

---

# Η ΦΩΤΟΛΥΤΙΚΗ ΤΥΧΗ ΤΗΣ ΝΙΚΟΤΙΝΗΣ ΣΕ ΕΚΠΛΥΜΑΤΑ ΑΠΟ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΜΕΝΑ ΚΑΙ ΑΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΤΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΚΑΠΝΟΥ



Χανιά, Νοέμβριος 2020

εκπόνηση:

Μαρία Σωτηροπούλου

επιβλέπουσα καθηγήτρια:

Ελευθερία Ψυλλάκη

τριμελής επιτροπή:

Ελευθερία Ψυλλάκη

Νικόλαος Καλογεράκης

Δανάη Βενιέρη

## Ευχαριστίες

Η παρούσα διπλωματική εργασία πραγματοποιήθηκε στο πλαίσιο του προγράμματος προπτυχιακών σπουδών της Σχολής Μηχανικών Περιβάλλοντος του Πολυτεχνείου Κρήτης και τα πειράματα διεξήχθησαν στο εργαστήριο Υδατικής Χημείας.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω την επιβλέπουσα καθηγήτρια μου κυρία Ελευθερία Ψυλλάκη που μου ανέθεσε το συγκεκριμένο θέμα και για την καθοδήγησή της καθ' όλη τη διάρκεια της εργασίας . Ακόμη θα ήθελα να ευχαριστήσω τα μέλη της εξεταστικής μου επιτροπής, τον κύριο Νικόλαο Καλογεράκη και τη κυρία Δανάη Βενιέρη για τον χρόνο που διέθεσαν . Ένα μεγάλο ευχαριστώ οφείλω στην Ελίνα Γιαντζή και Νικολέτα Σολωμού για την πολύτιμη βοήθεια τους κατά τη διάρκεια εκπόνησης των πειραμάτων.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τους φίλους μου που στάθηκαν δίπλα μου σε αυτό το πανέμορφο ταξίδι των φοιτητικών χρόνων. Τέλος το μεγαλύτερο ευχαριστώ το οφείλω στους γονείς μου, Γωγώ και Χρήστο, που με βοήθησαν να πετύχω τους στόχους, με στήριξαν οικονομικά και ψυχολογικά όλα αυτά τα χρόνια και ήταν πάντα δίπλα μου.

Στον ξάδερφο μου, Πάνο.



## Περίληψη

Η νικοτίνη είναι ένα ιδιαίτερα τοξικό αλκαλοειδές το οποίο απαντάται στα φύλλα καπνού και στην οικογένεια των σολανιδών φυτών. Καθώς πρόκειται για συστατικό του καπνού, η νικοτίνη καταναλώνεται ευρέως σε καθημερινή βάση από ένα μεγάλο μέρος του παγκόσμιου πληθυσμού μέσω του καπνίσματος. Σαν αποτέλεσμα αυτού, τα αποτσίγαρα αποτελούν ένα από τα πιο κοινά απορρίμματα σε αστικές και παράκτιες περιοχές. Η έκπλυση των αποτσίγαρων στα φυσικά ύδατα ή ακόμη και τα στάσιμα νερά, καθώς επίσης και οι ανθρώπινες απεκκρίσεις αποτελούν τις κυριότερες πηγές νικοτίνης στο περιβάλλον. Ως εκ τούτου η νικοτίνη αποτελεί έναν αναδυόμενο οργανικό ρύπο ο οποίος ανιχνεύεται ευρέως στο υδάτινο οικοσύστημα. Η παρούσα διπλωματική εργασία εξετάζει την φωτολυτική τύχη της εν λόγω ουσίας σε διαλύματα νικοτίνης καθώς και σε εκπλύματα συμβατικών τσιγάρων (CCs) και των νέων προϊόντων καπνού heat-not-burn (HnBs). Αρχικά μελετήθηκε η επίδραση της ακτινοβολίας  $UV_{254}$  στην αποδόμηση της νικοτίνης σε υπερκάθαρο νερό. Η αντίδραση βρέθηκε να ακολουθεί κινητική ψευδο-πρώτης τάξης στις χαμηλότερες συγκεντρώσεις που μελετήθηκαν και φάνηκε στις υψηλότερες συγκεντρώσεις να τείνει σε κινητική μηδενικής τάξης, φαινόμενο το οποίο αποδίδεται στον κορεσμό απορρόφησης της ακτινοβολίας από την νικοτίνη. Κατόπιν ταυτοποιήθηκαν τα παραπροϊόντα που προέκυψαν από τη φωτόλυση της νικοτίνης, με τη βοήθεια της υγρής και αέριας χρωματογραφίας σε συνδυασμό με φασματομετρία μάζας. Η κινητική της φωτοαποδόμησης φάνηκε να εξαρτάται από το pH του δείγματος και συγκεκριμένα πιο γρήγορη αποδόμηση καταγράφηκε όταν η μονοπρωτονιωμένη μορφή της νικοτίνης είναι επικρατέστερη, δηλαδή για τιμές pH από 4 έως 8. Εκπλύματα από χρησιμοποιημένα και αχρησιμοποίητα προϊόντα καπνού υποβλήθηκαν σε ακτινοβολία  $UV_{254}$  και βρέθηκε ότι η φωτοαποδόμηση της νικοτίνης στα εκπλύματα πραγματοποιήθηκε με λίγο πιο αργή κινητική, παρά την πολυπλοκότητα της μήτρας, συγκριτικά με το διάλυμα υπερκάθαρου νερού. Τέλος εκπλύματα χρησιμοποιημένων προϊόντων καπνού υποβλήθηκαν σε συνθήκες προσομοίωσης της ηλιακής ακτινοβολίας για 260 λεπτά. Τα αποτελέσματα των πειραμάτων αυτών επιβεβαιώνουν την σημασία της έμμεσης φωτόλυσης υπό την επίδραση ηλιακής ακτινοβολίας σε πιο περίπλοκη μήτρα. Η έρευνα αυτή στοχεύει να υπογραμμίσει τη σημασία της υπεύθυνης διάθεσης των απορριμμάτων καπνού προκειμένου να προληφθεί η έκπλυση της νικοτίνης στα φυσικά ύδατα και κατ' επέκταση οι αρνητικές της επιδράσεις στο περιβάλλον.

## Abstract

Nicotine is an emerging contaminant widely detected in the aquatic environment. The main sources of nicotine are human excretions and leaching from discarded tobacco product waste. To this end, cigarette butts are the most commonly littered item in urban areas, coasts and shorelines. In this study, the fate of nicotine in natural water and leachates produced from conventional cigarettes (CCs) and the new generation heat-not-burn (HnBs) tobacco products is examined. The effect of  $UV_{254}$  irradiation on nicotine depletion in ultrapure water was initially studied. The reaction was pseudo first-order with respect to nicotine concentration at low concentrations and shifted to lower order at higher concentrations, an effect associated to absorption saturation. The chemical structures of transformation intermediates were derived by means of liquid and gas chromatography coupled to mass spectrometry. The photodegradation kinetics was found to depend on pH and faster kinetics were recorded when the monoprotonated form of nicotine was dominant (pH=5-8). Leachates from used HnBs and smoked CCs were also submitted to  $UV_{254}$  irradiation and direct photolysis was found to proceed in only slightly slower kinetics despite the complexity of these matrices. Tobacco product waste leachates were also submitted to simulated solar irradiation and the conversion of nicotine was monitored for 260 min. These experiments confirmed the importance of indirect photolysis under sunlit conditions even in highly complex matrices. We take advantage of these investigations and report the leaching behavior of nicotine from HnBs and CCs. These studies highlight the importance of safely disposing tobacco product waste after operation to prevent nicotine leaching.

## Περιεχόμενα

Περίληψη .....	2
Abstract .....	3
Περιεχόμενα.....	4
Πίνακας Εικόνων.....	5
Κατάλογος πινάκων .....	6
Κατάλογος γραφημάτων .....	7
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....</b>	<b>8</b>
1.1 Νικοτίνη .....	8
1.1.1 Ορισμός και φυσικοχημικές ιδιότητες.....	8
1.1.2 Επιπτώσεις νικοτίνης στον ανθρώπινο οργανισμό .....	9
1.1.3 Εισαγωγή νικοτίνης στο υδάτινο περιβάλλον και επιπτώσεις.....	10
1.2 Τρόποι Καπνίσματος .....	11
1.2.1 Συστήματα θέρμανσης καπνού IQOS.....	13
1.3 Υπεριώδης ακτινοβολία UV-C .....	15
1.4 Φωτόλυση.....	16
1.5 Ανάλυση δειγμάτων με χρωματογραφικές μεθόδους.....	17
1.5.1 Υγρή χρωματογραφία υψηλής πίεσης (HPLC) .....	18
1.5.2 Αέρια χρωματογραφία (GC) .....	19
1.6 Φασματομετρία μάζας.....	20
1.7 Εκχύλιση.....	22
1.7.1 HiSorb Sorptive Extraction .....	22
1.8 Σκοπός της παρούσας έρευνας.....	23
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ .....</b>	<b>24</b>
2.1 Αντιδραστήρια και όργανα.....	24
2.1.1 Μηχανή καπνίσματος .....	25
2.2 Παρασκευή διαλυμάτων .....	26
2.2.1 Παρασκευή δειγμάτων για ανάλυση .....	26
2.2.2 Παρασκευή υδατικών εκπλυμάτων από προϊόντα καπνού (leaching).....	26

2.3 Περιγραφή πειραμάτων φωτόλυσης UV .....	28
2.4 Περιγραφή μεθόδου ανάλυσης LC-MS .....	29
2.5 Περιγραφή εκχύλισης νικοτίνης από τα εκπλύματα των προϊόντων καπνού .....	30
2.6 Περιγραφή μεθόδου ανάλυσης GC-MS ION TRAP .....	31
2.7 Περιγραφή μεθόδου φωτοδιάσπασης με τον προσομοιωτή ηλιακής ακτινοβολίας SUNTEST CPS+.....	32
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ .....</b>	<b>33</b>
3.1 Φωτόλυση νικοτίνης σε υπερκάθαρο νερό και η επίδραση της συγκέντρωσης...33	
3.2 Επίδραση του pH στην άμεση φωτόλυση της νικοτίνης.....	37
3.3 Φωτόλυση νικοτίνης σε εκπλύματα από προϊόντα καπνού .....	40
3.4 Παραπροϊόντα φωτόλυσης νικοτίνης.....	43
3.5 Φωτόλυση νικοτίνης με προσομοιωτή ηλιακής ακτινοβολίας σε εκπλύματα χρησιμοποιημένων προϊόντων καπνού .....	45
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....</b>	<b>48</b>
<b>ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....</b>	<b>49</b>

### Πίνακας Εικόνων

<b>Εικόνα 1:</b> Χημικός τύπος νικοτίνης .....	8
<b>Εικόνα 2:</b> Εισαγωγή νικοτίνης στο περιβάλλον.....	11
<b>Εικόνα 3:</b> Διαφορετικά είδη ηλεκτρονικών τσιγάρων.....	12
<b>Εικόνα 4:</b> Σύστημα θέρμανσης καπνού IQOS .....	13
<b>Εικόνα 5:</b> Διατομή tobacco-stick.....	14
<b>Εικόνα 6:</b> Ultraviolet Spectra .....	15
<b>Εικόνα 7:</b> HPLC System .....	19
<b>Εικόνα 8:</b> Σχηματική απεικόνιση της μεθόδου ανάλυσης GC-MS .....	21
<b>Εικόνα 9 :</b> Μηχανή Καπνίσματος .....	25
<b>Εικόνα 10 :</b> Διαδικασία διήθησης δειγμάτων ύστερα από την ανάδευση τους με συσκευή διήθησης κενού.....	27

<b>Εικόνα 11:</b> HiSorb Agitator .....	30
<b>Εικόνα 12:</b> HiSorb φιαλίδιο με septum .....	31
<b>Εικόνα 13:</b> Προσομοιωτής ηλιακής ακτινοβολίας SUNTEST CPS+(20).....	32
<b>Εικόνα 14:</b> Μετασχηματισμός νικοτίνης με βάση τα παραπροϊόντα που ανιχνεύθηκαν ...	44

### Κατάλογος πινάκων

<b>Πίνακας 1:</b> Φυσικοχημικές ιδιότητες νικοτίνης [1,3-5] .....	9
<b>Πίνακας 2:</b> Συγκεντρωτικός πίνακας με τις ρυθμίσεις της μηχανής καπνίσματος για κάθε ένα πρωτόκολλο .....	26
<b>Πίνακας 3:</b> Αναλογίες για τη δημιουργία εκπλυμάτων από τα προϊόντα καπνού.....	27
<b>Πίνακας 4:</b> Αναλογίες για την αραίωση των εκπλυμάτων προς δημιουργία υδατικών διαλυμάτων 10ppm. ....	28
<b>Πίνακας 5:</b> Συνθήκες φωτόλυσης στον προσομοιωτή ηλιακής ακτινοβολίας .....	32
<b>Πίνακας 6:</b> Σταθερές κινητικής $k$ – Συντελεστές $R^2$ - Χρόνοι Ημιζωής (επίδραση συγκέντρωσης) .....	35
<b>Πίνακας 7:</b> Σταθερές κινητικής $k$ - Συντελεστές $R^2$ - Χρόνοι ημιζωής (επίδραση του pH) .	39
<b>Πίνακας 8:</b> Σταθερές κινητικής $k$ –Συντελεστές $R^2$ - Χρόνοι Ημιζωής (εκπλύματα από προϊόντα καπνού) .....	42
<b>Πίνακας 9:</b> Παραπροϊόντα φωτοαποδόμησης της νικοτίνης, χρόνοι κατακράτησης και προϊόντα ταυτοποίησης .....	44
<b>Πίνακας 10:</b> Σταθερές κινητικής $k$ –Συντελεστές $R^2$ - Χρόνοι Ημιζωής (έμμεση φωτόλυση) .....	46

## Κατάλογος γραφημάτων

<b>Γράφημα 1:</b> Επίδραση της συγκέντρωσης στην άμεση φωτόλυση της νικοτίνης σε υδατική μήτρα υπερκάθαρου νερού. ....	33
<b>Γράφημα 2:</b> Κινητική ψευδό-πρώτης τάξης φωτόλυσης της νικοτίνης σε υπερκάθαρο νερό. ....	35
<b>Γράφημα 3:</b> Γραφική αναπαράσταση των τιμών $k$ όπως μεταβάλλονται για τις διαφορετικές συγκεντρώσεις. ....	35
<b>Γράφημα 4:</b> Ρυθμός αποδόμησης αρχικής συγκέντρωσης νικοτίνης συναρτήσει της συγκέντρωσης. ....	36
<b>Γράφημα 5:</b> Επίδραση του pH στην άμεση φωτόλυση διαλυμάτων νικοτίνης συγκέντρωσης 10ppm.....	37
<b>Γράφημα 6:</b> Κινητική ψευδό-πρώτης τάξης της φωτόλυσης του υδατικού διαλύματος νικοτίνης συγκέντρωσης 10ppm σε διαφορετικές τιμές pH .....	38
<b>Γράφημα 7:</b> Γραφική αναπαράσταση των τιμών $k$ όπως μεταβάλλονται για τις διαφορετικές τιμές pH .....	39
<b>Γράφημα 8:</b> Φωτόλυση εκπλυμάτων συγκέντρωσης 10ppm από αχρησιμοποίητα προϊόντα καπνού. ....	40
<b>Γράφημα 9:</b> Φωτόλυση εκπλυμάτων συγκέντρωσης 10ppm από χρησιμοποιημένα προϊόντα καπνού. ....	41
<b>Γράφημα 10:</b> Κινητική ψευδό -πρώτης τάξης της φωτόλυσης των εκπλυμάτων από αχρησιμοποίητα προϊόντα καπνού συγκέντρωσης 10ppm .....	41
<b>Γράφημα 11:</b> Κινητική ψευδό -πρώτης τάξης της φωτόλυσης των εκπλυμάτων από χρησιμοποιημένα προϊόντα καπνού συγκέντρωσης 10ppm. ....	42
<b>Γράφημα 12:</b> Έμμεση φωτόλυση νικοτίνης υπό την επίδραση προσομοιωμένης ηλιακής ακτινοβολίας. ....	45
<b>Γράφημα 13:</b> Κινητική ψευδό-πρώτης τάξης έμμεσης φωτόλυσης της νικοτίνης υπό την επίδραση προσομοιωμένης ηλιακής ακτινοβολίας. ....	46



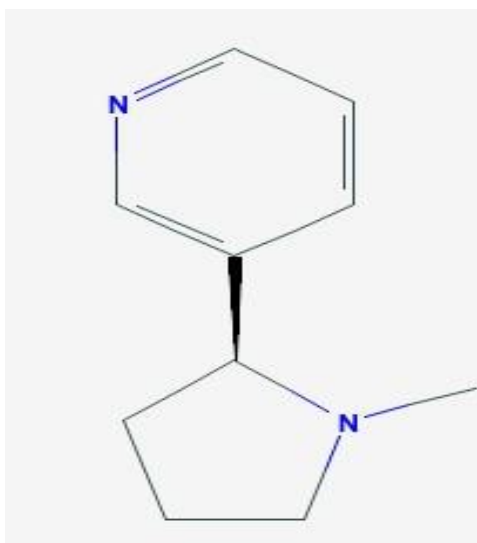
## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΕΙΣΑΓΩΓΗ

### 1.1 Νικοτίνη

#### 1.1.1 Ορισμός και φυσικοχημικές ιδιότητες

Η νικοτίνη είναι ένα φυσικό αλκαλοειδές συστατικό το οποίο βρίσκεται σε μεγάλες ποσότητες στα φύλλα καπνού (*Nicotiana tabacum*) και υπάγεται στην κατηγορία των σολανιδών όπου ανήκουν φυτά όπως η μελιτζάνα, η πατάτα, η τομάτα και η πιπεριά. Η περιεκτικότητα των φύλλων καπνού σε νικοτίνη κυμαίνεται από 0.5 - 8% [1,2].

Το μόριο της νικοτίνης αποτελείται από δύο ετεροκυκλικούς δακτυλίους ενωμένους με έναν δεσμό άνθρακα-άνθρακα, έναν αρωματικό εξαμελή δακτύλιο πυριδίνης και έναν κορεσμένο πενταμελή δακτύλιο πυρρολιδίνης, ο οποίος έχει επιπλέον ένα μεθύλιο ως υποκαταστάτη στο άτομο αζώτου. Ως αζωτούχα βάση σχηματίζει άλατα κατά την αντίδρασή της με οξέα, τα οποία είναι διαλυτά στο νερό και αρκετά από αυτά χαρακτηρίζονται από υψηλή τοξικότητα. Στον καπνό απαντάται ως άλας με διάφορα οξέα όπως το κιτρικό και το μηλικό οξύ. Ο μοριακός της τύπος είναι  $C_{10}H_{14}N_2$  και έχει ονομασία 3-(1-μεθυλο-2-πυρρολιδινυλο) πυριδίνη. Στην Εικόνα 1 φαίνεται ο χημικός τύπος της νικοτίνης [2].



Εικόνα 1: Χημικός τύπος νικοτίνης

Στην καθαρή της μορφή η νικοτίνη είναι υγρή, άχρωμη έως ελαφρά κίτρινη και ελαιώδης. Κατά την έκθεσή της στον αέρα ή το φως το χρώμα της μετατρέπεται σταδιακά σε καστανό. Έχει καυστική και πικρή γεύση και είναι σχεδόν άοσμη ενώ όταν θερμανθεί αποκτά πυριδινική οσμή (οσμή που θυμίζει ψάρι) [1,2]. Είναι διαλυτή στο νερό σε κάθε αναλογία καθώς και σε συνήθεις οργανικούς διαλύτες όπως η αιθανόλη, το χλωροφόρμιο, ο

διαθυλεθέρας και άλλοι. Η μέση θανατηφόρος δόση που έχει βρεθεί ύστερα από πειράματα σε ποντίκια είναι 0,3 mg/kg (ενδοφλεβίως) [1] .

*Πίνακας 1: Φυσικοχημικές ιδιότητες νικοτίνης [1,3-5]*

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΝΙΚΟΤΙΝΗΣ	
<b>ΜΟΡΙΑΚΟΣ ΤΥΠΟΣ</b>	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub>
<b>ΜΟΡΙΑΚΟ ΒΑΡΟΣ (g/mol)</b>	162,23
<b>ΣΗΜΕΙΟ ΒΡΑΣΜΟΥ (°C)</b>	247
<b>ΣΗΜΕΙΟ ΤΗΞΗΣ (°C)</b>	-79
<b>ΣΗΜΕΙΟ ΑΝΑΦΛΕΞΗΣ (°C)</b>	111
<b>ΠΥΚΝΟΤΗΤΑ (g/mL)</b>	1,01
<b>pK<sub>a1</sub></b>	3,37
<b>pK<sub>a2</sub></b>	8,07

### **1.1.2 Επιπτώσεις νικοτίνης στον ανθρώπινο οργανισμό**

Η επιβλαβής επίδραση του καπνίσματος είναι γνωστή και αποτελεί σημαντικό ζήτημα δημόσιας υγείας. Το κάπνισμα των τσιγάρων σκοτώνει έξι εκατομμύρια ανθρώπους (6.000.000) ετησίως και προβλέπεται ο αριθμός να αυξηθεί στα οκτώ εκατομμύρια (8.000.000) κατά το έτος 2030 ,έχοντας συνολικά πάνω από ένα δισεκατομμύριο θανάτους τον αιώνα αυτό [6].

Τα αποτοσίγαρα περιέχουν ένα μίγμα ουσιών με τοξικές επιδράσεις στους οργανισμούς με πιο αξιοσημείωτα τα βαρέα μέταλλα, τις πολυκυκλικές αρωματικές ενώσεις ,την αιθυλφαινόλη και τη νικοτίνη. Οι τοξικολογικές επιδράσεις της νικοτίνης στην ανθρώπινη υγεία έχουν μελετηθεί εκτενώς. Η νικοτίνη απορροφάται εύκολα από το δέρμα, τους πνεύμονες, το λεπτό έντερο και την ουροδόχο κύστη. Περνά με ευκολία κατά την εγκυμοσύνη μέσω του πλακούντα στο έμβρυο προκαλώντας γονοτοξικές και τερατογόνες επιδράσεις [7]. Έχει επίσης συσχετιστεί με το 25% των ισχαιμικών καρδιακών παθήσεων και δρα στο κεντρικό νευρικό σύστημα. Η εισπνοή των προϊόντων καπνού, άμεση ή και έμμεση, σχετίζεται με διάφορους τύπους καρκίνου όπως αυτού των πνευμόνων αποτελώντας το 90% των περιπτώσεων, του λάρυγγα, του οισοφάγου, των νεφρών, του στομάχου, του παγκρέατος, του τραχήλου, της ουροδόχου κύστης. Έχει συνδεθεί με το 75% των περιπτώσεων της χρόνιας βρογχίτιδας και του εμφυσήματος καθώς και με άλλες παθήσεις όπως τύφλωση, ανεύρυσμα αορτής, καταρράκτης, στεφανιαία νόσος, χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια (COPD), άσθμα και αθηροσκλήρωση [8].

### 1.1.3 Εισαγωγή νικοτίνης στο υδάτινο περιβάλλον και επιπτώσεις

Η εκτεταμένη χρήση των προϊόντων καπνού ευθύνεται για τα μολυσμένα από νικοτίνη υδάτινα οικοσυστήματα και επιφανειακά νερά. Οι καπνιστές αποτελούν βασική δίοδο για την εισαγωγή της νικοτίνης στο περιβάλλον. Μετά την κατανάλωσή της, η νικοτίνη, μεταβολίζεται στο ήπαρ από οξειδωτικούς ενζυμικούς μηχανισμούς και κατόπιν απεκκρίνεται μέσω της ούρησης, ως ένα πολύπλοκο μίγμα της ένωσης μαζί με τους μεταβολίτες της, καταλήγοντας στο σύστημα αποχέτευσης [39,19]. Έτσι στο πλαίσιο αυτό η νικοτίνη ανιχνεύεται συχνά στα αστικά λύματα σε συγκεντρώσεις της τάξης του  $\mu\text{g/L}$  και αποτελεί ανθρωπογενή δείκτη για τη μόλυνση των οικιακών λυμάτων [39]. Εκτός των λυμάτων, σημαντική πηγή μόλυνσης από νικοτίνη αποτελεί η έκπλυσή της από τον καπνό των αποτοσίγαρων. Το 76% των τσιγάρων που καπνίζονται σε δημόσιους χώρους απορρίπτονται στο δρόμο παρά σε κατάλληλους κάδους με αποτέλεσμα να μεταφέρονται με τα αστικά ύδατα σε άλλα οικοσυστήματα όπως οι παράκτιες περιοχές [7]. Κατά την επαφή του αποτοσίγαρου με το νερό η νικοτίνη μεταφέρεται γρήγορα σε αυτό ακολουθώντας μια κινητική πρώτης τάξης. Η νικοτίνη που απελευθερώνεται αυξάνεται ανάλογα με την εναπομείνουσα ποσότητα καπνού που έχει το εκάστοτε αποτοσίγαρο. Σύμφωνα με έρευνα ένα αποτοσίγαρο μπορεί να μολύνει έως και 1000L νερού (Εικόνα 2) [7].

Οι αρνητικές επιπτώσεις της νικοτίνης στο υδάτινο περιβάλλον είναι πολλές και έχουν εξεταστεί εκτενώς. Πιο αναλυτικά στους υδρόβιους οργανισμούς και συγκεκριμένα στα οστρακόδερμα, μελέτες έχουν δείξει ότι η νικοτίνη επιδρά επιβραδυντικά στην ανάπτυξή τους [6]. Ακόμη η έκθεση πλανάριων σε νικοτίνη προκαλεί ανεπιθύμητες παρενέργειες συμπεριλαμβανομένης της μειωμένης κινητικότητάς τους [21]. Η εν λόγω ουσία είναι υπεύθυνη και για την πρόκληση ηπατικών βλαβών σε ψάρια. Ουσίες προερχόμενες από τα εκπλύματα των τσιγάρων συμπεριλαμβανομένης φυσικά και της νικοτίνης είναι υπεύθυνες για τα ιδιαίτερα υψηλά ποσοστά θνησιμότητας τόσο στα αμφίβια όσο και στα ψάρια [22].

Πέρα από τις επιπτώσεις στους υδρόβιους οργανισμούς πολλές είναι οι περιπτώσεις της ρύπανσης υδάτινων οικοσυστημάτων από νικοτίνη. Στην Ελβετία, 10 μονάδες επεξεργασίας νερού και 8 λίμνες αποδείχθηκαν μολυσμένες. Συγκεκριμένα η νικοτίνη θεωρείται μία από τις πιο σημαντικές φαρμακευτικές ουσίες με τοξικές και οικοτοξικές επιδράσεις που βρίσκονται στις μονάδες επεξεργασίας λυμάτων. Ποσότητες νικοτίνης έχουν βρεθεί σε νερό βρύσης με συγκέντρωση που φτάνει έως και το  $1,0 \times 10^{-4} \text{ mg/L}$ ,

καθώς επίσης και σε εμφιαλωμένο μεταλλικό νερό το οποίο αν και λαμβάνεται από υδροφορείς μακριά από ανθρωπογενείς περιοχές ή καλλιέργειες καπνού φτάνει τις συγκεντρώσεις των  $1,5 \times 10^{-5}$  mg/L [7]. Αυτό αποτελεί απόδειξη πως η νικοτίνη καθώς και οι λοιποί ρύποι που προέρχονται από την έκπλυση των προϊόντων καπνού μπορούν να εισέλθουν μέσω της τροφικής αλυσίδας στους υδρόβιους οργανισμούς και συνεπώς λόγω βιοσυσώρευσης να επεκταθούν και στον ανθρώπινο οργανισμό [23].



*Εικόνα 2: Εισαγωγή νικοτίνης στο περιβάλλον*

## 1.2 Τρόποι Καπνίσματος

Κατά την καύση ενός συμβατικού τσιγάρου παράγεται καπνός ο οποίος αποτελεί ένα μίγμα χημικών ουσιών στο οποίο περιέχονται πάνω από 8000 αναγνωρισμένες ενώσεις. Η θερμοκρασία φτάνει έως και τους  $900^{\circ}\text{C}$  δημιουργώντας έτσι επιβλαβείς και δυνητικά επιβλαβείς ουσίες (HPHCs: Harmful and Potentially Harmful Constituents) για τον ανθρώπινο οργανισμό καθώς και για το περιβάλλον [9].

Προκειμένου να μειωθούν οι αρνητικές συνέπειες του καπνίσματος γίνονται προσπάθειες με σκοπό την αντικατάσταση των συμβατικών τσιγάρων από εναλλακτικούς τρόπους καπνίσματος με μικρότερο κίνδυνο για την ανθρώπινη υγεία. Μία από τις πιο διαδεδομένες εναλλακτικές μεθόδους καπνίσματος αποτελεί το ηλεκτρονικό τσιγάρο (e-cigs) (Εικόνα 3). Πρόκειται για ένα ηλεκτρονικό σύστημα παράδοσης νικοτίνης (Electronic Nicotine Delivery System, ENDS) το οποίο είναι ένα μη καύσιμο προϊόν καπνού. Το ηλεκτρονικό τσιγάρο χρησιμοποιεί ένα υγρό το οποίο περιέχει νικοτίνη,

προπυλενογλυκόλη, φυτική γλυκερίνη και άλλες ουσίες οι οποίες θερμαίνονται για την παραγωγή ενός εισπνεόμενου αερολύματος [10].

Μια άλλη εναλλακτική μέθοδος, είναι αυτή της θέρμανσης του καπνού και όχι της καύσης του σε θερμοκρασίες μικρότερες από αυτές που φτάνει η καύση ενός συμβατικού τσιγάρου. Η διαδικασία αυτή ονομάστηκε <<heat not burn>> και οι συσκευές της μεθόδου αυτής ηλεκτρικά θερμαινόμενα συστήματα καπνίσματος (Heated Cigarette Smoking System). Αργότερα ο όρος εξελίχθηκε και καθιερώθηκε σε συστήματα θέρμανσης καπνού (Tobacco Heating System, THS) [12]. Το αερόλυμα στην συγκεκριμένη μέθοδο παράγεται με απόσταξη νικοτίνης και γεύσεων σε θερμοκρασίες έως 350 °C. Με την ελεγχόμενη θέρμανση επιτυγχάνεται η αποφυγή της πυρόλυσης και της καύσης, διεργασίες οι οποίες λαμβάνουν χώρα κατά τον συμβατικό τρόπο καπνίσματος [11].

Τα συστήματα θέρμανσης καπνού είναι πολύ διαδεδομένα και υπάρχει ήδη μεγάλη γκάμα συσκευών, των οποίων οι διαφορές εντοπίζονται στην αρχή της λειτουργίας του καθενός. Τέτοιες συσκευές είναι :

- Τα IQOS από τη Philip Morris International,
- Τα 3T από τη Vapour Tobacco Manufacturing,
- Τα Glo από τη British American Tobacco,
- Τα Ploom Tech από τη Japan Tobacco και άλλα [11].

Στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκε το σύστημα θέρμανσης καπνού IQOS .



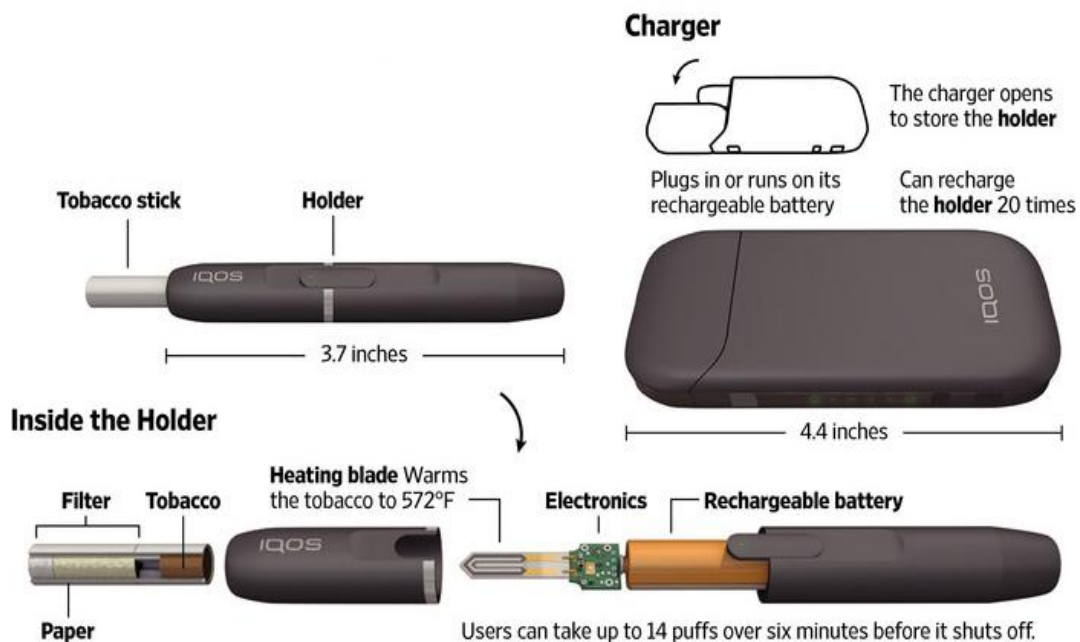
*Εικόνα 3: Διαφορετικά είδη ηλεκτρονικών τσιγάρων*



### 1.2.1 Συστήματα θέρμανσης καπνού IQOS

Η εταιρεία Phillip Morris International αναπτύσσει ένα νέο προϊόν καπνού στην κατηγορία των συστημάτων θέρμανσης καπνού με το όνομα IQOS(I quit ordinary smoking). Το συγκεκριμένο σύστημα αποτελείται από τρία διαφορετικά εξαρτήματα: i) την ράβδο καπνού (tobacco stick) η οποία περιέχει επεξεργασμένο καπνό ,ii) τη θήκη, μέσα στην οποία εισάγεται η ράβδος καπνού και στην οποία θερμαίνεται το προϊόν καπνού με τη βοήθεια μιας ειδικής λεπίδας θέρμανσης και iii) έναν φορτιστή που χρησιμοποιείται για την επαναφόρτιση της συσκευής έπειτα από κάθε χρήση(Εικόνα 4) [13].

Προκειμένου να γίνει χρήση του συστήματος IQOS, ο χρήστης τοποθετεί τη ράβδο καπνού στη θήκη και ενεργοποιεί την συσκευή μέσω ενός διακόπτη. Με την ειδική λεπίδα θέρμανσης που διαθέτει το σύστημα, αρχίζει η θέρμανση του καπνού. Η ειδική τεχνολογία του συστήματος σε συνδυασμό με τον επεξεργασμένο καπνό δεν επιτρέπει την ανάφλεξη ούτε την καύση του. Η παροχή ενέργειας στη λεπίδα διαρκεί συγκεκριμένη περίοδο-περίπου 6 λεπτά, επιτρέπει τη λήψη έως και 14 αναπνοών και διακόπτεται εάν η θερμοκρασία ξεπεράσει τους 350°C [9].



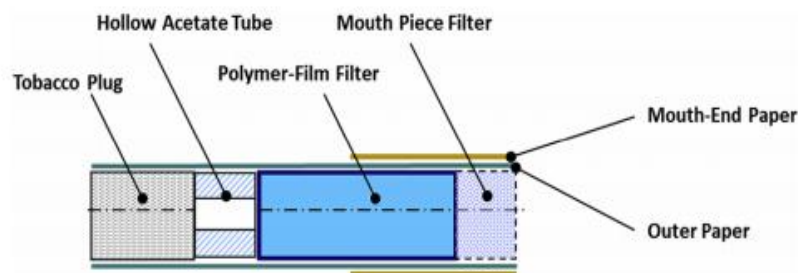
*Εικόνα 4: Σύστημα θέρμανσης καπνού IQOS*

Βασική διαφορά των IQOS από τα συμβατικά τσιγάρα όπως αναφέρθηκε και παραπάνω είναι η θέρμανση και όχι η καύση του καπνού. Όταν ένα τσιγάρο ανάβει, το καύσιμο (καπνός) σε συνδυασμό με το οξυγόνο που υπάρχει στην ατμόσφαιρα δημιουργεί μια διαδικασία καύσης η οποία μπορεί να φτάσει την θερμοκρασία των 900°C κατά τη

διάρκεια μιας εισπνοής από τον καπνιστή [14]. Η καύση αυτή οδηγεί στη δημιουργία τέφρας και καπνού ο οποίος εκτιμάται πως περιέχει περισσότερες από 8000 επιβλαβείς χημικές ενώσεις [9]. Αντίθετα η συσκευή IQOS θερμαίνει τον καπνό στους 300 °C ,έτσι αποτρέπεται η διεργασία της καύσης, το tobacco stick παραμένει ακέραιο και δεν καταναλώνεται προς τον σχηματισμό τέφρας. Συνεπώς οι ποσότητες των επιβλαβών χημικών ουσιών στον καπνό που παράγεται είναι πολύ χαμηλότερες. Πιο συγκεκριμένα οι αποδόσεις καρβονυλίων, αρωματικών ενώσεων και αμινών (εκτός της νικοτίνης) είναι κατά μία με δύο τάξεις μεγέθους χαμηλότερες συγκριτικά με αυτές των συμβατικών τσιγάρων. Ακόμη σύμφωνα με μελέτες, (M. Goniewicz,2019) ειδικές για τον καπνό νιτροζαμίνες (Tobacco-Specific Nitrosamines-TSNAs) οι οποίες είναι καρκινογόνες βρίσκονται σε 7-17 φορές μεγαλύτερη ποσότητα σε ένα συμβατικό τσιγάρο συγκριτικά με ένα tobacco stick. Ιδιαίτερα σημαντικό είναι να επισημανθεί πως ένα συμβατικό τσιγάρο αποδίδει 2,1 mg νικοτίνης ενώ ένα tobacco stick μόλις 1,4mg [14].

Ένα ιδιαίτερο χαρακτηριστικό των IQOS sticks είναι ο καπνός τους ο οποίος δεν περιέχει φύλλα κομμένα σε μικρά κομμάτια όπως γίνεται στα συμβατικά τσιγάρα. Αντί αυτού, ο καπνός δημιουργείται ύστερα από την άλεση του με την προσθήκη νερού, γλυκερίνης, ίνες κυτταρίνης, guar, gum και ανασυντίθεται σε φύλλα καπνού(“cast leaves”) ώστε να διαμορφωθεί τελικά μέσω μιας διαδικασίας η οποία ονομάζεται “crimping” (πτύχωση). Ένα tobacco stick περιέχει περίπου 0,32g καπνού εν αντιθέσει με ένα συμβατικό τσιγάρο του οποίου ο καπνός κυμαίνεται από 0,55-0,70g [9].

Σημαντικό είναι επίσης να αναφερθεί το φίλτρο των tobacco sticks. Για την ακρίβεια τα tobacco sticks διαθέτουν δύο φίλτρα (Εικόνα 5) : i) ένα φίλτρο πολυμερούς φιλμ που στοχεύει στην ψύξη του αερολύματος και ii) ένα φίλτρο οξικής κυτταρίνης χαμηλής πυκνότητας προκειμένου να δίνει στον καπνιστή την αίσθηση ενός συμβατικού τσιγάρου. Επίσης υπάρχει ένας κοίλος σωλήνας ο οποίος διαχωρίζει τον καπνό από το φίλτρο κυτταρίνης. Αντίθετα τα συμβατικά τσιγάρα διαθέτουν ένα μόνο φίλτρο οξικής κυτταρίνης [9].



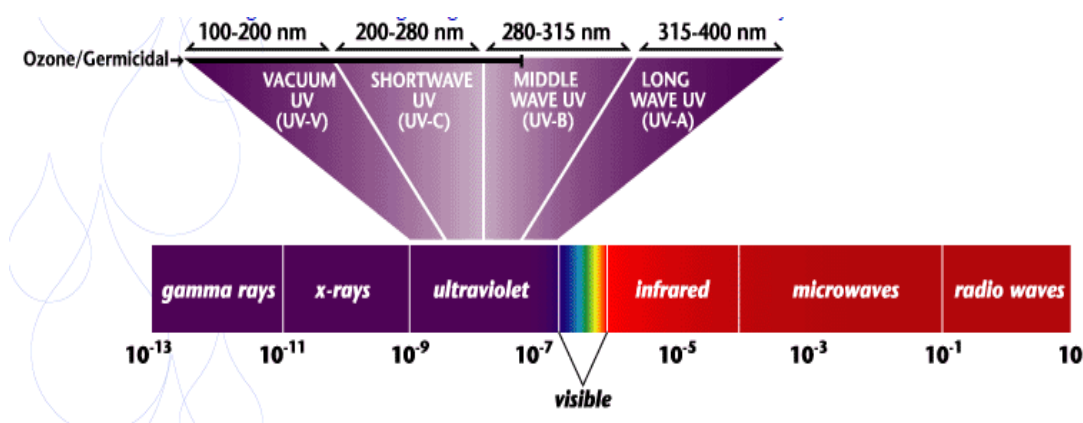
Εικόνα 5: Διατομή tobacco-stick

Τα νέα προϊόντα θέρμανσης καπνού γίνονται όλο και πιο δημοφιλή με ολοένα και περισσότερους καπνιστές να στρέφονται σε αυτή τη μορφή καπνίσματος. Ωστόσο η επίδραση τους στο περιβάλλον δεν είναι ακόμα πλήρως μελετημένη και χρήζει εκτενούς έρευνας.

### 1.3 Υπεριώδης ακτινοβολία UV-C

Η υπεριώδης ακτινοβολία είναι μια μη ιονίζουσα μορφή του ορατού φωτός η οποία βρίσκεται στο τμήμα του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος μεταξύ του ορατού φωτός και των ακτίνων Χ και κυμαίνεται μεταξύ 100 και 400 nm [34]. Υπάρχουν τέσσερις διαφορετικοί τύποι UV ακτινοβολίας:

- UV-A : 315-400 nm
- UV-B : 280-315 nm
- UV-C : 200-280 nm
- Vacuum UV : 100-200 nm [34]



Εικόνα 6: Ultraviolet Spectra

Η ακτινοβολία UV<sub>254</sub> που θα χρησιμοποιηθεί στα πειράματα ανήκει στην UV-C ακτινοβολία η οποία έχει το μεγαλύτερο ενδιαφέρον για τη διαδικασία της φωτόλυσης καθώς στην περιοχή του φάσματος της πολλοί ρύποι αλλά και συστατικά του νερού, οργανικά ή ανόργανα, απορροφούν ενέργεια. Η υπεριώδης ακτινοβολία UV-C είναι αυτή που χρησιμοποιείται πλέον για την επεξεργασία και απολύμανση νερού ενώ εφαρμόζεται και για την απομάκρυνση οργανικών και ανόργανων ρύπων. Τα πλεονεκτήματα της συγκεκριμένης μεθόδου απολύμανσης είναι πολλά με βασικότερο ότι δεν απαιτεί την προσθήκη χημικών αντιδραστηρίων μειώνοντας τους κινδύνους που πιθανόν να ενέχει η χρήση τους. Ακόμη η συγκεκριμένη μέθοδος αδρανοποιεί αποτελεσματικά πολλούς από τους μικροοργανισμούς που βρίσκονται στο νερό και στα υγρά απόβλητα ακόμα και

αυτούς που είναι ανθεκτικοί στην υπολειμματική δράση του χλωρίου. Απαιτούνται μικροί χρόνοι επαφής του προς απολύμανση δείγματος με την ακτινοβολία και δεν προκύπτουν επικίνδυνα τοξικά παραπροϊόντα [35] .

Για την εκπομπή της UV-C ακτινοβολίας χρησιμοποιούνται λάμπες υδραργύρου χαμηλής πίεσης οι οποίες περιέχουν ένα μίγμα αερίου το οποίο περιλαμβάνει υδράργυρο και κάποιο αδρανές αέριο (συνήθως χρησιμοποιείται αργό (Ar)) . Κατά τη λειτουργία τους η θερμοκρασία φτάνει έως τους 40°C και εκπέμπουν ακτινοβολία κυρίως στα 253.7nm ,όπου και υπάρχει αποτελεσματικότητα στην απολύμανση των υγρών αποβλήτων. Η ισχύς τους κυμαίνεται από 5 έως 50Watt και ο χρόνος ζωής τους φτάνει έως και τις 25.000 ώρες λειτουργίας. Οι συγκεκριμένες λάμπες χρησιμοποιούνται σχεδόν αποκλειστικά σε εφαρμογές της UV-C ακτινοβολίας λόγω του χαμηλού τους κόστους και των λειτουργικών τους πλεονεκτημάτων [35].

#### 1.4 Φωτόλυση

Με τον όρο φωτόλυση (ονομάζεται επίσης φωτοδιάσπαση) νοείται η χημική αντίδραση κατά την οποία μια ανόργανη ή οργανική χημική ουσία διασπάται σε μικρότερες μονάδες από τα φωτόνια και αποτελεί την αλληλεπίδραση ενός η περισσοτέρων φωτονίων με ένα μόριο στόχο [15].

Η φωτόλυση διακρίνεται σε άμεση και έμμεση. Στην άμεση φωτόλυση η ίδια η ουσία απορροφά την ηλιακή ή την τεχνητή ακτινοβολία και η θραύση του μορίου της σε μικρότερα τμήματα είναι αποτέλεσμα των χημικών αντιδράσεων που λαμβάνουν χώρα. Κατά την έμμεση φωτόλυση η χημική ουσία δεν απορροφά την ακτινοβολία. Αντίθετα φυσικά μόρια τα οποία υπάρχουν στη διαλυμένη οργανική ύλη του νερού ή του διαλύματος και ονομάζονται «ευαισθητοποιητές» απορροφούν το φως. Οι ευαισθητοποιητές κατόπιν απορρόφησης ακτινοβολίας διεγείρονται και στη συνέχεια αντιδρώντας χημικά με την ουσία σχηματίζουν νέα προϊόντα. Μια άλλη περίπτωση έμμεσης φωτόλυσης είναι αυτή κατά την οποία η χημική ουσία αντιδρά με ένα οξειδωτικό μέσο, όπως οι ρίζες υπεροξειδίου, υδροξειδίου και το ατομικό οξυγόνο, το οποίο σχηματίζεται από τις αλληλεπιδράσεις που λαμβάνουν χώρα μεταξύ των ευαισθητοποιητών του διαλυμένου οξυγόνου και του φωτός [16].

Η φωτόλυση της νικοτίνης, άμεση και έμμεση, έχει μελετηθεί στο παρελθόν κάτω από διάφορες συνθήκες. Πιο συγκεκριμένα έρευνες φωτόλυσης της νικοτίνης σε λύματα υπό

την επίδραση προσομοιωμένης ηλιακής ακτινοβολίας έδειξαν πως ο μετασχηματισμός της ακολουθεί κινητική ψευδό-πρώτης τάξης ενώ η άμεση φωτόλυση της ουσίας σε υπερκάθαρο ήταν αισθητά πιο αργή και όχι ιδιαίτερης σημασίας. Επίσης η φωτολυτική της αποδόμηση έχει μελετηθεί παρουσία διοξειδίου του τιτανίου ( $\text{TiO}_2$ ) αλλά και με τον συνδυασμό του με νιτρώδες νάτριο ( $\text{NaNO}_2$ ) καταλήγοντας ότι τα νιτρικά ιόντα επιβραδύνουν τη διαδικασία της αποδόμησης [25]. Ακόμη η παρουσία υπεροξειδίου του υδρογόνου ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) κατά τη φωτόλυση της νικοτίνης υπό ακτινοβολία UV έδειξε να επιταχύνει την αντίδραση [28].

Η φωτοαποδόμηση της νικοτίνης πρόκειται για μια πολύπλοκη αντίδραση κατά την οποία δημιουργούνται πολλά παραπροϊόντα ορισμένα από τα οποία θα ταυτοποιηθούν στην έρευνα αυτή. Έχει βρεθεί ότι κατά τη φωτοχημική διάσπαση της νικοτίνης υπό την επίδραση προσομοιωμένης ηλιακής ακτινοβολίας το τμήμα της πυριδίνης παραμένει άθικτο καταλήγοντας στο γεγονός ότι ο δακτύλιος της πυρολιδίνης είναι αυτός που αντιδράει πυροδοτώντας τη δημιουργία των παραπροϊόντων, ωστόσο κατά την βιοαποικοδόμηση της νικοτίνης το τμήμα της πυριδίνης είναι το βιοενεργό. Ορισμένα από τα παραπροϊόντα που προκύπτουν είναι η Ν-μεθυλομυοσμίνη, η κοτινίνη η οποία αποτελεί και τον βασικό μεταβολίτη της νικοτίνης, η 3-υδροξυκοτινίνη και η μυοσμίνη [25].

### 1.5 Ανάλυση δειγμάτων με χρωματογραφικές μεθόδους

Η χρωματογραφία είναι μία χημική αναλυτική τεχνική διαχωρισμού χημικών ουσιών από το μίγμα τους. Η τεχνική αυτή έχει τη βάση της στη διαφορετική κατανομή των συστατικών του μίγματος μεταξύ μιας κινούμενης και μιας στατικής φάσης. Η στατική φάση παραμένει σταθερή μέσα στη χρωματογραφική στήλη και συνήθως αποτελείται από ένα υγρό με μεγάλο ιξώδες, ενώ η κινητή φάση είναι ο διαλύτης ο οποίος κινείται στο εσωτερικό της στήλης. Η κινητή φάση διερχόμενη μέσα από τη στατική μετατοπίζει με διαφορετικές ταχύτητες τα διαφορετικά συστατικά του μίγματος τα οποία τελικά διαχωρίζονται μεταξύ τους και εξέρχονται από τη στήλη σε διαφορετικές χρονικές στιγμές προκειμένου να ακολουθήσει η ανίχνευση από κατάλληλο ανιχνευτή [30].

Οι χρωματογραφικές τεχνικές ταξινομούνται κυρίως με βάση τη φύση των φάσεων σε :

- Υγρή χρωματογραφία (LC): Η κινητή φάση είναι υγρή
- Αέρια χρωματογραφία (GC): Η κινητή φάση είναι αέρια [30]



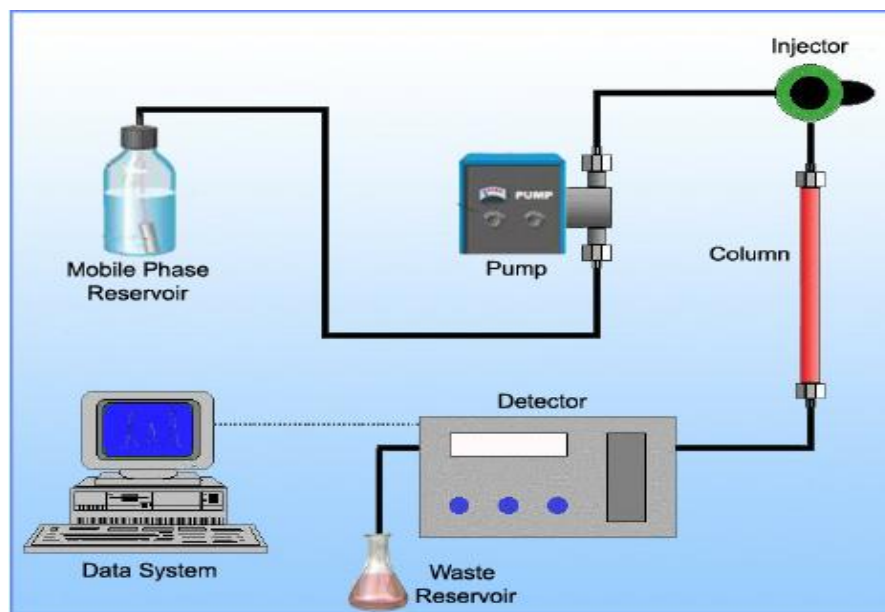
### 1.5.1 Υγρή χρωματογραφία υψηλής πίεσης (HPLC)

Η υγρή χρωματογραφία υψηλής πίεσης η οποία αναφέρεται και ως υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης αποτελεί μια χημική αναλυτική τεχνική διαχωρισμού των ουσιών ενός μίγματος. Πρόκειται για την εξέλιξη της κλασικής χρωματογραφίας χρησιμοποιώντας υψηλές πιέσεις έως και 100MPa πετυχαίνοντας έτσι καλύτερο διαχωρισμό του μίγματος σε μικρότερο χρόνο. Βασίζεται στην διαφορετική κατανομή του δείγματος μεταξύ στατικής και κινητής φάσης με αποτέλεσμα οι ενώσεις να κινούνται με διαφορετική ταχύτητα μέσα στη στήλη [32].

Η κινητή φάση είναι υγρή ρέοντας με τη βοήθεια αντλίας υψηλής πίεσης μέσω του υλικού πλήρωσης της στήλης ενώ η στατική φάση μπορεί να είναι είτε στερεή είτε υγρή. Ο διαχωρισμός ξεκινά με την εισαγωγή του μίγματος στη χρωματογραφική στήλη με ειδική μικροσύριγγα και μέσω της κινητής φάσης, τα συστατικά του μίγματος μετακινούνται με τη μορφή ζωνών. Στη συνέχεια τα συστατικά εκκλύονται και ανιχνεύονται από τον ανιχνευτή και τέλος εμφανίζονται με τη μορφή κορυφών στο σύστημα καταγραφής. Ο χρησιμοποιούμενος ανιχνευτής καθορίζει αν η ανίχνευση των συστατικών θα είναι εκλεκτική ή όχι. Η απόκριση του ανιχνευτή για κάθε συστατικό εμφανίζεται στον ηλεκτρονικό υπολογιστή και αποτελεί το χρωματογράφημα του διαχωρισμού[30].

Ένα σύστημα HPLC περιλαμβάνει (Εικόνα 7) :

- Φιάλες αποθήκευσης διαλυτών
- Αντλία (σταθερής ροής ,σταθερής πίεσης)
- Μονάδα εισαγωγής δείγματος (βαλβίδα εισαγωγής δείγματος, αυτόματος δειγματολήπτης)
- Χρωματογραφική στήλη
- Ανιχνευτή
- Καταγραφικό
- Δοχείο αποβλήτων [30]



Εικόνα 7: HPLC System

### 1.5.2 Αέρια χρωματογραφία (GC)

Η αέρια χρωματογραφία είναι μια αναλυτική τεχνική η οποία χρησιμοποιείται για την ανάλυση πτητικών και ημι-πτητικών ουσιών σε τρόφιμα, φάρμακα, προϊόντα πετρελαίου, περιβαλλοντικά δείγματα και άλλα. Ένας αέριος χρωματογράφος αποτελείται από α) το φέρον αέριο και το κύριο μέρος του χρωματογράφου στο οποίο γίνεται ο διαχωρισμός και β) το σύστημα ανίχνευσης, καταγραφής και αποτίμησης του σήματος. Το δείγμα εισάγεται στην χρωματογραφική στήλη και παρασυρόμενο από ένα κινούμενο αέριο, το λεγόμενο φέρον αέριο διαχωρίζεται στα συστατικά του. Ως φέρον αέριο χρησιμοποιείται οποιοδήποτε αδρανές αέριο σε υπερκάθαρη κατάσταση χωρίς προσμίξεις συνήθως ήλιο, άζωτο, αργό, υδρογόνο. Η έκλουση των ουσιών του υπό μελέτη δείγματος πραγματοποιείται με την κίνηση του φέροντος αερίου αποτελώντας την κινητή φάση της χρωματογραφικής τεχνικής. Τα κλάσματα του δείγματος ανιχνεύονται από τον ανιχνευτή και τα σήματα της ανίχνευσης καταγράφονται από το καταγραφικό ή οδηγούνται σε υπολογιστή [30].

Το βασικό μέρος του χρωματογράφου είναι η στήλη. Υπάρχουν οι πληρωμένες στήλες και οι τριχοειδείς. Η στήλη αποτελείται από έναν επιμήκη σωλήνα με τη μορφή σπειράματος ή σχήματος U προκειμένου να καταλαμβάνει όσο το δυνατόν λιγότερο χώρο καθώς οι σύγχρονες στήλες φτάνουν μέχρι και τα 60 μέτρα. Κατασκευάζονται από χάλυβα, χαλκό, άργιλο, γυαλί, ή πλαστικό. Η θερμοκρασία παίζει καθοριστικό ρόλο στην ταχύτητα και την ικανότητα διαχωρισμού και για το λόγο αυτό η στήλη βρίσκεται σε φούρνο του οποίου η θερμοκρασία ελέγχεται αυστηρά. Ο διαχωρισμός επιτυγχάνεται εξαιτίας των διαφορών

δυνάμεων συγκράτησης και έκλυσης ανάμεσα στα συστατικά του μίγματος, του υλικού πλήρωσης της στήλης και της ροής του φέροντος αερίου [29].

### 1.6 Φασματομετρία μάζας

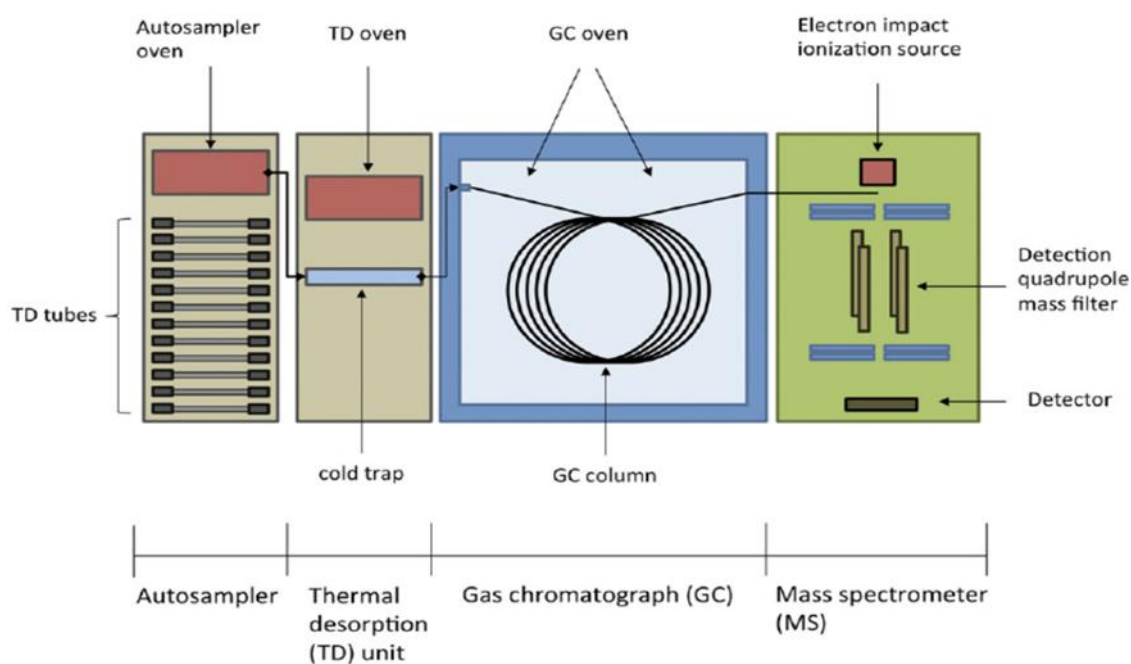
Η φασματομετρία μάζας είναι μια αναλυτική τεχνική η οποία χρησιμοποιείται για την ανίχνευση άγνωστων ενώσεων, τον ποσοτικό προσδιορισμό των ενώσεων ενός μίγματος και την αποσαφήνιση των δομικών και φυσικών ιδιοτήτων των ιόντων. Οι αναλύσεις μπορούν να πραγματοποιηθούν με ελάχιστες ποσότητες - μερικές φορές μικρότερες από ποσότητες της τάξης του picogram ( $10^{-12}$  g). Η φασματομετρία μάζας είναι κατάλληλη για την ταυτοποίηση μεμονωμένων συστατικών σε εξαιρετικά σύνθετα μίγματα [33].

Στην συγκεκριμένη τεχνική τα συστατικά ενός δείγματος μετατρέπονται σε κινούμενα ιόντα τα οποία επιταχύνονται προς την περιοχή του ανιχνευτή ο οποίος διατηρείται υπό συνθήκες κενού. Το δείγμα το οποίο μπορεί να είναι στερεό, υγρό ή ατμός εισέρχεται στον θάλαμο κενού. Η ουσία που πρόκειται να αναλυθεί μπορεί να υπάρχει ήδη ως ιόν στο διάλυμα ή μπορεί να ιονίζεται με ποικίλες μεθόδους μέσα στην πηγή των ιόντων. Τα ιόντα της αέριας φάσης διαχωρίζονται στον ανιχνευτή μάζας σύμφωνα με τους λόγους μάζας προς το φορτίο τους ( $m/z$ ) και προσκρούουν σε έναν ανιχνευτή όπου μετατρέπονται σε ηλεκτρικό ρεύμα. Ένα σύστημα δεδομένων καταγράφει το μέγεθος αυτών των ηλεκτρικών σημάτων ως συνάρτηση του λόγου  $m/z$  μετατρέποντας τις πληροφορίες αυτές σε ένα φάσμα μάζας [33].

Ένα φασματόμετρο μάζας αποτελείται από:

- Το σύστημα της εισαγωγής του δείγματος που συνδέεται με τη στήλη
- Την πηγή ιόντων στην οποία τα συστατικά που εισέρχονται μετατρέπονται σε ιόντα
- Τον αναλυτή μαζών όπου πραγματοποιείται ο διαχωρισμός των ιόντων ανάλογα με το  $m/z$  τους
- Τον ανιχνευτή που συλλαμβάνει τα διαχωριζόμενα ιόντα και τα μετατρέπει σε ηλεκτρικό σήμα
- Το σύστημα κενού. Ο φασματογράφος βρίσκεται υπό κενό το οποίο δημιουργείται από εσωτερικές και εξωτερικές αντλίες κενού. Με το κενό δημιουργούνται σε χαμηλές θερμοκρασίες θέρμανσης ατμοί της ουσίας που θα αναλυθεί χωρίς τη διάσπασή της και τελικά οδηγούνται στο θάλαμο ιοντισμού
- Τον ηλεκτρονικό υπολογιστή ο οποίος διαθέτει κατάλληλο λογισμικό [18].

Κατά την μελέτη των εκπλυμάτων από τα προϊόντα καπνού χρησιμοποιήθηκε ο ανιχνευτής μάζας παγίδας ιόντων (ION TRAP MS) σε συνδυασμό με αέριο χρωματογράφο (Εικόνα 8) .Οι συγκεκριμένοι ανιχνευτές μάζας αποτελούνται από 2 πλευρικά μεταλλικά ηλεκτρόδια σε σχήμα υπερβολής (end cup) και ένα δακτυλιοειδές ηλεκτρόδιο (ring electrode). Τα ιόντα παγιδεύονται στο χώρο μεταξύ των τριών ηλεκτροδίων μέσω ενός επαγομένου ηλεκτρικού πεδίου, που δημιουργείται από τη χρήση συνεχούς (DC) και εναλλασσόμενου (AC) ρεύματος. Τα ιόντα του δείγματος που αναλύεται, εισέρχονται στην παγίδα μετά τον ιοντισμό τους μέσω μίας μικρής οπής σε ένα από τα πλευρικά ηλεκτρόδια. Η τάση υψηλής συχνότητας αυξάνει το πλάτος της ταλάντωσης που πραγματοποιούν στον οριζόντιο άξονα τα ιόντα και τελικά εκτοξεύονται έξω από την παγίδα μέσω ενός εκ των δύο πλευρικών ηλεκτροδίων, πρώτα τα ιόντα μικρότερου λόγου  $m/z$  και μετά αυτά με μεγαλύτερους λόγους. Τα ιόντα στη συνέχεια κατευθύνονται στον ανιχνευτή και στο καταγραφικό σύστημα και έτσι προκύπτουν τα φάσματα μαζών [33].



**Εικόνα 8:** Σχηματική απεικόνιση της μεθόδου ανάλυσης GC-MS

## 1.7 Εκχύλιση

Εκχύλιση ονομάζεται η κατανομή μιας ουσίας από μία φάση (1) στην οποία είναι διαλυμένη, σε μία άλλη υγρή φάση (2). Η αρχή στην οποία στηρίζεται η εκχύλιση είναι ότι η μία ουσία η οποία είναι διαλυτή σε δύο διαλύτες που δεν αναμιγνύονται μεταξύ τους θα κατανεμηθεί μεταξύ δύο διαλυτών με σταθερή αναλογία. Η εκχύλιση αποτελεί μία φυσική μέθοδο διαχωρισμού και βασίζεται στην ισορροπία κατανομής μιας ουσίας μεταξύ δύο φάσεων, που αναμιγνύονται ελάχιστα μεταξύ τους. Η τεχνική αυτή χρησιμοποιείται ευρύτατα χάρη στην απλότητα της μεθοδολογίας, την ταχύτητα, την ευελιξία αλλά και τη δυνατότητα να εφαρμόζεται σε δείγματα που μπορεί να περιέχουν ίχνη ή μεγάλες ποσότητες μιας ουσίας. Η διεργασία αυτή εφαρμόζεται ευρέως στη βιομηχανία σε διαδικασίες επεξεργασίας πρώτων υλών, σε διαδικασίες επεξεργασίας υγρών αποβλήτων αλλά και στον διαχωρισμό τελικών προϊόντων [37].

### *1.7.1 HiSorb Sorptive Extraction*

Η HiSorb sorptive εκχύλιση ή αλλιώς προσροφητική εκχύλιση είναι μια εναλλακτική λύση για την εκχύλιση υγρών η οποία είναι ιδιαίτερα φιλική προς το περιβάλλον. Στην συγκεκριμένη εκχύλιση οι αναλυτές εκχυλίζονται από την υδατική μήτρα σε μια μη αναμίξιμη υγρή φάση. Σε αντίθεση με άλλες μεθόδους εκχύλισης στις οποίες οι αναλυτές συνδέονται με τις ενεργές θέσεις σε μια επιφάνεια στη συγκεκριμένη σημαντικό ρόλο παίζει όλη η ποσότητα της φάσης εκχύλισης. Βασικό χαρακτηριστικό της συγκεκριμένης μεθόδου είναι ότι η ποσότητα της στατικής φάσης που χρησιμοποιείται είναι μεγαλύτερη συγκριτικά με άλλες μεθόδους π.χ. SPME. Η πιο διαδεδομένη φάση απορρόφησης στην εκχύλιση sorptive είναι το πολυδιμεθυλοσιλοξάνιο το οποίο είναι ιδιαίτερα θερμοσταθερό και μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε μεγάλο εύρος θερμοκρασιών. Η HiSorb sorptive εκχύλιση πραγματοποιείται τοποθετώντας μια κατάλληλη ποσότητα δείγματος σε headspace φιαλίδια. Στη συνέχεια τα HiSorb τα οποία είναι επικαλυμμένα με το πολυδιμεθυλοσιλοξάνιο εισάγονται στο υδατικό διάλυμα το οποίο αναδεύεται για καθορισμένο χρόνο και σε σταθερή θερμοκρασία. Μετά την εκχύλιση οι διαλυμένες ουσίες εκκροφούνται θερμικά (thermal desorption) και αναλύονται με αέρια ή υγρή χρωματογραφία [36].



### 1.8 Σκοπός της παρούσας έρευνας

Σκοπός της παρούσας έρευνας είναι η μελέτη της φωτοαποδόμησης της νικοτίνης σε υδατικά διαλύματα υπερκάθαρου νερού καθώς και σε εκπλύματα από χρησιμοποιημένα και αχρησιμοποίητα προϊόντα καπνού. Τα προϊόντα καπνού που εξετάστηκαν ήταν τα συμβατικά τσιγάρα Malboro Red Label και τα νέα IQOS sticks με αλουμίνιο (HEETS Red Label, TSAL). Αρχικά η φωτοαποδόμηση της νικοτίνης μελετήθηκε σε υδατικά διαλύματα υπερκάθαρου νερού σε διάφορες συγκεντρώσεις και διαφορετικές τιμές pH. Τα δείγματα εκτέθηκαν σε UV<sub>254</sub> ακτινοβολία για προκαθορισμένους χρόνους, ερευνήθηκε η επίδραση της αρχικής συγκέντρωσης της νικοτίνης καθώς και του pH του διαλύματος στον βαθμό αποδόμησης της και προσδιορίστηκε η κινητική της αντίδρασης.

Η αποδόμηση της νικοτίνης μελετήθηκε και σε εκπλύματα από χρησιμοποιημένα και αχρησιμοποίητα προϊόντα καπνού τα οποία υποβλήθηκαν και αυτά σε UV<sub>254</sub> ακτινοβολία και έγινε σύγκριση της ταχύτητας αποδόμησης της νικοτίνης με τα υδατικά διαλύματα υπερκάθαρου νερού. Εκτός της UV ακτινοβολίας η μελέτη επεκτάθηκε και σε συνθήκες προσομοίωσης της ηλιακής ακτινοβολίας. Εκπλύματα από χρησιμοποιημένα προϊόντα καπνού υποβλήθηκαν σε προσομοιωμένη ηλιακή ακτινοβολία για προκαθορισμένο χρόνο προκειμένου να μελετηθεί η επίδραση της ακτινοβολίας αυτής στον μετασχηματισμό της νικοτίνης και να εξεταστεί η σημασία της έμμεσης φωτόλυσης σε πιο περίπλοκες μήτρες. Τέλος ταυτοποιήθηκαν ορισμένα από τα παραπροϊόντα μετασχηματισμού της νικοτίνης μέσω των αναλύσεων της υγρής και αέριας χρωματογραφίας σε συνδυασμό με φασματομετρία μάζας.

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

### **2.1 Αντιδραστήρια και όργανα**

#### **ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ ΠΟΥ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΘΗΚΑΝ:**

- Συμβατικά τσιγάρα Malboro Red Label (Conventional Cigarettes,CC)
- IQOS sticks με αλουμίνιο (HEETS Red Label,TSAL)
- Νικοτίνη (Nicotine Pestanal) από την εταιρεία Supelco
- Ακετονιτρίλιο (για χρήση στο LC/MS) της εταιρείας Scharlau (Spain)
- Φορμικό οξύ 98-100% purity από την εταιρεία Sigma Aldrich (Seelze, Germany)
- Άνυδρο οξικό οξύ από την εταιρεία Merck KGaA (Darmstadt,Germany)
- Βορικό Οξύ 99,8% purity από την εταιρεία Merck KGaA (Darmstadt,Germany)
- Διβασικό τριένυδρο φωσφορικό κάλιο  $\geq 99\%$  purity από την εταιρεία Sigma Aldrich (Steinheim, Germany)
- Δισόξινο φωσφορικό κάλιο  $\geq 99,5\%$  purity από την εταιρεία Fluka Chemie GmbH
- Τριένυδρο οξικό νάτριο  $\geq 99,5\%$  purity από την εταιρεία Fluka Chemie GmbH

#### **ΟΡΓΑΝΑ ΚΑΙ ΣΥΣΚΕΥΕΣ ΠΟΥ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΘΗΚΑΝ:**

- Ράβδος θέρμανσης IQOS™ 2.4 Plus από την Philip Morris Products (S.A., Neuchatel, Switzerland)
- Συσκευή διήθησης κενού, Pall, German Laboratory
- Φίλτρα πορώδους κενού 0,45μm από την εταιρεία Whatman
- Μηχανή καπνίσματος από την εταιρεία Burghart (Wedel ,Germany)
- Υγρή χρωματογραφία υψηλής πίεσης συζευγμένη με ανιχνευτή μάζας (LC/MS,LC 1200 series, 6110 Single Quadrupole Detector της εταιρείας Agilent)
- Αέρια χρωματογραφία (450-GC) συζευγμένη με ανιχνευτή μάζας-παγίδας ιόντων (240-MS-IT) από την εταιρεία Varian (Walnut Creek,CA, USA) συζευγμένη με automated thermal derorber (TD100-xr) από την εταιρεία Markes International
- Όργανα παρασκευής υπερκάθαρου νερού EASYpure RF και EASYpure II της εταιρείας Barnstead
- Αυτοσχέδια συσκευή φωτόλυσης διαστάσεων 28cm x 28cm x 28cm με δύο λάμπες υδραργύρου 8W ακτινοβολίας 254 nm
- Μηχανή καπνίσματος από την εταιρεία Burghart (Wedel , Germany)
- HiSorb Agitator από την Markes International
- Συσκευή προσομοίωσης της ηλιακής ακτινοβολίας SUNTEST CPS+ από την ATLAS MTT GmbH
- Shaker orbital του οίκου Heidolph, Unimax 1010, (Essex, UK)

- Ultrasonic Cleaner 2510E-MTH της εταιρείας Branson (Danbury, USA)
- Ζυγός Precisa XT 120A
- Συσκευή μέτρησης pH από την εταιρεία Crison (Alella, Spain)

### 2.1.1 Μηχανή καπνίσματος

Η μηχανή καπνίσματος από τη Burghart (Wedel, Germany) (Εικόνα 9) χρησιμοποιήθηκε προκειμένου να προετοιμαστούν τα χρησιμοποιημένα προϊόντα καπνού. Είναι τοποθετημένη μέσα σε απαγωγό προκειμένου ο καπνός που παράγεται κατά τη διάρκεια του καπνίσματος να μην εισέρχεται στον εργαστηριακό χώρο. Η συγκεκριμένη μηχανή διαθέτει μία θύρα στην οποία εισάγεται το τσιγάρο (συμβατικό ή tobacco stick) και λαμβάνει χώρα η διαδικασία του καπνίσματος. Οι ρυθμίσεις της συσκευής ήταν διαφορετικές για το κάθε είδος τσιγάρου. Συγκεκριμένα για τα συμβατικά τσιγάρα (Conventional Cigarettes, CC) η συσκευή ρυθμίστηκε βάσει του πρωτοκόλλου ISO 3308:2012 , ενώ για τα tobacco sticks η ρύθμιση έγινε βάσει του προτύπου υγείας του Καναδά (Health Canada Intense, HCI). Στον Πίνακα 2 φαίνονται οι ρυθμίσεις για κάθε ένα από τα δύο πρωτόκολλα. Για την ανάφλεξη των συμβατικών τσιγάρων χρησιμοποιήθηκε ειδικός αναπτήρας χωρίς φλόγα ενώ για τη θέρμανση των tobacco sticks η ράβδος θέρμανσης IQOS<sup>TM</sup> 2.4 Plus. Στα συμβατικά τσιγάρα κατόπιν καπνίσματος ,το επιθυμητό τους μήκος ήταν 3mm από το τέλος του φίλτρου [17] .



Εικόνα 9 : Μηχανή Καπνίσματος

**Πίνακας 2:** Συγκεντρωτικός πίνακας με τις ρυθμίσεις της μηχανής καπνίσματος για κάθε ένα πρωτόκολλο

	Πρωτόκολλο ISO 3306:2012	Πρότυπο υγείας του Καναδά ,Health Canada Intense (HCl)
Puff Volume (mL)	35	55
Puff Duration (s)	2	2
Puff Period (s)	60	30

## 2.2 Παρασκευή διαλυμάτων

### 2.2.1 Παρασκευή δειγμάτων για ανάλυση

Η παρασκευή των υδατικών διαλυμάτων που προορίζονταν για ανάλυση γινόταν με την κατάλληλη αραίωση ενός stock υδατικού διαλύματος νικοτίνης, αρχικής συγκέντρωσης 10000 ppm το οποίο αποθηκευόταν σε ένα σκουρόχρωμο μπουκάλι στους 4°C. Κάθε μέρα παρασκευαζόταν νέο υδατικό διάλυμα. και οι συγκεντρώσεις που μελετήθηκαν ήταν 1, 5, 10 και 20ppm. Τα διαλύματα έγιναν με βάση το νόμο της αραίωσης σύμφωνα με τον οποίο ισχύει :

$$C_{\text{αρχ}} \cdot V_{\text{αρχ}} = C_{\text{τελ}} \cdot V_{\text{τελ}}$$

Για την μελέτη της επίδρασης του pH παρασκευάστηκαν ρυθμιστικά διαλύματα συγκέντρωσης 10ppm σε νικοτίνη με τιμές pH = 4,9 ,6,9 και 9. Για την τιμή pH = 4,9 χρησιμοποιήθηκε οξικό οξύ ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ) και τριένυδρο οξικό νάτριο ( $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ). Για το διάλυμα με pH = 6,9 χρησιμοποιήθηκε δισόξινο φωσφορικό κάλιο ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) και διβασικό τριένυδρο φωσφορικό κάλιο ( $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ). Τέλος για το ρυθμιστικό διάλυμα με pH = 9 χρησιμοποιήθηκε βορικό οξύ ( $\text{H}_3\text{BO}_3$ ) και υδροξείδιο του νατρίου ( $\text{NaOH}$ ).

### 2.2.2 Παρασκευή υδατικών εκπλυμάτων από προϊόντα καπνού (leaching)

Για την παρασκευή των υδατικών εκπλυμάτων χρησιμοποιήθηκαν συμβατικά τσιγάρα Marlboro Red Label ,και tobacco sticks HEETS Sienna Selection χρησιμοποιημένα και αχρησιμοποιήτα. Για τη δημιουργία των εκπλυμάτων χρησιμοποιήθηκε μια αναλογία 10L/kg υγρό προς στερεό .Η αναλογία αυτή στα συμβατικά τσιγάρα αντιστοιχεί σε 10 χρησιμοποιημένα τσιγάρα (CC used) σε 25 mL υπερκάθαρο νερό και 4 αχρησιμοποιήτα

τσιγάρα(CC unused) σε 31 mL υπερκάθαρο νερό. Για τα tobacco sticks οι αναλογίες ήταν ίδιες τόσο για τα χρησιμοποιημένα (HnBs used) όσο και για τα αχρησιμοποίητα (HnBs unused): 4 tobacco sticks σε 31 mL υπερκάθαρο νερό. Όλα τα διαλύματα τοποθετήθηκαν σε φιαλίδια χωρητικότητας 40 mL.

*Πίνακας 3: Αναλογίες για τη δημιουργία εκπλυμάτων από τα προϊόντα καπνού*

ΕΙΔΟΣ ΤΣΙΓΑΡΟΥ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΤΣΙΓΑΡΩΝ	ΟΓΚΟΣ υρH <sub>2</sub> O(mL)
<b>CC used</b>	10	25
<b>CC unused</b>	4	31
<b>HnBs used</b>	4	31
<b>HnBs unused</b>	4	31

Στη συνέχεια τα προϊόντα καπνού τοποθετούνταν σε μηχανή ανάδευσης Shaker Orbital για 24 h, με ταχύτητα 180 rpm και σε θερμοκρασία δωματίου προκειμένου να πραγματοποιηθεί η έκπλυση. Μετά το πέρας των 24 h γινόταν διήθηση του κάθε εκπλύματος με συσκευή διήθησης κενού (Εικόνα 10). Το χρησιμοποιούμενο φίλτρο είχε πορώδες 0,45  $\mu$ m.



*Εικόνα 10 : Διαδικασία διήθησης δειγμάτων ύστερα από την ανάδευση τους με συσκευή διήθησης κενού*



Για τα πειράματα φωτόλυσης έγινε αραίωση του κάθε εκπλύματος προς δημιουργία διαλύματος συγκέντρωσης 10 ppm. Οι ποσότητες που χρησιμοποιήθηκαν φαίνονται αναλυτικά στον Πίνακα 4.

*Πίνακας 4: Αναλογίες για την αραίωση των εκπλυμάτων προς δημιουργία υδατικών διαλυμάτων 10ppm.*

ΕΚΠΛΥΜΑ	ΠΟΣΟΤΗΤΑ ΕΚΠΛΥΜΑΤΟΣ(mL)	ΟΓΚΟΣ ΑΡΑΙΩΣΗΣ (υρH <sub>2</sub> O)(mL)
<b>CC used</b>	1,5	100
<b>CC unused</b>	0,75	100
<b>HnBs used</b>	2,7	100
<b>HnBs unused</b>	2	100

### 2.3 Περιγραφή πειραμάτων φωτόλυσης UV

Όλα τα πειράματα φωτόλυσης πραγματοποιήθηκαν σε έναν φωτοαντιδραστήρα με διαστάσεις 28 cm x 28 cm x 28 cm. Ο φωτοαντιδραστήρας ήταν εξοπλισμένος με δύο λάμπες υδραργύρου 8 W με εκπομπή στα 254 nm (OSRAM puritec Germicidal Lamp HNS 8 W G8T5) τοποθετημένες η μία απέναντι από την άλλη στα πλευρικά τοιχώματα του φωτοαντιδραστήρα. Συνεπώς το δείγμα εκτίθεται σε συνολική ακτινοβολία 16 W αφού υπάρχουν δύο λάμπες 8 W η κάθε μία. Η απόσταση μεταξύ κάθε λάμπας και του φιαλιδίου από χαλαζία που χρησιμοποιήθηκε στα πειράματα ορίστηκε στα 13 cm. Το φιαλίδιο ήταν τοποθετημένο επάνω σε μαγνητικό αναδευτήρα ο οποίος ενεργοποιούνταν κατά τη διάρκεια κάθε πειράματος.

Σε όλα τα πειράματα 10 mL υδατικού διαλύματος νικοτίνης σε μια γνωστή συγκέντρωση εισήχθησαν με σιφώνια σε φιαλίδιο από χαλαζία (εξωτερική διάμετρο 2,4 cm × ύψος 5,2 cm). Το φιαλίδιο στη συνέχεια κλείνεται με την ειδική βαλβίδα που διαθέτει και τοποθετείται στο κέντρο της συσκευής ώστε να υποβληθεί σε υπεριώδη ακτινοβολία στο φωτοαντιδραστήρα για προκαθορισμένο χρόνο. Η εσωτερική διάμετρος του φιαλιδίου χαλαζία (2 cm) χρησιμοποιήθηκε ως μήκος οπτικής διαδρομής.

Για την μελέτη της επίδρασης που έχουν η συγκέντρωση και το pH στην αποδόμηση της νικοτίνης, λαμβάνονταν δείγματα των 50  $\mu$ L ανά καθορισμένα χρονικά διαστήματα και

τοποθετούνταν σε γυάλινα inserts των 250  $\mu\text{L}$  και αυτά με τη σειρά τους σε γυάλινα φιαλίδια των 2 mL εξοπλισμένα με septum caps για χρήση στο LC/MS.

Για τη μελέτη των εκπλυμάτων από τα προϊόντα καπνού, έπρεπε να παρασκευάζεται νέο διάλυμα για κάθε μελετώμενο χρόνο ακτινοβολίας καθώς από τα 10 mL του ακτινοβολημένου δείγματος τα 9 mL λαμβάνονταν για να υποβληθούν σε εκχύλιση και κατόπιν να γίνει η ανάλυση στο TD-GC/ITMS.

## **2.4 Περιγραφή μεθόδου ανάλυσης LC-MS**

Για την ανάλυση της νικοτίνης αλλά και των προϊόντων μετασχηματισμού της χρησιμοποιήθηκε σύστημα υψηλής απόδοσης υγρής χρωματογραφίας (HPLC) Agilent 1200 Series. Το σύστημα είναι εξοπλισμένο με έναν αυτόματο δειγματολήπτη και διαθέτει δύο ανιχνευτές: έναν ανιχνευτή ακτινοβολίας UV και έναν ανιχνευτή μάζας MS καθώς και μια αντλία δύο διαλυτών.

Η χρωματογραφική στήλη διαχωρισμού που χρησιμοποιήθηκε ήταν η Thermo Scientific Betasil C18 (Waltham, MA, USA) διαστάσεων 2,1 mm ID x 100 mm μήκος και μέγεθος σωματιδίων 5  $\mu\text{m}$ . Η κινητή φάση αποτελούνταν από δύο διαλύτες: έναν διαλύτη (A) με υπερκάθαρο νερό ο οποίος περιείχε 0,1% μυρμηκικό οξύ (v/v) και έναν διαλύτη (B) με ακετονιτρίλιο που περιείχε 0,1% μυρμηκικό οξύ (v/v).

Το σύστημα περιλαμβάνει έναν ανιχνευτή σάρωσης υπεριώδους ακτινοβολίας UV-DAD (Diode Array Detector) με αντλία δύο διαλυτών, σύστημα έκχυσης και θερμοστάτη για εύρος θερμοκρασίας 4 - 40 °C. Επίσης, το σύστημα διαθέτει έναν ανιχνευτή μάζας Agilent LC/MS 6110 με μονό τετραπολικό ανιχνευτή και πολύτροπη πηγή. Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε στο LC ήταν 2% του διαλύτη B για το πρώτο λεπτό, στη συνέχεια αυξήθηκε γραμμικά στο 100% του διαλύτη B σε 10 λεπτά όπου διατηρήθηκε για τα επόμενα 2 λεπτά και ακολούθησε σε 0,5 λεπτά επαναφορά του διαλύτη B στο 2% όπου κρατήθηκε έτσι μέχρι και το τέλος της ανάλυσης. Η θερμοκρασία της στήλης ρυθμίστηκε στους 30 °C και ο ρυθμός ροής της κινητής φάσης ήταν 300  $\mu\text{L}/\text{min}$ , ενώ ο συνολικός χρόνος ανάλυσης ήταν 20 min. Το βάθος της ένεσης ήταν 6 mm εντός των φιαλιδίων αυτόματης δειγματοληψίας και ο όγκος του δείγματος κάθε ανάλυσης ήταν 20  $\mu\text{L}$ . Οι συνθήκες MS ήταν: ροή αερίου ξήρανσης, 8 L/min, θερμοκρασία αερίου ξήρανσης 250°C, πίεση νεφελοποιητή 30 psi, capillary voltage 4000 V, εύρος σάρωσης (m / z) 100-1000 amu για το σήμα 1 και εύρος σάρωσης (m / z) 160-165 για τη νικοτίνη.

Τα δεδομένα που προέκυψαν επεξεργάστηκαν με το λογισμικό της Agilent που ήταν συνδεδεμένο με το HPLC-MS . Το λογισμικό έδινε τη δυνατότητα ολοκλήρωσης των περιοχών εμφάνισης της νικοτίνης και την ταυτοποίησή της με τον έλεγχο της μάζας του ιόντος σε συνδυασμό με τον χρόνο κατακράτησης της, ο οποίος ήταν περίπου 1,6 min.

## 2.5 Περιγραφή εκχύλισης νικοτίνης από τα εκπλύματα των προϊόντων καπνού

Όπως αναφέρθηκε και στην παράγραφο 2.2.2 έγινε προετοιμασία υδατικών εκπλυμάτων από προϊόντα καπνού και στη συνέχεια από τα εκπλύματα παρασκευάστηκαν υδατικά διαλύματα συγκέντρωσης 10 ppm σε νικοτίνη. Έστερα 10 mL από το διάλυμα των 10 ppm εκτίθετο σε UV ακτινοβολία για 5, 7.5, 10, 20, και 30 min. Κατόπιν 9 mL από το διάλυμα που είχε υποβληθεί στην ακτινοβολία μεταφερόταν σε γυάλινα φιαλίδια των 10 mL τα οποία διέθεταν καπάκι HiSorb και septum(Εικόνα 12). Τα HiSorb διαθέτοντας μια επικάλυψη 63μL πολυδιμεθυλοσιλοξάνης (PDMS) εισήχθησαν μέσω του septum και η επικάλυψη του PDMS εκτέθηκε στο υδατικό διάλυμα (immersion sampling mode). Η εκχύλιση έγινε στους 40 °C ,στα 300 rpm και για 60 min χρησιμοποιώντας έναν HiSorb Agitator(Εικόνα 11) από την Markes International. Όταν η εκχύλιση της νικοτίνης είχε ολοκληρωθεί τα HiSorb αφαιρούνταν από το septum ,ξεπλένονταν με υπερκάθαρο νερό και σκουπίζονταν για να απομακρυνθούν υπολείμματα του διαλύματος. Στη συνέχεια τοποθετούνταν σε έναν σωλήνα θερμικής εκρόφησης για ανάλυση .



*Εικόνα 11: HiSorb Agitator*



*Εικόνα 12: HiSorb φιαλίδιο με septum*

## 2.6 Περιγραφή μεθόδου ανάλυσης GC-MS ION TRAP

Ο προσδιορισμός της νικοτίνης ύστερα από τη διαδικασία της εκχύλισης πραγματοποιήθηκε με τη χρήση ενός Varian 450-GC αέριου χρωματογράφου συζευγμένο με έναν φασματογράφο μάζας Varian 240-MS Ion Trap και έναν αυτόματο δειγματολήπτη TD100-xr<sup>TM</sup>. Τα HiSorb εκροφήθηκαν θερμικά στους 250°C για 5 λεπτά με trap flow 50 mL/min. Ύστερα το δείγμα συλλέχθηκε στη παγίδα στους 30 °C η οποία καθαρίστηκε για 1 λεπτό στα 50 mL/min και εκροφήθηκε για 3 λεπτά στους 320°C με split flow 10 mL/min. Η θερμοκρασία κατά τη ροή του δείγματος ήταν ρυθμισμένη στους 150 °C. Ο διαχωρισμός των αναλυτών έγινε με μια τριχοειδή στήλη MEGA-5 HT με διαστάσεις 30 m x 0,25 mm εσωτερική διάμετρο και πάχος μεμβράνης 0,25 μm ( MEGA S.r.l., Legnano, Italy). Η στήλη διατηρήθηκε στους 50 °C για 5 λεπτά, αυξήθηκε στους 160 °C με ρυθμό 10 °C/min όπου και διατηρήθηκε για 2 λεπτά και στη συνέχεια αυξήθηκε ξανά στους 310 °C με ρυθμό 5 °C/min όπου και κρατήθηκε για 5 λεπτά. Το ήλιο (99.999% καθαρό) χρησιμοποιήθηκε ως φέρον αέριο με ροή 1,1 mL/min. Οι θερμοκρασίες της παγίδας (trap), manifold, της transfer line και της πηγής ιόντων (ion source) διατηρήθηκαν στους 180, 45, 220 και 200 °C αντίστοιχα. Ο χρόνος έκλουσης της ουσίας ήταν γύρω στα 12,8 min και το μοριακό της βάρος ήταν  $m/z = 162$ .

Με την ίδια διαδικασία προσδιορίστηκαν και τα παραπροϊόντα από τη φωτόλυση των διαλυμάτων νικοτίνης σε υπερκάθαρο νερό με τη μόνη διαφορά ότι το MS είχε ρυθμιστεί σε εύρος σάρωσης από 50 έως 500  $m/z$ .

## 2.7 Περιγραφή μεθόδου φωτοδιάσπασης με τον προσομοιωτή ηλιακής ακτινοβολίας SUNTEST CPS+

Το τελευταίο σετ πειραμάτων πραγματοποιήθηκε στον προσομοιωτή ηλιακής ακτινοβολίας Suntest CPS+. Η πηγή ακτινοβολίας στον προσομοιωτή ήταν μία λάμπα ξένου 1000 W. Η λάμπα ήταν ρυθμισμένη σε ένταση  $650 \text{ W/m}^2$  και η εσωτερική θερμοκρασία του προσομοιωτή διατηρούνταν σταθερή στους  $35^\circ\text{C}$ .



*Εικόνα 13: Προσομοιωτής ηλιακής ακτινοβολίας SUNTEST CPS+(20)*

Η μελέτη της φωτοδιάσπασης στα συγκεκριμένα πειράματα έγινε σε υδατικά εκπλύματα, συγκέντρωσης 10 ppm σε νικοτίνη από χρησιμοποιημένα συμβατικά τσιγάρα και tobacco sticks . 10mL του εκπλύματος τοποθετούνταν σε φιαλίδιο από χαλαζία στον προσομοιωτή κάθε φορά για 30, 60, 120, 260 min. Κατόπιν τα 9mL από το διάλυμα που είχε υποβληθεί σε ακτινοβολία μεταφέρονταν σε φιαλίδια για εκχύλιση με τον ίδιο τρόπο που περιγράφεται στην ενότητα 2.5. Όλα τα πειράματα έγιναν εις διπλούν. Στον Πίνακα 5 φαίνονται αναλυτικά οι παράμετροι που χρησιμοποιήθηκαν ανάλογα τον χρόνο έκθεσης του διαλύματος. Ο υπολογισμός της δόσης έγινε πολλαπλασιάζοντας την ακτινοβολία με τον χρόνο έκθεσης του δείγματος .

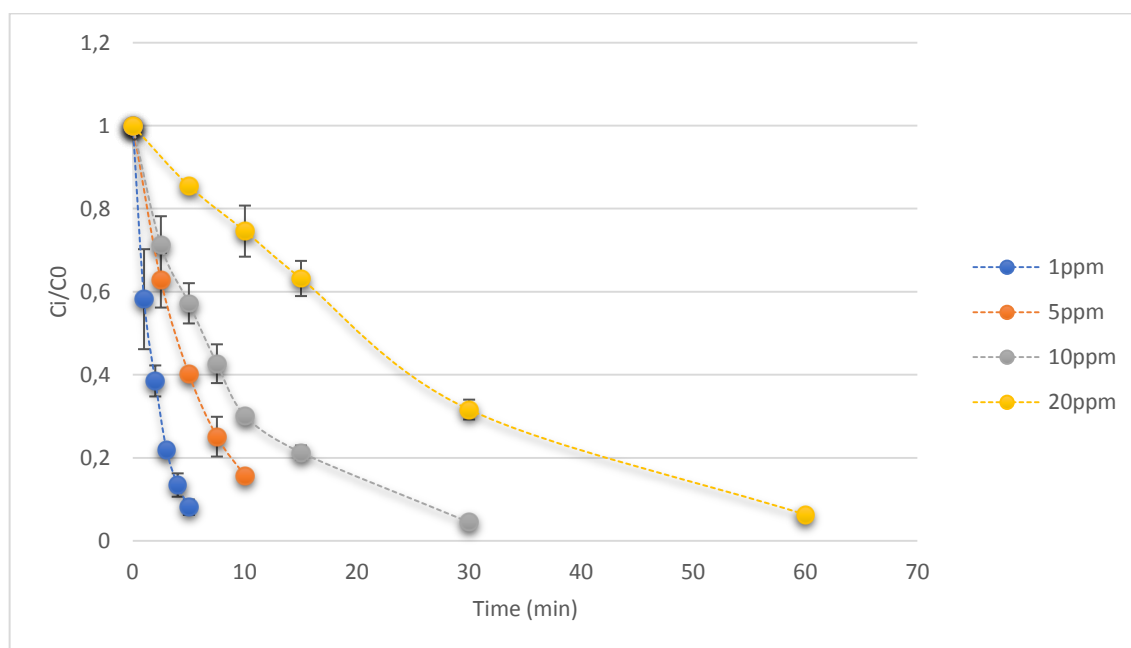
*Πίνακας 5: Συνθήκες φωτόλυσης στον προσομοιωτή ηλιακής ακτινοβολίας*

ΧΡΟΝΟΣ (min)	ΔΟΣΗ (KJ/m <sup>2</sup> )	ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑ (W/m <sup>2</sup> )	ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ (°C)
30	1170	650	35
60	2640	650	35
120	4680	650	35
260	10140	650	35

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

### 3.1 Φωτόλυση νικοτίνης σε υπερκάθαρο νερό και η επίδραση της συγκέντρωσης.

Σε προηγούμενες έρευνες οι οποίες μελετούσαν την έκπλυση της νικοτίνης, πραγματοποιήθηκαν πειράματα προσομοίωσης της βροχής και βρέθηκε ότι η συγκέντρωση της νικοτίνης που εκπλένεται στο νερό που απορρέει κυμαίνεται από 0,62 mg/L με μέγιστη συγκέντρωση τα 11,4 mg/L. Προκειμένου να μελετηθεί η επίδραση της συγκέντρωσης στο ρυθμό φωτοαποδόμησης της νικοτίνης πραγματοποιήθηκε μια σειρά πειραμάτων με διαλύματα διαφορετικών συγκεντρώσεων. Οι τιμές των αρχικών συγκεντρώσεων που μελετήθηκαν ήταν 1, 5, 10 και 20ppm σε υδατική μήτρα υπερκάθαρου νερού. Τα διαλύματα υποβλήθηκαν σε φωτόλυση υπεριώδους ακτινοβολίας με μήκος κύματος 254 nm. Στη συνέχεια για την ανάλυση της νικοτίνης χρησιμοποιήθηκε σύστημα υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης. Η μεταβολή της συγκέντρωσης της νικοτίνης συναρτήσει του χρόνου φαίνεται στο Γράφημα 1.



*Γράφημα 1: Επίδραση της συγκέντρωσης στην άμεση φωτόλυση της νικοτίνης σε υδατική μήτρα υπερκάθαρου νερού.*

Σε όλες τις μελετώμενες περιπτώσεις η φωτόλυση πραγματοποιήθηκε μέχρι την ολοκληρωτική μετατροπή της νικοτίνης αντανakλώντας την καλή επικάλυψη μεταξύ της μέγιστης εκπομπής των 254nm των λαμπτήρων υδραργύρου χαμηλής πίεσης που χρησιμοποιήθηκαν και του φάσματος απορρόφησης της νικοτίνης με μέγιστη τιμή περίπου στα 261nm. Από το γράφημα φαίνεται πως όσο η ουσία εκτίθεται σε ακτινοβολία



η συγκέντρωση της μειώνεται ενώ διαπιστώνεται πως η αύξηση της αρχικής συγκέντρωσης συμβάλει στη μείωση του ρυθμού φωτοαποδόμησης της νικοτίνης. Από την εκθετική μορφή του γραφήματος και γνωρίζοντας πως η αντίδραση φωτοαποδόμησης της νικοτίνης είναι πολύπλοκη θεωρούμε πιθανή κινητική ψευδό-πρώτης τάξης. Η ταχύτητα της αντίδρασης γράφεται ως εξής:

$$r = -\frac{dC_t}{dt} \Rightarrow -k \cdot C_t = \frac{dC_t}{dt} \Rightarrow -k \cdot dt = \frac{dC_t}{C_t} \Rightarrow \int_{C_0}^{C_t} \frac{dC_t}{C_t} = -k \cdot \int_0^t dt \Rightarrow$$

$$\ln \frac{C_t}{C_0} = -k \cdot t \Rightarrow C_t = C_0 \cdot e^{-kt} \quad (1)$$

$$\Rightarrow \ln C_t = \ln C_0 - k \cdot t$$

Όπου:

$C_t$  : η συγκέντρωση της νικοτίνης σε χρόνο  $t$

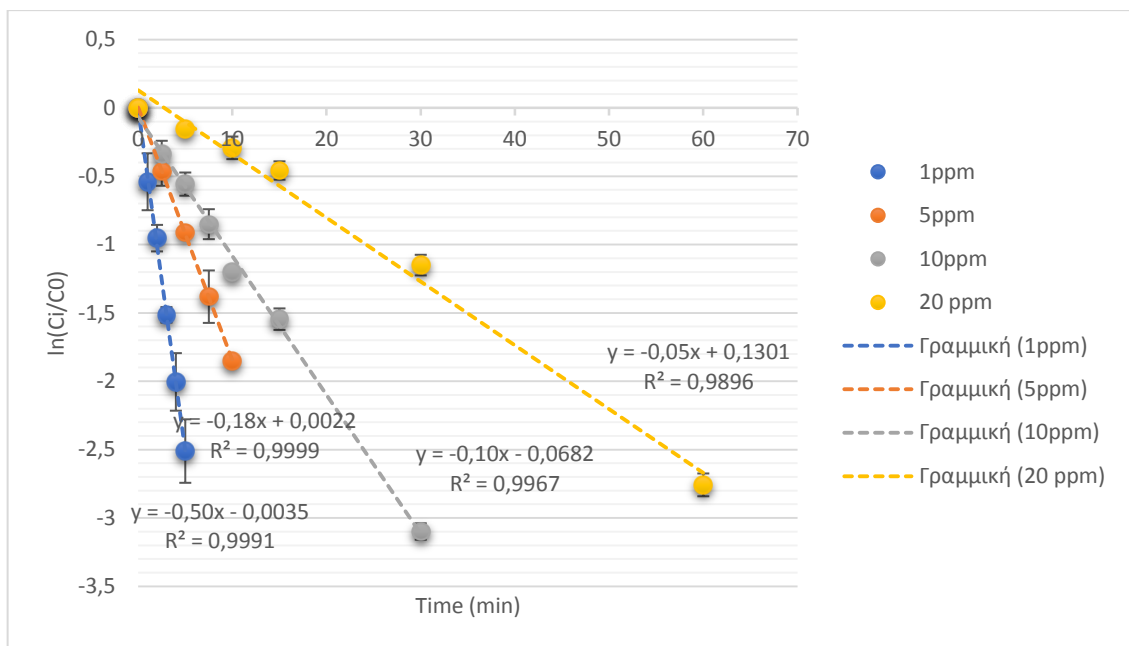
$C_0$  : η αρχική συγκέντρωση της νικοτίνης

$k$  : η κινητική σταθερά της αντίδρασης.

Ο χρόνος ημίσειας ζωής  $t_{1/2}$  αντιστοιχεί στο χρονικό διάστημα που απαιτείται προκειμένου να αντιδράσει το 50% της αρχικής ποσότητας του αντιδρώντος, στη συγκεκριμένη περίπτωση της νικοτίνης. Κάνοντας αντικατάσταση στην εξίσωση (1)  $C_t = \frac{C_0}{2}$  έχουμε ότι:

$$\frac{C_0}{2} = C_0 \cdot e^{-kt_{1/2}} \Rightarrow t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k}$$

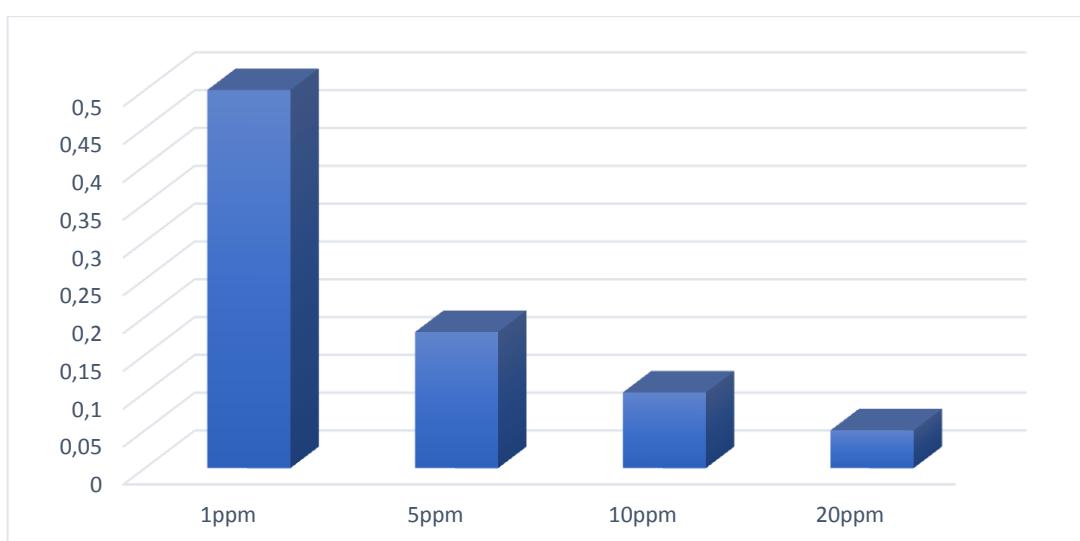
Από το διάγραμμα της μεταβολής του κλάσματος  $\ln \frac{C_t}{C_0}$  συναρτήσει του χρόνου  $t$ , η κλίση της καμπύλης προσδιορίζει την σταθερά  $k$  της αντίδρασης.



**Γράφημα 2:** Κινητική ψευδό-πρώτης τάξης φωτόλυσης της νικοτίνης σε υπερκάθαρο νερό.

**Πίνακας 6:** Σταθερές κινητικής  $k$  – Συντελεστές  $R^2$  - Χρόνοι Ημιζωής (επίδραση συγκέντρωσης)

C (ppm)	K ( $\text{min}^{-1}$ )	$R^2$	$t_{1/2}$ (min)
1	0,50	0,9991	1,39
5	0,18	0,9999	3,85
10	0,10	0,9949	6,93
20	0,05	0,9896	13,86



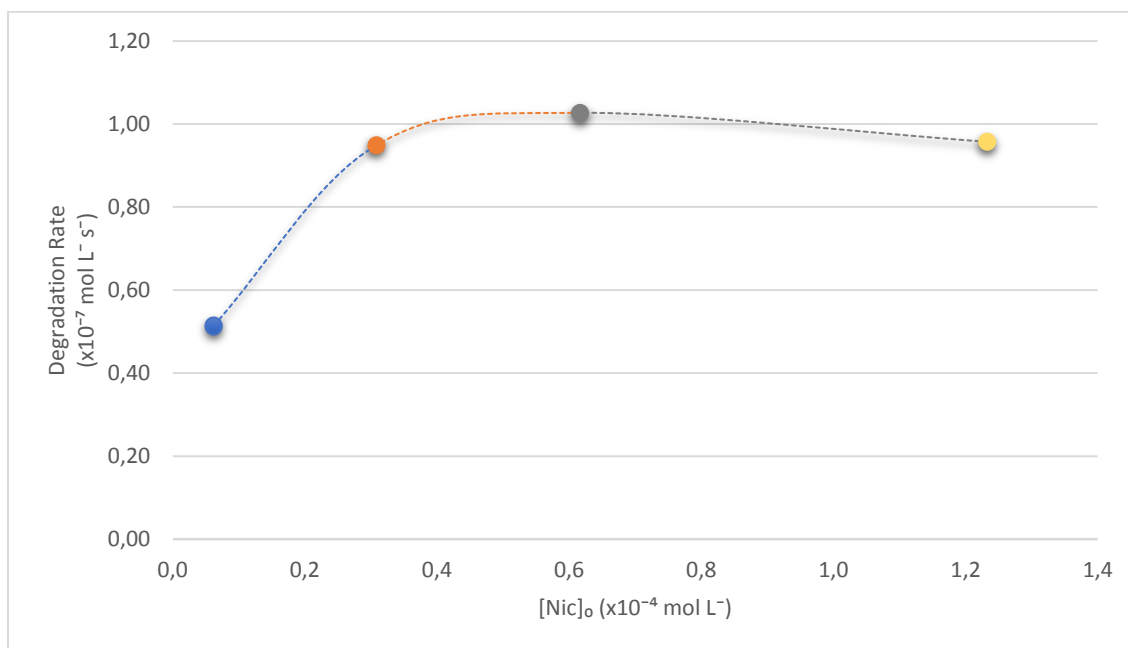
**Γράφημα 3:** Γραφική αναπαράσταση των τιμών  $k$  όπως μεταβάλλονται για τις διαφορετικές συγκεντρώσεις.

Εξετάζοντας τις κινητικές σταθερές που προέκυψαν για κάθε μελετώμενη συγκέντρωση, οι οποίες φαίνονται στον πίνακα 6 και απεικονίζονται γραφικά στο Γράφημα 3, παρατηρούμε πως όσο η συγκέντρωση της νικοτίνης αυξάνεται, τόσο η κινητική σταθερά μειώνεται. Λαμβάνοντας υπόψιν ότι στις αντιδράσεις πρώτης τάξης η κινητική σταθερά είναι ανεξάρτητη της συγκέντρωσης μπορούμε εύκολα να συμπεράνουμε πως η αποδόμηση της νικοτίνης δεν ακολούθησε εντελώς κινητική πρώτης τάξης.

Κατόπιν υπολογίστηκε ο αρχικός ρυθμός αποδόμησης της νικοτίνης σύμφωνα με τον τύπο :

$$R^{\circ}_{\text{NIC}} = k_{\text{NIC}} \cdot [\text{NIC}_0]$$

και κατασκευάστηκε το διάγραμμα του αρχικού ρυθμού αποδόμησης συναρτήσει της συγκέντρωσης (Γράφημα 4).



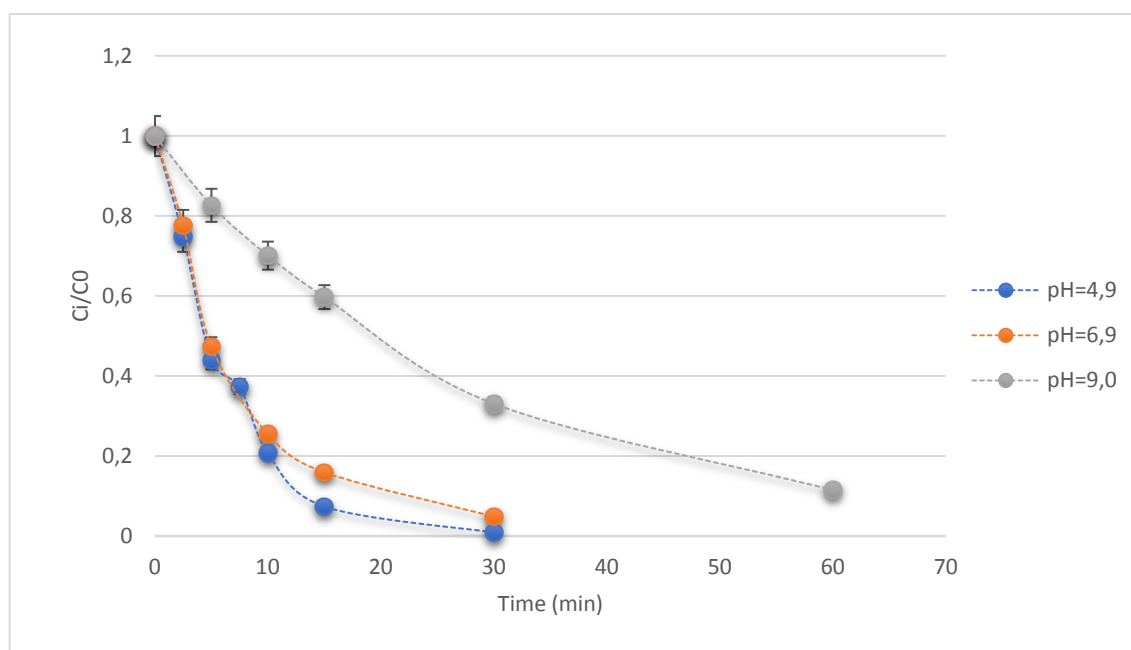
**Γράφημα 4:** Αρχικός ρυθμός αποδόμησης νικοτίνης συναρτήσει της συγκέντρωσης.

Από το προφίλ του γραφήματος 4 παρατηρείται πως αρχικά στις χαμηλές συγκεντρώσεις νικοτίνης ο ρυθμός εξαρτάται από τη συγκέντρωση και πιο συγκεκριμένα παρουσιάζει εκθετική αύξηση. Ωστόσο όσο η αρχική συγκέντρωση της νικοτίνης αυξάνεται ο ρυθμός φωτοαποδόμησης φαίνεται να σταθεροποιείται και να μην επηρεάζεται φτάνοντας σε πλάτο. Σε περιπτώσεις άμεσης φωτόλυσης παρόμοιες συμπεριφορές είναι συνήθεις και προκαλούνται λόγω του κορεσμού απορρόφησης ακτινοβολίας από την ουσία που

φωτολύεται. Δηλαδή στην περίπτωση που εξετάζεται, η νικοτίνη φωτολύθηκε και απορρόφησε την ακτινοβολία μέχρι τον κορεσμό της (24). Θεωρείται λοιπόν πως στις υψηλότερες αρχικές συγκεντρώσεις νικοτίνης η κινητική της αντίδρασης τείνει προς κινητική μηδενικής τάξης στην οποία ο ρυθμός της αντίδρασης είναι ανεξάρτητος της συγκέντρωσης του αντιδρώντος.

### 3.2 Επίδραση του pH στην άμεση φωτόλυση της νικοτίνης

Προκειμένου να μελετηθεί η επίδραση του pH στην φωτοδιάσπαση της νικοτίνης παρασκευάστηκαν τρία διαλύματα – buffer αρχικής συγκέντρωσης 10 ppm σε νικοτίνη με τιμές pH 4.9 , 6.9 , 9 και υποβλήθηκαν σε ακτινοβολία UV<sub>254</sub>. Σε όλα τα υδατικά διαλύματα το pH ελεγχόταν πριν και μετά τη διαδικασία της φωτόλυσης προκειμένου να εξασφαλιστεί ότι δεν υπήρχε αλλαγή στην τιμή του. Στο Γράφημα 5 φαίνεται η επίδραση των διαφορετικών τιμών pH στην ταχύτητα φωτόλυσης της νικοτίνης.

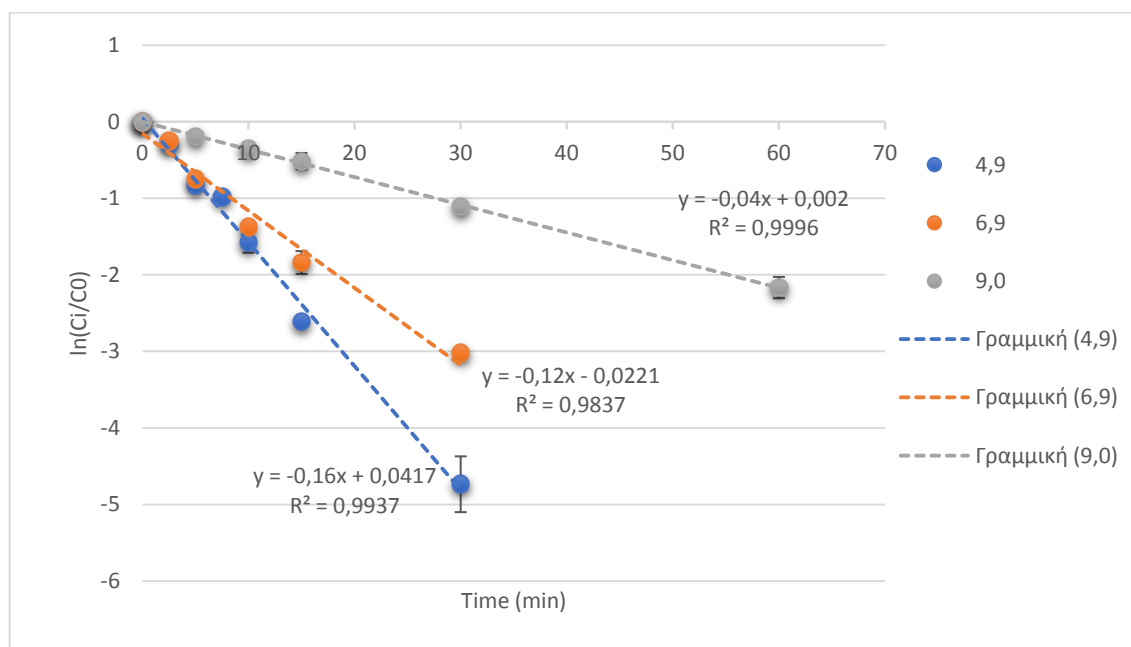


**Γράφημα 5:** Επίδραση του pH στην άμεση φωτόλυση διαλυμάτων νικοτίνης συγκέντρωσης 10ppm.

Τα αποτελέσματα από την μελέτη της επίδρασης του pH αποδεικνύουν ότι η ταχύτητα αποδόμησης εξαρτάται από την τιμή του pH που έχει το εκάστοτε διάλυμα. Παρατηρείται πως η μείωση της τιμής του pH συνεπάγεται την αύξηση του ρυθμού αποδόμησης. Πιο γρήγορη αποδόμηση της νικοτίνης παρατηρείται στις τιμές pH 4,9 και 6,9 όπου έχει διασπαστεί περισσότερο από το 95 % της ουσίας σε τριάντα λεπτά σε αντίθεση με την τιμή pH = 9 όπου στον διπλάσιο χρόνο (60 min) έχει πραγματοποιηθεί διάσπαση της τάξης του 88%.

Η νικοτίνη εμφανίζεται με τρεις μορφές: την μονοπρωτονιωμένη μορφή όπου έχει ένα άτομο υδρογόνου στο μόριό της, τη διπρωτονιωμένη που έχει δύο και την ουδέτερη που δεν έχει κανένα. Σύμφωνα με την βιβλιογραφία πρόκειται για ένα διπρωτικό οξύ με τιμές  $pK_{a1} = 3,37$  και  $pK_{a2} = 8,07$ . Σε τιμές pH μικρότερες του 3,37 η διπρωτονιωμένη μορφή της νικοτίνης κυριαρχεί. Σε τιμές pH μεταξύ 4 και 8,07 η μονοπρωτονιωμένη μορφή είναι η επικρατέστερη ενώ σε τιμές pH μεγαλύτερες του 8,07 η ουδέτερη μορφή είναι αυτή που βρίσκεται σε μεγαλύτερη ποσότητα. Σε παλαιότερη έρευνα φωτοαποδόμησης της νικοτίνης παρουσία  $H_2O_2$ , διεξήχθησαν πειράματα φωτόλυσης σε τιμές pH 1, 5,5 και 11,3 όπου οι τρεις μορφές της νικοτίνης διπρωτονιομένη, μονοπρωτονιωμένη και ουδέτερη κυριαρχούν σε κάθε μία τιμή pH αντίστοιχα. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι είτε η φωτόλυση γίνεται υπό την επίδραση μόνο της UV ακτινοβολίας είτε παρουσία και του  $H_2O_2$  βέλτιστη αποδόμηση πραγματοποιείται στην τιμή pH=5,5 όπου η μονοπρωτονιωμένη μορφή της νικοτίνης κυριαρχεί (28). Τα αποτελέσματα της εργασίας αυτής συμφωνούν απόλυτα με την βιβλιογραφία καθώς στις τιμές pH 4,9 και 6,9 όπου κυριαρχεί η μονοπρωτονιωμένη μορφή της νικοτίνης, παρατηρήθηκε η βέλτιστη αποδόμησης της.

Η αντίδραση ακολούθησε κινητική ψευδό-πρώτης τάξης και μέσω του διαγράμματος  $\ln \frac{C_i}{C_0}$  (Γράφημα 6) προσδιορίστηκαν οι συντελεστές k για κάθε διαφορετική τιμή του pH.

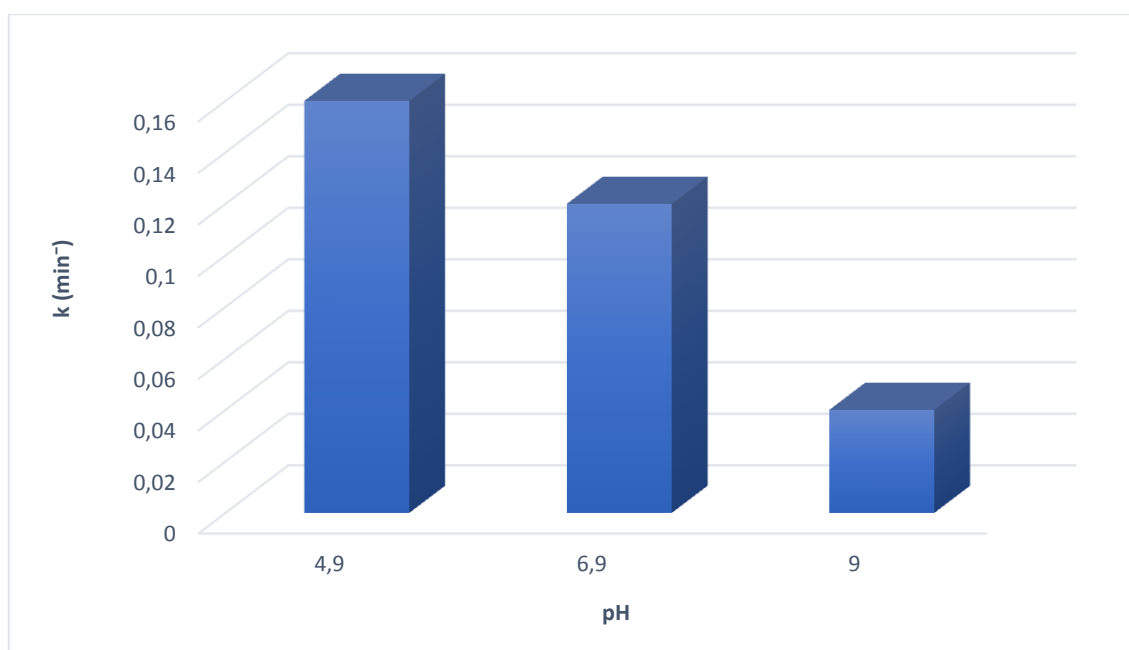


**Γράφημα 6:** Κινητική ψευδό-πρώτης τάξης της φωτόλυσης του υδατικού διαλύματος νικοτίνης συγκέντρωσης 10ppm σε διαφορετικές τιμές pH

Οι συντελεστές  $k$  , οι χρόνοι ημιζωής καθώς και οι συντελεστές παλινδρόμησης  $R^2$  φαίνονται στον Πίνακα 7.

**Πίνακας 7:** Σταθερές κινητικής  $k$  - Συντελεστές  $R^2$  - Χρόνοι ημιζωής (επίδραση του pH)

pH	$k$ ( $\text{min}^{-1}$ )	$R^2$	$t_{1/2}$
4,9	0,16	0,9937	4,33
6,9	0,12	0,9837	5,78
9,0	0,04	0,9996	17,33



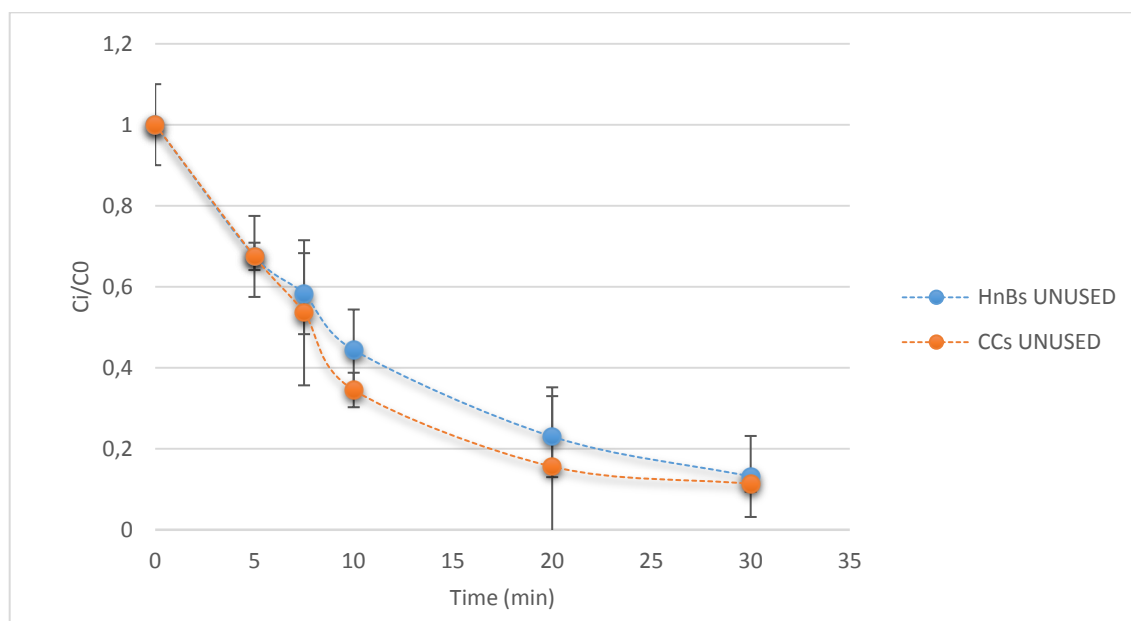
**Γράφημα 7:** Γραφική αναπαράσταση των τιμών  $k$  όπως μεταβάλλονται για τις διαφορετικές τιμές pH

Όσο αυξάνεται το pH, οι τιμές των συντελεστών  $k$  της αντίδρασης μειώνονται ,όπως φαίνονται και από το Γράφημα 7 ,επιβεβαιώνοντας πως στις χαμηλότερες τιμές pH όπου η μονοπρωτονιωμένη μορφή της νικοτίνης είναι αυτή που κυριαρχεί, η αποδόμηση της νικοτίνης γίνεται με πιο γρήγορο ρυθμό συγκριτικά με την μεγαλύτερη τιμή pH.

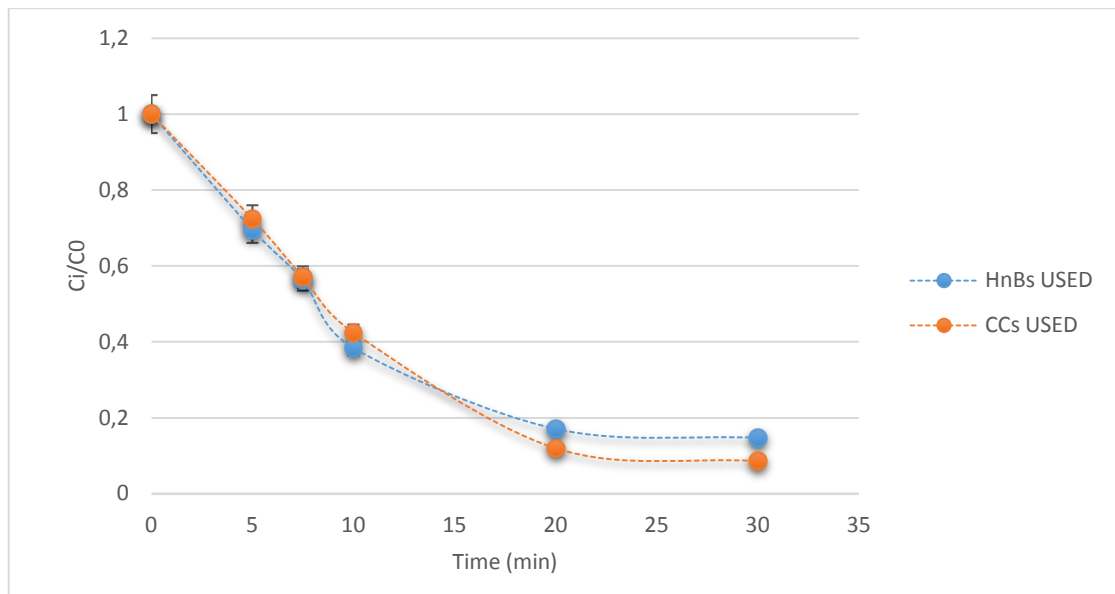


### 3.3 Φωτόλυση νικοτίνης σε εκπλύματα από προϊόντα καπνού

Γνωρίζοντας από έρευνες ότι κατά την επαφή των τσιγάρων με το νερό πολλές ανόργανες και οργανικές ενώσεις, συμπεριλαμβανομένης και της νικοτίνης, εκπλένονται και αποτίθενται στο περιβάλλον καθίσταται σημαντική η μελέτη της νικοτίνης και σε εκπλύματα από προϊόντα καπνού. Προκειμένου να μελετηθεί η συμπεριφορά της σε αντίστοιχα δείγματα παρασκευάστηκαν εκπλύματα από χρησιμοποιημένα και αχρησιμοποιήτα προϊόντα καπνού με αναλογία liquid/solid = 10 L/g. Ύστερα από κατάλληλες αραιώσεις παρασκευάστηκε διάλυμα συγκέντρωσης 10 ppm σε νικοτίνη (pH~6.5 για τα αραιωμένα διαλύματα). Στη συνέχεια το διάλυμα αυτό υποβλήθηκε σε ακτινοβολία UV<sub>254</sub> για προκαθορισμένους χρόνους, συγκεκριμένα για 0, 5, 7.5, 10, 20, 30 λεπτά. Μετά το πέρας των 30 λεπτών ακτινοβολίας παρατηρείται πως η αποδόμηση της νικοτίνης κυμαίνεται γύρω στο 85%. Η μείωση της συγκέντρωσης συναρτήσει του χρόνου φαίνεται στα Γραφήματα 7 και 8.

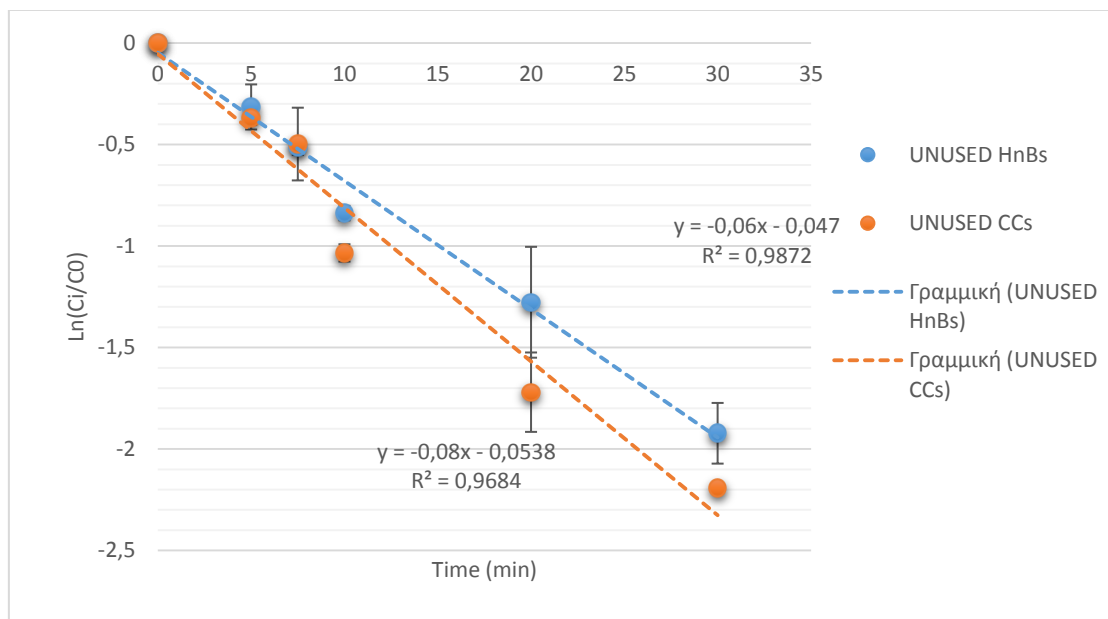


**Γράφημα 8:** Φωτόλυση εκπλυμάτων συγκέντρωσης 10ppm από αχρησιμοποιήτα προϊόντα καπνού.

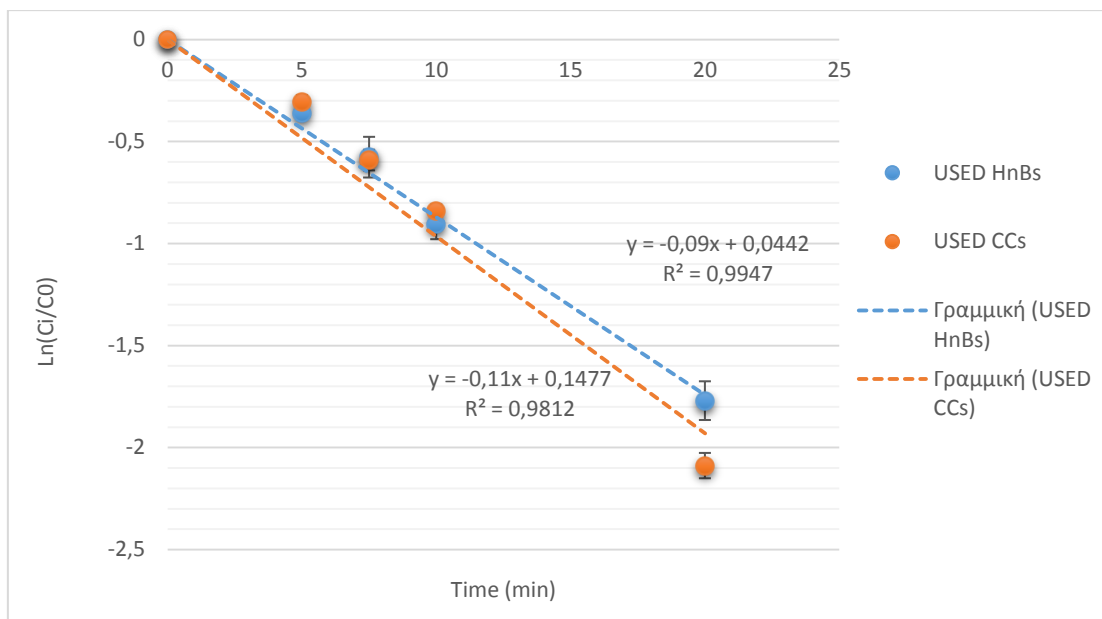


**Γράφημα 9:** Φωτόλυση εκπλυμάτων συγκέντρωσης 10ppm από χρησιμοποιημένα προϊόντα καπνού.

Κατόπιν προσδιορίστηκε η κινητική της αντίδρασης. Παρά την πολυπλοκότητα της μήτρας οι συντελεστές συσχέτισης που προέκυψαν από τα δεδομένα ήταν ικανοποιητικοί καταλήγοντας ότι η αποδόμηση ακολούθησε κινητική ψευδο-πρώτης τάξης όπως και στις προηγούμενες περιπτώσεις. Από τα διαγράμματα  $\ln \frac{C_i}{C_0}$  (Γραφήματα 9 και 10) βρέθηκαν οι συντελεστές  $k$ .



**Γράφημα 10:** Κινητική ψευδο -πρώτης τάξης της φωτόλυσης των εκπλυμάτων από αχρησιμοποίητα προϊόντα καπνού συγκέντρωσης 10ppm



**Γράφημα 11:** Κινητική ψευδο -πρώτης τάξης της φωτόλυσης των εκπλυμάτων από χρησιμοποιημένα προϊόντα καπνού συγκέντρωσης 10ppm.

Οι σταθερές των αντιδράσεων καθώς επίσης οι χρόνοι ημιζωής και οι συντελεστές  $R^2$  φαίνονται στον Πίνακα 8.

**Πίνακας 8:** Σταθερές κινητικής  $k$  –Συντελεστές  $R^2$ · Χρόνοι Ημιζωής (εκπλύματα από προϊόντα καπνού)

10ppm	$k$ (min <sup>-1</sup> )	$R^2$	$t_{1/2}$ (min)
CCs used	0,11	0,9812	6,45
CCs unused	0,08	0,9864	9,12
HnBs used	0,09	0,9947	7,68
HnBs unused	0,06	0,9872	11

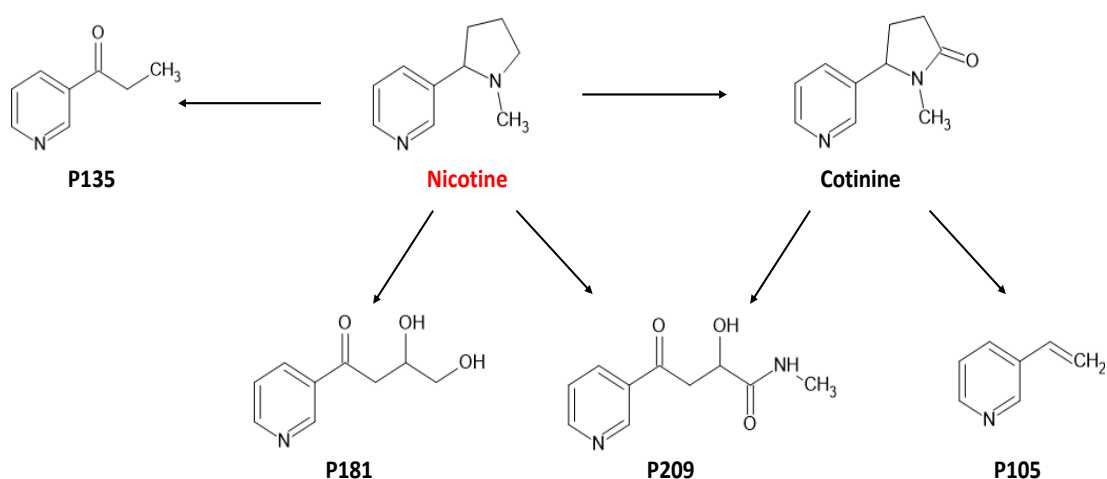
Παρατηρούμε πως η αποδόμηση της νικοτίνης στα εκπλύματα τόσο των χρησιμοποιημένων όσο και των αχρησιμοποίητων προϊόντων καπνού έγινε με βραδύτερη κινητική συγκριτικά με τα διαλύματα υπερκάθαρου νερού . Οι συντελεστές αποδόμησης της νικοτίνης από τα εκπλύματα των προϊόντων καπνού έχουν μικρότερες τιμές συγκριτικά με τον συντελεστή αποδόμησης της νικοτίνης στο υδατικό διάλυμα υπερκάθαρου νερού (pH =6,9  $k$ = 0,12). Επίσης διαφορά παρατηρείται στο ποσοστό αποδόμησης της νικοτίνης όπου στα εκπλύματα κυμαίνεται στο 85% σε σύγκριση με τη μήτρα υπερκάθαρου νερού όπου η απομάκρυνση φτάνει το 95 % της αρχικής συγκέντρωσης. Το γεγονός αυτό είναι αναμενόμενο και οφείλεται στην πολυπλοκότητα των της μήτρας των πρώτων συγκριτικά με το υπερκάθαρο νερό. Πιο συγκεκριμένα κατά

την έκπλυση των τσιγάρων, πλήθος ουσιών οργανικών και ανόργανων όπως μέταλλα, πολυκυκλικοί αρωματικοί υδρογονάνθρακες και ραδιοϊσότοπα [17] εκπλένονται μαζί με την νικοτίνη. Δεδομένου ότι η νικοτίνη αποτελεί ένα μικρό ποσοστό των οργανικών ουσιών στο έκπλυμα, μπορεί να θεωρηθεί ότι οι υπόλοιπες ουσίες απορροφούν μεγάλο μέρος του φωτός μειώνοντας έτσι την ποσότητα της ακτινοβολίας για την άμεση φωτόλυση της νικοτίνης με αποτέλεσμα αυτή να διασπάται με πιο αργό ρυθμό [25].

### 3.4 Παραπροϊόντα φωτόλυσης νικοτίνης

Ο μηχανισμός αποδόμησης της νικοτίνης είναι ιδιαίτερα περίπλοκος. Σε συνέχεια της έρευνας που διεξήχθη έγινε διερεύνηση των παραπροϊόντων που δημιουργούνται από την φωτοαποδόμηση της μελετώμενης ουσίας ύστερα από την έκθεσή της σε ακτινοβολία UV<sub>254</sub>. Η ταυτοποίηση των προϊόντων έγινε με την ανάλυση των ακτινοβολημένων δειγμάτων τόσο στην υγρή χρωματογραφία HPLC αλλά και στο TD-GC/ITMS. Ωστόσο δεν ήταν δυνατός ο προσδιορισμός όλων των παραπροϊόντων είτε λόγω της συνέκλωσης αυτών με άλλα παραπροϊόντα είτε επειδή ήταν ισομερή τα οποία δεν μπορούσαν να ταυτοποιηθούν.

Ένα από τα παραπροϊόντα που ταυτοποιήθηκαν κατά τις αναλύσεις στο LC-MS με  $[M-H]^+ = 177$  m/z ήταν η κοτινίνη [1-methyl-5-(3-pyridinyl)-2] η οποία αποτελεί τον κύριο και πιο ισχυρό μεταβολίτη της νικοτίνης. Η κοτινίνη είναι ένας πολύτιμος βιοδείκτης ο οποίος χρησιμοποιείται για μελέτες σχετικά με την συνήθεια του καπνίσματος καθώς και την παθητική έκθεση στο τσιγάρο [38]. Η νικοτίνη στα υδάτινα περιβάλλοντα βιοαποικοδομείται σχηματίζοντας την κοτινίνη, η οποία δύναται να σχηματιστεί και μέσω της οξόνωσης, της οξειδωσης OH καθώς και κατά την έμμεση φωτόλυση της νικοτίνης σε δείγματα αποβλήτων [25, 26]. Σε παλαιότερες έρευνες έχει αναφερθεί ότι κατά τη φωτόλυση της κοτινίνης παρουσία TiO<sub>2</sub> σχηματίζεται η 3-ethenylpyrine (P105) [27] με μοριακό βάρος 105 g/mol, ουσία η οποία ταυτοποιήθηκε και στα πειράματα της έρευνας. Θεωρούμε λοιπόν ότι κατά την άμεση φωτόλυση η νικοτίνη οξειδώθηκε σε κοτινίνη και αυτή με τη σειρά της μετασχηματίστηκε σε 3-ethenylpyrine. Τέλος εκτός των παραπροϊόντων που προαναφέρθηκαν ταυτοποιήθηκαν με χρήση του LC-MS τα P135 (C<sub>8</sub>H<sub>9</sub>NO), P181 (C<sub>9</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>3</sub>) και P209 (C<sub>10</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) στα  $[M-H]^+ = 136, 182$  και  $209$  m/z αντίστοιχα, τα οποία έχουν ανιχνευτεί και σε πειράματα έμμεσης φωτόλυσης νικοτίνης σε υγρά απόβλητα [25]. Στον Πίνακα 9 φαίνονται όλα τα παραπροϊόντα με τους χρόνους κατακράτησης και τα ιόντα ταυτοποίησης τους.



**Εικόνα 14:** Μετασχηματισμός νικοτίνης με βάση τα παραπροϊόντα που ανιχνεύθηκαν

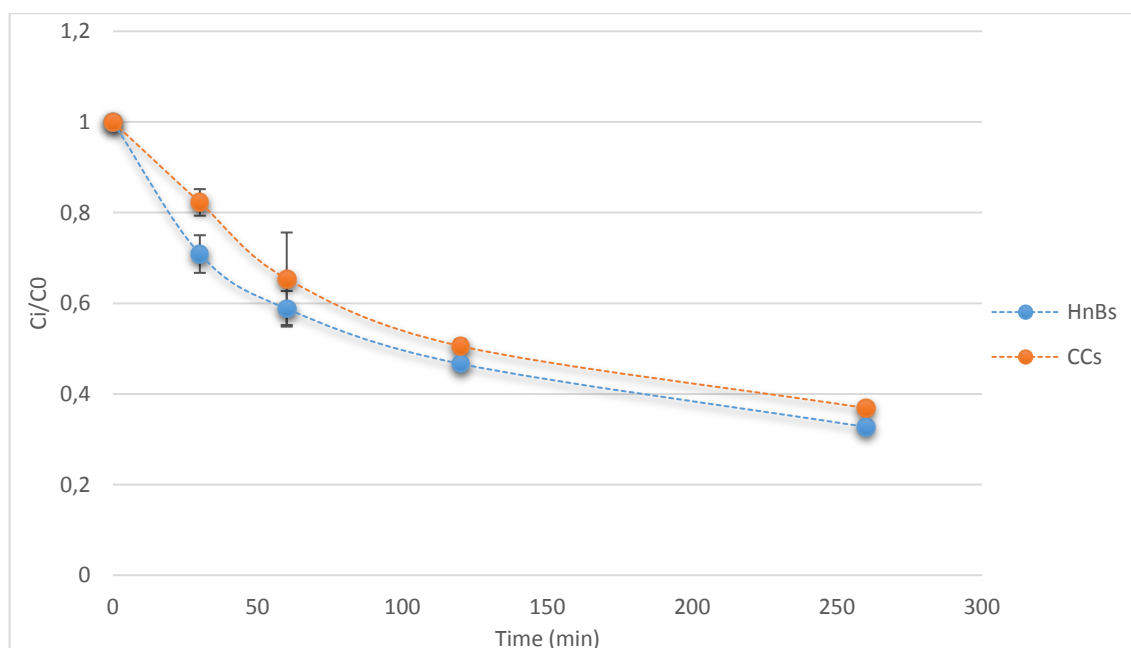
**Πίνακας 9:** Παραπροϊόντα φωτοαποδόμησης της νικοτίνης, χρόνοι κατακράτησης και προϊόντα ταυτοποίησης

Χρόνοι κατακράτησης (min)				
Ενώσεις	LC/MS	TD-GC/ITMS	Identification Ions	Tentative Identification
Νικοτίνη	1,592	14,310	163 (LC/MS) 161,133, 84 (TD-GC/ITMS)	
Κοτινίνη	1,409	-	177	Κοτινίνη
P105	-	7,347	105,78,51	3-ethenylpyridine
P135	4,590	-	136	3-Propionylperazine
P181	1,046	-	182,163	3, 4-Dihydroxy-1-(pyridin-3-yl)butan-1-one
209	1,087	-	210,182,163	2-Hydroxy-N-methyl-4-oxo-4-(pyridin-3-yl)butanamide

### 3.5 Φωτόλυση νικοτίνης με προσομοιωτή ηλιακής ακτινοβολίας σε εκπλύματα χρησιμοποιημένων προϊόντων καπνού

Παλαιότερες έρευνες φωτοαποδόμησης της νικοτίνης κάτω από συνθήκες προσομοιωμένης ηλιακής ακτινοβολίας έδειξαν ότι η άμεση φωτόλυσή της ήταν αμελητέα και ιδιαίτερα αργή. Η μικρή επικάλυψη της υπεριώδους ακτινοβολίας μεταξύ της μέγιστης απορρόφησης της νικοτίνης και του φάσματος της ηλιακής ακτινοβολίας ευθύνονται για το γεγονός αυτό. Αντίθετα στην ίδια μελέτη η φωτοαποδόμηση της νικοτίνης σε υγρά απόβλητα κάτω από τις ίδιες συνθήκες φάνηκε να είναι πιο αποτελεσματική [25].

Στην σειρά αυτή των πειραμάτων αραιωμένα εκπλύματα χρησιμοποιημένων τσιγάρων και tobacco sticks ,συγκέντρωσης 10 ppm εκτέθηκαν σε προσομοιωμένη ηλιακή ακτινοβολία για προκαθορισμένους χρόνους έως και 260 λεπτά. Παρατηρήθηκε ότι μετά από αυτό το χρονικό διάστημα περίπου το 60% της αρχικής ποσότητας της νικοτίνης είχε αποδομηθεί τόσο στα εκπλύματα των συμβατικών τσιγάρων όσο και σε αυτά των tobacco sticks. Η μεταβολή της συγκέντρωσης συναρτήσει του χρόνου φαίνεται στο Γράφημα 11.



*Γράφημα 12: Έμμεση φωτόλυση νικοτίνης υπό την επίδραση προσομοιωμένης ηλιακής ακτινοβολίας.*

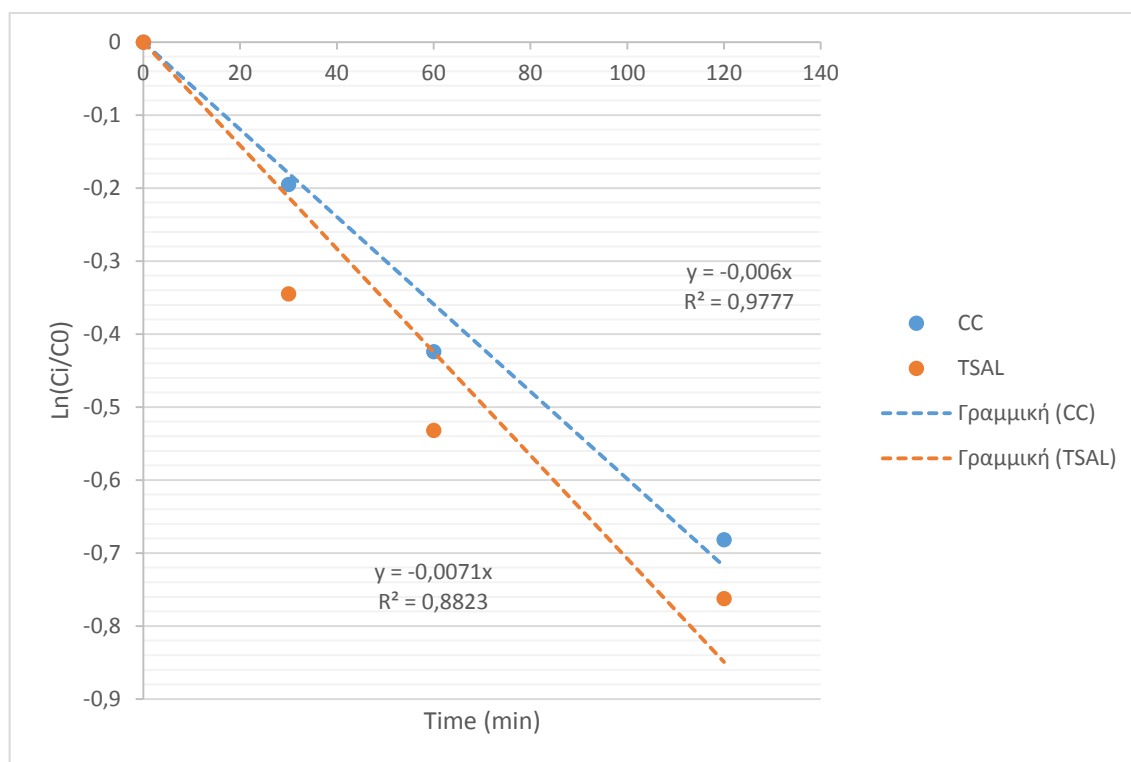
Και στις δύο αυτές περιπτώσεις η αποδόμηση της νικοτίνης ακολούθησε κινητική ψευδο-πρώτης τάξης και μέσω του διαγράμματος  $\ln \frac{C_i}{C_0}$  προσδιορίστηκαν οι κινητικές σταθερές των αντιδράσεων αποδόμησης (Γράφημα 12) . Ανάμεσα στα δύο είδη καπνού δεν



υπάρχει ουσιαστική διαφορά στη ταχύτητα της αντίδρασης όπως αποδεικνύεται και από τους συντελεστές  $k$  με τιμές  $0,36 \text{ h}^{-1}$  ( $0,006 \text{ min}^{-1} * 60 \frac{\text{min}}{\text{hour}}$ ) και  $0,43 \text{ h}^{-1}$  ( $0,0071 \text{ min}^{-1} * 60 \frac{\text{min}}{\text{hour}}$ ) για συμβατικά τσιγάρα και tobacco sticks αντίστοιχα. Η ταυτοποίηση των παραπροϊόντων στα συγκεκριμένα πειράματα δυστυχώς δεν ήταν εφικτή καθώς τα πιθανά παραπροϊόντα της φωτοαποδόμησης συνεκλούονταν, καθιστώντας αδύνατη την ποιοτική τους ανίχνευση.

**Πίνακας 10:** Σταθερές κινητικής  $k$  – Συντελεστές  $R^2$  - Χρόνοι Ημιζωής (έμμεση φωτόλυση)

10ppm	$k \text{ (h}^{-1}\text{)}$	$R^2$	$t_{1/2} \text{ (h)}$
CCs USED	0,36	0,9777	1.93
HnBs USED	0,43	0,8823	1.61



**Γράφημα 13:** Κινητική ψευδο-πρώτης τάξης έμμεσης φωτόλυσης της νικοτίνης υπό την επίδραση προσομοιωμένης ηλιακής ακτινοβολίας.

Η έμμεση φωτόλυση υπό την επίδραση της ηλιακής ακτινοβολίας είναι μια διαδικασία η οποία απαντάται στη φύση. Η διαλυμένη οργανική ύλη (Dissolved Organic Matter) η οποία συναντάται στα επιφανειακά νερά είναι ικανή να αναστείλει την άμεση φωτόλυση μιας ουσίας. Ωστόσο τα χρωμοφόρα τμήματα της διαλυμένης οργανικής ύλης (CDOM)

μπορούν να λειτουργήσουν ως ευαισθητοποιητές πυροδοτώντας την έμμεση φωτοαποδόμηση των ρύπων του νερού. Όταν η CDOM απορροφά ηλιακό φως σχηματίζονται τα Photochemically Produced Reactive Intermediates (PPRIs) τα σημαντικότερα εκ των οποίων είναι: οι ρίζες υδροξυλίου  $OH^\cdot$ , οι ανθρακικές ρίζες  $CO_3^\cdot$ , excited triplet states of organic matter (3CDOM) καθώς και το μόριο του οξυγόνου  $O_2$ . Αυτά αντιδρούν με τους ρύπους του νερού προκαλώντας την αποδόμηση τους [31]. Μέσω αυτής της σειράς των πειραμάτων αποδεικνύεται λοιπόν η σημασία της έμμεσης φωτόλυσης κάτω από συνθήκες ηλιακής ακτινοβολίας .

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Πλήθος ερευνών αποδεικνύουν τις αρνητικές επιπτώσεις της αλόγιστης απόρριψης των προϊόντων καπνού στο περιβάλλον. Σύμφωνα με την Οδηγία της Ευρωπαϊκής Ένωσης 2019/904, σχετικά με τη μείωση των επιπτώσεων που έχουν συγκεκριμένα πλαστικά προϊόντα στο περιβάλλον, τα προϊόντα καπνού με φίλτρα τα οποία περιέχουν πλαστικό χαρακτηρίστηκαν ως πλαστικά μιας χρήσης. Κάθε αποτοσίγαρο όταν έρχεται σε επαφή με το νερό εκπλύνεται ελευθερώνοντας ένα τοξικό μίγμα ουσιών στο οποίο συμπεριλαμβάνεται και η νικοτίνη. Σε αυτήν την εργασία εξετάστηκε η φωτόλυση της νικοτίνης υπό την επίδραση της UV<sub>254</sub> αλλά και της ηλιακής ακτινοβολίας. Χρησιμοποιήθηκαν δύο διαφορετικές υδατικές μήτρες: υπερκάθαρο νερό αλλά και εκπλύματα από χρησιμοποιημένα και αχρησιμοποιητά προϊόντα καπνού. Η άμεση φωτόλυση υπό την επίδραση της UV<sub>254</sub> ακτινοβολίας αποδεικνύεται να είναι μια αποτελεσματική μέθοδος αποδόμησης της νικοτίνης. Κατά τη φωτοδιάσπασή της, η εν λόγω ουσία βρέθηκε να ακολουθεί κινητική ψευδό-πρώτης τάξης στις πιο χαμηλές συγκεντρώσεις τείνοντας σε κινητική μηδενικής τάξης σε πιο πυκνά υδατικά δείγματα. Κατόπιν μελετήθηκε η επίδραση του pH στην φωτοαποδόμηση της νικοτίνης και βέλτιστες συνθήκες ήταν αυτές κοντά σε πιο ουδέτερες τιμές pH στις οποίες η μονοπρωτονιωμένη μορφή της νικοτίνης κυριαρχεί. Από τη φωτοδιάσπαση της μελετώμενης ουσίας στα εκπλύματα των προϊόντων καπνού με χρήση UV<sub>254</sub> ακτινοβολίας παρατηρήθηκε ότι, η κινητική αποδόμησης στα εκπλύματα πραγματοποιήθηκε με πιο αργό ρυθμό, συγκριτικά με την αποδόμηση στα δείγματα υπερκάθολου νερού γεγονός που οφείλεται στην πολυπλοκότητα της μήτρας. Ταυτοποιήθηκαν πέντε παραπροϊόντα με τη βοήθεια της υγρής και αέριας χρωματογραφίας σε συνδυασμό με φασματομετρία μάζας, τα οποία είχαν ανιχνευθεί και σε παλαιότερες έρευνες φωτόλυσης της νικοτίνης κάτω από προσομοιωμένη ηλιακή ακτινοβολία. Περαιτέρω πειράματα φωτοαποδόμησης της νικοτίνης πραγματοποιήθηκαν σε εκπλύματα χρησιμοποιημένων προϊόντων καπνού υπό συνθήκες προσομοίωσης του ήλιου και υπογράμμισαν την σημασία της έμμεσης φωτόλυσης σε πραγματικές συνθήκες.

Η τεράστια κατανάλωση προϊόντων καπνού και η αλόγιστη εναπόθεσή τους αποτελεί σημαντική πηγή ρύπανσης στα επιφανειακά νερά και τα υδάτινα οικοσυστήματα. Είναι ζωτικής σημασίας λοιπόν να ενισχυθεί η ενημέρωση των καταναλωτών για τις αρνητικές επιπτώσεις της απόρριψης των αποτοσίγαρων σε δημόσιους χώρους αλλά και να γίνει λήψη κατάλληλων μέτρων από το κράτος για τον περιορισμό του προβλήματος.

## **BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ**

- (1) <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Nicotine>
- (2) [http://195.134.76.37/chemicals/chem\\_nicotine.htm](http://195.134.76.37/chemicals/chem_nicotine.htm)
- (3) <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/source/hsdb/1107#section=Color-Form>
- (4) [https://www.researchgate.net/publication/274663401\\_How\\_and\\_why\\_chemicals\\_from\\_tobacco\\_smoke\\_can\\_induce\\_a\\_rise\\_in\\_blood\\_pressure#pf2](https://www.researchgate.net/publication/274663401_How_and_why_chemicals_from_tobacco_smoke_can_induce_a_rise_in_blood_pressure#pf2)
- (5) <https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/n3876?lang=en&region=GR>
- (6) M.C.B. Araújo, M.F. Costa, A critical review of the issue of cigarette butt pollution in coastal environments, *Environ. Res.* 172 (2019) 137–149.  
doi:10.1016/j.envres.2019.02.005.
- (7) A.L. Roder Green, A. Putschew, T. Nehls, Littered cigarette butts as a source of nicotine in urban waters, *J. Hydrol.* 519 (2014) 3466–3474.  
doi:10.1016/j.jhydrol.2014.05.046.
- (8) Armendariz C. R., Garcia T., Soler A., Fernández Á. J. G., Glez-Weller D. González G. L., A. Hardisson de la Torre, Gironés, C. R, Heavy metals in cigarettes for sale in Spain, *Environmental research*, 2015, 143: 162-169, doi: 10.1016/j.envres.2015.10.003
- (9) Gideon H. St., Jacob III P., Nardone N., Benowitz N. L., IQOS: examination of Philip Morris International's claim of reduced exposure, *Tobacco Control*, 2018, 27.Suppl 1: s30-s36, doi:10.1136/tobaccocontrol-2018-054321
- (10) <https://www.fda.gov>
- (11) Kauneliene V., Meišutovič-Akhtarjeva M., Martuzevičius D., A review of the impacts of tobacco heating system on indoor air quality versus conventional pollution sources, *Chemosphere*, 2018, 206: 568-578, doi: 10.1016/j.chemosphere.2018.05.039
- (12) Ruprecht A. A., De Marco C., Saffari A., Pozzi P., Mazza R., Veronese C. Angellotti G., Munarini E., Ogliari A. C., Westerdahl D., Hasheminassab S., Shafer M. M., Schauer J. J., Repace J., Sioutas C., Boffi R., Environmental pollution and emission factors of electronic cigarettes, heat-not-burn tobacco products, and conventional cigarettes, *Aerosol science and technology*, 2017, 51.6: 674-684, doi:10.1080/02786826.2017.1300231

- (13)** Schaller J. P., Keller D., Poget L., Pratte P., Kaelin E, McHugh D., Cudazzo G., Smart D., Tricker A. R., Gautier L., Yerly M., Pires R. R., Bouhellec S. L., Ghosh D., Hofer I., Garcia E., Vanscheeuwijck P., Maeder S., Evaluation of the Tobacco Heating System 2.2. Part 2: Chemical composition, genotoxicity, cytotoxicity, and physical properties of the aerosol. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 2016, 81: S27- S47, doi:10.1016/j.yrtph.2016.10.001.
- (14)** Goniewicz, M. (2019). IBS11.01 Electronic Cigarettes and Heat-Not-Burn Tobacco Products — How Are They Different. *Journal of Thoracic Oncology*, 14(10), S101. doi:10.1016/j.jtho.2019.08.221
- (15)** James G. Speight, *Reaction Mechanisms in Environmental Engineering*, 2018
- (16)** Γατίδου Γ., (2005), Ανάπτυξη μεθόδων βιοκτόνων ουσιών των υφαλοχρωμάτων, Μελέτη της τοξικότητας τους και ανίχνευσή τους στο περιβάλλον, Διδακτορική Διατριβή, Τμήμα Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο Αιγαίου, Μυτιλήνη
- (17)** N. Koutela, E. Fernández, M.-L.L. Saru, E. Psillakis, A comprehensive study on the leaching of metals from heated tobacco sticks and cigarettes in water and natural waters, *Sci. Total Environ.* 714 (2020) 136700. doi:10.1016/j.scitotenv.2020.136700.
- (18)** <https://repository.kallipos.gr>
- (19)** I.J. Buerge, M. Kahle, H.R. Buser, M.D. Müller, T. Poiger, Nicotine derivatives in wastewater and surface waters: Application as chemical markers for domestic wastewater, *Environ. Sci. Technol.* 42 (2008) 6354–6360. doi:10.1021/es800455q.
- (20)** [https://www.researchgate.net/figure/SUNTEST-CPS-Xenon-Test-Instrument-used-to-evaluate-phototransformation-of-NTO-and-DNAN\\_fig8\\_281626244](https://www.researchgate.net/figure/SUNTEST-CPS-Xenon-Test-Instrument-used-to-evaluate-phototransformation-of-NTO-and-DNAN_fig8_281626244)
- (21)** Scott M. Rawls, Tanvi Patil, Christopher S. Tallarida, Steven Baron ,Myongji Kim, Kevin Song, Sara Ward, Robert B. Raffa(2011) Nicotine behavioral pharmacology: Clues from planarians. *Drug and Alcohol Dependence*, doi: 10.1016/j.drugalcdep.2011.04.001
- (22)** Montalvão M. F., Chagas T. Q., da Silva Alvarez T. G., Mesak C., da Costa Araújo A. P., Rodrigues Gomes A., de Andrade Vieira J. E., Rocha T. L., Malafaia G., Cigarette butt leachate as a risk factor to the health of freshwater bivalve, *Chemosphere*, doi:10.1016/j.chemosphere.2019.06.100
- (23)** Novotny, T. E., & Slaughter, E. (2014). Tobacco Product Waste: An Environmental Approach to Reduce Tobacco Consumption. *Current Environmental Health Reports*, 1(3), 208–216. doi:10.1007/s40572-014-0016-x

- (24) E. Kourouniotti, E. Psillakis, D. Vione, UV-induced transformation of 2,3-dibromo-5,6-dimethyl-1,4-benzoquinone in water and treated wastewater, *Environ. Res.* 175 (2019) 343–350. doi:10.1016/j.envres.2019.05.018.
- (25) L. Lian, S. Yan, B. Yao, S.A. Chan, W. Song, Photochemical Transformation of Nicotine in Wastewater Effluent, *Environ. Sci. Technol.* 51 (2017) 11718–11730. doi:10.1021/acs.est.7b03223.
- (26) C. Medana, V. Santoro, F.D. Bello, C. Sala, M. Pazzi, M. Sarro, P. Calza, Mass spectrometric fragmentation and photocatalytic transformation of nicotine and cotinine, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 30 (2016) 2617–2627. Doi:10.1002/rcm.7758
- (27) E. Adamek, M. Goniewicz, W. Baran, A. Sobczak, The Study on the Photocatalytic Degradation of Nicotine, *J. Res. Dev. Chem.* 2015 (2015) 1–5 doi:10.5171/2015.157781.
- (28) A.M. Nienow, I. Hua, I.C. Poyer, J.C. Bezares-Cruz, C.T. Jafvert, Multifactor statistical analysis of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-enhanced photodegradation of nicotine and phosphamidon, *Ind. Eng. Chem. Res.* 48 (2009) 3955–3963. doi:10.1021/ie801311f.
- (29) <https://eclass.upatras.gr>
- (30) Ψυλλάκη, Ελευθερία. Σημειώσεις μαθήματος "Έλεγχος Ρύπανσης Νέρων".
- (31) Carena, L., Fabbri, D., Passananti, M., Minella, M., Pazzi, M., & Vione, D. (2019). The role of direct photolysis in the photodegradation of the herbicide bentazone in natural surface waters. *Chemosphere* 125705. doi:10.1016/j.chemosphere.2019.125705
- (32) <https://eclass.uniwa.gr>
- (33) R. Sleeman, J.F. Carter, *Encyclopedia of analytical science*, Second Edition
- (34) Mariana M. Delorme, Jonas T. Guimarães, Nathalia M. Coutinho, Celso F. Balthazar, Ramon S. Rocha, Ramon Silva, Larissa P. Margalho, Tatiana C. Pimentel, Marcia C. Silva, Monica Q. Freitas, Daniel Granato, Anderson S. Sant'Ana, Maria Carmela K.H. Duarte, Adriano G. Cruz, Ultraviolet radiation: An interesting technology to preserve quality and safety of milk and dairy foods. *Trends in Food Science & Technology*. doi:10.1016/j.tifs.2020.06.001
- (35) Parsons, S., 2004. *Advanced Oxidation Processes for Water and Wastewater Treatment*, IWA Publishing, London, UK



- (36)** Migaku Kawaguchi, Rielto ,Koichi Saito, Hiroyuki Nakazawa, Novel stir bar sorptive extraction methods for environmental and biomedical analysis, Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2005.08.029>
- (37)** Ιωάννης Γεντεκάκης, Φυσικές Διεργασίες Ανάλυση και Σχεδιασμός ,Εκδόσεις Κλειδάριθμος
- (38)** C. Medana, V. Santoro, F.D. Bello, C. Sala, M. Pazzi, M. Sarro, P. Calza, Mass spectrometric fragmentation and photocatalytic transformation of nicotine and cotinine, Rapid Commun. Mass Spectrom. 30 (2016) 2617–2627. doi:10.1002/rcm.7758.
- (39)** I. Senta, E. Gracia-Lor, A. Borsotti, E. Zuccato, S. Castiglioni, Wastewater analysis to monitor use of caffeine and nicotine and evaluation of their metabolites as biomarkers for population size assessment, Water Res. 74 (2015) 23–33. doi:10.1016/j.watres.2015.02.002.