

Όπου,  $V_s$  είναι ο όγκος του δείγματος,  $C_i$  είναι η συγκέντρωση της ένωσης στην διεπιφάνεια αέριας φάσης και δείγματος, A είναι η **διεπιφάνεια** μεταξύ αέριας φάσης και του δείγματος και τέλος  $K_L$  είναι ο συνολικός συντελεστής μεταφοράς μάζας μεταξύ της διεπιφάνειας στην αέρια και υδάτινη φάση.

Με την παρατήρηση της σχέσης (13) για την διεπιφάνεια A, καταλήγουμε στο συμπέρασμα ότι όσο πιο μεγάλη είναι η διεπιφάνεια μεταξύ αέριας φάσης και δείγματος τόσο μεγαλύτερο είναι το ποσοστό μεταφοράς μάζας μεταξύ της διεπιφάνειας στην αέρια και στην υδάτινη φάση [24,29].

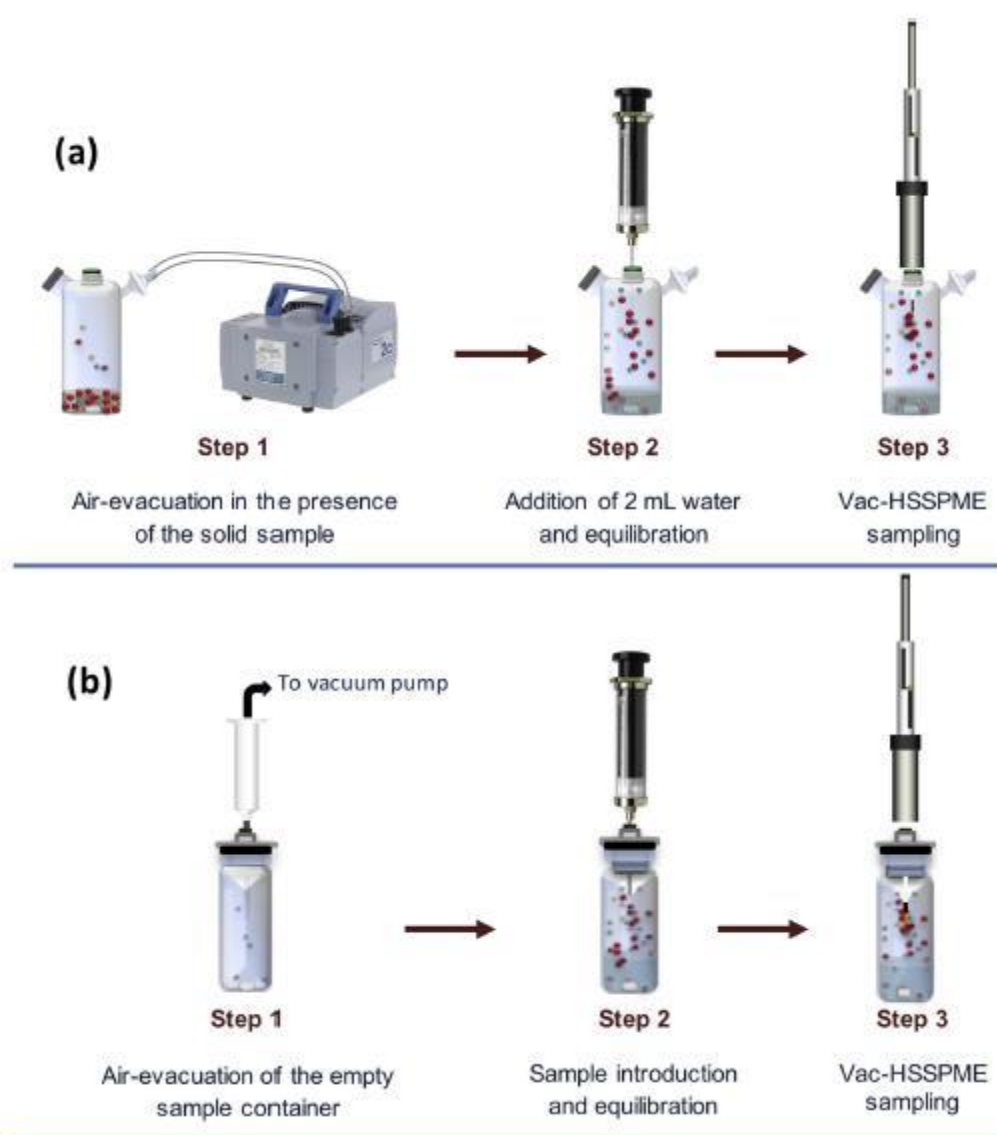
#### 1.5.4 Επίδραση χαμηλής πίεσης – Vac-HSSPME

Η εφαρμογή συνθηκών μειωμένης πίεσης κατά την μέθοδο της Vac-HSSPME ενισχύει τη διάχυση των ουσιών – στόχων από την μήτρα προς την ίνα και παράλληλα καθιστά ικανή την χρήση της υπερκείμενης εκχύλισης και για ημιπτητικές ενώσεις - στόχους. Η μειωμένη πίεση μπορεί να επιτευχθεί πολύ εύκολα με την προσθήκη ενός επιπλέον βήματος κατά την διαδικασία προετοιμασίας του δείγματος. Το βήμα αυτό είναι η εκκένωση αέρα του φιαλιδίου πριν την εισαγωγή του δείγματος, όπως φαίνεται στην εικόνα 10.

Η Vac-HSSPME επιταχύνει τους ρυθμούς μεταφοράς μάζας προς την ίνα, με αποτέλεσμα να μειώνει το χρόνο που απαιτείται μέχρι να επέλθει η ισορροπία για ημιπτητικές ενώσεις-στόχους επιταχύνοντας έτσι την συνολική διαδικασία της εκχύλισής τους. Πολύ σημαντικό είναι κατά την χρήση της μεθόδου Vac-HSSPME να διατηρείται σταθερή η μειωμένη πίεση καθ'όλη την διάρκεια της εκχύλισης. Κατά την εκχύλιση ημι-πτητικών ουσιών στόχων υπάρχει αντίσταση κυρίως κατά την αέρια φάση. Για αυτό το λόγο με την χρήση μειωμένης πίεσης ο ρυθμός της εξάτμισης αυξάνεται στην υπερκείμενη φάση με αποτέλεσμα η εφαρμογή κενού να επιδρά θετικά στην διαδικασία της

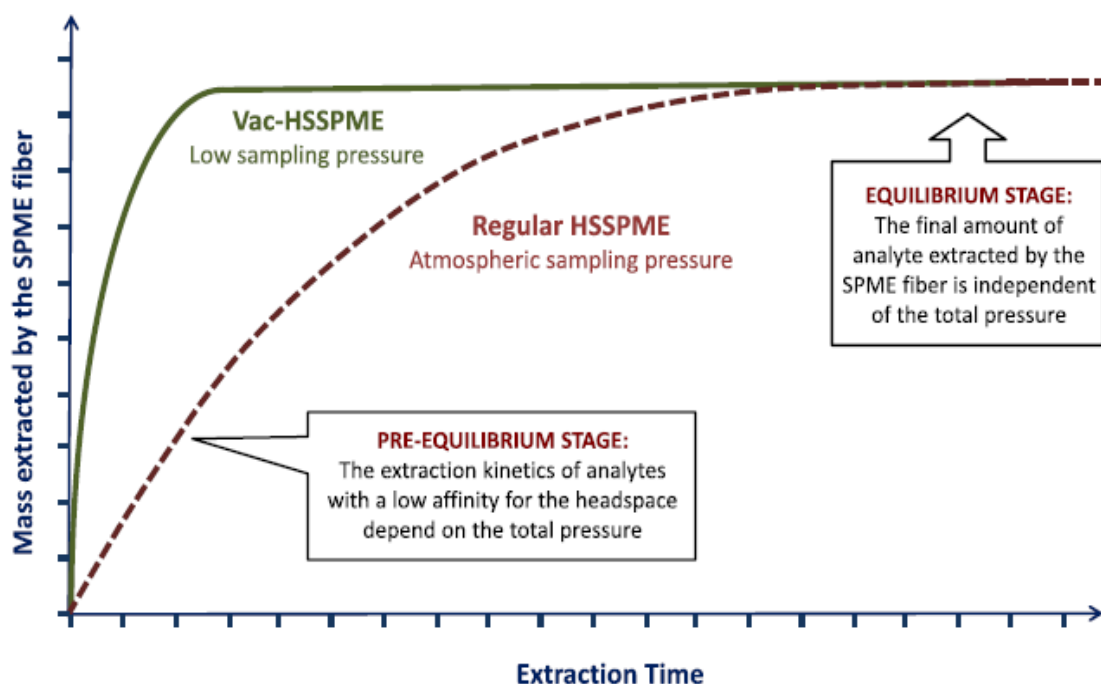
δειγματοληψίας και η ισορροπία στο σύστημα να επέρχεται ταχύτερα. Στην περίπτωση, όμως, των πολύ πτητικών ενώσεων δεν παρατηρείται κάποια αξιοσημείωτη επίδραση στους χρόνους εκχύλισής τους με την επίδραση της μειωμένης πίεσης κατά την HSSPME. Αυτό συμβαίνει διότι η αντίσταση που αντιμετωπίζουν αυτές οι ουσίες βρίσκεται κυρίως στην υδάτινη φάση, παρά στην αέρια.

Επίσης η Vac-HSSPME έχει υψηλότερη αποδοτικότητα και ευαισθησία και σε χαμηλότερες θερμοκρασίες δειγματοληψίας σε σύγκριση με την δειγματοληψία υπερκείμενου χώρου στερεής φάσης υπό συνθήκες ατμοσφαιρικής πίεσης [29].



Εικόνα 10: Σχηματική απεικόνιση διαδικασίας εκκένωσης για χρήση μεθόδου Vac-HSSPME [29]

Στην εικόνα 11 παρουσιάζεται το διάγραμμα του χρόνου εκχύλισης για τις μεθόδους HSSPME κάτω από συνθήκες μειωμένης και ατμοσφαιρικής πίεσης. Όπως φαίνεται στη μέθοδο Vac-HSSPME η ισορροπία του συστήματος έχει επέλθει σε πολύ πιο σύντομο χρονικό διάστημα συγκριτικά με την HSSPME. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα κατά τη μέθοδο Vac-HSSPME να μειώνεται ο χρόνος δειγματοληψίας χωρίς να επηρεάζεται αρνητικά η απόδοση της μεθόδου. [29]



Εικόνα 11: Διάγραμμα χρόνου συναρτήσει της ποσότητας ουσίας- στόχου που έχει εκχυλιστεί [30]

## 1.6 Θεωρία VAC- HSSPME

Ολοκληρώνοντας την εξίσωση (13) δημιουργείται μία νέα εξίσωση η οποία σχετίζει την σταθερά ταχύτητας της εξάτμισης ( $k$ ) με τον συντελεστή της συνολικής μεταφοράς μάζας μεταξύ της αέριας και υδάτινης φάσης στην διεπιφάνεια ( $K_L$ ).

$$k = \frac{K_L}{L} \quad (14)$$

Όπου, το  $L$  το βάθος τους διαλύματος στο δοχείο με ομοιόμορφη κατανομή.

Ο Liss και ο Stater και στην συνέχεια ο Mackay με τον Leinonen ήταν εκείνοι που πρώτοι περιέγραψαν τον συντελεστή της συνολικής μεταφοράς

μάζας μεταξύ της αέριας και υδάτινης φάσης μέσα στη περιοχή της διεπιφάνειας ( $K_L$ ). Ο συντελεστής αυτός περιγράφεται από την εξίσωση, η οποία βασίζεται στην θεωρία των δύο φάσεων (two-film theory), στο μοντέλο πλήρους ανάδευσης του συστήματος (flux-matching boundary condition) και στην υπόθεση ότι η συνολική αντίσταση στην μεταφορά μάζας προέρχεται είτε από το λεπτό στρώμα της αέριας φάσης είτε της υγρής ή και από τα δύο στρώματα που είναι παρακείμενα στην ζώνη της διεπιφάνειας δείγματος/υπερκείμενης φάσης.

$$K_L = \left[ \frac{1}{k_L} + \frac{RT}{K_H k_g} \right]^{-1} \quad (15)$$

Όπου,  $k_L$  αποτελεί τον συντελεστή μεταφοράς μάζας στην υδάτινη φάση,  $K_H$  την σταθερά του νόμου Henry και  $k_g$  τον συντελεστή μεταφοράς μάζας στην αέρια φάση.

Σύμφωνα με τις υψηλές σταθερές του Henry ( $K_H$ ), την υψηλή τάση ατμών και τα σχετικά μικρά μοριακά βάρη των πτητικών ενώσεων, θεωρητικά αναμένονται να μεταφέρονται γρήγορα στην αέρια φάση. Παρόλα αυτά ακόμα και στις περιπτώσεις των ημιπτητικών ενώσεων, όπου χαρακτηρίζονται από μικρές τιμές  $K_H$ , χαμηλή τάση ατμών και σχετικά μεγάλα μοριακά βάρη, μπορούν να μεταφερθούν στην αέρια φάση. Αυτό συμβαίνει καθώς οι ημιπτητικές ενώσεις είναι υδρόφοβες δηλαδή διαθέτουν υψηλό συντελεστή κατανομής οκτανόλης/νερού ( $K_{ow}$ ) και έχουν χαμηλές διαλυτότητες στο νερό. Επομένως, η αναλογία της συγκέντρωσης του ημιπτητικού αναλύτη στην ατμόσφαιρα προς την συγκέντρωση του στο νερό ( $C_g/C_w$ ) είναι μεγάλη παρόλη την χαμηλή τάση ατμών που χαρακτηρίζει τον αναλύτη. Αυτή η αναλογία αναφέρεται και ως «αδιάστατη» σταθερά Henry ( $K_H$ ) η οποία στην ουσία δείχνει ποια φάση θα είναι το φράγμα στην μεταφορά της μάζας. Η αδιάστατη σταθερά Henry ( $K_H/RT$ ) δείχνει σε ποια φάση η ένωση θα βρίσκει τη μεγαλύτερη δυσκολία για να τη διαπεράσει.

Όπως παρουσιάζεται στην εικόνα 12, για τις ενώσεις με υψηλή τιμή  $K_H$  (τιμές  $K_H$  μεγαλύτερη από  $\sim 5 \times 10^{-3} \text{ atm} \cdot \text{m}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$ ) η μεγαλύτερη αντίσταση στην μεταφορά μάζας βρίσκεται στην υδατική φάση. Αντίστοιχα, για μικρές τιμές του συντελεστή Henry ( $1.2 \times 10^{-5}$  ή  $1.6 \times 10^{-4} \text{ atm} \cdot \text{m}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$ ) η αντίσταση στη μεταφορά μάζας από το διάλυμα στον υπερκείμενο χώρο βρίσκεται στην αέρια φάση. Σε ενδιάμεσες τιμές σταθεράς Henry η αντίσταση οφείλεται και στις δύο φάσεις [30].

Ο μοριακός συντελεστής διάχυσης στην αέρια φάση ( $D_g$ ) της ένωσης-στόχου δεν εξαρτάται από την πολικότητα των ενώσεων και είναι αντιστρόφως ανάλογος της ολικής πίεσης ( $P$ ). Η σχέση για τον υπολογισμό του  $D_g$  από τους Fuller–Schettler–Giddings παρουσιάζεται από την εξής σχέση:

$$D_g = \frac{0.001 \cdot T^{1.75} \sqrt{\left(\frac{1}{M_{air}}\right) + \left(\frac{1}{M_c}\right)}}{P \left[ (\Sigma V_{air})^{\frac{1}{3}} + (\Sigma V_c)^{\frac{1}{3}} \right]^2} \quad (16)$$

Όπου,  $T$  αντιστοιχεί στην απόλυτη θερμοκρασία,  $M_{air}$  είναι το μοριακό βάρος για τον αέρα και  $M_c$  την οργανική ένωση,  $P$  είναι η ολική πίεση,  $V_{air}$  και  $V_c$  είναι οι γραμμομοριακοί όγκοι του αέρα και της ένωσης αντίστοιχα. Ο συντελεστής μεταφοράς μάζας ( $k_g$ ) είναι ανάλογος με τη μοριακή διάχυση των ενώσεων ( $D_g$ ) υψωμένη στην δύναμη  $n$  που παίρνει τιμές 1/2, 2/3, 1.

Κατά την εκκένωση της φιάλης πριν την εισαγωγή του δείγματος οδηγεί στην μείωση της ολικής πίεσης του κλειστού συστήματος. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα, όσο η θερμοκρασία παραμένει σταθερή, να αυξηθεί ο συντελεστής της μοριακής διάχυσης ( $D_g$ ) των ημι-πτητικών ενώσεων. Η αύξηση του  $D_g$  οδηγεί σε αύξηση του συντελεστή μεταφοράς ( $K_L$ ), καθώς σχετίζονται ανάλογα, και στη συνέχεια αύξηση του συντελεστή μεταφοράς μάζας στην αέρια φάση ( $k_g$ ). Επομένως στην περίπτωση των ημι-πτητικών ενώσεων η διαδικασία της εξάτμισης από την υδατική φάση στην υπερκείμενη φάση εξαρτάται από τον συντελεστή μεταφοράς μάζας στην αέρια φάση και ο ρυθμός εξάτμισης αυξάνεται με την μείωση της πίεσης του συστήματος.

Κατά την δειγματοληψία με τη μέθοδο Vac-HSSPME πριν το σύστημα φτάσει σε κατάσταση ισορροπίας η εξάτμιση των ενώσεων από το υδατικό διάλυμα συμβαίνει ταχύτερα, διότι μειώνεται η συγκέντρωσή τους στην υπερκείμενη φάση λόγω της προσρόφησής τους από την ίνα κατά το στάδιο της δειγματοληψίας. Αυτό αποδεικνύει ότι το καθοριστικό στάδιο για όλη την διεργασία της HSSPME είναι η μεταφορά της μάζας από το υδατικό δείγμα στην υπερκείμενη αέρια φάση και αυτός είναι ο λόγος που στην Vac-HSSPME μέθοδο η ισορροπία επέρχεται ταχύτερα υπό συνθήκες κενού σε σύγκριση με αυτή υπό συνθήκες ατμοσφαιρικής πίεσης [30].

Μια άλλη προσέγγιση, για την έκφραση της ροής μάζας εξάτμισης οργανικών ενώσεων – στόχων από υδατικά διαλύματα με εκχύλιση Vac-HSSPME αναπτύσσεται με τη βοήθεια της θεωρίας διάχυσης Knudsen από τον Chiu το 1980 [25]. Σε αυτή την προσέγγιση, η διαφορά της μερικής πίεσης μεταξύ της διεπιφάνειας υδατικού ( $P_i$ ) και υπερκείμενης αέριας φάσης ( $P_b$ ) λαμβάνεται ως η κινητήρια θερμοδυναμική δύναμη για την εξάτμιση των ουσιών – στόχων [25]. Θεωρείται ότι και στις δύο πλευρές της διεπιφάνειας υδατικού διαλύματος / υπερκείμενης φάσης, η συγκέντρωση  $C_i$  και  $P_i$  βρίσκονται σε ισορροπία, δηλαδή

$$K_H = \frac{M_c P_i}{R T C_i} \quad (17)$$

Ο ρυθμός της εξάτμισης προσδιορίζεται από τη διαφορά της μερικής πίεσης και ενός ρυθμιστικού παράγοντα υπό δεδομένες συνθήκες, ο οποίος μπορεί να εκφράζεται με μια τροποποιημένη εξίσωση της διάχυσης Knudsen:

$$Q = \frac{V}{A} \frac{dC_L}{dt} = \beta \left( \frac{M_C}{2\pi RT} \right)^{\frac{1}{2}} (P_i - P_b) \quad (18)$$

όπου το  $\beta$  ( $\beta < 1$ ) ο συντελεστής εξάτμισης, είναι αδιάστατο μέγεθος εξαρτάται από την ατμοσφαιρική πίεση και την ανάδευση, σχετίζεται με την αντίσταση κατά την εξάτμιση στην αέρια φάση. Στην περίπτωση δειγματοληψίας υπό συνθήκες κενού η τιμή του  $\beta$  ισούται με 1.

Στην εξίσωση (18) το  $P_b$  μπορεί να παραμεληθεί για όλες τις οργανικές ενώσεις που εξατμίζονται από υδατικά διαλύματα καθώς τέτοιες τάσεις ατμών είναι αμελητέες. Με αντικατάσταση της:

$$P_i = \left( \frac{C_i}{C_L} \right) P = \alpha P \quad (19)$$

στην εξίσωση (18), όπου  $P$  είναι η μερική πίεση του υδατικού με συγκέντρωση  $C_L$  σε θερμοκρασία  $T$ , και με την παραδοχή ότι οι ουσίες-στόχοι είναι διαλυμένες σε αραιό υδατικό διάλυμα, το  $Q$  μπορεί να εκφραστεί ως:

$$Q = \alpha \beta P \left( \frac{M}{2\pi RT} \right)^{1/2} = \alpha \beta K_H \left( \frac{RT}{2\pi M} \right)^{1/2} C_L \quad (20)$$

$$P = \frac{K_H C_L RT}{M_C} \quad (21)$$

(σύμφωνα με Lee 2004). Σε αυτήν την εξίσωση,  $\alpha = \frac{C_i}{C_L} (\leq 1)$  καθορίζει την εξάντληση της διαλυμένης ουσίας κοντά την επιφάνεια που σχετίζεται με εκείνη στην υδατική φάση κατά τη διάρκεια της εξάτμισης.

Αυτή η τροποποιημένη εξίσωση διάχυσης Knudsen εξηγεί τις επιπτώσεις της ανάμιξης και της πίεσης αέριας φάσης κατά την απώλεια της εξάτμισης μιας ουσίας - στόχου, συσχετιζόμενη με τους όρους  $\alpha$  και  $\beta$ . Το μέγεθος του  $\alpha$  ποικίλει ανάλογα με τα συστατικά και προσδιορίζεται από δύο παράγοντες: (i) την εκατοστιαία εξάτμιση του συστατικού  $A$  σε σχέση με τον διαλύτη (ή τα υπόλοιπα συστατικά) και (ii) την αποτελεσματικότητα της ανάμιξης της υδατικής φάσης, η οποία καθορίζει τη σημασία του πρώτου παράγοντα [25].

Εάν το  $\alpha$  είναι σταθερό σε ένα μικρό εύρος συγκεντρώσεων, η εξίσωση (20) γίνεται :

$$Q = K_L C_L \quad (22)$$

και το  $k$  ορίζεται ως:

$$k = \frac{K_L}{L} = \frac{\alpha \beta H}{L} \left( \frac{RT}{2\pi M} \right)^{1/2} \quad (23)$$

Σύμφωνα με την εξ. (20), το  $Q$  θα πάρει μια μέγιστη τιμή για ένα δεδομένο  $C_L$  όταν  $\alpha = 1$  και  $\beta = 1$  (όπως στην περίπτωση δειγματοληψίας υπό συνθήκες μειωμένης πίεσης). Επομένως, αναμένεται ότι για τις ουσίες – στόχους με χαμηλό συντελεστή  $K_H$ , θα επιτευχθεί υψηλότερη εξάτμιση εφαρμόζοντας συνθήκες μειωμένης πίεσης, καθώς η τιμή του  $\beta$  θα αυξηθεί σε σύγκριση με εκείνη που λαμβάνεται με ατμοσφαιρική πίεση. Αυτό με τη σειρά του υποδηλώνει ότι για εκείνες τις ενώσεις το στάδιο που καθορίζει τον ρυθμό εξάτμισης κατά την HSSPME είναι η μεταφορά μάζας από την υγρή φάση προς τον υπερκείμενο χώρο, ο ρυθμός εξάτμισης θα αυξηθεί όταν η δειγματοληψία HSSPME μη ισορροπίας λαμβάνει χώρα υπό συνθήκες μειωμένης πίεσης.

## 1.7 Κριτήριο Henry

Σύμφωνα με προηγούμενες έρευνες καθιερώθηκε ένα απλό κριτήριο για την πρόβλεψη της επίδρασης του κενού κατά τη δειγματοληψία Vac-HSSPME για δείγματα νερού. Το κριτήριο αυτό επιβεβαιώθηκε και για μίγματα εδάφους-νερού - αέρα. Αναμένεται να εφαρμοστεί σε όλα τα υδατικά δείγματα με την προϋπόθεση ότι δεν επηρεάζονται οι φυσικοχημικές ιδιότητες του ουσιών - στόχων.

Το κριτήριο περιλαμβάνει τη σύγκριση της σταθεράς Henry  $K_H$  των ουσιών - στόχου με εμπειρικές τιμές κατωφλίου. Μέσω της σύγκρισης αυτής παρατηρείται το που υπάρχει περισσότερη αντίσταση κατά τον ρυθμό εξάτμισης της κάθε ουσίας.

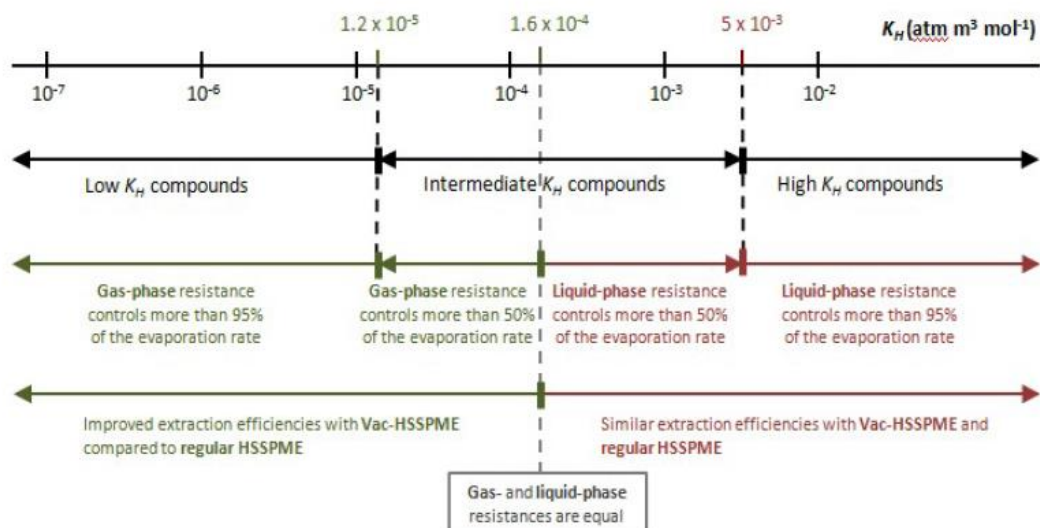
Η δειγματοληψία Vac-HSSPME μπορεί να είναι επωφελής για τις ημι-πτητικές και πτητικές ουσίες, όσο η τιμή  $K_H$  των ουσιών - στόχων είναι κάτω από το όριο τιμών που έχει αναφερθεί παραπάνω. Για τις ουσίες εκτός των τιμών αυτών η δειγματοληψία Vac-HSSPME θα έχει παρόμοια αποτελέσματα με την HSSPME. Πιο συγκεκριμένα:

- Θετική επίδραση του κενού στην Vac-HSSPME αναμένεται για ουσίες με τιμές  $K_H$  κάτω από  $\sim 1.6 \cdot 10^{-4} \text{ atm m}^3 \text{ mol}^{-1}$  δεδομένου ότι κάτω από αυτό το σημείο, η αντίσταση στην αέρια φάση αρχίζει να ελέγχει περισσότερο από το 50% του ρυθμούς εξάτμισης. Συγκεκριμένα, για τις τιμές  $K_H$



κάτω από  $\sim 1.2 \cdot 10^{-5} \text{ atm m}^3 \text{ mol}^{-1}$ , η επίδραση του κενού θα έχει ακόμα πιο σημαντικό αντίκτυπο σε Vac-HSSPME, καθώς κάτω από αυτή την τιμή κατωφλίου η αντίσταση στην αέρια φάση κυριαρχεί στην εξάτμιση και αντιπροσωπεύει περισσότερο από 95% της συνολικής εξάτμισης.

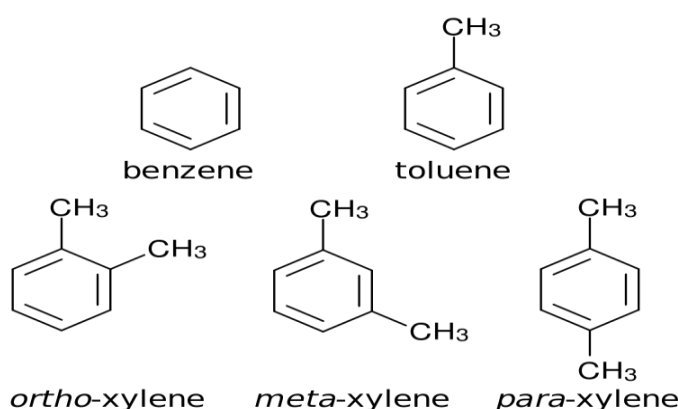
- Το κενό αναμένεται να έχει χαμηλή επίδραση για ουσίες με τιμή  $K_H$  μεγαλύτερη από  $\sim 1.6 \cdot 10^{-4} \text{ atm m}^3 \text{ mol}^{-1}$ . Πάνω από αυτήν την τιμή, η υγρή φάση είναι ανεξάρτητη από τις συνθήκες πίεσης στην υπερκείμενη φάση και η υγρή φάση ελέγχει περισσότερο από το 50% της εξάτμισης.
- Καμία επίδραση δεν αναμένεται κατά την δειγματοληψία Vac-HSSPME για ουσίες με τιμή  $K_H$  μεγαλύτερη από  $5 \cdot 10^{-3} \text{ atm m}^3 \text{ mol}^{-1}$ . Αυτή η τιμή κατωφλίου αναφέρθηκε ως η κατά προσέγγιση τιμή  $K_H$  για ενώσεις με υψηλό  $K_H$ , όπου η υγρή φάση ελέγχει περισσότερο από 95% του ρυθμού εξάτμισης [30].



Εικόνα 12 : Αντίσταση φάσεων σε σχέση με την σταθερά Henry [30]

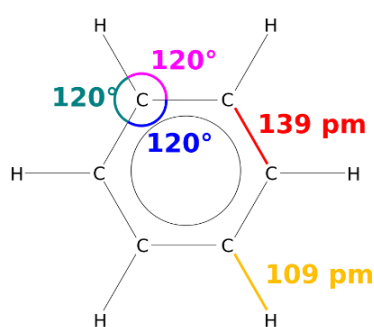
## 1.8 Χαρακτηριστικά των πρότυπων ενώσεων BTEX

Στην παρούσα διπλωματική εργασία χρησιμοποιήθηκαν τα BTEX ως πρότυπες ουσίες λόγω του ότι έχουν μελετηθεί παρατεταμένα στο παρελθόν και έχουν τα επιθυμητά χαρακτηριστικά όπως την πτητικότητα και σταθερές Henry για την επιβεβαίωση του κριτηρίου του Henry. Τα BTEX είναι μια συντομογραφία και αναφέρεται σε μίγματα βενζολίου, τολουολίου και των τριών ισομερών του ξυλενίου. Τα ισομερή του ξυλενίου διακρίνονται από τις ονομασίες ορθο - (ή o -), μετα - (ή m -) και παρα - (ή p -) όπως υποδεικνύεται στην εικόνα 14. Εάν περιλαμβάνεται το αιθυλοβενζόλιο, το μείγμα αναφέρεται ως BTEX. Οι αρωματικοί υδρογονάνθρακες BTEX είναι πολύ σημαντικά πετροχημικά υλικά [32]



Εικόνα 13: Χημική δομή βενζολίου, τολουολίου και των τριών ισομερών του ξυλενίου

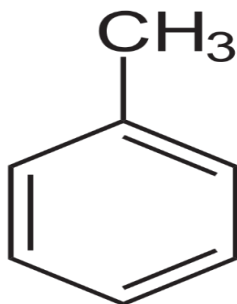
### 1.8.1 Βενζόλιο



Εικόνα 14: Χημική δομή βενζολίου

Το βενζόλιο, με μοριακό τύπο C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>, είναι ο πιο απλός αρωματικός υδρογονάνθρακας. Είναι ένας εξαμελής δακτύλιος που αποτελείται από έξι άτομα άνθρακα που το καθένα συνδέεται με ένα άτομο υδρογόνου. Οι άνθρακες συνδέονται μεταξύ τους με απλούς και διπλούς δεσμούς. Το βενζόλιο έχει τρεις διπλούς δεσμούς C=C που εναλλάσσονται με τρεις απλούς δεσμούς C-C. Έχει μοριακή μάζα 78.112 g/mol, σημείο βρασμού τους 102.24°C, διαλυτότητα στο νερό 2000 mg/L στους 25°C, λογάριθμο οκτανόλης/νερό στους 25°C ίσο με 2.13, λογάριθμο αέρα/νερό στους 25°C ίσο με -0.644, λογάριθμο οκτανόλης/αέρα στους 25°C ίσο με 2.780 και LD<sub>50</sub> 930 mg/kg για αρουραίους [34-35].

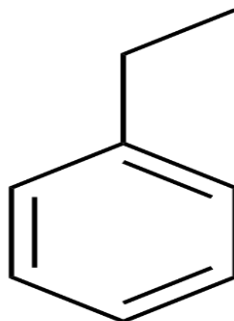
### 1.8.2 Τολουόλιο



Εικόνα 15: Χημική δομή τολουολίου

Το τολουόλιο είναι αρωματική οργανική χημική ένωση, που περιέχει άνθρακα και υδρογόνο, με μοριακό τύπο  $C_7H_8$ , αλλά συμβολίζεται συχνά συντομογραφικά ως PhMe ή ΦMe ή  $PhCH_3$ . Το χημικά καθαρό τολουόλιο, στις κανονικές συνθήκες περιβάλλοντος, δηλαδή σε θερμοκρασία  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$  και υπό πίεση  $1\text{ atm}$ , είναι διαυγές, δυσδιάλυτο στο νερό και εύφλεκτο υγρό, με έντονη οσμή, διαφορετική από τη γλυκιά οσμή του βενζολίου. Η συστηματική ονομασία κατά IUPAC είναι «μεθυλοβενζόλιο». Έχει μοριακή μάζα  $92.138\text{ g/mol}$ , πυκνότητα  $0,9\text{ g/cm}^3$ , σημείο βρασμού τους  $110.6^{\circ}\text{C}$ , διαλυτότητα στο νερό  $573.1\text{ mg/L}$  στους  $25^{\circ}\text{C}$ , λογάριθμο οκτανόλης/νερό στους  $25^{\circ}\text{C}$  ίσο με  $2.73$ , λογάριθμο αέρα/νερό στους  $25^{\circ}\text{C}$  ίσο με  $-0.566$ , λογάριθμο οκτανόλης/αέρα στους  $25^{\circ}\text{C}$  ίσο με  $3.310$  και  $LD_{50}\text{ }5000\text{ mg/kg}$  για αρουραίους [36-37].

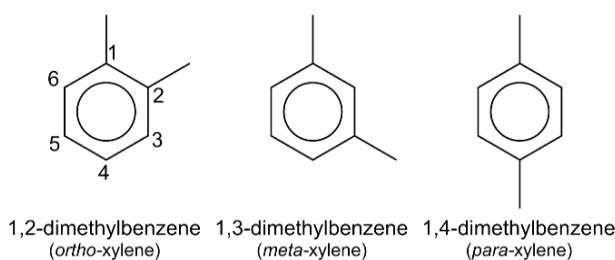
### 1.8.3 Αιθυλοβενζόλιο



Εικόνα 16: Χημική δομή αιθυλοβενζολίου

Το αιθυλοβενζόλιο ή αιθυλοβενζένιο είναι ένα αρένιο με σύντομο συντακτικό τύπο  $PhCH_2CH_3$ . Έχει μοριακή μάζα  $106.165\text{ g/mol}$ , πυκνότητα  $0,9\text{ g/cm}^3$ , σημείο βρασμού τους  $136.2^{\circ}\text{C}$ , διαλυτότητα στο  $228.6\text{ mg/L}$  στους  $25^{\circ}\text{C}$ , λογάριθμο οκτανόλης/νερό στους  $25^{\circ}\text{C}$  ίσο με  $3.15$ , λογάριθμο αέρα/νερό στους  $25^{\circ}\text{C}$  ίσο με  $-0.492$ , λογάριθμο οκτανόλης/αέρα στους  $25^{\circ}\text{C}$  ίσο με  $3.740$  και  $LD_{50}\text{ }4.769\text{ mg/kg}$  για αρουραίους [35,38].

### 1.8.4 Ξυλένιο



Εικόνα 17: Χημική δομή όρθο, μέτα, πάρα - ξυλενίου

Το ξυλένιο, από την ελληνική λέξη ξύλο, είναι ένα από τα τρία ισομερή του διμεθυλοβενζολίου. Με σύντομο συντακτικό τύπο  $(CH_3)_2C_6H_4$ , καθένα από τα ισομερή έχει ένα κεντρικό

βενζολικό δακτύλιο με δύο μεθυλομάδες συνδεδεμένες στους υποκαταστάτες. Τα ισομερή μπορούν να διακριθούν με τους χαρακτηρισμούς ορθο- (ο-), μετα- (m-) και παρα- (p-), που καθορίζουν σε ποια άτομα άνθρακα (του δακτυλίου βενζολίου) συνδέονται οι δύο μεθυλομάδες. Είναι και τα τρία ισομερή, άχρωμα, εύφλεκτα υγρά και κάποια από αυτά με έχουν μεγάλη βιομηχανική αξία. Έχει μοριακή μάζα 106.165 g/mol, πυκνότητα 0,9 g/cm<sup>3</sup>, σημείο βρασμού τους 145.9°C, διαλυτότητα στο 242.4 mg/L στους 25°C, λογάριθμο οκτανόλης/νερό στους 25°C ίσο με 3.12, λογάριθμο αέρα/νερό στους 25°C ίσο με -0.567, λογάριθμο οκτανόλης/αέρα στους 25°C ίσο με 3.910 και LD<sub>50</sub> 4300 mg/kg για αρουραίους [32].

Οι χημικές και φυσικές ιδιότητες του ξυλένιου διαφέρουν ανάλογα με τα αντίστοιχα ισομερή. Το σημείο τήξης κυμαίνεται από -47,87 ° C (m-ξυλένιο) έως 13,26 ° C (p-ξυλένιο), το σημείο τήξης του παρα-ισομερούς είναι πολύ υψηλότερο. Το σημείο βρασμού για κάθε ισομερές είναι περίπου 140 ° C. Η πυκνότητα εκάστου ισομερούς είναι περίπου 0,87 g / mL. Το ξυλένιο στον αέρα μπορεί να μυρίζει σε συγκεντρώσεις τόσο χαμηλές όσο 0,08 έως 3,7 ppm [32,38].

#### 1.9. Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας

Ο σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι η επιβεβαίωση της θεωρίας του κριτήριου του Henry κατά την δειγματοληψία υπερκείμενου χώρου των πτητικών ενώσεων BTEX με χρήση στερεάς μικροεκχύλισης υπό συνθήκες κενού. Αυτό επιτυγχάνεται με τη σύγκριση αποτελεσμάτων με ουσίες με διαφορετικό συντελεστή  $K_H$ . Ελέγχεται αν υπάρχει διαφορά στην αφαίρεση του κενού πριν ή μετά την εισαγωγή του δείγματος στα φιαλίδια και γίνεται εξέταση διαφόρων χρόνων εκκένωσης. Επίσης, γίνεται παρατήρηση της συμπεριφοράς των ουσιών σε συνθήκες κενού και ατμοσφαιρικής πίεσης υπό διάφορους χρόνους εκχύλισης και διάφορες ταχύτητες ανάδευσης. Οι πτητικές ενώσεις που χρησιμοποιήθηκαν στα πειράματα ήταν το βενζόλιο, το τουλουόλιο, το αιθυλοβενζόλιο και το ο-ξυλένιο, οι οποίες έχουν αρκετά υψηλό συντελεστή  $K_H$ .

Επίσης τα πειραματικά αποτελέσματα της παρούσας διπλωματικής εργασίας θα χρησιμοποιηθούν σε μια ευρύτερη ερευνητική μελέτη που αποσκοπεί να κάνει χρήση του μοντέλου Knudsen προκειμένου να χαρακτηρίσει την συνδυαστική επιρροή της μειωμένης πίεσης και ανάδευσης.

## 2. Πειραματικό μέρος

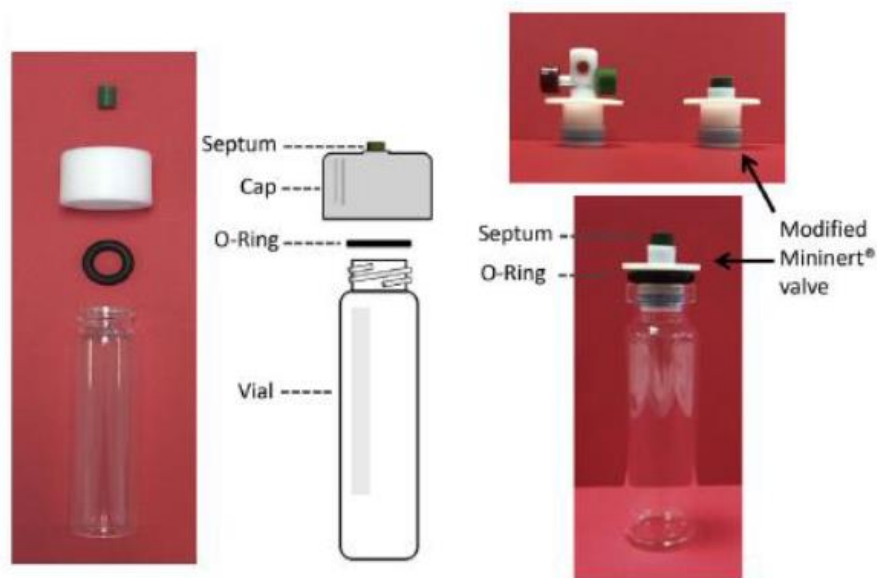
### 2.1 Αντιδραστήρια

- Benzene του οίκου Sigma-Aldrich (Steinheim, Germany) και καθαρότητας 99,8%
- Ethylbenzene του οίκου Sigma-Aldrich (Steinheim, Germany) και καθαρότητας 99,8%
- Toluene του οίκου Sigma-Aldrich (Steinheim, Germany) και καθαρότητας 99,7%
- O-xylene του οίκου Sigma-Aldrich (Steinheim, Germany) και καθαρότητας 98%
- Ακετόνη του οίκου Sigma-Aldrich (Steinheim, Germany) και καθαρότητας 99.5%
- Μεθανόλη του οίκου Sigma-Aldrich (Steinheim, Germany) και καθαρότητας 99,8%

Τα πυκνά πρότυπα διαλύματα του μείγματος των BTEX παρασκευάστηκαν σε μεθανόλη και ήταν συγκέντρωσης 10.000 mg/L το κάθε ένα. Για τα καθημερινά διαλύματα χρησιμοποιήθηκε υπερκάθαρο νερό από σύστημα καθαρισμού ύδατος Barnstead EASYpureRF, το οποίο προμηθεύτηκε από την Thermo Scientific (Dubuque, USA).

### 2.2. Όργανα και συσκευές

- Γυάλινο φιαλίδιο των 22 mL με τροποποιημένο πώμα που κλείνει αεροστεγώς εικόνα 18 για την μέθοδο HSSPME
- Γυάλινο φιαλίδιο των 250  $\mu$ L
- Μαγνήτακια 10 mm 5 mm Sigma-Aldrich
- Gastight σύριγγα των 10 mL
- Hamilton μικροσύριγγα των 100  $\mu$ L
- SPME fiber polydimethylsiloxane coating Sigma-Aldrich
- Συσκευή ανάδευσης και θέρμανσης Heidolph MR-Standard (Germany)
- Αντλία κενού Vacuubrand (Wertheim, Germany)
- GC-17A Gas Chromatograph της εταιρίας Shimadzu



Εικόνα 18: Τροποποιημένο πώμα για την μέθοδο SPME

## 2.3 Πειραματική διαδικασία

### 2.3.1. Vac – HSSPME διαδικασία

Η πειραματική διαδικασία αποτελείται από δύο μεθόδους την μικροεκχύλιση υπερκειμένου χώρου στερεάς εκχύλισης υπό συνθήκες κενού Vac-HSSPME και υπό συνθήκες ατμοσφαιρικής πίεσης HSSPME. Τα πειραματικά βήματα και στις δύο μεθόδους είναι τα ίδια, με την μόνη διαφορά ότι στην περίπτωση της Vac-HSSPME πραγματοποιείται εκκένωση του αέρα από το φιαλίδιο πριν την εισαγωγή του δείγματος.

Κατά την εκχύλιση της μεθόδου HSSPME, αρχικά τοποθετούνται 7ml υδατικού διαλύματος 1ppm BTEX (βενζολίου, τολουόλιου, αιθυλοβενζολίου και ο-ξυλένιου) και ένα μαγνήτης για ανάδευση σε ένα φιαλίδιο χωρητικότητας 22ml. Στην συνέχεια, το φιαλίδιο τοποθετείται για 10 λεπτά σε σταθερή θερμοκρασία των 25°C, με ανάδευση 1000rpm ώστε να επέλθει η ισορροπία μεταξύ του διαλύματος και της αέριας φάσης. Μετά το πέρας των 10 λεπτών τοποθετείται στην υπερκείμενη φάση η ίνα με την βοήθεια της συσκευής συγκράτησης. Με αυτό τον τρόπο ξεκινάει η εκχύλιση η οποία ανάλογα με τα πειράματα διαρκεί από 1 έως 10 λεπτά. Τέλος, η ίνα τοποθετείται για 5 λεπτά στον αέριο χρωματογράφο για ανάλυση. Όλα τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν εις τριπλούν για την αξιοπιστία των αποτελεσμάτων.

Στην περίπτωση της μεθόδου Vac-HSSPME προστέθηκε ένα επιπλέον βήμα, η εκκένωση του αέρα από το φιαλίδιο πριν την εισαγωγή του υδατικού διαλύματος.

### 2.3.2. Ανάλυση με GC – FID

Η ποσοτικοποίηση των ενώσεων πραγματοποιήθηκε με το σύστημα GC-17A, κατασκευασμένο από τη Shimadzu (Kyoto, Japan), το οποίο έχει ανιχνευτή ιονισμού φλόγας (FID). Χρησιμοποιήθηκε η χρωματογραφική στήλη HP5-MS, μήκους 30m, εσωτερικής διαμέτρου 0,250mm και με πάχος film 0,25μm. Ο εισαγωγέας είναι split/splitless. Έγινε ανάλυση split με split ratio 25:1, ενώ ο εισαγωγέας βρισκόταν σε θερμοκρασία 220°C. Στο θερμοκρασιακό πρόγραμμα ανάλυσης που χρησιμοποιήθηκε η αρχική θερμοκρασία ήταν 40°C. Στη συνέχεια, η θερμοκρασία αρχικά αυξήθηκε με ρυθμό 10°C/min στους 100°C και ακολούθως με ρυθμό 20°C/min μέχρι τη θερμοκρασία των 150°C. Η θερμοκρασία του ανιχνευτή ήταν στους 280°C. Η ίνα αφηνόταν μέσα στον εισαγωγέα για 5 λεπτά. Ο συνολικός χρόνος της ανάλυσης ήταν 8,5 λεπτά.

### 3. Πειραματικά αποτελέσματα και συζήτηση

Οι ουσίες που χρησιμοποιήθηκαν στα πειράματα ήταν το βενζόλιο, το τολουόλιο, το αιθυλοβενζόλιο και το ο-ξυλένιο. Είναι πτητικές ενώσεις με ενδιάμεσο προς υψηλό συντελεστή Henry. Στον πίνακα 2 φαίνονται λεπτομερώς τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά τους.

Πίνακας 2: Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά ουσιών BTEX [49-53]

	Βενζόλιο	Τολουόλιο	Αιθυλοβενζόλιο	ο-Ξυλένιο
<b>Molecular formula</b>	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub>	C <sub>7</sub> H <sub>8</sub>	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub>	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub>
<b>K<sub>H</sub> (25°C) (atm*m<sup>3</sup>*mol<sup>-1</sup>)</b>	5.55 10 <sup>-3</sup>	6.64 10 <sup>-3</sup>	7.88 10 <sup>-3</sup>	5.18 10 <sup>-3</sup>
<b>K<sub>ow</sub></b>	135	489	1412	589
<b>Μοριακή μάζα (g/mol)</b>	78.11	92.14	106.17	106.16
<b>Διαλυτότητα στο νερό kg/m<sup>3</sup></b>	1.8 (15°C)	0.470 (20-25°C)	0.150 (20-25°C)	0.106 (25°C)
<b>Σημείο βρασμού (°C at 760 mmHg )</b>	78.8±7.0	110.6±3.0	136.2±3.0	148.29±3.0



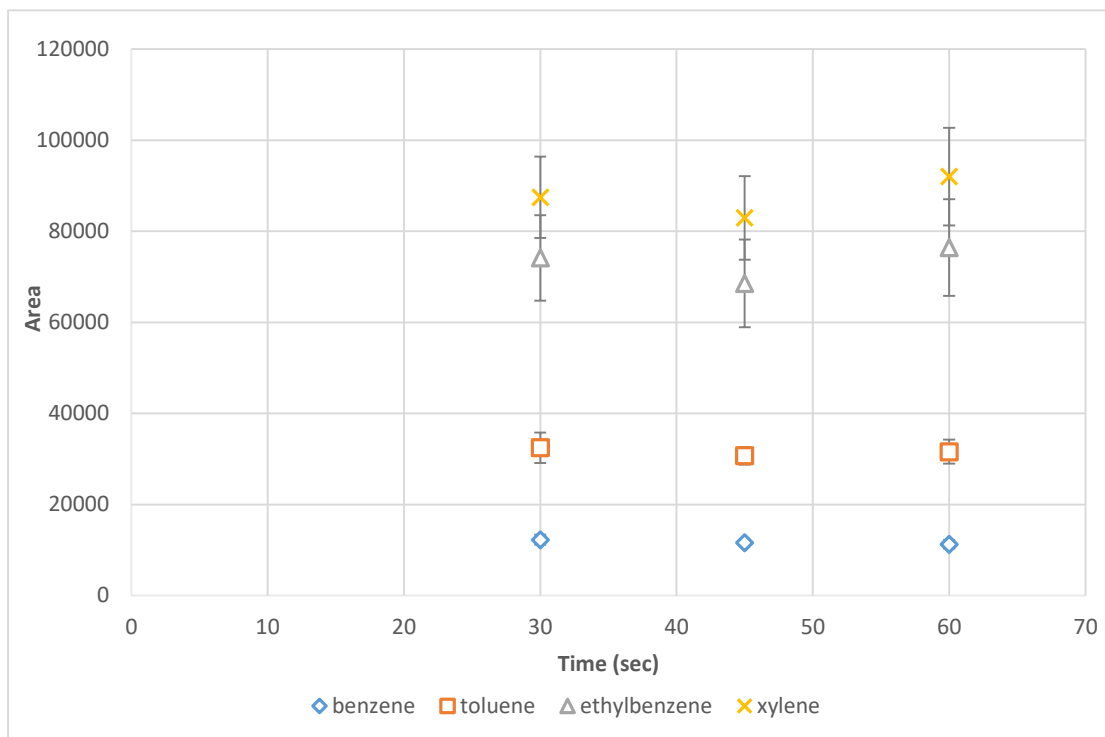
### 3.1. Επίδραση αφαίρεσης του κενού πριν και μετά την εισαγωγή του δείγματος

Η επίδραση της μείωσης της πίεσης πριν και μετά την εισαγωγή του προς εξέταση δείγματος στα φιαλίδια, εξετάστηκε καθώς ήταν μια αρκετά αμφιλεγόμενη παράμετρος όλα τα χρόνια που εφαρμόζεται η μειωμένη πίεση κατά την διαδικασία προετοιμασίας δειγμάτων. Η εξέταση της παραμέτρου αυτής ήταν απαραίτητη καθώς έπρεπε να ελεγχθεί αν χάνονται οι ουσίες-στόχοι σε περίπτωση που μειωθεί η πίεση μετά την εισαγωγή των δειγμάτων στα φιαλίδια. Με την μέθοδο Vac-HSSPME πραγματοποιήθηκαν πειράματα όπου εξετάστηκαν δυο περιπτώσεις σειράς βημάτων. Η πρώτη ήταν η αφαίρεση του κενού από το φιαλίδιο πριν την εισαγωγή του υδατικού διαλύματος και η δεύτερη ήταν η αφαίρεση του κενού μετά την εισαγωγή του υδατικού διαλύματος. Παράλληλα και στις δύο περιπτώσεις εξεταζόντουσαν οι διαφορετικοί χρόνοι εκκένωσης, 30, 45 και 60 δευτερόλεπτα.

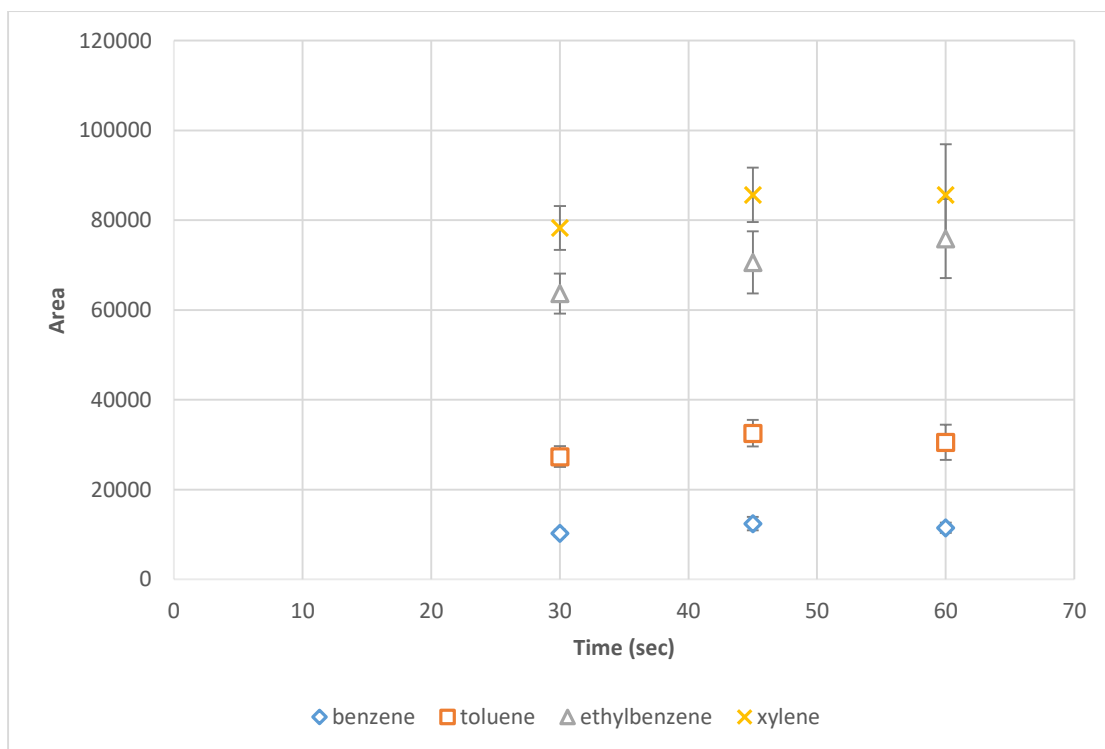
Τα πειράματα εκτελέστηκαν με τις ενώσεις BTEX συγκέντρωσης 1ppm, σε σταθερή θερμοκρασία 25°C, με ισορροπία 10 λεπτών και παράλληλη ανάδευση 1000 rpm και χρόνο εκχύλισης επίσης 10 λεπτά με ανάδευση 1000 rpm.

Για την περίπτωση της εκκένωσης πριν την εισαγωγή του δείγματος τα αποτελέσματα βρίσκονται στο διάγραμμα 2 και για την δεύτερη περίπτωση στο διάγραμμα 3. Κατά την εξέταση αυτής της παραμέτρου δεν παρατηρήθηκε κάποια αξιοσημείωτη διαφορά. Συμπερασματικά, είτε μειωθεί η πίεση πριν την εισαγωγή του δείγματος στο φιαλίδιο είτε μειωθεί μετά την εισαγωγή του δείγματος δεν επιφέρει καμία διαφορά στα αποτελέσματα των πειραμάτων, δηλαδή δεν χάνεται ποσότητα των ουσιών – στόχων. Επίσης δεν υπάρχει κάποια αξιοσημείωτη διαφορά ως προς την διάρκεια εκκένωσης των φιαλιδίων.

Τα αποτελέσματα της εξεταζόμενης παραμέτρου είναι πολύ σημαντικά καθώς αν δεν υπάρχει διαφορά κατά την μείωση της πίεσης πριν ή μετά την εισαγωγή του δείγματος στα φιαλίδια, δίνεται η δυνατότητα της χρήσης της μεθόδου Vac-HSSPME για δείγματα στερεής φάσης. Προφανώς, για πρακτικούς λόγους για τέτοιου είδους δειγμάτων η μείωση της πίεσης είναι εφικτή μόνο μετά την εισαγωγή των δειγμάτων στα φιαλίδια.



Διάγραμμα 2: Μείωση της πίεσης για διάρκεια εκκένωσης 30, 45 και 50 δευτερόλεπτα πριν την εισαγωγή του δείγματος



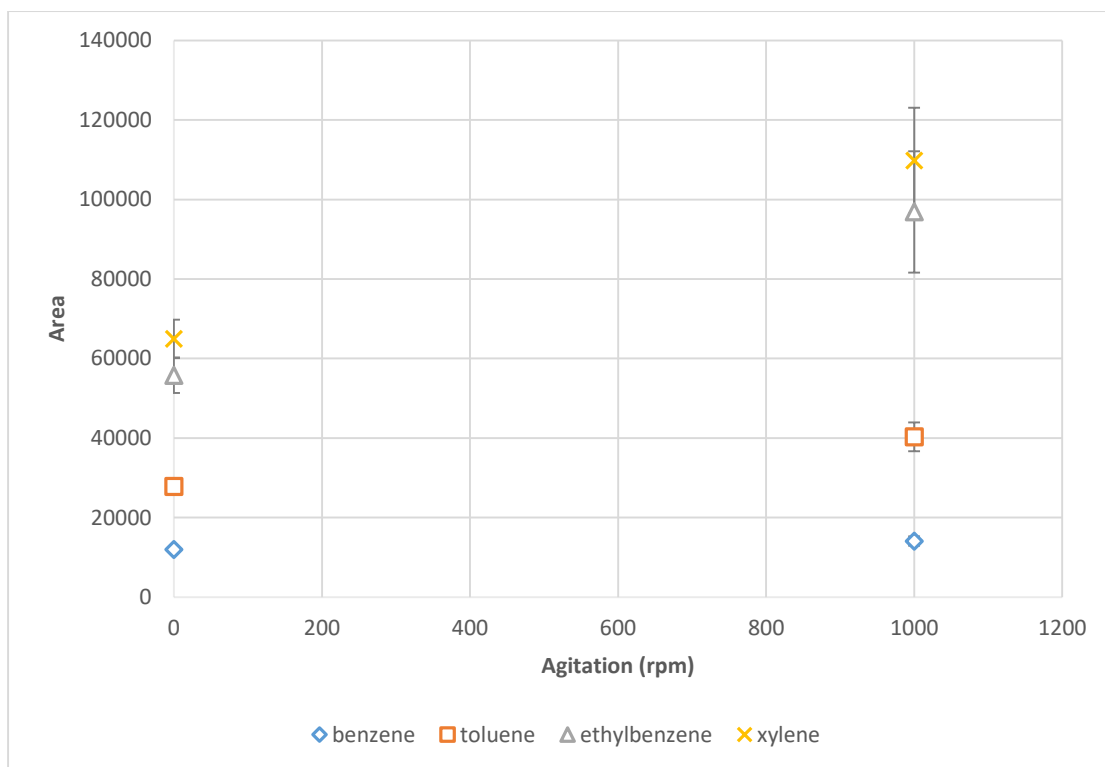
Διάγραμμα 3: Μείωση της πίεσης για διάρκεια εκκένωσης 30, 45 και 50 δευτερόλεπτα μετά την εισαγωγή του δείγματος

### 3.2. Επίδραση ανάδευσης

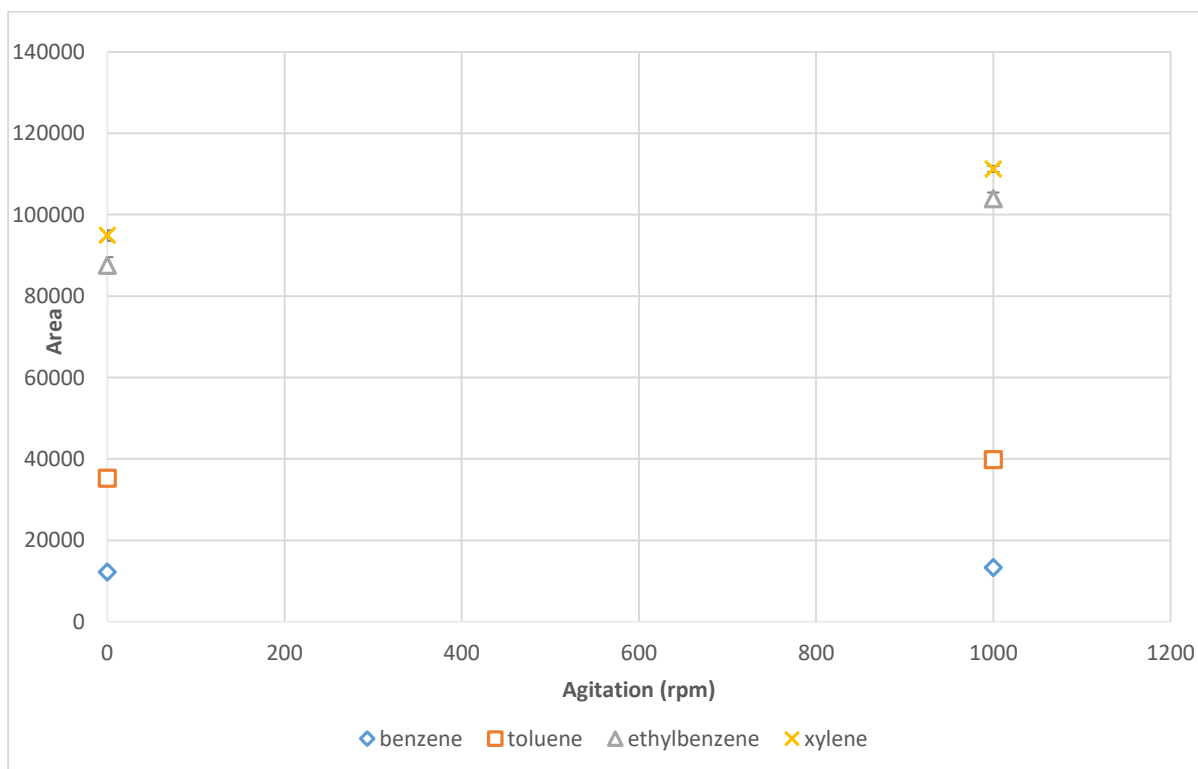
Έχει παρατηρηθεί ότι κατά την ανάδευση αυξάνεται η μεταφορά μάζας από το υδατικό διάλυμα προς την υπερκείμενη φάση και μειώνεται ο χρόνος που απαιτείται για την επίτευξη της θερμοδυναμικής ισορροπίας. Στην περίπτωση των πτητικών ουσιών, οι ουσίες φτάνουν γρήγορα από μόνες τους στην υπερκείμενη αέρια φάση χωρίς να απαιτείται απαραίτητα η δράση της ανάδευσης. Για αυτό τον λόγο, η ανάδευση είτε με υψηλή και είτε με μηδενική ταχύτητα για ουσίες όπως τα BTEX αναμένεται να έχει μικρή επιρροή κατά την εκχύλιση.

Με την μέθοδο Vac-HSSPME πραγματοποιήθηκαν πειράματα, όπου εξετάστηκε η επίδραση της έντονης ανάδευσης και της μηδενικής ανάδευσης για δειγματοληψία υπό μειωμένη πίεση. Τα πειράματα για την ανάδευση έγιναν με τις ενώσεις BTEX συγκέντρωσης 1ppm, σε θερμοκρασία 25°C, με ισορροπία 10 λεπτών και χρόνο εκχύλισης επίσης 10 λεπτών. Οι ταχύτητες ανάδευσης που μελετήθηκαν ήταν 0 και 1000 γύροι το λεπτό, όπως φαίνεται και στο διάγραμμα 4. Τα ίδια πειράματα πραγματοποιήθηκαν με ίδιους χρόνους εκχύλισης, ισορροπίας και θερμοκρασία αλλά υπό συνθήκες ατμοσφαιρικής πίεσης με μέθοδο HSSPME όπως φαίνεται στο διάγραμμα 5.

Από τα αποτελέσματα των πειραμάτων συμπεραίνουμε ότι το βενζόλιο και το τολουόλιο δεν επηρεάζονται από την ύπαρξη της ανάδευσης ή της μειωμένης πίεσης κατά την δειγματοληψία. Επίσης, με μηδενική ανάδευση η ποσότητα που εκχυλίστηκε για το ξυλένιο ήταν περίπου 1,5 φορά και για το αιθυλοβενζόλιο 1,6 φορά περισσότερη με την μέθοδο της HSSPME από ότι με την δειγματοληψία Vac-HSSPME. Αυτή η παρατήρηση δεν συμφωνεί με τους νόμους της θερμοδυναμικής, που προβλέπει ότι κατά την Vac-HSSPME θα πρέπει να έχει παρόμοια αποτελέσματα με την HSSPME ακόμα και με μηδενική ανάδευση. Πιστεύεται ότι τα αποτελέσματα των μετρήσεων στην μηδενική ανάδευση κατά την HSSPME οφείλονται σε μεγάλο πειραματικό σφάλμα.

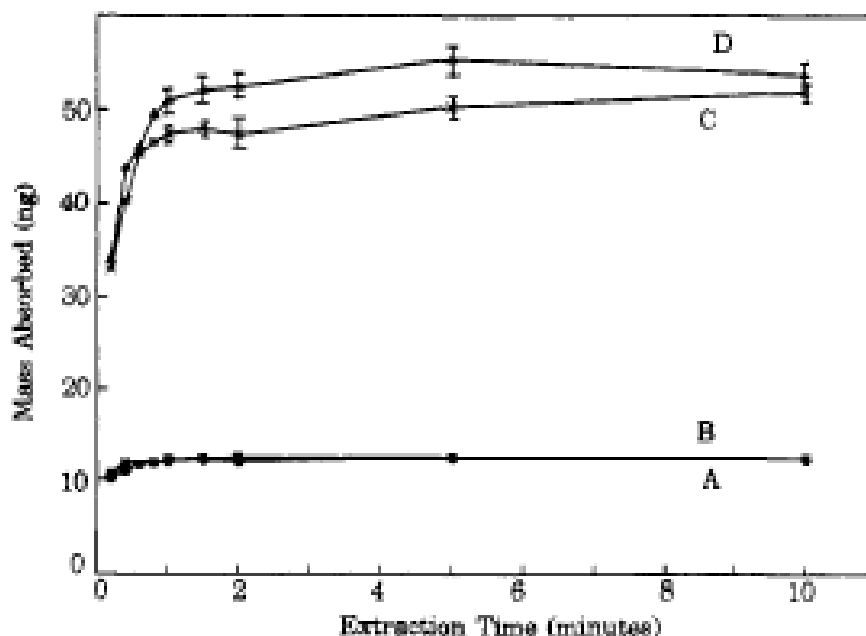


Διάγραμμα 4: Επίδραση της ανάδευσης του διαλύματος υπό συνθήκες μειωμένης πίεσης με Vac-HSSPME.



Διάγραμμα 5: Επίδραση της ανάδευσης του διαλύματος υπό συνθήκες ατμοσφαιρικής πίεσης με HSSPME.

Από παλιότερη δημοσιευμένη έρευνα, με χρήση μεθόδου HSSPME με BTEX 1 ppm [44] παρατίθεται το διάγραμμα 6, στο οποίο βρίσκονται τα αποτελέσματα των δειγμάτων με αναδευόμενο υδατικό διάλυμα και εκείνα με στατικό υδατικό διάλυμα. Στα συγκεκριμένα πειράματα η ταχύτητα ανάδευσης ήταν στο 75 % της μέγιστης ταχύτητας ανάδευσης του μηχανήματος ανάδευσης, ποσοστό παραπλήσιο αυτού που εφαρμόστηκε εδώ. Οι καμπύλες A και B αντιστοιχούν στο προφίλ της ποσότητας που απορροφάται από την ίνα για το βενζόλιο με στατική και αναδευόμενη υδατική φάση, αντίστοιχα. Δεδομένου ότι το βενζόλιο έχει την μικρότερη τιμή  $K_{ow}$ , είναι αναμενόμενο το γεγονός ότι αυτές οι δύο καμπύλες είναι σχεδόν πανομοιότυπες. Ωστόσο, η ανάδευση επιφέρει σημαντική διαφορά για το ο-ξυλένιο, όπως φαίνεται στις καμπύλες C και D, το οποίο έχει ένα αρκετά μεγάλο συντελεστή κατανομής. Ο χρόνος εξισορρόπησης (καμπύλη D) είναι περίπου 1 λεπτό για το καλά αναδευόμενο δείγμα, ενώ χρειάζεται μεγαλύτερο χρονικό διάστημα για το μη αναδευόμενο δείγμα (καμπύλη C) μέχρι να επιτευχθεί η ισορροπία. Οι καμπύλες A και C είναι και οι δύο από το μη αναδευόμενο δείγμα, αλλά οι χρόνοι εξισορρόπησης διαφέρουν σημαντικά λόγω των μεγάλων διαφορών των ουσιών στους συντελεστές κατανομής. Για ενώσεις με ακόμα μικρότερους συντελεστές, αναμένεται ότι η επίδραση της ανάδευσης στην υδατική φάση θα είναι πιο δραματική.



Διάγραμμα 6: Προφίλ χρόνου της μάζας που απορροφάται από την ίνα με συγκέντρωση 1 ppm of BTEX υδατικού διαλύματος με HSSPME (A) Βενζόλιο χωρίς ανάδευση (B) Βενζόλιο με ανάδευση (C) ο-Ξυλένιο χωρίς ανάδευση (D) ο-Ξυλένιο με ανάδευση [44].

### 3.3. Επίδραση χρόνου εκχύλισης

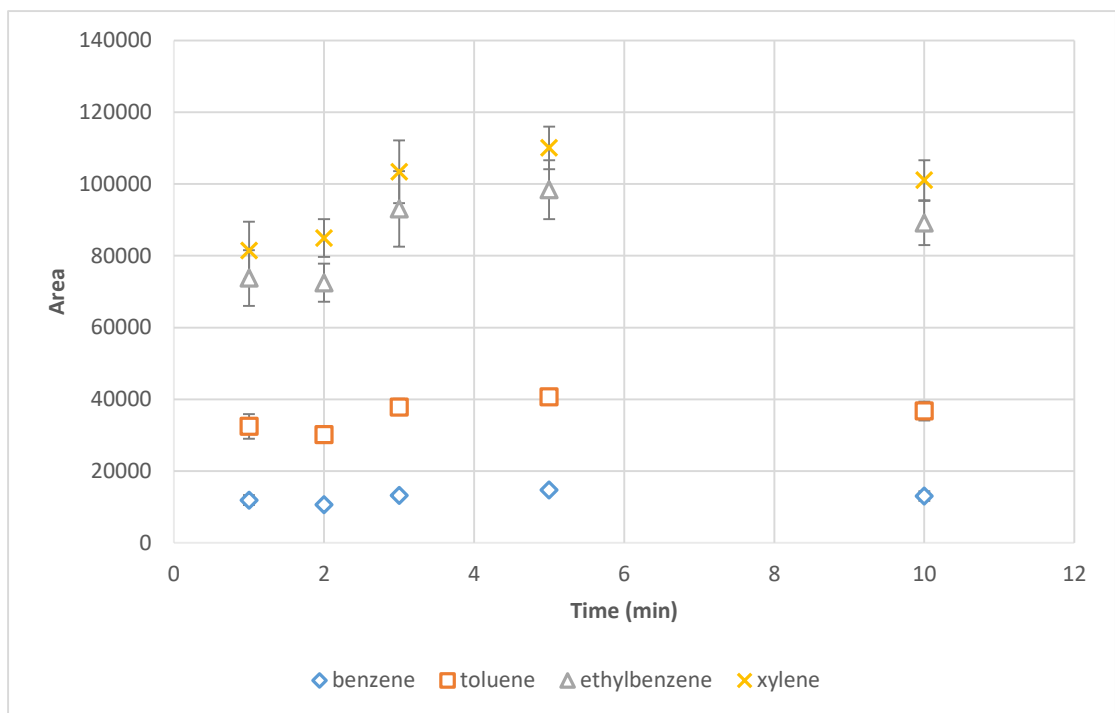
Με την μέθοδο Vac-HSSPME πραγματοποιήθηκαν πειράματα, όπου εξετάστηκε η επίδραση της διάρκειας δειγματοληψίας. Τα πειράματα του χρόνου εκχύλισης εκτελέστηκαν με τις ενώσεις BTEX συγκέντρωσης 1ppm, σε σταθερή θερμοκρασία 25°C και με ισορροπία 10 λεπτών, με παράλληλη ανάδευση 1000rpm για την επιλογή του βέλτιστου χρόνου δειγματοληψίας. Οι χρόνοι που μελετήθηκαν ήταν τα 1, 2, 3, 5 και 10 λεπτά, όπως φαίνεται στο διάγραμμα 7. Τα ίδια πειράματα πραγματοποιήθηκαν με ίδιες πειραματικές παραμέτρους αλλά υπό συνθήκες ατμοσφαιρικής πίεσης με μέθοδο HSSPME όπως φαίνεται στο διάγραμμα 8.

Είναι σημαντικό να ειπωθεί ότι, με την παρατήρηση των αποτελεσμάτων της εκχύλισης υπό συνθήκες κενού, όπως φαίνεται στο διάγραμμα 7 και οι τέσσερις ενώσεις φτάνουν κοντά στην ισορροπία στα 5 λεπτά. Θεωρείται ότι σίγουρα έχει επέλθει η ισορροπία στα 10 λεπτά δειγματοληψίας και για τις τέσσερις ενώσεις. Ο διαφορετικός χρόνος ισορροπίας που απαιτείται για κάθε ουσία οφείλεται στις διαφορετικές σταθερές κατανομής τους.

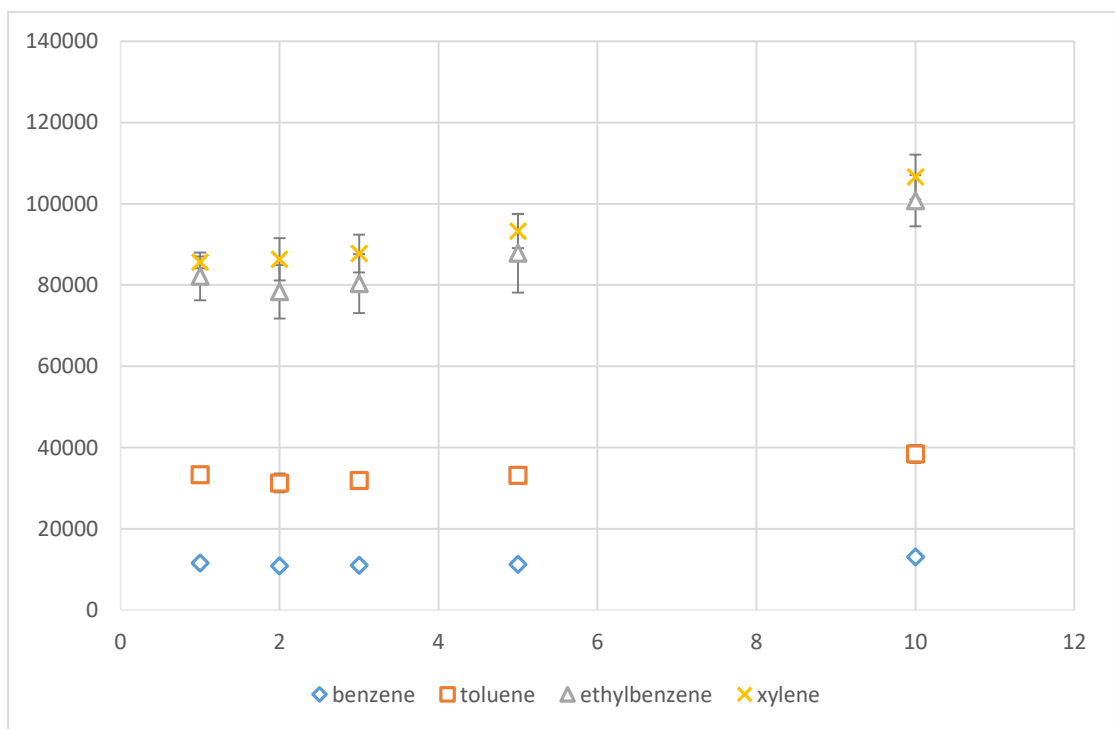
Παρατηρούμε ότι το βενζόλιο και το τολουόλιο βρίσκονται σε ισορροπία ήδη από τα 2 λεπτά δειγματοληψίας, ενώ το αιθυλοβενζόλιο και το ξυλένιο φτάνουν στην ισορροπία στα 5 λεπτά δειγματοληψίας. Ο μεγαλύτερος χρόνος που απαιτείται για το ξυλένιο και το αιθυλοβενζόλιο για να βρεθούν σε ισορροπία είναι αποτέλεσμα της μεγαλύτερης σταθεράς κατανομής τους, η οποία αυξάνει την ποσότητα της αναλυόμενης ουσίας η οποία χρειάζεται να κάνει διάχυση εντός της περιοχής γύρω από την ίνα [43].

Κατά την παρατήρηση των αποτελεσμάτων της εκχύλισης υπό ατμοσφαιρικής πίεσης, όπως φαίνεται στο διάγραμμα 8, το βενζόλιο και το τολουόλιο βρίσκονται σε ισορροπία μόλις από τα 2 λεπτά. Το ξυλένιο και το αιθυλοβενζόλιο δεν πιάνουν ισορροπία ακόμα και με δειγματοληψία 10 λεπτών.

Όπως αναμένεται και από το κριτήριο του Henry και των σταθερών  $K_H$  των ουσιών δεν παρατηρείται κάποια μεγάλη διαφορά συγκρίνοντας τα διαγράμματα υπό συνθήκες κενού και ατμοσφαιρικές συνθήκες. Πιο συγκεκριμένα και οι τέσσερις ουσίες ανήκουν πάνω από το κατώφλι σταθεράς Henry των  $5 \cdot 10^{-3}$  που δηλώνει ότι η αντίσταση κατά την εξάτμιση των ουσιών-στόχων βρίσκεται κατά 95% στην υγρή φάση και για αυτό το λόγω η μειωμένη πίεση δεν επιφέρει κάποια αξιοσημείωτη διαφορά κατά την δειγματοληψία.

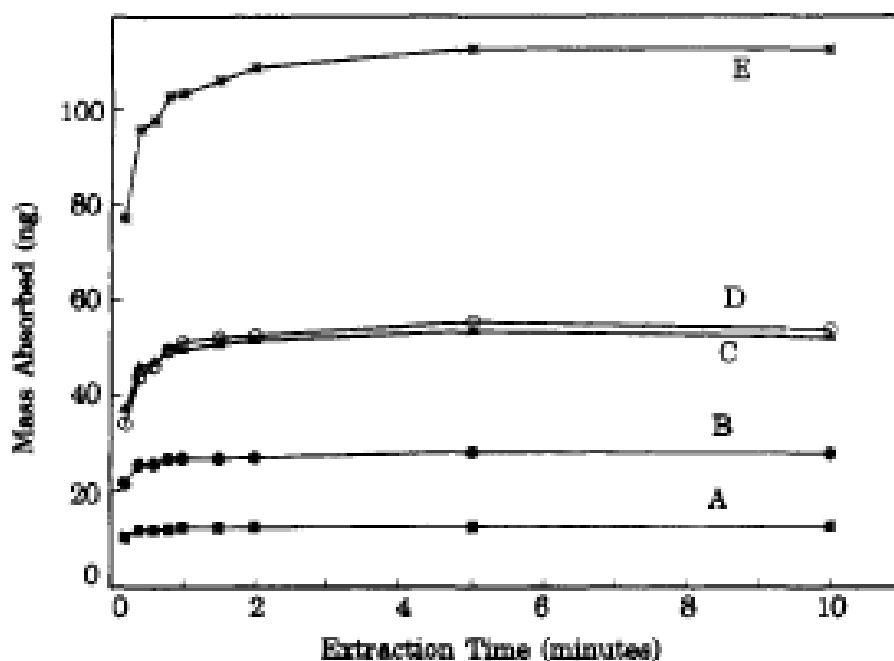


Διάγραμμα 7: Επίδραση χρόνου στη δειγματοληψία Vac-HSSPME



Διάγραμμα 8: Επίδραση χρόνου στη δειγματοληψία HSSPME

Από παλιότερη δημοσιευμένη έρευνα, με χρήση μεθόδου HSSPME [44] παρατίθεται το διάγραμμα 9, στο οποίο βρίσκονται τα προφίλ χρόνου της μάζας που απορροφάται από την ίνα με συγκέντρωση 1 ppm of BTEX υδατικού διαλύματος και με αναδευόμενη υδατική φάση για το Βενζόλιο (B) Τολουόλιο (C) Αιθυλοβενζόλιο (D) μ,π-Ξυλένιο (E) ο-Ξυλένιο. Στα συγκεκριμένα πειράματα η ταχύτητα ανάδευσης ήταν στο 75 % της μέγιστης ταχύτητας ανάδευσης του μηχανήματος ανάδευσης. Σύμφωνα με την δημοσίευση τα αποτελέσματα δείχνουν ότι ο χρόνος ισορροπίας κάθε ουσίας εξαρτάται από τους συντελεστές κατανομής τους. Πιο συγκεκριμένα, ο συντελεστής κατανομής υπερκείμενης φάσης / υδατικού διαλύματος  $K_{hs}$  για το βενζόλιο, το τολουόλιο και το π-ξυλόλιο είναι παρόμοιος. Επίσης αναφέρεται ότι όσο μεγαλύτερος ο συντελεστής κατανομής ίνας / υπερκείμενης φάσης  $K_{fh}$ , τόσο μεγαλύτερος είναι ο χρόνος εξισορρόπησης. Για το αιθυλοβενζόλιο και το ο-ξυλένιο, η διαφορά του χρόνου ισορροπίας τους δεν γινόταν να εξηγηθεί καθώς οι συντελεστές κατανομής  $K_{hs}$  είναι πολύ κοντινές τιμές και οι  $K_{fh}$  δεν διαφέρουν σημαντικά. Η εξάρτηση του χρόνου ισορροπίας με τους συντελεστές κατανομής είναι πολύ μεγάλη σύμφωνα με τις θεωρητικές προβλέψεις.



Διάγραμμα 9: Προφίλ χρόνου της μάζας που απορροφάται από την ίνα με συγκέντρωση 1 ppm of BTEX υδατικού διαλύματος και με αναδευόμενη υδατική φάση με HSSPME. (A) Βενζόλιο (B) Τολουόλιο (C) Αιθυλοβενζόλιο (D) μ,π-Ξυλένιο (E) ο-Ξυλένιο [44].

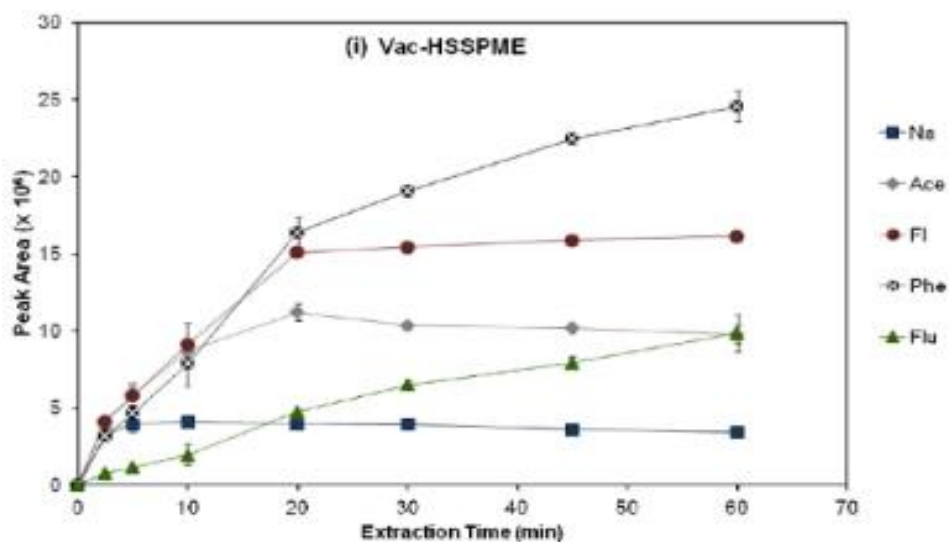
Η σύγκριση των αποτελεσμάτων με προηγούμενες δημοσιευμένες έρευνες βοηθάει στην καλύτερη κατανόηση τους. Για αυτό τον λόγο, στα διαγράμματα 10,11,12 και 13 δίνονται τα αποτελέσματα επίδρασης μειωμένης πίεσης στον χρόνο εκχύλισης υδατικών διαλυμάτων για διάφορες ενώσεις με διαφορετικές σταθερές  $K_H$ .



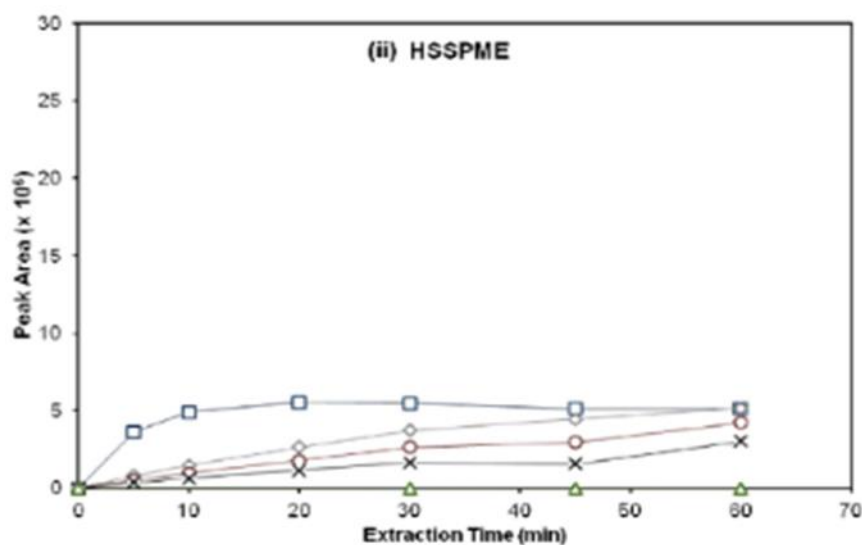
Πιο συγκεκριμένα, στα διαγράμματα 10 και 11 δίνονται τα αποτελέσματα για τις ενώσεις: Ναφθαλένιο (Na) με  $K_H = 4.4 \cdot 10^{-4} \text{ atm m}^3 \text{ mol}^{-1}$ , Ακεναφθυλένιο (Ace) με  $K_H = 1.84 \cdot 10^{-4} \text{ atm m}^3 \text{ mol}^{-1}$ , Φλουορένιο (Fl) με  $K_H = 5.39 \cdot 10^{-5} \text{ atm m}^3 \text{ mol}^{-1}$ , Φαινανθρένιο (Phe) με  $K_H = 1.497 \cdot 10^{-5} \text{ atm m}^3 \text{ mol}^{-1}$ , Φλουορανθρένιο (Flu) με  $K_H = 6.422 \cdot 10^{-6} \text{ atm m}^3 \text{ mol}^{-1}$ . [39]

Στα εξεταζόμενα δείγματα, με την μέθοδο Vac-HSSPME και με εξαίρεση το Na, οι συνθήκες μειωμένης πίεσης βελτίωσαν την κινητική της εκχύλισης, με αποτέλεσμα να οδηγούν σε μικρότερους χρόνους δειγματοληψίας σε σύγκριση με την μέθοδο της HSSPME. Για το Na, το οποίο έχει την υψηλότερη τιμή  $K_H$  από τις υπόλοιπες ουσίες των συγκεκριμένων πειραμάτων, καταγράφηκε μια μείωση περίπου 30% της ποσότητας που εξήχθη σε ισορροπία με την μέθοδο Vac-HSSPME σε σύγκριση με την HSSPME. Αυτή η παρατήρηση δεν συμφωνεί με τους νόμους της θερμοδυναμικής, που προβλέπει ότι κατά την ισορροπία Vac-HSSPME θα πρέπει να έχει παρόμοια με την HSSPME [39]. Πιστεύεται ότι η παρατήρηση αυτή, οφείλετε στην αλληλεπίδραση των μορίων νερού με την ίνα που είχε ως αποτέλεσμα την αλλαγή της συμπεριφοράς της.

Πιο συγκεκριμένα, πιο ορατή είναι η επίδραση της μειωμένης πίεσης στην περίπτωση του Ace και του Fl. Για αυτές τις δύο ενώσεις, η μειωμένη πίεση του συστήματος οδήγησε σε μια μετάβαση από αργή σε γρήγορη ισορροπία. Με την μέθοδο HSSPME το Ace και το Fl δεν έπιασαν ποτέ την ισορροπία ακόμα και μετά τη υπερκείμενη δειγματοληψία των 60 λεπτών. Για το Phe, η ισορροπία δεν επιτεύχθηκε ακόμη και μετά από δειγματοληψία 60 λεπτών υπό συνθήκες μειωμένης πίεσης. Αυτό εξηγείται από το γεγονός ότι το Phe έχει υψηλή σταθερά Henry. Παρόμοια είναι και τα συμπεράσματα για την ένωση Flu, η οποία είναι η πιο υδρόφοβη και λιγότερο πτητική ένωση από τις ενώσεις των συγκεκριμένων πειραμάτων. Η τιμή  $K_H$  είναι αρκετά χαμηλότερη από τις αναφερόμενες τιμές κατωφλίου για ουσίες με low- $K_H$  και κατά τον ρυθμό εξάτμισης η αντίσταση βρίσκεται στην αέρια φάση, με αποτέλεσμα η δειγματοληψία Vac-HSSPME να αυξάνει δραματικά την κινητική της εκχύλισης σε σύγκριση με την HSSPME. Η ισορροπία για το Flu δεν επιτεύχθηκε ποτέ, με καμία από τις δύο συνθήκες πίεσης ακόμα και μετά από 60 λεπτά εκχύλισης. Παρ' όλα αυτά, η θετική επίδραση των συνθηκών δειγματοληψίας μειωμένης πίεσης παρέμεινε αξιοσημείωτη ακόμη και μετά από τη υπερκείμενη δειγματοληψία 60 λεπτών καθώς η ποσότητα της ουσίας που εξήχθη με Vac-HSSPME ήταν περίπου 33 φορές μεγαλύτερη σε σύγκριση με εκείνη με την HSSPME.



Διάγραμμα 10: Επίδραση χρόνου δειγματοληψίας των PAHs στην μέθοδο Vac-HSSPME. Άλλες πειραματικές παράμετροι: 7 mL υδατικού διαλύματος διαλυμένα με  $5 \mu\text{g L}^{-1}$ ; 1400 rpm ανάδευση;  $25^\circ\text{C}$  θερμοκρασία [39].

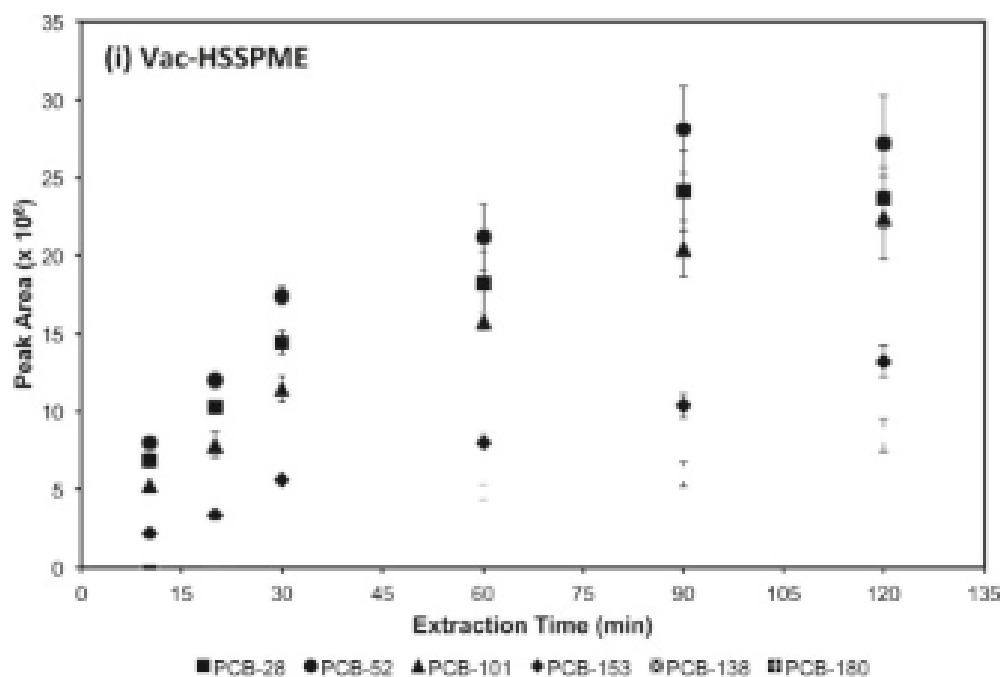


Διάγραμμα 11: Επίδραση χρόνου δειγματοληψίας των PAHs στην μέθοδο HSSPME. Άλλες πειραματικές παράμετροι: 7 mL υδατικού διαλύματος διαλυμένα με  $5 \mu\text{g L}^{-1}$ ; 1400 rpm ανάδευση;  $25^\circ\text{C}$  θερμοκρασία [39].

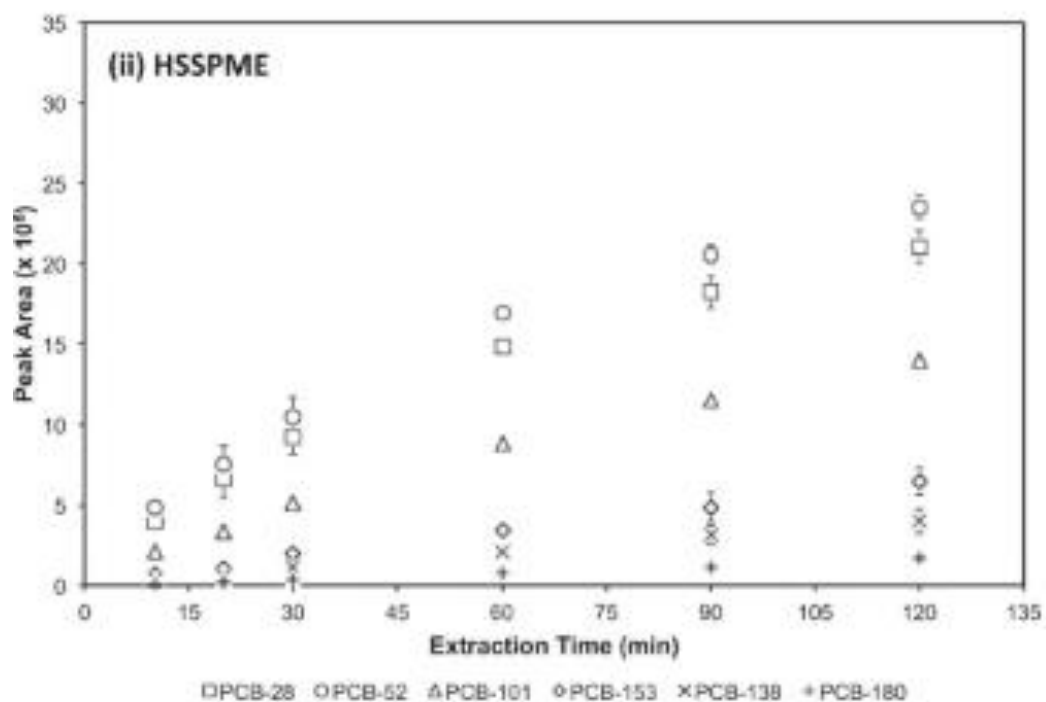
Στα διαγράμματα 12 και 13, βρίσκονται τα προφίλ του χρόνου εκχύλισης που λαμβάνονται υπό συνθήκες μειωμένης και ατμοσφαιρικής πίεσης στους  $40^\circ\text{C}$  κατά τη χρήση μεθόδου HSSPME για τις ουσίες – στόχους με μεσαίο συντελεστή  $K_{ow}$ . Πιο συγκεκριμένα εξετάζονται οι εξής ουσίες : το PCB-28 με  $K_{ow}$

=  $3.979 \cdot 10^{-5} \text{ atm m}^3 \text{ mol}^{-1}$ , το PCB-52 με  $K_H = 3.772 \cdot 10^{-5} \text{ atm m}^3 \text{ mol}^{-1}$ , το PCB-101 με  $K_H = 7.132 \cdot 10^{-5} \text{ atm m}^3 \text{ mol}^{-1}$ , το PCB-153 με  $K_H = 2.154 \cdot 10^{-4} \text{ atm m}^3 \text{ mol}^{-1}$ , το PCB-138 με  $K_H = 1.170 \cdot 10^{-4} \text{ atm m}^3 \text{ mol}^{-1}$  και το PCB-180 με  $K_H = 2.379 \cdot 10^{-4} \text{ atm m}^3 \text{ mol}^{-1}$ . Όπως φαίνεται, με την Vac-HSSPME οι εξαγόμενες ποσότητες των PCB-28 και PCB-52, αυξήθηκαν με την αύξηση του χρόνου δειγματοληψίας και φαίνεται να είναι κοντά στην ισορροπία για χρόνους δειγματοληψίας μεγαλύτερους από 90 λεπτά. Για ατμοσφαιρικές συνθήκες πίεσης οι ουσίες - στόχοι βρίσκονται κοντά στην ισορροπία μετά από δειγματοληψία 120 λεπτών.

Όσον αφορά τις υπόλοιπες ουσίες - στόχους, για τους χρόνους που εξετάστηκαν στα συγκεκριμένα πειράματα, η ισορροπία δεν επιτεύχθηκε ούτε με την δειγματοληψία ατμοσφαιρικής πίεσης, ούτε με την δειγματοληψία υπό μειωμένη πίεση. Για αυτές τις ενώσεις η μετάβαση στην διεπιφάνεια αέρας / υδατικής φάσης ήταν ο λόγος που οδήγησε σε μεγάλους χρόνους ισορροπίας κατά την μέθοδο της HSSPME. Παρ' όλα αυτά, η μειωμένη πίεση βελτίωσε την κινητική της εκχύλισης όπως αποδεικνύεται από τους λόγους κορυφών Vac-HSSPME / HSSPME σε κάθε χρονικό σημείο της δειγματοληψίας [41].



Διάγραμμα 12: Επίδραση χρόνου δειγματοληψίας των PCBs με Vac-HSSPME. Άλλες πειραματικές παράμετροι: 9 mL υδατικού διαλύματος διαλυμένα με 800 ng L<sup>-1</sup>; ταχύτητα ανάδευσης 1000 rpm; θερμοκρασία εκχύλισης 40°C; PDMS-DVB fiber [41].



Διάγραμμα 13: Επίδραση χρόνου δειγματοληψίας των PCBs με HSSPME. Άλλες πειραματικές παράμετροι: 9 mL υδατικού διαλύματος διαλυμένα με 800 ng L<sup>-1</sup>; ταχύτητα ανάδευσης 1000 rpm; θερμοκρασία εκχύλισης 40 °C; PDMS-DVB fiber [41].

## 4. Συμπεράσματα

Σύμφωνα με την εξέταση παλιότερων δημοσιεύσεων, η μέθοδος δειγματοληψίας ενώσεων με χαμηλές τιμές συντελεστή  $K_H$ , όπως είναι οι ουσίες PAHs και κάποια από τα PCBs, από υδατικά διαλύματα με χρήση της τεχνικής μικροεκχύλισης στερεής φάσης κάτω από συνθήκες μειωμένης πίεσης μπορεί να χρησιμοποιηθεί πολύ αποτελεσματικά για την ανάλυση περιβαλλοντικών δειγμάτων. Η τεχνική είναι εύχρηστη, γρήγορη, ικανή να ανιχνεύσει ακόμα και ίχνη οργανικών ρύπων. Με τη χρήση της Vac-HSSPME μειώνεται η ολική πίεση του συστήματος, με αποτέλεσμα να μειώνεται και η αντίσταση που βρίσκουν οι ενώσεις αυτές στην αέρια φάση. Ως επακόλουθο, αυξάνεται η μεταφορά τους από την υδατική στην υπερκείμενη φάση. Αποτέλεσμα αυτού, είναι η μείωση του χρόνου ισορροπίας του συστήματος και κατ' επέκταση της δειγματοληψίας συγκριτικά με την μέθοδο HSSPME. Όμως, η μέθοδος Vac-HSSPME υπερτερεί συγκριτικά με την HSSPME για ρύπους οι οποίοι έχουν χαμηλές τιμές σταθεράς Henry  $K_H$ . Όπως αναφέρθηκε και στην παρούσα διπλωματική εργασία, ουσίες οι οποίες έχουν υψηλές τιμές  $K_H$ , όπως είναι το μείγμα των BTEX, η αποτελεσματικότητα της εκχύλισης είναι ίδια σε συνθήκες ατμοσφαιρικής και συνθήκες μειωμένης πίεσης. Αυτό συμβαίνει καθώς οι ουσίες αυτές από μόνες τους μεταφέρονται σε πολύ μικρό χρονικό διάστημα από την υδατική στην αέρια φάση χωρίς την επίδραση της μειωμένης πίεσης. Επίσης κατά την εφαρμογή της μεθόδου Vac-HSSPME δεν επιφέρει καμία διαφορά στα αποτελέσματα των πειραμάτων αν μειωθεί η πίεση πριν την εισαγωγή του δείγματος στο φιαλίδιο ή αν αφαιρεθεί μετά την εισαγωγή του δείγματος. Αυτό το γεγονός δίνει την επέκταση της χρήσης της μεθόδου Vac-HSSPME για στερεά δείγματα.

## 5. Βιβλιογραφία

- [1] Ν. Παπαδογιάννης. Σύγχρονες διαχωριστικές τεχνικές στην Ενόργανη Χημική Ανάλυση. (Εκδόσεις Πήγασος 2000, Θεσσαλονίκη)
- [2] E. Boyacı, Á. Rodríguez-Lafuente, K.Gorynski, F.Mirnaghi, É. A. Souza-Silva, D. Hein, J. Pawliszyn, Sample preparation with solid phase microextraction and exhaustive extraction approaches: Comparison for challenging cases, *Analytica Chimica Acta*, Volume 873, 2015, Pages 14-30
- [3] M. Zief, R. Kiser, "Solid Phase Extraction for Sample Preparation", J. T. Baker, Phillipsburg, 1988.
- [4] Στράτης Ι., Ζαχαριάδης Γ., Σαμανίδου Β. & Θεοδωρίδης Γ. (2004). Ειδικές Μέθοδοι Διαχωρισμού και Χημικής Ανάλυσης. Εκδόσεις Ζήτη, Θεσσαλονίκη.
- [5] Θ. Π. Χατζηϊωάννου, Μ. Α. Κούπαρη, (Εκδόσεις Πανεπιστημίου Αθηνών, 2000), 'Ενόργανη Ανάλυση', σελ. 377-388
- [6] L. Catherine J. Pawliszyn Solid phase microextraction with thermal (1980)
- [7] H.Lord, J.Pawliszyn, (2000), *J. of Chrom. A*, 885 (review), pp 153-193
- [8] M. A. Jeannot and F. F. Cantwell\* (2001) University of Alberta, Edmonton, Alberta, Canada
- [9] L. A. Berrueta / B. Gallo / F. Vicente, A Review of Solid Phase Extraction: Basic Principles and New Developments, *Chromatographia*. 40 (1995) 474–483
- [10] M.A. Jeannot, F.F. Cantwell, (1997), *Anal. Chem.*, 69, 235-239
- [11] M. Rutkowskaa,\*, J. Płotka-Wasyłkaa, M. Sajidb, V. Andruch Liquid–phase microextraction: A review of reviews
- [12] L. Xu, C. Basheer, H. K. Lee, Developments in single-drop microextraction, *Journal of Chromatography A*, Volume 1152, Issues 1–2, (2007), Pages 184-192
- [13] S. Pedersen-Bjergaard, K.E. Rasmussen, *Anal. Chem.* 71 (1999) 2650.
- [14] G. Audunsson *Anal. Chem.*, 58 (1986), p. 2714
- [15] E. Thordarson, S. Pálmarsdóttir, L. Mathiasson, A. Jönsson *Anal. Chem.*, 68 (1996), p. 2559
- [16] J. Pawliszyn, S. Pedersen-Bjergaard, (2006), *Trends.J. Chromatogr. Sci.*, 44, 291-307.
- [17] J. Lee, H. K. Lee, K. E. Rasmussen, S. Pedersen-Bjergaard, Environmental and bioanalytical applications of hollow fiber membrane liquid-phase

microextraction: A review, *Analytica Chimica Acta*, Volume 624, Issue 2, 2008, Pages 253-268,

[18] J. Pawliszyn, (1997), 'Solid-Phase Microextraction: Theory and Practice', Wiley-VCH, New York

[19] C. Ross, J. Pawliszyn, (2005), Elsevier, 902, 608-616

[20] Sigma Aldrich Analytical Selecting SPME fibers

[21] J. Pawliszyn, S. Pedersen-Bjergaard, (2006), *Trends J. Chromatogr. Sci.*, 44, 291-307

[22] B. Boland A.A., J. Pawliszyn, (1996), *Analytical Chemistry*, 68, 1521-1529

[23] J. Pawliszyn, (2012) *Handbook of Solid Phase Microextraction*

[24] Z. Zhang & J. Pawliszyn, *Anal Chem* 67 (1995) 34

[25] H. Chao; J. Lee; C. Lee; and H. Huang Volatilization Characteristics of Organic Compounds in the Coagulation Process

[26] E. Psillakis, A. Ntelekos, D. Matzavinos, E. Nikolopoulos and N. Kalogerakis, (2003), *J. Environ. Monit.*, 5, 135-140

[27] Χ. Μπούκη, 2008. ΠΡΟΣΡΟΦΗΣΗ ΕΝΕΥΛΟΔΑΙΝΟΛΗΣ ΣΕ ΒΙΟΜΑΖΑ ΕΝΕΡΓΟΥ ΙΛΥΟΣ.

[28] R. Eisert, J. Pawliszyn, (1997), *J. Chrom. A*, 776, 293-303

[29] ] H. Liu, P.K. Dasgupta, (1996), *Anal. Chem.*, 68, 1817-1821

[30] E. Psillakis, Vacuum-assisted headspace solid-phase microextraction: A tutorial review, *Analytica Chimica Acta*, 2017

[31] The BTX Chain: Benzene, Toluene, Xylene. Chapter 4 of the DOE's Office of Energy Efficiency and Renewable Energy (EERE) report entitled 'Energy and Environmental Profile of the U.S. Chemical Industry' of May 2000. Archived 2012-09-04 at the Wayback Mac."

[32] A.H. Walker, Chapter 1 - Oil Spills and Risk Perceptions, Mervin Fingas (Gulf Professional Publishing 2017, Pages 1-70)

[33] Use of Process Analytics in Aromatics (BTX and phenol) production plants [permanent dead link]. Case Study, August 2008. (scroll down to 'Aromatics' section.

[34] Benzene/Toluene Archived 2011-08-31 at the Wayback Machine. Introduction to a ChemSystems report, 2009.

[35] C. Robert Weast (Editor) (1975). *Handbook of Chemistry and Physics* (56th ed.). CRC Press. ISBN 0-87819-455-X."

- [36] J. W. Weaver, Linda R. Exum, Lourdes M. Prieto: Gasoline Composition Regulations Affecting LUST Sites. (PDF; 1,1 MB) Veröffentlichung der EPA, Januar 2010, S. 18.
- [37] H.Z. Streicher, P.A. Gabow, A.H. Moss, D. Kono, Kaehny WD (1981). «Syndromes of toluene sniffing in adults». Ann. Intern. Med. 94 (6): 758–62. PMID 7235417.
- [38] Staff (March 2001). «Petrochemical Processes 2001». Hydrocarbon Processing: pp. 71–246. ISSN 0887-0284.
- [39] E. Psillakis, E. Yiantzi, N. Kalogerakis, Downsizing vacuum-assisted headspace solid phase microextraction, Journal of Chromatography A, 2013,
- [40] Α.Μουσουράκη, Χανιά (2012). Διερεύνηση παραμέτρων που επηρεάζουν τη μικροεκχύλιση στερεάς φάσης υπό συνθήκες κενού “Vac-HSSPME”.
- [41] E.Yiantzi, N. Kalogerakis, E. Psillakis, Design and testing of a new sampler for simplified vacuum-assisted headspace solid-phase microextraction, Analytica Chimica Acta, Volume 927, 2016.
- [42] E. Psillakis, Α.Μουσούρακη, E. Yiantzi, N. Kalogerakis, Effect of Henry's law constant and operating parameters on vacuum-assisted headspace solid phase microextraction, Journal of Chromatography A, Volume 1244, (2012)
- [43] C. L. Arthur, L. M. Killam, S. Motlagh, M. Lim, D. W. Potter, and J.Pawliszyn Environmental Science & Technology 1992 26 (5), 979-983 DOI: 10.1021/es00029a017
- [44] Z. Zhang and J. Pawliszyn, (1993), Anal. Chem., 65, 1843-1852
-