

ΦΩΤΟΛΥΤΙΚΗ ΤΥΧΗ ΤΩΝ ΠΑΡΑΒΕΝΙΩΝ ΣΕ
ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΑ ΥΔΑΤΙΚΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ

Αρωνιάδα Γεωργία

ΤΜΗΜΑ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

Επιβλέπουσα Καθηγήτρια :

Αναπλ. Καθηγήτρια Ελευθερία Ψυλλάκη

Μέλη της Επιτροπής:

Καθηγητής Διονύσιος Μαντζαβίνος

Δρ. Κωνσταντίνα Τυροβολά

Σεπτέμβριος 2010

Ευχαριστίες

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την επιβλέπουσα Αναπλ. Καθηγήτρια Ελευθερία Ψυλλάκη, για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε καθώς και για την βοήθειά και καθοδήγησή της καθ' όλη τη διάρκεια της συνεργασίας μας για την υλοποίηση της διπλωματικής μου. Θα ήθελα επίσης να απευθύνω της ευχαριστίες μου στα υπόλοιπα μέλη της επιτροπής, τον Καθηγητή Διονύσιο Μαντζαβίνο και την Δρ. Κωνσταντίνα Τυροβολά.

Ένα μεγάλο ευχαριστώ επίσης οφείλω στην Κωνσταντίνα Τσουρουνάκη, για την πολύτιμη βοήθειά της κατά την διεξαγωγή της έρευνας και στην Κεράσα Βούλγαρη για την ηθική και ψυχολογική υποστήριξη. Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω θερμά τους γονείς μου οι οποίοι στήριξαν τις σπουδές μου με διάφορους τρόπους τα τελευταία χρόνια.

Περίληψη

Τα παραβένια (parabens) είναι μια ομάδα αλκυλοεστέρων του πάρα-υδροξυβενζοϊκού οξέος, που εξαιτίας των αντιμικροβιακών και αντιμυκητιακών ιδιοτήτων τους σε συνδυασμό με τη χαμηλή τοξικότητά τους και τη σταθερότητά τους, χρησιμοποιούνται εδώ και πολλά χρόνια ως πρόσθετα σε φαρμακευτικά και καλλυντικά προϊόντα αλλά και ως συντηρητικά τροφίμων. Η συνεχής χρήση τους σε προϊόντα καθημερινής κατανάλωσης προκαλεί ανησυχίες για της πιθανές επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία και την πανίδα.

Τέτοιες ουσίες εισέρχονται στα περιβαλλοντικά ύδατα κυρίως μέσω των αστικών αποβλήτων. Τα παραβένια έχουν ανιχνευθεί σε επιφανειακά περιβαλλοντικά δείγματα αλλά υπάρχει και η δυνατότητα μεταφοράς τους στο πόσιμο νερό λόγω ανεπαρκούς αποδόμησής τους από της συμβατές μεθόδους επεξεργασίας λυμάτων. Για αυτό το λόγο είναι σημαντική η μελέτη της αποτελεσματικής αποδόμησης τέτοιων ουσιών σε υδατικά περιβάλλοντα. Ιδιαίτερα σημαντική φαίνεται να είναι η διαδικασία της διάσπασης τους μέσω της απορρόφησης ακτινοβολίας με την οποία επιτυγχάνεται η φυσική απομάκρυνση των ρυπαντών από τα επιφανειακά νερά.

Σε αυτή την διπλωματική εργασία μελετάται η φωτοαποδόμηση των παραβενίων σε πρότυπα υδατικά δείγματα μέσω της έκθεσής τους σε ακτινοβολία UV 254 nm και η επίδραση διάφορων παραμέτρων στην διαδικασία της φωτοδιάσπασης όπως το pH, η ποσότητα της αρχικής συγκέντρωσης, η προσθήκη βουτανόλης, η προσθήκη χουμικών οξέων και νιτρικών ιόντων και η προσθήκη χλωριούχου νατρίου. Ακόμη, εξετάζεται ο ρυθμός φωτοαποδόμησης αυτών των ουσιών σε φυσικά υδατικά δείγματα όπως σε νερό ποταμού, σε νερό από έξοδο βιολογικού καθαρισμού και σε θαλασσινό νερό. Οι αναλύσεις των παραβενίων έγιναν με τη χρήση της υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης με ανιχνευτή μάζας (High Performance Liquid Chromatography – Mass Spectrometry, HPLC-MS).

Περιεχόμενα

1	Εισαγωγή	6
1.1	Ενώσεις που προκαλούν ενδοκρινικές διαταραχές	6
1.2	Παραβένια	7
1.2.1	Ορισμός και χημικές ιδιότητες	7
1.2.2	Χρήσεις τους	8
1.2.3	Τοξικότητα	11
1.2.4	Τύχη τους στο περιβάλλον	13
1.3	Θεωρία των Ρυθμιστικών διαλυμάτων	16
1.4	Στόχος της παρούσας έρευνας	17
2	Πειραματικό μέρος	18
2.1	Αντιδραστήρια	18
2.2	Παρασκευή πρότυπων	18
2.3	Παρασκευή δειγμάτων για ανάλυση	19
2.3.1	Παρασκευή δειγμάτων για την προκαταρκτική ανάλυση	19
2.3.2	Παρασκευή δειγμάτων για την πρώτη σειρά πειραμάτων	20
2.3.3	Παρασκευή δειγμάτων για την δεύτερη σειρά πειραμάτων	22
2.4	Παρασκευή ρυθμιστικών διαλυμάτων	22
2.4.1	Παρασκευή ρυθμιστικών διαλυμάτων για την δεύτερη σειρά πειραμάτων.	22
2.4.2	Παρασκευή ρυθμιστικών διαλυμάτων για την τρίτη σειρά πειραμάτων	24
2.5	Χαρακτηριστικά των φυσικών υδατικών δειγμάτων	25
2.6	Περιγραφή μεθόδου ανάλυσης με φασματοφωτόμετρο	27
2.7	Περιγραφή μεθόδου ανάλυσης της φωτοαποδόμησης	29
2.8	Περιγραφή μεθόδου ανάλυσης HPLC-MS	30
3	Αποτελέσματα και συζήτηση	33
3.1	Προκαταρκτική μελέτη	33
3.2	Επίδραση των παραμέτρων στην φωτολυτική τύχη των παραβενίων	35
3.2.1	Επίδραση του pH	35

3.2.2	Επίδραση συγκεντρώσεων	39
3.2.3	Επίδραση προσθήκης Βουτανόλης	41
3.2.4	Επίδραση προσθήκης Χουμικών οξέων και Νιτρικών ιόντων	43
3.2.5	Επίδραση προσθήκης NaCl	48
3.3	Φωτολυτική τύχη των παραβενίων σε φυσικά υδατικά δείγματα και επεξεργασμένα λύματα	50
4	Συμπεράσματα και μελλοντικές κατευθύνσεις	54
5	Βιβλιογραφία	55

1 Εισαγωγή

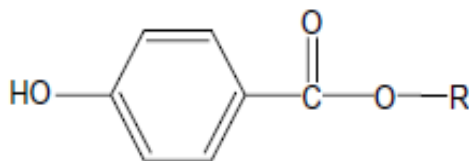
1.1 Ενώσεις που προκαλούν ενδοκρινικές διαταραχές

Τα παραβένια έχουν αναγνωρισθεί από διάφορους παγκόσμιους οργανισμούς περιβάλλοντος και προστασίας της ανθρώπινης υγείας [13] ως ενώσεις που προκαλούν ενδοκρινικές διαταραχές (Endocrine Disrupting Compounds, EDC's) λόγω των ομοιοτήτων τους με τα οιστρογόνα, που περιέχουν ομάδες υδροξυλίου και υδρόφοβα τμήματα. Ως EDC's ορίζονται οι χημικές ουσίες που προκαλούν αρνητικές επιπτώσεις στους ανθρώπους και σε άλλους οργανισμούς μέσω της διατάραξης της λειτουργίας του ενδοκρινικού τους συστήματος λόγω του χαρακτηριστικού τους να μιμούνται ή να ανταγωνίζονται τις ορμονικές λειτουργίες των υδρόβιων οργανισμών και των ανθρώπων. Εκπρόσωποι αυτής της κατηγορίας είναι τα παρασιτοκτόνα, τα βρωμιούχα επιβραδυντικά φλόγας, οι πλαστικοποιητές PVC, οι οργανοκασιτερικές ενώσεις που χρησιμοποιούνται ως σταθεροποιητές στο PVC και τα αντιρρυπαντικά, οι πολυκυκλικοί αρωματικοί υδρογονάνθρακες (PAH's), οι αλκυφαινόλες, η διφαινόλη Α και η τρικλοζάνη (Triclosan, TCS), το 3,4,40-τριχλωροκαρβανιλίδιο (Triclorocarban, TCC), τα εντομοαπωθητικά (N,N-diethyl-mtoluamide, DEET), και ορισμένες συνθετικές αρωματικές ουσίες [1, 7, 9]. Τέτοιες ουσίες εισέρχονται στο υδατικό περιβάλλον μέσω των αστικών λυμάτων και έχουν βρεθεί στα επεξεργασμένα λύματα σε συγκεντρώσεις της τάξεως από ng/L μέχρι mg/L, αλλά και σε νερά ποταμών καθώς το ποσοστό απόδοσης της απομάκρυνσης τους από συμβατικές μεθόδους επεξεργασίας λυμάτων κυμαίνεται από 30 έως 90% και δεν επαρκεί για την πλήρη απομάκρυνσή τους [7, 9, 11]. Επιπλέον, οι φυσικοί μετασχηματισμοί και η απομάκρυνσή τους αντισταθμίζεται από την συνεχή είσοδο των ουσιών αυτών στο περιβάλλον με αποτέλεσμα την χρόνια έκθεση των οργανισμών σε αυτές τις ουσίες και στους μεταβολίτες τους.

1.2 Παραβένια

1.2.1 Ορισμός και χημικές ιδιότητες

Τα παραβένια είναι μια ομάδα της ομόλογης σειράς των π-υδροβενζοϊκών οξέων εστεροποιημένα στην θέση C-4 με την αντίστοιχη αλκοόλη με την παρουσία καταλύτη και διαφοροποιούνται μεταξύ τους με βάση την ομάδα των εστέρων που μπορεί να είναι μια από τη μέθυλ-, αίθυλ-, πρόπυλ-, βούτυλ-ομάδα σχηματίζοντας έτσι το μέθυλπαραβενιο (Methylparaben, MP), αίθυλπαραβενιο (Ethylparaben, EP), πρόπυλπαραβενιο (Propylparaben, PP) και βούτυλπαραβενιο (Butylparaben, BP). Ο χημικός τύπος των παραβενίων δίνεται στην Εικόνα 1. Στα λιγότερο χρησιμοποιούμενα παραβένια συμπεριλαμβάνονται το ισοβούτυλπαραβενιο (isobutylparaben), το ισοπρόπυλπαραβενιο (isopropylparaben), το βένζυλπαραβενιο (benzylparaben) και τα άλατα νατρίου τους.



Εικόνα 1: Χημικός τύπος των παραβενίων, όπου $R =$ μέθυλ- (CH_3) , αίθυλ- (C_2H_5) , πρόπυλ- (C_3H_7) , βούτυλ- (C_4H_8) [4].

Στην καθαρή τους μορφή τα παραβένια είναι μικροί άχρωμοι κρύσταλλοι ή κρυσταλλική σκόνη με σχεδόν καμία οσμή και γεύση. Πρόκειται για υγροσκοπικές ουσίες, που έχουν υψηλό συντελεστή κατανομής οκτανόλης / νερού k_{ow} . Σε γενικές γραμμές, τα παραβένια είναι σταθερά στον αέρα και είναι ανθεκτικά στην υδρόλυση τους σε νερό (ζεστό ή κρύο) και σε όξινα διαλύματα. Η αύξηση του μήκους της αλυσίδας των εστέρων έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της αντίστασης τους στην υδρόλυση, ενώ αισθητή υδρόλυση των παραβενίων έχει παρατηρηθεί σε pH μεγαλύτερο του 7 [4]. Στον Πίνακα 1 δίνονται μερικές από τις φυσικοχημικές ιδιότητες των παραβενίων.

Πίνακας 1: Γενική περιγραφή και φυσικοχημικές ιδιότητες των παραβενίων [3, 4, 9, 25].

Χαρακτηριστικά	MP	EP	PP	BP
Αριθμός καταχώρισης (CAS no)	99-76-3	120-47-8	94-13-3	94-26-8
Χημικός τύπος	C ₈ H ₈ O ₃	C ₉ H ₁₀ O ₃	C ₁₀ H ₁₂ O ₃	C ₁₁ H ₁₄ O ₃
Μοριακό βάρος	152,16	166,18	180,21	194,23
Σημείο τήξης (°C)	131	116-118	96-98	98-69
Σημείο βρασμού(°C)	279-280	297-298	-	-
Δείκτης διάθλασης	1,525	1,505	1,505	-
logK _{ow}	1,91	2,34	2,94	3,50
pKa	8,17-8,47	8,22-8,50	8,35-8,47	8,37-8,47
Διαλυτότητα στο νερό στους 25°C (gr/100ml)	0,25	0,17	0,05	0,02

1.2.2 Χρήσεις τους

Τα παραβένια είναι πολύ αποτελεσματικά αντιμικροβιακά με ευρεία χρήση παγκοσμίως λόγω των αντιμυκητιακών, βακτηριοκτόνων και παρασιτοκτόνων ιδιοτήτων τους. Η πρώτη χρήση τους ως αντιμικροβιακά έγινε στα μέσα της δεκαετίας του 1920. Επιπλέον, οι συγκεκριμένες ουσίες χρησιμοποιούνται και ως συντηρητικά γιατί έχουν ευρύ φάσμα αντιμικροβιακής δράσης, επίσης έχουν μη ερεθιστική δράση, δεν εμφανίζουν τοξικότητα και είναι ουσίες σταθερές στις

διάφορες τιμές του pH και επαρκώς διαλυτές στο νερό ώστε να παράγουν την επιθυμητή συγκέντρωση στην υδατική φάση [3, 4]. Έχει παρατηρηθεί επίσης [4, 10] ότι όσο αυξάνεται το μήκος της αλυσίδας των εστέρων τόσο αυξάνεται και η αντιμικροβιακή δραστηριότητα, ενώ μειώνεται η διαλυτότητά τους στο νερό. Σε γενικές γραμμές, η μικροβιακή δράση λαμβάνει χώρα στην υδατική φάση και για αυτό το λόγο η ποσότητα των παραβενίων που είναι διαλυμένη στο νερό είναι αυτή που καθορίζει την ικανότητά τους ως συντηρητικά. Ωστόσο επειδή κάθε παραβένιο παρουσιάζει διαφορετική διαλυτότητα στην υδάτινη και λιποφιλική φάση, χρησιμοποιείται συχνά η μίξη παραβενίων, που επιτρέπει την αποτελεσματική διατήρηση και επιφέρει μεγαλύτερη αντιμικροβιακή δραστηριότητα λόγω των συνεργιστικών αποτελεσμάτων. Τα παραβένια χρησιμοποιούνται ως συντηρητικά σε προϊόντα τροφίμων, καθώς και σε καλλυντικά και φαρμακευτικά προϊόντα.

- Χρήσεις σε τρόφιμα

Η πρώτη χρήση των παραβενίων σε τρόφιμα εκτιμάται να είναι πριν από 50 χρόνια με καθαρά αυξανόμενη τάση της χρήσης τους σε όλο και περισσότερες κατηγορίες τροφίμων. Η χρήση τους γίνεται για αντιμικροβιακή δράση, αλλά και λόγω της ενεργούς δράσης τους κατά των ζυμών και μυκήτων. Ακόμη, χρησιμοποιούνται και ως συνθετικά αρωματικά συντηρητικά και πρόσθετα. Συμπεριλαμβάνονται σε τροφές όπως μεταποιημένα λαχανικά, λίπη και έλαια, καρυκεύματα, υποκατάστατα ζάχαρης, εκχυλίσματα καφέ, χυμούς φρούτων, τουρσιά, σάλτσες, αναψυκτικά, χυμούς, ποτά και κατεψυγμένα γαλακτοκομικά προϊόντα σε συγκεντρώσεις από 450 έως 2000 mg/L. Οι κυριότερες χρήσεις γίνονται σε προϊόντα της βιομηχανίας τροφίμων όπως κέικ, γλυκά, φύλλα κρούστας, αναψυκτικά, πάστες, μαρμελάδες, σιρόπια και ελιές, με ποσοστά που κυμαίνονται από 0,03 έως 0,1% που αποτελούνται κυρίως από το MP και PP ή το συνδυασμό τους [4]. Η χρήση τους σε αυτόν τον τομέα έχει αυστηρούς περιορισμούς όσον αφορά τα επιτρεπόμενα όρια συγκέντρωσής τους [8].

- Χρήσεις σε καλλυντικά προϊόντα

Η συνεχώς αυξανόμενη χρήση τους σε αυτόν τον τύπο προϊόντων οφείλεται στο γεγονός ότι έχουν χαμηλό κόστος, είναι άχρωμα και άοσμα, δεν δημιουργούν αποχρωματισμούς, έχουν σχεδόν ουδέτερο pH, βιοαποδομούνται και είναι παγκοσμίως αποδεκτά ως συντηρητικά. Επιπλέον, ένα από τα κύρια χαρακτηριστικά των παραβενίων είναι η χημική σταθερότητά τους σε ευρύ φάσμα του pH, κυρίως από 4,50 έως 7,50, και στις εναλλαγές θερμοκρασίας [4], ενώ αντίθετα σε αλκαλικό pH τα παραβένια δεν είναι σταθερά [5]. Εξαιτίας της σταθερότητάς τους στις εναλλαγές της θερμοκρασίας μπορούν να αποστειρωθούν χωρίς να χάσουν την αντιμικροβιακή τους ιδιότητα. Τα προϊόντα που περιέχουν τα εν λόγω συντηρητικά μπορούν να χρησιμοποιηθούν στο δέρμα, στα μαλλιά, στο τριχωτό της κεφαλής, στα χείλη, στους βλεννογόνους αδένες (από το στόμα, τα μάτια και τον κόλπο), στις μασχάλες και στα νύχια. Τέτοια προϊόντα είναι κρέμες, γαλακτώματα, λοσιόν, πούδρες, μάσκες, προϊόντα περιποίησης νυχιών, μέικ απ, προϊόντα ντεμακιγιάζ, τζέλ, σαμπουάν, αφρόλουτρα, οδοντόκρεμες, αποσμητικά, αντηλιακά προϊόντα και σπρέι μαυρίσματος [5, 2]. Σύμφωνα με πρόσφατη έρευνα [5], όσον αφορά το ποσό του μίγματος παραβενίων που περιέχεται σε καλλυντικά προϊόντα, για το σύνολο των παραβενίων τα επίπεδα κυμαίνονται από 0,43 έως 0,79% σε προϊόντα περιποίησης δέρματος, από 0,07 έως 0,44% για προϊόντα περιποίησης μαλλιών και από 0,30 έως 0,52% για διαλύματα σαπουνιού. Τα επίπεδα για κάθε ένα παραβένιο είναι από 0,03 έως 0,42% σε προϊόντα περιποίησης δέρματος, από 0,07 έως 0,26% σε προϊόντα περιποίησης μαλλιών και από 0,11 έως 0,34% σε διαλύματα σαπουνιού.

- Χρήσεις σε φαρμακευτικά προϊόντα

Η χρήση των παραβενίων σε φαρμακευτικά προϊόντα ξεκίνησε από τη αρχή της δεκαετίας του 1900 και μέχρι τις μέρες μας έχει παρατηρηθεί ότι συμπεριλαμβάνονται σε πολύ μεγάλο μέρος προϊόντων αυτής της κατηγορίας ως συντηρητικά. Μεταξύ των παραβενίων, το PP φαίνεται να κυριαρχεί σε αυτή την κατηγορία με το MP ως το δεύτερο κυρίαρχο συστατικό και ακολουθεί ο συνδυασμός τους [4]. Ο κύριος σκοπός της χρήσης τους είναι η παράταση της διάρκειας ζωής των φαρμακευτικών προϊόντων [3]. Μια ποικιλία από φαρμακευτικά σκευάσματα, όπως

υπόθετα, αναισθητικά, χάπια, σιρόπια, προϊόντα αδυνατίσματος, ενέσιμα διαλύματα, αναλγητικά, αντισυλληπτικά, εισπνεόμενα και ενδοκρινικά διαλύματα, οφθαλμολογικά προϊόντα όπως αλοιφές, διαλύματα και αιωρήματα και γενικότερα φαρμακευτικά σκευάσματα που μπορούν να χρησιμοποιηθούν τοπικά στο δέρμα περιέχουν παραβένια ως συντηρητικά. Παρόλα αυτά σύμφωνα με πρόσφατη έρευνα [4], η χρήση τους σε οφθαλμολογικά προϊόντα είναι ακόμα αμφίβολη διότι η ποσότητα που πρέπει να χρησιμοποιηθεί για την αντιμικροβιακή δραστηριότητα μπορεί να προκαλέσει ερεθισμούς στην ευαίσθητη περιοχή των ματιών.

1.2.3 Τοξικότητα

Ο ανθρώπινος οργανισμός έρχεται σε επαφή με τα παραβένια καθημερινά λόγω της ευρείας χρήσης τους σε καλλυντικά και φαρμακευτικά προϊόντα. Συγκεκριμένα τα παραβένια μπορεί να έρθουν σε επαφή με το δέρμα, τα μαλλιά ή το πρόσωπο αναλόγως την περιοχή εφαρμογής των προϊόντων που τα περιέχουν. Με αυτό τον τρόπο απορροφούνται από το δέρμα μετά την εφαρμογή τους. Μελέτες που έχουν γίνει σε ζώα όπως αρουραίους, ποντίκια, κουνέλια, σκύλους και γάτες [4, 13] δείχνουν ότι τα παραβένια απορροφώνται από τον γαστρεντερικό σωλήνα και στη συνέχεια αποβάλλονται από τα ούρα σε συζευγμένες μορφές του π-υδροξυβενζοϊκού οξέως με γλυκίνη και θειικά ή στην μορφή που ήδη είναι. Μετά την έκθεση και την απορρόφηση τους από τους οργανισμούς, οι ουσίες μεταβολίζονται γρήγορα και έτσι η απέκκριση εμφανίζεται να γίνεται σε σύντομο χρονικό διάστημα οπότε οι ουσίες θεωρείται ότι δεν συσσωρεύονται στον οργανισμό.

Γενικότερα, όσον αφορά τη χρήση τους σε υγιή δέρματα, τα παραβένια θεωρούνται ασφαλή συντηρητικά στα φαρμακευτικά και καλλυντικά παρασκευάσματα χωρίς να είναι ερεθιστικά. Η χρήση τους όμως σε αλλοιωμένο ή κατεστραμμένο δέρμα φαίνεται να προκαλεί ευαισθητοποίηση [4, 5]. Για πολλά χρόνια τα παραβένια θεωρούνταν ασφαλή μη τοξικά που μπορούν κυρίως να προκαλέσουν μόνο αλλεργικές αντιδράσεις. Στο παρελθόν δεν είχαν παρατηρηθεί ενδείξεις χρόνιας συσσώρευσης αυτών ή των μεταβολιτών τους, γονιδιοτοξικότητας ή τερατογένεσης [4]. Πρόσφατες έρευνες όμως [5, 8, 10, 13], αμφισβητούν την ασφάλεια χρήσης τους καθώς έδειξαν ότι η οιστρογονική δράση των παραβενίων, η

οποία αυξάνεται με την αύξηση της αλκυλικής τους ομάδας, μπορεί να σχετίζεται με επιπτώσεις στην αναπαραγωγή, σημειώνοντας επίσης την πιθανή σχέση της χρήσης τους με την εμφάνιση του καρκίνου του μαστού. Συγκεκριμένα όσον αφορά στις επιπτώσεις στην αναπαραγωγή παρατηρείται ότι η ενδοκρινική δράση των παραβενίων είναι πιθανό να έχει επιπτώσεις στην αναπαραγωγική λειτουργία μέσω της μείωσης των παραγόμενων σπερματοζωαρίων και της έκκρισης τεστοστερόνης. Η παρουσία μικρών ποσών παραβενίων σε ανθρώπινους ιστούς από όγκους του μαστού μπορεί να συνδέεται με την ανάπτυξη του καρκίνου του μαστού. Σημειώνεται ότι σε αυτή την έρευνα καταδεικνύεται η σύνδεση της εμφάνισης καρκίνου του μαστού με τη χρήση των παραβενίων σε αποσμητικά και αντιδρωτικά παρασκευάσματα και όχι από την χρήση τους ως πρόσθετα τροφίμων. Επιπλέον, η χρήση των παραβενίων σχετίζεται με δερματίτιδες και αρκετά υψηλό ποσοστό εμφάνισης μελανώματος σε νέους ανθρώπους σχετίζεται με χρήση προϊόντων αντηλιακής προστασίας που περιέχουν μεγάλο ποσών παραβενίων [8, 10].

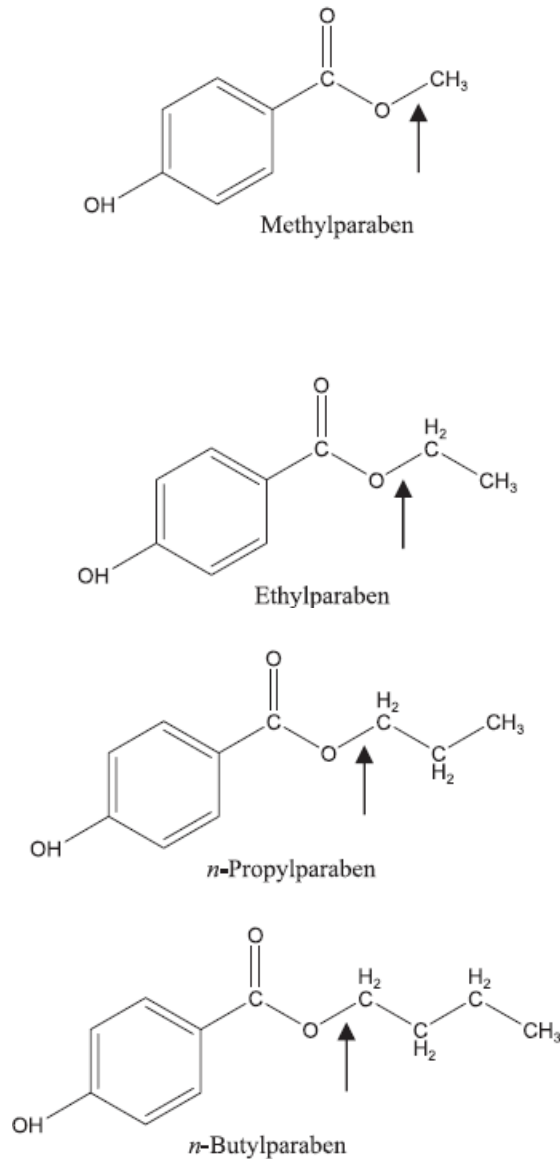
Οι πιθανές τοξικές συνέπειες από την χρήση τέτοιων ουσιών σε προϊόντα τροφίμων αλλά και σε φαρμακευτικά και καλλυντικά προϊόντα καθιστά απαραίτητη την επιβολή επιτρεπόμενων ορίων συγκέντρωσης ώστε να προστατεύεται ο ανθρώπινος οργανισμός. Αρχικά, το 1974 η επιτροπή εμπειρογνομόνων για τα πρόσθετα τροφίμων συνέστησε ότι η επιτρεπόμενη ημερήσια πρόσληψη των παραβενίων πρέπει να είναι από 0 έως 10 mg/kg σωματικού βάρους/ημέρα. Αυτό το όριο προτάθηκε μετά την εξέταση της διατροφής των αρουραίων όταν προσλαμβάνουν τέτοιες ουσίες σε ποσοστό 2% της ημερήσιας διατροφής τους που ισοδυναμεί με 1000 mg/kg σωματικού βάρους/ημέρα [4]. Επιπλέον, το 1976 η Ευρωπαϊκή Ένωση έθεσε κανονισμούς και μέτρα ελέγχου που επιτρέπουν την περιεκτικότητα έως και 0,4% στο τελικό προϊόν για ένα μόνο είδος παραβενίου που χρησιμοποιείται ως συντηρητικό, και έως 0,8% στο τελικό προϊόν για μείγματα παραβενίων που μπορεί να αποτελούνται από MP, EP, PP, BP και ισο-BP [5].

1.2.4 Τύχη τους στο περιβάλλον

Οι πρόσφατες έρευνες [8, 11, 13] που έχουν γίνει με σκοπό την μελέτη της τύχης των παραβενίων που περιέχονται σε καλλυντικά και φαρμακευτικά προϊόντα στα περιβαλλοντικά νερά καταλήγουν ότι ο κύριος τρόπος απελευθέρωσής τους είναι μέσω των οικιακών λυμάτων. Συγκεκριμένα, έχει παρατηρηθεί ότι παρά το γεγονός ότι τα παραβένια απομακρύνονται μέσω διάφορες τεχνικές επεξεργασίας λυμάτων, έχουν ανιχνευθεί μικρές ποσότητές τους, της τάξεως των ng/L, σε δείγματα από νερό ποταμού [2]. Επίσης, τα MP, EP, PP και BP έχουν βρεθεί σε εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων σε συγκεντρώσεις της τάξεως mg/L [6]. Σύμφωνα με έρευνες για τη σύσταση των υγρών επεξεργασμένων αποβλήτων [26], βρέθηκε ότι όλα τα δείγματα περιείχαν τα MP, EP, PP και BP και συγκεκριμένα τα MP και PP βρέθηκαν σε συγκεντρώσεις μέχρι και 2,92 και 2,43mg/mL αντίστοιχα. Επιπλέον, εφόσον τα παραβένια εισέρχονται στο περιβάλλον έχουν ανιχνευθεί και σε δείγματα εδάφους ή ιζημάτων [10]. Το γεγονός ότι η παρουσία τέτοιων ουσιών είναι σε πολύ μικρές ποσότητες καθιστά αδύνατη και δαπανηρή την απομάκρυνσή τους με συμβατικές μεθόδους επεξεργασίας λυμάτων. Μόνο εξελιγμένες τεχνικές, όπως η αντίστροφη όσμωση και η νανοδιήθηση, παρουσιάζουν αρκετά καλή απόδοση στην απομάκρυνση τέτοιων ουσιών [1]

1.2.4.1 Τρόποι αποδόμησης των παραβενίων

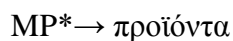
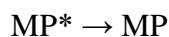
Οι κύριες διεργασίες φυσικής αποδόμησης των ρύπων στα επιφανειακά ύδατα είναι η βιοδιάσπαση, η φωτόλυσή τους από το φως του ήλιου καθώς και άλλοι αβιοτικοί μετασχηματισμοί όπως η υδρόλυση. Υδρόλυση ονομάζεται η διαδικασία διάσπασης μιας ουσίας σε δυο μέρη με την προσθήκη νερού. Το ένα θραύσμα του μορίου της ένωσης κερδίζει ένα H^+ από το προστιθέμενο μόριο του νερού και το άλλο θραύσμα αποσπά το OH^- από το νερό. Στην Εικόνα 2 παρουσιάζεται σχηματικά σε ποιο σημείο γίνεται η υδρόλυση των παραβενίων (βέλος). Συγκεκριμένα κατά την υδρόλυσή τους σχηματίζεται το π-υδροξυβενζοϊκό οξύ και η αντίστοιχη αλκοόλη.



Εικόνα 2: Η υδρόλυση των MP, EP, PP και BP που έχει ως αποτέλεσμα τον σχηματισμό του π-υδροξυβενζοϊκού οξέος [26].

Επιπλέον, φωτοδιάσπαση ή φωτόλυση ονομάζεται η διαδικασία διάσπασης των ουσιών με την απορρόφηση ηλιακής ακτινοβολίας ή ακτινοβολίας UV. Η ηλιακή ακτινοβολία μπορεί να διασπάσει αυτές τις ουσίες άμεσα ή έμμεσα μέσω της οξειδωσής τους. Η φωτόλυση με υπεριώδη ακτινοβολία μπορεί να γίνει άμεσα με φωτόλυση των ουσιών ή έμμεσα με απορρόφηση της ακτινοβολίας από μία ενδιάμεση ουσία που έχει ως αποτέλεσμα τον σχηματισμό ριζών οξυγόνου που προκαλούν στη συνέχεια τη διάσπαση των παραβενίων. Οι ενδιάμεσες ουσίες μπορεί να είναι τα νιτρικά ιόντα ή διαλυμένη οργανική ύλη όπως τα χουμικά οξέα τα οποία

μπορούν να σχηματίσουν ρίζες υδροξυλίου, μοριακό οξυγόνο ή ελεύθερες ρίζες οξυγόνου [13]. Η διαδικασία της φωτοαποδόμησης των παραβενίων, για παράδειγμα του MP, με απορρόφηση ακτινοβολίας UV μπορεί να ακολουθείται από τις παρακάτω αντιδράσεις [1]: $MP + h\nu \rightarrow MP^*$



Έτσι το παραβένιο μπορεί να απορροφήσει μέρος της UV ακτινοβολίας και να βρεθεί σε διεγερμένη κατάσταση, απ' όπου μπορεί να μετατραπεί ξανά στην αρχική του μορφή ή να μετατραπεί σε άλλα προϊόντα.

1.2.4.2 Μέθοδοι απολύμανσης των νερών από τα παραβένια

Η υπεριώδης ακτινοβολία (UV) είναι μια διαδεδομένη μέθοδος απολύμανσης του πόσιμου νερού και έχει αρχίσει να χρησιμοποιείται και στην επεξεργασία λυμάτων. Αυτές οι τεχνολογίες χρησιμοποιούν λάμπες υδραργύρου χαμηλής πίεσης που εκπέμπουν φως μονοχρωματικής ακτινοβολίας στα 254 nm. Η υπεριώδης ακτινοβολία μπορεί να διασπάσει της οργανικές ουσίες με άμεση φωτόλυση ή με έμμεση φωτόλυση με τη βοήθεια του υπεροξειδίου του υδρογόνου. Ιδιαίτερα σημαντικές είναι επίσης οι πληροφορίες που αφορούν τον βαθμό φωτοαποδόμησης και την τοξικότητα των παραγόμενων παραπροϊόντων. Η μέθοδος αυτή έχει χρησιμοποιηθεί σε μελέτες φωτοαποδόμησης των παραβενίων [1, 13] όπου εξετάζεται η φωτοδιάσπαση των παραβενίων σε νερό βρύσης και σε νερό επεξεργασμένων λυμάτων με χρήση ακτινοβολίας UV και της πιο αποτελεσματικής προηγμένης τεχνολογίας οξειδωσης (Advanced Oxidation Process, AOP) UV/H₂O₂. Η συνδυασμένη δράση την υπεριώδους ακτινοβολίας και της AOP φαίνεται να είναι πιο αποτελεσματική από την άμεση φωτόλυση, με πλεονέκτημα την χαμηλότερη κατανάλωση ενέργειας. Επιπλέον, τα αποτελέσματα αυτής της έρευνας έδειξαν ανασταλτική επίδραση των φυσικών συστατικών του νερού στην διαδικασία της φωτοδιάσπασης και με τις δυο μεθόδους.

Μια άλλη συχνά εφαρμοζόμενη μέθοδος απολύμανσης των επεξεργασμένων λυμάτων γίνεται με την προσθήκη χλωρίου. Επιπλέον, στο νερό της βρύσης προστίθεται ελεύθερο χλώριο για την εξασφάλιση της ποιότητάς του. Το χλώριο είναι

ένα ισχυρό οξειδωτικό που μπορεί να αντιδράσει με την φυσική οργανική ύλη ή με ανθρωπογενείς χημικές ουσίες και να δημιουργηθούν διάφορα αλογονομένα παραπροϊόντα. Οι Canosa et al. [2, 6] εξέτασαν τη συμπεριφορά των παραβενίων σε χλωριωμένα υδατικά δείγματα, καταλήγοντας στο συμπέρασμα ότι το ελεύθερο χλώριο αντιδρά με τα παραβένια σχηματίζοντας χλωριωμένα παραπροϊόντα που μπορεί να είναι τοξικά για τον ανθρώπινο οργανισμό. Συγκεκριμένα, τα διχλωριωμένα παραπροϊόντα φαίνεται να είναι ανθεκτικά σε περαιτέρω διαδικασίες οξείδωσης με αποτέλεσμα την παρουσία τους σε επεξεργασμένα λύματα. Από την άλλη πλευρά, οι M. Terasaki et al. [12], ανίχνευσαν παραβένια σε δείγμα από νερό πισίνας, τα οποία πιστεύεται ότι προέρχονται κυρίως από την χρήση αντηλιακών. Η απολύμανση του νερού πισίνας με την προσθήκη χλωρίου θα έχει ως αποτέλεσμα τον σχηματισμό χλωριωμένων παραπροϊόντων των παραβενίων.

1.3 Θεωρία των Ρυθμιστικών διαλυμάτων

Ρυθμιστικά διαλύματα (buffers) ονομάζονται τα διαλύματα των οποίων η τιμή του pH μένει πρακτικά αμετάβλητη, όταν αυτά αραιωθούν ή όταν προστεθούν σε αυτά μικρές ποσότητες οξέος ή βάσεως. Τα ρυθμιστικά διαλύματα είναι συνήθως μικτά υδατικά διαλύματα ασθενών οξέων με τα άλατά τους με ισχυρές βάσεις ή ασθενών βάσεων με άλατά τους που είναι ισχυρά οξέα [24]. Όταν έχουμε ρυθμιστικό διάλυμα που περιέχει ασθενές οξύ HA τότε θα έχουμε:



$$K_a = \frac{H^+ \cdot A^-}{HA} \Rightarrow \log K_a = \log H^+ + \log A^- - \log HA$$

$$\Rightarrow pH = pK_a + \log \frac{A^-}{HA}$$

Επειδή όμως η [HA] είναι πρακτικά ίση με την αρχική συγκέντρωση του οξέος, λόγω μικρής διαστάσεως, και επειδή η [A⁻] είναι πρακτικά ίση με τη συγκέντρωση του άλατος, λόγω πλήρους διαστάσεως, η εξίσωση παίρνει τη μορφή

$$pH = pK_a + \log \frac{\text{Άλας}}{\text{Οξύ}}$$

Με τον ίδιο συλλογισμό, όταν το ρυθμιστικό διάλυμα περιέχει ασθενή βάση MOH θα έχουμε τελικά

$$pH = pK_b + \log \frac{\text{Άλας}}{\text{Βάση}}$$

Οι εξισώσεις αυτές ονομάζονται εξισώσεις των Handerson-Hasselbach για τα ρυθμιστικά διαλύματα [17, 19, 24].

1.4 Στόχος της παρούσας έρευνας

Στόχος της παρούσας έρευνας είναι η μελέτη της φωτοδιάσπασης των παραβενίων MP, EP, PP και BP σε υδατικά διαλύματα με εκπεμπόμενη ακτινοβολία UV στα 254 nm. Η πειραματική διαδικασία αποτελείται από δυο σειρές πειραμάτων. Η πρώτη σειρά πειραμάτων γίνεται με σκοπό την μελέτη της φωτολυτικής τύχης των παραβενίων σε πρότυπα υδατικά δείγματα με την έκθεσή τους στην ακτινοβολία UV και εξετάζει την επίδραση διάφορων παραμέτρων στην διαδικασία της φωτοαποδόμησης. Στις εξεταζόμενες παραμέτρους συμπεριλαμβάνονται το pH, η αρχική συγκέντρωση των εξεταζόμενων ουσιών, η προσθήκη βουτανόλης και χλωριούχου νατρίου, αλλά και η προσθήκη συστατικών που βρίσκονται στα φυσικά νερά όπως είναι τα νιτρικά και χουμικά ιόντα. Ακολούθως, η δεύτερη σειρά πειραμάτων περιλαμβάνει την εξέταση της φωτοαποδόμησης των παραβενίων αυτή τη φορά σε πιο σύνθετα υδατικά διαλύματα όπως είναι τα φυσικά υδατικά δείγματα, και συγκεκριμένα σε θαλασσινό νερό, νερό ποταμού και νερό από έξοδο βιολογικού καθαρισμού λυμάτων με σκοπό την μελέτη της φωτόλυσης των εξεταζόμενων ουσιών σε πραγματικές περιβαλλοντικές συνθήκες.

2 Πειραματικό μέρος

2.1 Αντιδραστήρια

Οι χημικές ουσίες που χρησιμοποιήθηκαν για την διεξαγωγή των πειραμάτων και συγκεκριμένα για την παραγωγή όλων των δειγμάτων για ανάλυση αλλά και την παρασκευή των προτύπων διαλυμάτων είναι οι παρακάτω:

- Μέθυλπαραβενιο 98,3% (Methyl-4-hydroxybenzoate ή methylparaben, MP) της εταιρίας Supelco
- Αίθυλπαραβενιο 99% (Ethyl-4-hydroxybenzoate ή ethylparaben, EP) της εταιρίας Aldrich
- Πρόπυλπαραβενιο 99% (Propyl-4-hydroxybenzoate ή propylparaben, PP) της εταιρίας Aldrich
- Βούτυλπαραβενιο 99% (Butyl-4-hydroxybenzoate ή butylparaben, BP) της εταιρίας Aldrich
- Οξικό αμμώνιο 98% (Ammonium acetate) της εταιρίας Fluka
- Μεθανόλη (HPLC MeOH) της εταιρίας Riedel-de Haën (Seelze, Germany)
- Οξικό οξύ 99,9% (Acetic Acid) της εταιρίας Carlo erba reagents
- Ακετονιτρίλιο 99,9% (ACN)
- Αμμωνία NH₃ 28% v/v
- Βουτανόλη 99% (1-Butanol) της εταιρίας Lab-Scan
- Χλωριούχο νάτριο NaCl της εταιρίας Aldrich
- Χουμικό οξύ (Humic acid) της εταιρίας Fulka
- Νιτρικό κάλιο KNO₃

2.2 Παρασκευή πρότυπων

Αρχικά, έγινε η παρασκευή των προτύπων διαλυμάτων για κάθε μια από τις εξεταζόμενες ουσίες σε ακετονιτρίλιο νερό (ACN-H₂O) 25-75%v/v . Το διάλυμα ACN-H₂O 25-75%v/v παρασκευάστηκε σε φιαλίδιο των 250 mL όπου εισάγονται

62,5 mL ACN και στη συνέχεια γεμίζεται με υπερκάθαρο νερό ώστε να επιτευχθεί η επιθυμητή συγκέντρωση ACN στο 25%. Τα πρότυπα διαλύματα με τελική συγκέντρωση 1000 µg/mL παρασκευάστηκαν με τον εξής τρόπο: Σε φιαλίδιο των 25 mL εισάγονται 25 mg της ουσίας και στη συνέχεια πληρώνεται με διάλυμα ACN-H₂O 25-75% v/v ως τη χαραγή. Η ίδια διαδικασία ακολουθείται και για τις υπόλοιπες ουσίες. Ακολουθώντας γίνεται η παρασκευή των προτύπων διαλυμάτων του μίγματος των ουσιών σε ACN-H₂O 25-75% v/v με τελική συγκέντρωση 1000 µg/mL όπου σε ογκομετρική φιάλη των 25 mL εισάγονται 25 mg της κάθε μίας από τις εξεταζόμενες ουσίες και στη συνέχεια πληρώνεται με διάλυμα ACN-H₂O 25-75% v/v ως τη χαραγή. Επιπλέον, με όμοιο τρόπο γίνεται η παρασκευή των προτύπων διαλυμάτων για κάθε μια από τις ουσίες ξεχωριστά άλλα και για το μίγμα των ουσιών σε μεθανόλη (MeOH) αυτή τη φορά. Στη συνέχεια όλα τα διαλύματα που παρασκευάστηκαν φυλάσσονται σε μικρότερα φιαλίδια και τοποθετούνται στην κατάψυξη καθ όλη τη διάρκεια του πειράματος.

2.3 Παρασκευή δειγμάτων για ανάλυση

2.3.1 Παρασκευή δειγμάτων για την προκαταρκτική ανάλυση

Η προκαταρκτική μελέτη έγινε με σκοπό την μελέτη του φάσματος απορρόφησης κάθε μιας από τις εξεταζόμενες ουσίες ξεχωριστά καθώς και τον προσδιορισμό της σταθεράς ισορροπίας pKa. Για τις αναλύσεις αυτής της αρχικής μελέτης παρασκευάστηκαν διαλύματα με αρχική συγκέντρωση 10 µg/mL με βάση τα πρότυπα σε ACN-H₂O 25-75% v/v για καθεμία από τις εξεταζόμενες ουσίες ξεχωριστά. Η παρασκευή των διαλυμάτων γίνεται με βάση το νόμο της αραιώσης σύμφωνα με τον οποίο ισχύει $C_{αρχ} \cdot V_{αρχ} = C_{τελ} \cdot V_{τελ}$.

Οπότε για παράδειγμα η παραγωγή διαλύματος 10 µg/mL MP θα γίνει εισάγοντας 50 µL από το πρότυπο διάλυμα με συγκέντρωση 1000 µg/mL σε μια ογκομετρική φιάλη των 5 mL που στη συνέχεια γεμίζεται με υπερκάθαρο νερό. Με τον ίδιο τρόπο παρασκευάζονται τα διαλύματα και για τις υπόλοιπες εξεταζόμενες ουσίες EP, PP, BP. Για την διεξαγωγή αυτών των πειραμάτων χρειάστηκε να γίνει η ρύθμιση του pH των διαλυμάτων ώστε να γίνει η εξέταση της απορρόφησης του σε pH 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12. Η ρύθμιση του pH σε όλες τις περιπτώσεις έγινε με την

προσθήκη κατάλληλης ποσότητας κάποιου από τα παρακάτω διαλύματα: HCl 10^{-3} M, H_3PO_4 10^{-1} M, NaOH 10^{-4} , NaOH 0,2 M και NaOH 1 M ώστε να επιτευχθεί η επιθυμητή τιμή του pH.

2.3.2 Παρασκευή δειγμάτων για την πρώτη σειρά πειραμάτων

Η πρώτη σειρά πειραμάτων που αφορά στην επίδραση διάφορων παραμέτρων στην φωτολυτική τύχη των παραβενίων έγινε με βάση τα πρότυπα σε MeOH και λαμβάνοντας υπ' όψιν την ισχύ του νόμου της αραίωσης των υδατικών διαλυμάτων. Η παρασκευή των διαλυμάτων γινόταν καθημερινά με τον εξής τρόπο:

Για παράδειγμα για την παρασκευή του διαλύματος συγκέντρωσης 10 μ g/mL μίγματος των εξεταζόμενων ουσιών εισαγόταν 100 μ L από το πρότυπο σε MeOH με συγκέντρωση 1000 μ g/mL σε μια ογκομετρική φιάλη των 10 mL, η οποία κλείνεται αμέσως και τοποθετείται σε αυτή παραφιλμ (parafilm) ώστε να σφραγιστεί για να μην εξατμίζονται οι ουσίες. Στη συνέχεια γίνεται η εξάτμιση της MeOH με την εισαγωγή αέριου αζώτου (N_2) και γεμίζεται με διάλυμα που έχει ρυθμιστεί το pH του στην επιθυμητή τιμή και κλείνεται ξανά με τον ίδιο τρόπο. Ακολούθως, η ογκομετρική φιάλη τοποθετείται για λίγα δευτερόλεπτα στους υπέρηχους ώστε να διαλυθεί όλη η ποσότητα των προστιθέμενων ουσιών και το διάλυμα να είναι έτοιμο για ανάλυση.

Αρχικά, όσον αφορά στην μελέτη της επίδρασης του pH, γνωρίζουμε ότι αλλαγές στην οξύτητα και την αλκαλικότητα επηρεάζουν τον ρυθμό της αντίδρασης κατά τη διάρκεια της φωτοαποδόμησης. Για αυτό το λόγο η φωτοαποδόμηση των εξεταζόμενων ουσιών μελετήθηκε σε τρεις διαφορετικές τιμές του pH: 5,7 και 11. Η μελέτη και των τριών pH έγινε με τη χρήση ρυθμιστικών διαλυμάτων. Ο τρόπος παρασκευής των διαλυμάτων αναφέρεται παραπάνω, ενώ η παρασκευή των απαιτούμενων ρυθμιστικών διαλυμάτων αναφέρεται στην παράγραφο 2.4.1. Τα διαλύματα είχαν όλα συγκέντρωση 10 μ g/mL μίγματος των ουσιών. Η φωτοδιάσπαση των διαλυμάτων έγινε για χρόνους 0 min, 15 min, 30 min, 45 min, 60 min, 90 min, 120 min και 180 min.

Επιπλέον, με σκοπό της επίδραση της αλλαγής της συγκέντρωσης του αρχικού διαλύματος στον ρυθμό της φωτοδιάσπασης παρασκευάστηκαν διαλύματα με

συγκεντρώσεις 2,5 $\mu\text{g/mL}$, 5 $\mu\text{g/mL}$ και 10 $\mu\text{g/mL}$ μίγματος των ουσιών με ρυθμιστικό διάλυμα pH 5 .

Στη συνέχεια, για την εξέταση της πιθανής επίδρασης του ρυθμού φωτοαποδόμησης με την προσθήκη βουτανόλης, ως αναστολέας ριζών υδροξυλίου της αντίδρασης (hydroxyl radical scavenger ή συλληπτικές ρίζες ή ρίζες καθαριστές ή ενώσεις παγίδες) για την εξέταση της πιθανής παρουσίας αντίδρασης μέσω ελεύθερων ριζών, με αρχική συγκέντρωση 10 $\mu\text{g/mL}$ μίγματος των ουσιών σε ρυθμιστικό διάλυμα με pH 5 με τη μόνη διαφορά ότι προστέθηκαν 9,2 μl Βουτανόλης 99% (10,85M) με σκοπό την επίτευξη της επιθυμητής συγκέντρωσης 10 mM σε κάθε δείγμα των 10 ml.

Ακόμη, με σκοπό την μελέτη της επίδρασης του ρυθμού φωτοαποδόμησης με την προσθήκη χουμικών οξέων ,συστατικό των φυσικών επιφανειακών νερών, παρασκευάστηκε αρχικά ένα διάλυμα συγκέντρωσης 240 $\mu\text{g/mL}$ χουμικών οξέων σε ρυθμιστικό διάλυμα pH 5 ως εξής: σε μια κωνική φιάλη 200 mL ζυγίστηκαν και προστέθηκαν 48gr χουμικών οξέων και στη συνέχεια πληρώθηκε με ρυθμιστικό διάλυμα pH 5 ως τη χαραγή. Ακολούθως, παρασκευάστηκε το διάλυμα προς εξέταση με συγκέντρωση 10 $\mu\text{g/mL}$ μίγματος των ουσιών με τη διαφορά ότι το διάλυμα που προστίθεται είναι αυτό που παρασκευάστηκε με την προσθήκη χουμικού οξέος.

Ακολούθως, όσον αφορά στην εξέταση της επίδραση του ρυθμού φωτοαποδόμησης με την προσθήκη νιτρικών ιόντων, συστατικό των φυσικών επιφανειακών νερών όπως και τα χουμικά, παρασκευάστηκε αρχικά ένα διάλυμα συγκέντρωσης 2000 $\mu\text{g/mL}$ KNO_3 σε ρυθμιστικό διάλυμα pH 5 ως εξής: σε μια κωνική φιάλη 25 mL ζυγίστηκαν και προστέθηκαν 50 mg KNO_3 και στη συνέχεια πληρώθηκε με ρυθμιστικό διάλυμα pH 5 ως τη χαραγή. Ακολούθως, παρασκευάστηκε το διάλυμα προς εξέταση με συγκέντρωση 10 $\mu\text{g/mL}$ μίγματος των ουσιών με τη διαφορά ότι στο διάλυμα προστέθηκαν 100 μL από το παραπάνω διάλυμα, δηλαδή ουσιαστικά γίνεται αραιώση του παραπάνω πυκνού διαλύματος νιτρικών σε συγκέντρωση 20 $\mu\text{g/mL}$ και πληρώθηκε με ρυθμιστικό διάλυμα pH 5 ως τη χαραγή.

Τέλος, το τελευταίο πείραμα αυτής της σειράς περιλαμβάνει την μελέτη της πιθανής επίδρασης του ρυθμού φωτοαποδόμησης με την προσθήκη NaCl .Αρχικά, παρασκευάστηκε ένα διάλυμα περιεκτικότητας 3,5% v/v NaCl σε ρυθμιστικό διάλυμα pH 5 ως εξής: σε μια κωνική φιάλη 25 mL ζυγίστηκαν και προστέθηκαν 0,875 gr

NaCl και στη συνέχεια πληρώθηκε με ρυθμιστικό διάλυμα pH 5 ως τη χαραγή. Ακολούθως, παρασκευάστηκε το διάλυμα προς εξέταση με όμοιο τρόπο που αναφέρεται και παραπάνω με συγκέντρωση 10 μg/mL μίγματος των ουσιών με τη διαφορά ότι το διάλυμα που προστίθεται είναι το παραπάνω.

2.3.3 Παρασκευή δειγμάτων για την δεύτερη σειρά πειραμάτων

Για την δεύτερη σειρά πειραμάτων που αφορά την μελέτη της φωτοαποδόμησης των παραβενίων σε φυσικά υδατικά δείγματα από θαλασινό νερό και νερό ποταμού και από επεξεργασμένα ύδατα όπως αυτό του βιολογικού καθαρισμού ο τρόπος παρασκευής των δειγμάτων για ανάλυση είναι ίδιος με αυτόν που περιγράφεται στην 2.3.2 με αρχική συγκέντρωση 10 μg/mL και ρύθμιση του pH στο 5 με τη μόνη διαφορά ότι τα ρυθμιστικά διαλύματα που χρησιμοποιούνται είναι παρασκευασμένα από τα φυσικά υδατικά δείγματα. Η παρασκευή των ρυθμιστικών διαλυμάτων από αληθινά υδατικά δείγματα περιγράφεται παρακάτω στην παράγραφο 2.4.2.

Σημειώνεται ότι το υπερκάθαρο νερό που χρησιμοποιήθηκε καθ όλη τη διάρκεια των πειραμάτων παρέχόταν από όργανο EASYpureRF της εταιρίας Barnsted/ThermoLyne Corporation (Dubuque, IO, USA).

2.4 Παρασκευή ρυθμιστικών διαλυμάτων

2.4.1 Παρασκευή ρυθμιστικών διαλυμάτων για την δεύτερη σειρά πειραμάτων.

Τα ρυθμιστικά διαλύματα που χρειάστηκε να παρασκευαστούν είναι με σκοπό την διατήρηση του pH σταθερό στις τιμές 5, 7 και 11 που εξετάζονται. Συγκεκριμένα ο τρόπος παρασκευής τους περιγράφεται αναλυτικά παρακάτω:

- Διάλυμα 5mM Οξικού αμμωνίου με pH 7,

Αρχικά, με βάση τη σχέση $C = \frac{n}{V} \Rightarrow n = C \cdot V$ υπολογίστηκαν τα mol οξικού αμμωνίου που πρέπει να τοποθετηθούν σε όγκο 0,5 L για να έχουμε συγκέντρωση 5 mM, και στη συνέχεια μέσω του μοριακού βάρους υπολογίστηκε η αντιστοιχία που πρέπει να προστεθεί σε gr. Οπότε σε μια ογκομετρική φιάλη των 0,5 L προστέθηκαν 0,1927 gr οξικού αμμωνίου και πληρώθηκε με υπερκάθαρο νερό ως τη χαραγή. Το pH που μετρήθηκε ήταν 7.

- Ρυθμιστικό διάλυμα 5mM Οξικού αμμωνίου – Οξικού οξέος 99%(Acetic acid) CH₃COOH (17,4 M) με pH 5

Για την παρασκευή αυτού του ρυθμιστικού διαλύματος αρχικά υπολογίστηκε από τον νόμο Handerson-Hasselbalch με την επίδραση κοινού ιόντος η επιθυμητή τελική συγκέντρωση του οξικού οξέος στο ρυθμιστικό διάλυμα να είναι 2,9 mM. Στη συνέχεια υπολογίστηκε με το νόμο της αραιώσης ο όγκος του οξικού οξέος που αντιστοιχεί σε τελική συγκέντρωση 2,9 mM για την παρασκευή 0,5 L ρυθμιστικού διαλύματος. Έτσι σε μια ογκομετρική φιάλη των 0,5 L προστέθηκαν 83 μL οξικού οξέος, 0,1927 gr οξικού αμμωνίου και πληρώθηκε με υπερκάθαρο νερό ως τη χαραγή. Το pH που μετρήθηκε ήταν 5.

- Ρυθμιστικό διάλυμα 5mM Οξικού αμμωνίου –Αμμωνίας, NH₃ 28%(14,5M) με pH 11

Πρώτα υπολογίστηκε από τον νόμο Handerson-Hasselbalch με την επίδραση κοινού ιόντος η επιθυμητή τελική συγκέντρωση της αμμωνίας στο ρυθμιστικό διάλυμα να είναι 0,28 M ,στη συνέχεια με βάση τη σχέση $C = \frac{n}{V} \Rightarrow n = C \cdot V$ υπολογίστηκαν τα mol οξικού αμμωνίου που πρέπει να υπάρχουν σε όγκο 0,1 L για να έχουμε συγκέντρωση 5 mM, και στη συνέχεια μέσω του μοριακού βάρους υπολογίστηκε η αντιστοιχία που πρέπει να προστεθεί σε gr. Επιπλέον, με το νόμο της αραιώσης υπολογίστηκε ο όγκος NH₃ 28% v/v που αντιστοιχεί σε συγκέντρωση 0,28 M για την

παρασκευή 100 L ρυθμιστικού διαλύματος. Οπότε σε μια ογκομετρική φιάλη των 100 ml προστέθηκαν 38,54 mg οξικού αμμωνίου, 1,93 ml NH₃ 28% v/v και πληρώθηκε με υπερκάθαρο νερό ως τη χαραγή. Το pH που μετρήθηκε ήταν 11.

- Ρυθμιστικό διάλυμα 5mM Οξικού αμμωνίου –Αμμωνίας, NH₃ (0,1M) με pH 7

Για την παρασκευή αυτού του διαλύματος, υπολογίστηκε από τον νόμο Handerson-Hasselbalch με την επίδραση κοινού ιόντος η επιθυμητή τελική συγκέντρωση του οξικού οξέος στο ρυθμιστικό διάλυμα να είναι $2,8 \cdot 10^{-5} \text{M}$, στη συνέχεια με βάση τη σχέση $C = \frac{n}{V} \Rightarrow n = C \cdot V$ υπολογίστηκαν τα mol οξικού αμμωνίου που πρέπει να υπάρχουν σε όγκο 0,1 L για να έχουμε συγκέντρωση 5 mM, και στη συνέχεια μέσω του μοριακού βάρους υπολογίστηκε η αντιστοιχία που πρέπει να προστεθεί σε gr. Επιπλέον, με το νόμο της αραίωσης υπολογίστηκε ο όγκος NH₃ (0,1M) που αντιστοιχεί σε συγκέντρωση $2,8 \cdot 10^{-5} \text{M}$ για την παρασκευή 100 L ρυθμιστικού διαλύματος. Οπότε σε μια ογκομετρική φιάλη των 100 mL προστέθηκαν 38,54 mg οξικού αμμωνίου, 28 ml NH₃ (0,1M) και πληρώθηκε με υπερκάθαρο νερό ως τη χαραγή. Το pH που μετρήθηκε ήταν 7.

2.4.2 Παρασκευή ρυθμιστικών διαλυμάτων για την τρίτη σειρά πειραμάτων

Η παρασκευή των ρυθμιστικών διαλυμάτων για τη μελέτη του ρυθμού φωτοδιάσπασης των ουσιών σε φυσικά περιβαλλοντικά δείγματα είναι όμοια με την παρασκευή ρυθμιστικών διαλυμάτων σε πρότυπα υδατικά δείγματα. Η αναλυτική διαδικασία παρασκευή των προτύπων σε pH 5 είναι η παρακάτω

- Διάλυμα 5mM Οξικού αμμωνίου – Οξικού οξέος CH₃COOH 99,9% (17,4M) σε θαλασσινό νερό με pH 5

Αρχικά υπολογίστηκε από τον νόμο Handerson-Hasselbalch με την επίδραση κοινού ιόντος η επιθυμητή τελική συγκέντρωση του οξικού οξέος στο ρυθμιστικό διάλυμα να

είναι 2,9 mM. Στη συνέχεια υπολογίστηκε με το νόμο της αραιώσης ο όγκος του οξικού οξέος που αντιστοιχεί σε τελική συγκέντρωση 2,9 mM για την παρασκευή 0,1 L ρυθμιστικού διαλύματος. Έτσι σε μια κωνική φιάλη των 0,1 L προστέθηκαν 17 μ L οξικού οξέος, 38,54 gr οξικού αμμωνίου και πληρώθηκε με διηθημένο θαλασσινό νερό ως τη χαραγή. Το pH που μετρήθηκε ήταν 5.

- Διάλυμα 5mM Οξικού αμμωνίου - Οξικού οξέος CH_3COOH 99,9% σε νερό από έξοδο βιολογικού καθαρισμού με pH 5
- Διάλυμα 5mM Οξικού αμμωνίου - Οξικού οξέος CH_3COOH 99,9% σε νερό ποταμού με pH 5

Για την παρασκευή των δυο διαλυμάτων ο τρόπος είναι ίδιος με αυτόν του ρυθμιστικού διαλύματος από θαλασσινό νερό που περιγράφεται ακριβώς παραπάνω, με τη διαφορά ότι τώρα χρησιμοποιείται το διηθημένο νερό εξόδου του βιολογικού καθαρισμού και του νερού ποταμού αντίστοιχα.

2.5 Χαρακτηριστικά των φυσικών υδατικών δειγμάτων

Τα φυσικά υδατικά δείγματα που χρησιμοποιήθηκαν για την διεξαγωγή των πειραμάτων της φωτοδιάσπασης των παραβενίων σε φυσικά υδατικά δείγματα ήταν από θαλασσινό νερό, από νερό σε ποτάμι και από νερό βιολογικού καθαρισμού. Συγκεκριμένα, η δειγματοληψία θαλασσινού νερού έγινε από την τοποθεσία Νέα Χώρα του νομού Χανίων, του νερού από βιολογικό καθαρισμό έγινε από την ένωση δεξαμενών εξόδου του βιολογικού καθαρισμού του δήμου Χανίων, πριν τη χλωρίωση και του νερού ποταμού έγινε στον ποταμό Κλαδισσό. Αρχικά, πήραμε μια ποσότητα 100 mL από κάθε ένα από τα παραπάνω δείγματα μόλις συλλέχθηκαν με σκοπό τη διήθησή της πριν την παρασκευή των διαλυμάτων για ανάλυση. Η διήθηση έγινε υπό κενό με διηθητικό χαρτί whatman με διάμετρο πόρων 47mm, το οποίο παρέμεινε σε φούρνο στους 100 °C για 60 min πριν τη διαδικασία της διήθησης. Το διηθητικό χαρτί πριν την παραπάνω διαδικασία τοποθετήθηκε στους 100 °C για 30 min.

Στον Πίνακα 2 δίνονται τα χαρακτηριστικά των φυσικών νερών πριν και μετά την διήθησή τους.

Πίνακας 2: Χαρακτηριστικά των δειγμάτων φυσικών νερών.

ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ	ΘΑΛΑΣΣΙΝΟ ΝΕΡΟ		ΝΕΡΟ ΕΞΟΔΟΥ ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΥ ΚΑΘΑΡΙΣΜΟΥ		ΝΕΡΟ ΠΟΤΑΜΟΥ	
	αδιήθητο	διηθημένο	αδιήθητο	διηθημένο	αδιήθητο	διηθημένο
Αλατότητα (%)	38,7	38,8	0,42	0,42	0,39	0,39
Αγωγιμότητα (mS/cm)	58	58,1	866	851	810000	811000
pH	7,95	8	7,35	7,25	7,21	7,41
Αντίσταση (Ω cm)	17,1	17,2	1165	1172	124100	123900
Θερμοκρασία (°C)	24,5	24,5	24,3	24,8	25,3	25,1
DO (mg/l)	6,33	7,79	5,2	5,26	6,07	4,61
TSS (mg/l)		0,16		0,004		0,020
NO₂⁻(mg/l)		0,027		0,019		0,037
NO₃⁻(mg/l)		1,412		3,824		1,353
PO₄³⁻(mg/l)		0,318		6,314		0,677
Total Cl (mg/l)		1,86		0,13		0,15
Free Cl (mg/l)		0,64		0,44		0,19
COD (mg/l)		-		24		0

Όπου DO (Dissolved Oxygen) το διαλυμένο οξυγόνο, TSS (Total Suspended Solids) τα ολικά αιωρούμενα στερεά και COD (Chemical Oxygen Demand) το χημικά απαιτούμενο οξυγόνο.

Οι μετρήσεις της αλατότητας, της αγωγιμότητας, του pH, της αντίστασης, της θερμοκρασίας και του DO έγιναν με τη χρήση πολύμετρου. Τα αποτελέσματα των TSS έγιναν με ζύγιση του φίλτρου πριν και μετά τη διήθηση των διαλυμάτων. Οι μετρήσεις του ολικού και ελεύθερου χλωρίου έγιναν με Ion Specific meter pH & Chlorine, Hanna Instruments. Οι ποσότητες των NO_2^- , NO_3^- και PO_4^{3-} αλλά και το COD μετρήθηκαν με φασματοφωτόμετρο HACH -DR2800. Αρχικά, λαμβάνεται μια ποσότητα 10mL των δειγμάτων για ανάλυση, στη συνέχεια προστίθεται το κατάλληλο αντιδραστήριο για την μέτρηση των νιτρικών, νιτρωδών ή φωσφορικών ιόντων αλλά και του COD αντίστοιχα, το δείγμα αφήνεται να αντιδράσει και στη συνέχεια μετράται η τιμή απορρόφησής του από το φασματοφωτόμετρο. Τα αποτελέσματα σε mg/L υπολογίζονται μέσω της απορρόφησης από την καμπύλη αναφοράς της μεθόδου για τα εξεταζόμενα νιτρικά, νιτρώδη ή φωσφορικά ιόντα.

2.6 Περιγραφή μεθόδου ανάλυσης με φασματοφωτόμετρο

Για την προκαταρκτική μελέτη που περιλαμβάνει την ανάλυση των δειγμάτων για τον προσδιορισμό των φασμάτων απορρόφησης των εξεταζόμενων ουσιών χωριστά και της σταθεράς ισορροπίας οξέος-βάσεως pKa χρησιμοποιήθηκε ένα φασματοφωτόμετρο. Το φασματοφωτόμετρο που χρησιμοποιείται για την λήψη του φάσματος μιας ουσίας είναι το φασματοφωτόμετρο υπεριώδους UV- ορατού Vis. Οι περιοχές του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος τις οποίες καλύπτει είναι 190-400 nm και 400-800 nm αντιστοίχως. Στην περιοχή αυτή μελετώνται διεγέρσεις ηλεκτρονίων της στοιβάδας σθένους. Όταν ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία αυτής της περιοχής προσπέσει σε μία ουσία, μπορεί να προκαλέσει διασπάσεις χημικών δεσμών, τις περισσότερες όμως φορές απορροφάται και προκαλεί διεγέρσεις ηλεκτρονίων που βρίσκονται στη στοιβάδα σθένους από μια επιτρεπτή στάθμη ενέργειας σε άλλη.

Η λειτουργία του φασματοφωτόμετρου απορρόφησης που χρησιμοποιείται βασίζεται στο πέρασμα μιας σειράς από μήκη κύματος του φωτός από το διάλυμα που περιέχει της εξεταζόμενες ουσίες. Η ένταση του εξερχόμενου μονοχρωματικού φωτός I από ένα διάλυμα είναι εκθετική συνάρτηση της συγκεντρώσεως C του διαλύματος και του πάχους της στοιβάδας d, δια μέσου της οποίας διέρχεται το μονοχρωματικό φώς [24].

Η μαθηματική διατύπωση της σχέσης αυτής ονομάζεται νόμος των Lambert-Beer: $I = I_0 \cdot 10^{-\epsilon Cd}$

I_0 η ένταση του προσπίπτοντος φωτός

I η ένταση του εξερχόμενου φωτός από το διάλυμα

C η συγκέντρωση σε M

d το πάχος της στοιβάδας σε cm και

ϵ ο μοριακός συντελεστής απορρόφησης ή αποσβέσεως της διαλυμένης ουσίας σε $M^{-1} cm^{-1}$

Ο συντελεστής ϵ ισούται με το λόγο της απορρόφησης προς τη συγκέντρωση για ορισμένο μήκος κύματος και πάχος στοιβάδας και εκφράζει την πιθανότητα διέγερσης λόγω απορρόφησης του φωτός. Από την σχέση του Lambert-Beer

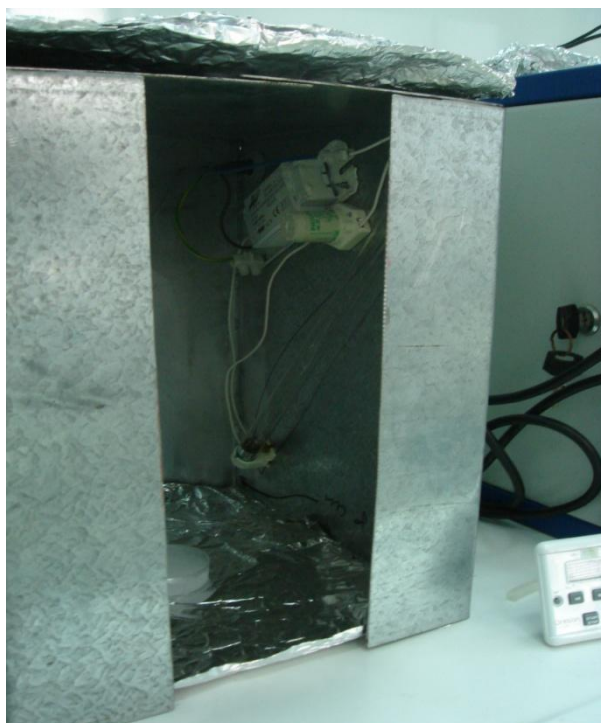
$$\text{παίρνουμε: } \log_{10} \frac{I}{I_0} = -\epsilon Cd$$

Το πηλίκο I/I_0 ονομάζεται διαπερατότητα (transmittance, T) και ο $-\log T$ ονομάζεται απορρόφηση (Absorbance, A) και τελικά έχουμε $A = -\epsilon Cd$. Το εύρος απορρόφησης που συναντάται συνήθως είναι από 0 έως 1. Όταν η τιμή της απορρόφησης σε κάποιο μήκος είναι 0 σημαίνει ότι το φως του συγκεκριμένου μήκους κύματος δεν έχει απορροφηθεί και όταν η τιμή είναι 1 τότε το 90% του φωτός σε αυτό το μήκος κύματος έχει απορροφηθεί που σημαίνει ότι η ένταση είναι 10% της αρχικής [18].

Από τη σχέση $A = -\epsilon Cd$ προκύπτει ότι η απορρόφηση διαλύματος για ένα ορισμένο πάχος στοιβάδας είναι γραμμική εξάρτηση του της συγκέντρωσης του διαλύματος. Έτσι κατασκευάζοντας ένα διάγραμμα με τις τιμές της απορρόφησης και των συγκεντρώσεων, που λαμβάνεται με σειρά προτύπων διαλυμάτων, προσδιορίζουμε την καμπύλη αναφοράς απ όπου μπορούμε γνωρίζοντας την απορρόφηση ενός διαλύματος να βρούμε την τιμή της συγκέντρωσής του. Επιπλέον, αν με το φασματοφωτόμετρο προσβάλλουμε μια ουσία με ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία μεταβαλλόμενου μήκους κύματος και ταυτόχρονα καταγράφεται η ένταση της απορρόφησης σε συνάρτηση με το μήκος κύματος τότε λαμβάνεται το φάσμα απορρόφησης [24].

2.7 Περιγραφή μεθόδου ανάλυσης της φωτοαποδόμησης

Η έκθεση των εξεταζόμενων υδατικών δειγμάτων στην ακτινοβολία UV έγινε με τη χρήση μιας τετράγωνης μεταλλικής κατασκευής με διαστάσεις 28cm x 28cm x 28cm που στο εσωτερικό της είναι τοποθετημένες δύο λάμπες υδραργύρου υπεριώδους ακτινοβολίας μήκους κύματος 254nm, έντασης 8 Watt, χαμηλής πίεσης (Philips TUV 8W G8 T5). Δηλαδή, το κάθε δείγμα εκτίθεται σε ακτινοβολία 16W εφόσον έχουμε δυο λάμπες των 8W η καθεμία. Η συσκευή που χρησιμοποιήθηκε στο εργαστήριο φαίνεται στην Εικόνα 3.



Εικόνα 3: Θάλαμος εκπομπής UV ακτινοβολίας (Photobox)

Για την έκθεση των δειγμάτων στον θάλαμο εκπομπής ακτινοβολίας UV τοποθετούνται 8,5 mL του διαλύματος που παρασκευάζουμε καθημερινά για ανάλυση, όπως περιγράφεται στην παράγραφο 2.3.2, με σιφόνιο σε φιαλίδιο κατασκευασμένο από χαλαζία με χωρητικότητα περίπου 9 mL. Ακολούθως, το φιαλίδιο κλείνεται καλά με την ειδική βαλβίδα και τοποθετείται στο κέντρο της συσκευής Photobox, όπου εκτίθεται σε UV ακτινοβολία στον απαιτούμενο κάθε φορά χρόνο. Μετά το πέρας του χρόνου της φωτοδιάσπασης με μια σύριγγα χωρητικότητας

50 μL παίρνουμε 30 μL δείγματος και το τοποθετούμε σε μικρό φιαλίδιο (insert) που κλείνεται αμέσως με καπάκι. Στη συνέχεια τα δείγματα που συλλέγονται μεταφέρονται για ανάλυση με τη μέθοδο HPLC-MS.

Σημειώνεται επίσης ότι σε όλες τις περιπτώσεις των αναλύσεων των δειγμάτων διεξάγεται αρχικά ένα πείραμα ελέγχου (control), κατά το οποίο παρασκευάζονται τα ίδια διαλύματα και αναλύονται ομοίως με την μέθοδο HPLC-MS με τη διαφορά ότι αυτά τα δείγματα δεν εκτίθενται σε ακτινοβολία UV αλλά βρίσκονται κλεισμένα σε σκοτεινό μέρος. Αυτός ο έλεγχος είναι αναγκαίος για την επιβεβαίωση της ισχύς των αναλύσεων με τη μέθοδο της φωτοδιάσπασης με ακτινοβολία UV. Τα αποτελέσματα των αναλύσεων των πειραμάτων ελέγχου (control) για όλες τις σειρές πειραμάτων επιβεβαιώνουν ότι η συγκέντρωση των παραβενίων στα εξεταζόμενα δείγματα δεν μειώνεται χωρίς την έκθεσή τους σε ακτινοβολία.

2.8 Περιγραφή μεθόδου ανάλυσης HPLC-MS

Για την ανάλυση του ρυθμού αντίδρασης των ουσιών κατά τη διάρκεια της φωτοαποδόμησης αλλά και για την ποιοτική και ποσοτική ανίχνευση των κύριων ενώσεων που εξετάζονται χρησιμοποιήθηκε σύστημα HPLC-MS. Η υγρή χρωματογραφία (Liquid Chromatography, LC), από τα μέσα της δεκαετίας του 1990 είναι μια πολύ συχνά εφαρμοζόμενη χρωματογραφική τεχνική στην οποία η κινητή φάση είναι υγρή. Με αυτή την τεχνική είναι δυνατός ο διαχωρισμός και ο ποσοτικός προσδιορισμός πολικών, μη πτητικών ή θερμοευαίσθητων ενώσεων καθώς και ενώσεων υψηλού μοριακού βάρους οι οποίες δεν μπορούν να αναλυθούν απευθείας με την αέρια χρωματογραφία και αναφέρεται ότι έχει εφαρμογές στον διαχωρισμό και την ανάλυση μιγμάτων, μοριακών ή ιοντικών ενώσεων που έχουν χαμηλή τάση ατμών ή ενώσεων που δεν μπορούν να εξαερωθούν χωρίς να διασπασθούν [10, 15, 16, 23]. Συγκεκριμένα η HPLC-MS (High Performance Liquid Chromatography – Mass Spectrometry) που χρησιμοποιείται για την διεξαγωγή των αναλύσεων εμφανίζει πολλά πλεονεκτήματα σε σχέση με άλλες τεχνικές ανάλυσης δειγμάτων με σημαντικότερο την ευαισθησία και την επιλεκτικότητά της στην ανάλυση ρύπων σε χαμηλές συγκεντρώσεις. Το HPLC-MS που χρησιμοποιείται για την ανάλυση των δειγμάτων αποτελείται από τους διαλύτες, την αντλία, τον ανιχνευτή και την

χρωματογραφική στήλη. Έτσι διαχωρίζονται στην αρχή οι ουσίες που έχουν μικρό χρόνο συγκράτησης στη στήλη και με την αύξηση της ισχύος εκλούνται καλύτερα και όσες συγκρατούνται για περισσότερο χρόνο. Η κινητή φάση είναι μίγμα δύο ή περισσότερων διαλυτών που επιλέγονται με κριτήρια την πολικότητα και την επιλεκτικότητά τους. Η επιλογή της κινητής φάσης γίνεται έτσι ώστε να διαφέρει η πολικότητά της από αυτή της στατικής φάσης ώστε να υπάρχει ικανοποιητικός διαχωρισμός στα συστατικά του δείγματος που αναλύεται [23].

Το συγκεκριμένο σύστημα HPLC που χρησιμοποιήθηκε για την ανάλυση των δειγμάτων αποτελείται από έναν αυτόματο δειγματολήπτη κατασκευασμένο από την εταιρία Agilent 1200 Series HPLC system (Agilent Technologies, USA) και περιλαμβάνει δύο ανιχνευτές, ένα ανιχνευτή ακτινοβολίας UV και ένα ανιχνευτή μάζας MS, καθώς και μία αντλία δύο διαλυτών που περιλαμβάνει τους διαλύτες μεθανόλη και διάλυμα 5mM Οξικού αμμωνίου με pH 7. Η χρωματογραφική στήλη που χρησιμοποιήθηκε ήταν μια Thermo Scientific Betasil C18 analytical στήλη (2.1 mm ID x 100 mm μήκος x 5μm μέγεθος σωματιδίων) σε θερμοκρασία 45°C. Η κινητή φάση ήταν μίγμα σε αναλογία 60:40 NH₄OAC : MeOH και ροή 0,2 mL/min. Τα πρώτα 5 min η αναλογία παραμένει 60:40, στη συνέχεια μέχρι τα 13 min είναι 45:55, έπειτα μέχρι τα 21 min είναι 0:100 και τέλος από τα 21 min μέχρι το τέλος της ανάλυσης παραμένει σταθερή πάλι 60:40. Ο όγκος του δείγματος προς ανάλυση ήταν 30 μL ενώ ο όγκος της ένεσης κάθε δείγματος είναι 20 μl και η ανίχνευση επιτεύχθηκε με ανιχνευτή UV και ανιχνευτή MS αρνητικής πολικότητας. Ο συνολικός χρόνος ανάλυσης είχε οριστεί στα 29 λεπτά. Τα χρωματογραφικά δεδομένα επεξεργάστηκαν από λογισμικό Agilent που ήταν συνδεδεμένο με το HPLC-MS και έδινε τη δυνατότητα ολοκλήρωσης των περιοχών εμφάνισης των ουσιών αλλά και την ταυτοποίησή τους με τον έλεγχο της μάζας των ιόντων σε συνδυασμό με τους χρόνους κατακράτησης.

Ακολουθώς, στον Πίνακα 3 δίνονται οι χρόνοι κατακράτησης όλων των ουσιών που καταγράφηκαν κατά την ανάλυση δειγμάτων με το HPLC-MS και στον Πίνακα 4 δίνεται η μάζα των κύριων ιόντων στο MS για την ταυτοποίηση των εξεταζόμενων ουσιών.

Πίνακας 3: Χρόνοι κατακράτησης της κάθε εξεταζόμενης ουσίας για τον ανιχνευτή MS.

	LC-MS
Ενώσεις	Χρόνοι κατακράτησης(min)
Μέθυλπαραβενιο	5,663
Αίθυλπαραβενιο	9,615
Πρόπυλπαραβενιο	13,348
Βούτυλπαραβενιο	17,752

Πίνακας 4: Η μάζα των κύριων ιόντων στο MS για την ταυτοποίηση των εξεταζόμενων ουσιών.

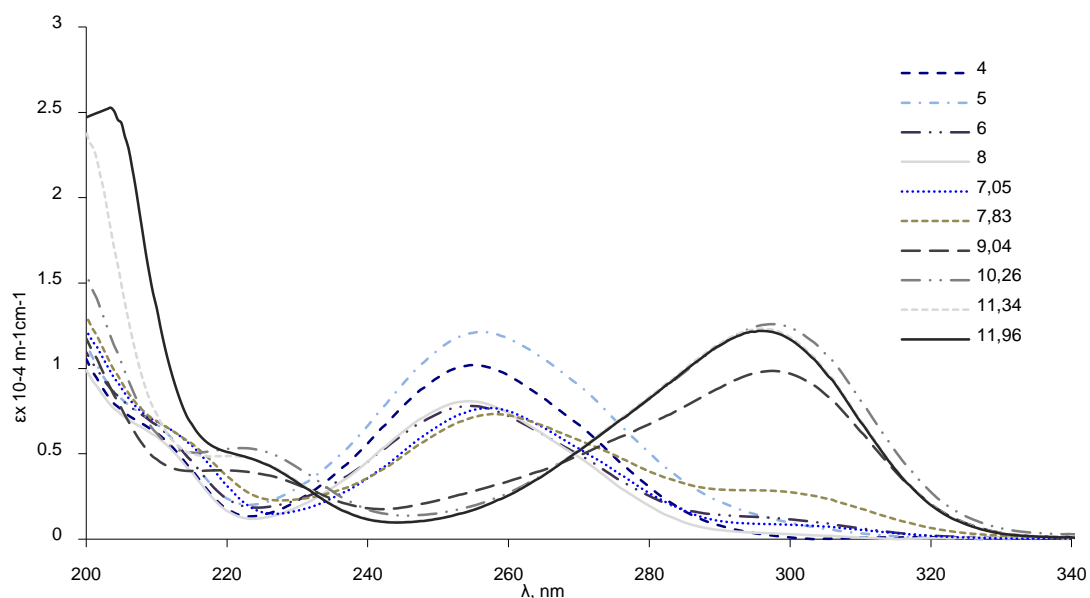
Ενώσεις	Η μάζα των κύριων ιόντων στο MS για την ταυτοποίηση των εξεταζόμενων ουσιών (m/z)
Μέθυλπαραβενιο	151,152,165
Αίθυλπαραβενιο	165,166
Πρόπυλπαραβενιο	179,180
Βούτυλπαραβενιο	193,194

Αρχικά, πριν την έναρξη των αναλύσεων των δειγμάτων έγινε η βαθμονόμηση του HPLC. Συγκεκριμένα έγινε η παρασκευή διαλυμάτων με συγκεντρώσεις 0,5 $\mu\text{g/mL}$, 1 $\mu\text{g/mL}$, 2,5 $\mu\text{g/mL}$, 5 $\mu\text{g/mL}$, 10 $\mu\text{g/mL}$ και 15 $\mu\text{g/mL}$ μίγματος των εξεταζόμενων ουσιών στο ρυθμιστικό διάλυμα με pH 5.

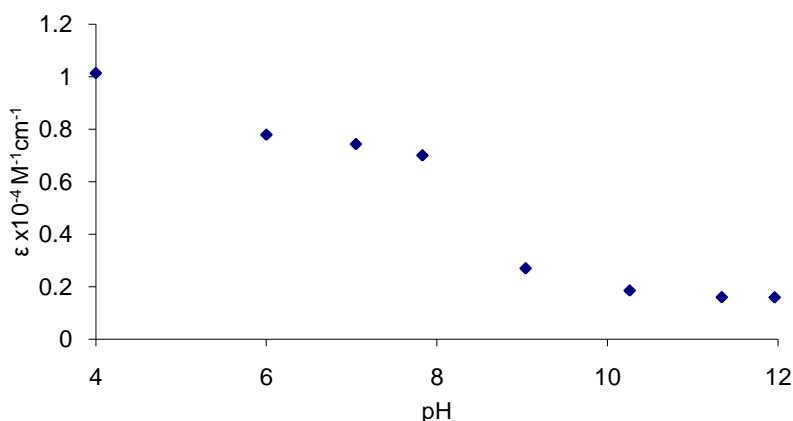
3 Αποτελέσματα και συζήτηση

3.1 Προκαταρκτική μελέτη

Στο Γραφήμα 1 παρουσιάζεται ενδεικτικά το φάσμα της απορρόφησης του BP, μιας από τις εξεταζόμενες ουσίες και στο Γράφημα 2 παρουσιάζεται ο υπολογισμός της σταθεράς ισορροπίας pK_a με βάση τα αποτελέσματα των πειραμάτων. Η συγκέντρωση του εξεταζόμενου δείγματος ήταν $10 \mu\text{g/mL}$ και οι τιμές του pH κυμαίνονται από 4 έως 12.



Γράφημα 1: Φάσμα απορρόφησης του BP σε διάφορες τιμές του pH.



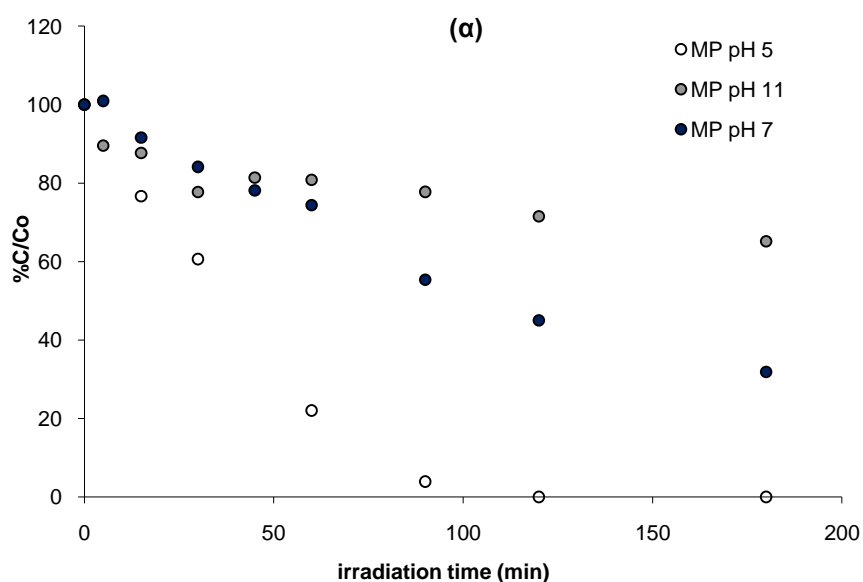
Γράφημα 2: Προσδιορισμός της σταθεράς ισορροπίας pK_a για το BP.

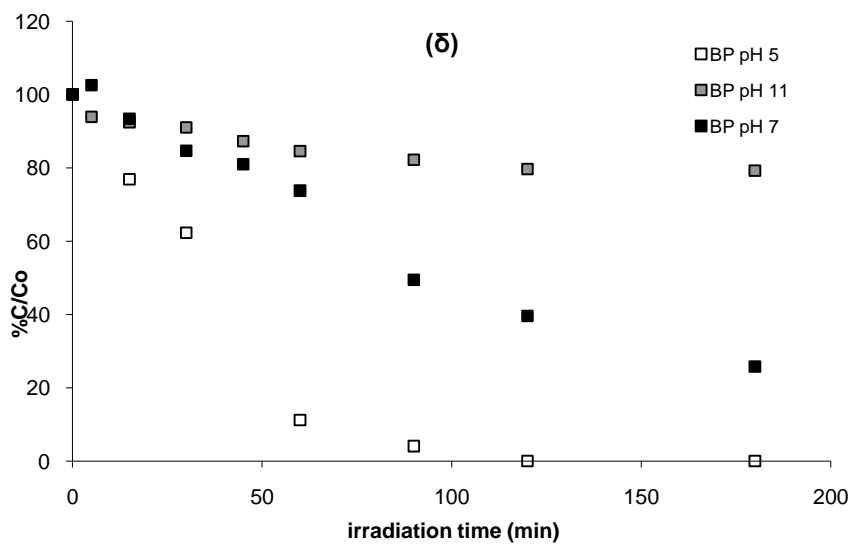
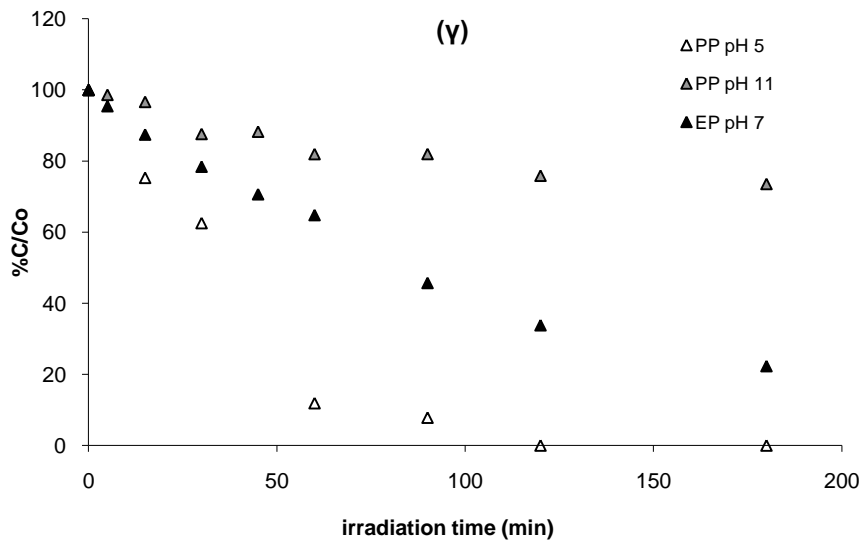
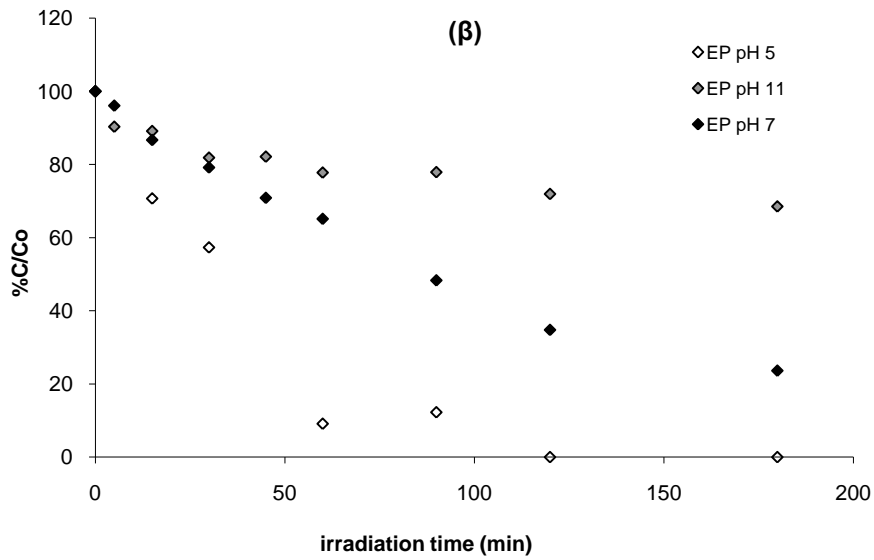
Από το Γράφημα 1 βλέπουμε ότι το φάσμα απορρόφησης εξαρτάται από την τιμή του pH. Για τις τιμές του pH που είναι μικρότερες ή ίσες του 8 παρατηρείται μια μέγιστη περιοχή απορρόφησης στα 256 nm, σημείο το οποίο βρίσκεται πολύ κοντά στην μέγιστη εκπομπή του λαμπτήρα για την διεξαγωγή του πειράματος στα (254nm). Από την άλλη πλευρά, τα διαλύματα με τιμή του pH μεγαλύτερη ή ίση του 9 φαίνεται να εμφανίζουν μέγιστη απορρόφησης στα 297 nm. Στη συνέχεια, αν παραστήσουμε την τιμή του συντελεστή απορρόφησης ϵ , για μήκος κύματος 254 nm, στις διάφορες τιμές του pH κατασκευάζουμε το Γράφημα 2. Η σταθερά ισορροπίας του BP υπολογίζεται να είναι $pK_a = 8,48$, τιμή που είναι πολύ κοντά στην θεωρητική τιμή του pK_a με εύρος από 8,37 έως 8,47, όπως φαίνεται από τον Πίνακα 1 της παραγράφου 1.2.1 που καταγράφονται κάποιες από τις φυσικοχημικές ιδιότητες των παραβενίων. Οπότε για τιμές του pH μικρότερες τις τιμές του pK_a το σημείο μέγιστης απορρόφησης είναι στα 256 nm ενώ για τιμές του pH μεγαλύτερες του pK_a το σημείο μέγιστης απορρόφησης φαίνεται να μετατοπίζεται στα 297 nm. Τα αποτελέσματα του φάσματος απορρόφησης και της τιμής του pK_a για το BP, σύμφωνα με την πρόσφατη μελέτη [1], επιβεβαιώνουν τα αποτελέσματα της δικής μας μελέτης. Τα MP, EP και PP ακολουθούν όμοιο φάσμα απορρόφησης με το Γράφημα 1 και η τιμή του pK_a υπολογίζεται να είναι 8,53, 8,20 και 8,33 αντίστοιχα.

3.2 Επίδραση των παραμέτρων στην φωτολυτική τύχη των παραβενίων

3.2.1 Επίδραση του pH

Τα αποτελέσματα των πειραμάτων με σκοπό την μελέτη της επίδρασης του pH στην ταχύτητα της φωτοαποδόμησης για την κάθε ουσία ξεχωριστά δίνονται στο Γραφήμα 3. Επιλέχθηκε να εξεταστεί η ταχύτητα της φωτοδιάσπασης για τρεις διαφορετικές τιμές του pH και συγκεκριμένα τις 5, 7 και 11 σε διάλυμα με μίγμα των παραβενίων με αρχική συγκέντρωση 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ με σκοπό την εξέταση της συμπεριφοράς των ουσιών σε όξινο, ουδέτερο και βασικό pH.





Γράφημα 3: Απομάκρυνση των εξεταζόμενων ουσιών (α) MP, (β) EP, (γ) PP και (δ) BP σε συνάρτηση με το χρόνο για pH 5, 7 και 11.

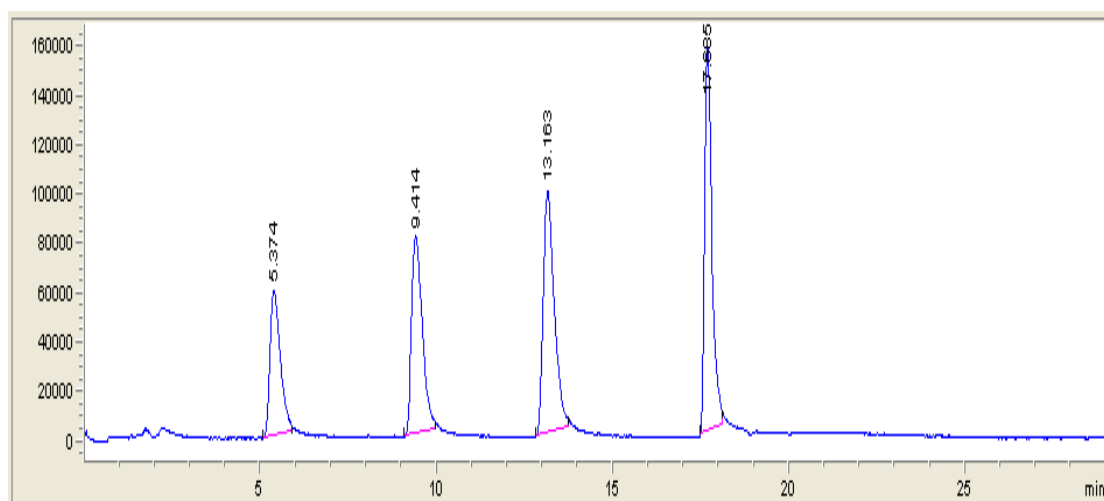
Τα αποτελέσματα για την μελέτη της επίδρασης του pH στην διαδικασία της φωτοαποδόμησης στο Γράφημα 3 αποδεικνύουν την εξάρτηση της ταχύτητας διάσπασης από την τιμή του pH. Η πιο γρήγορη αποδόμηση των εξεταζόμενων ουσιών γίνεται στο pH 5 και η πιο αργή γίνεται στο pH 11. Όσον αφορά το pH 7 ο ρυθμός της φωτοδιάσπασης φαίνεται να είναι ενδιάμεσα στις τιμές του ρυθμού των άλλων δυο εξεταζόμενων pH. Συγκεκριμένα, όσον αφορά στο pH 5 η φωτοαποδόμηση και των τεσσάρων εξεταζόμενων ουσιών γίνεται μέσα στα πρώτα 120 min, στο pH 7 υπάρχει μείωση της συγκέντρωσης των ουσιών από 54,5 έως 66,2% και στο pH 11 μειώνονται σε ποσοστό από 20,1 έως 28,5%.

Το γεγονός ότι η φωτοαποδόμηση δεν ευνοείται σε υψηλά pH οφείλεται στην ύπαρξη της ανιονικής μορφής των παραβενίων σε αλκαλικά διαλύματα. Συγκεκριμένα η αντίδραση της διάστασης είναι της μορφής $HA \leftrightarrow H^+ + A^-$ όπου HA είναι ένα από τα εξεταζόμενα παραβένια και A^- η συζυγής του βάση. Όταν η τιμή του pH είναι μικρότερη από την τιμή του pKa δηλαδή μικρότερη του 8,5 τότε λόγω της παραπάνω αντίδρασης κυριαρχεί η μορφή του οξέος που φωτοαποδομείται πιο εύκολα ενώ όταν η τιμή του pH είναι μεγαλύτερη του pKa δηλαδή μεγαλύτερη του 8,5 τότε κυριαρχεί η συζυγής βάση που φωτοαποδομείται πιο δύσκολα. Επιπλέον, από την προκαταρκτική μελέτη καταλήξαμε στο συμπέρασμα ότι η μέγιστη τιμή απορρόφησης για τιμές του pH μέχρι 8 είναι 256 nm, τιμή που είναι κοντά στην εκπεμπόμενη ακτινοβολία του λαμπτήρα στα 254 nm, ενώ για τιμές του pH μεγαλύτερες ή ίσες του 9 η μέγιστη τιμή της απορρόφησης είναι 297 nm. Έτσι εξηγείται το γεγονός ότι με χρήση ακτινοβολίας UV 254 nm η φωτοαποδόμηση φαίνεται να γίνεται με γρηγορότερο ρυθμό στο pH 5 και 7 απ ότι στο pH 11. Ακόμη, στο Γράφημα 3 παρατηρείται διαφοροποίηση της ταχύτητας φωτοαποδόμησης για τα MP, EP, PP και BP, που αποτελεί ένδειξη ότι όσο αυξάνεται το μήκος της αλυσίδας των εστέρων απαιτείται μεγαλύτερη ποσότητα ενέργειας για την φωτοδιάσπαση.

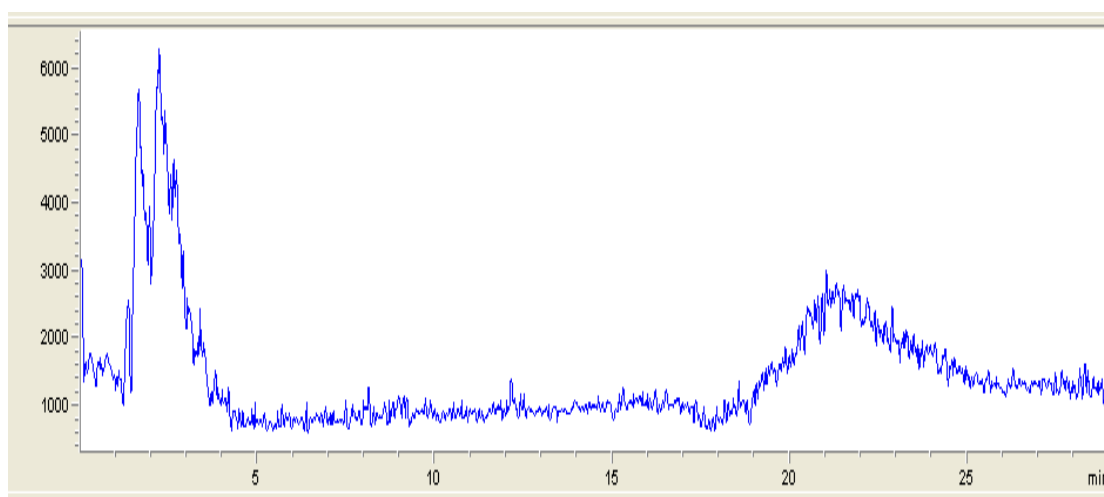
Οι D. Błęska et al. [1], καταλήγουν ότι ο ρυθμός φωτοδιάσπασης του BP είναι γρηγορότερος στο pH 5 και 7 σε σχέση με το pH 11 αλλά παρατηρούν ότι στο pH 5 και 7 οι ρυθμοί διάσπασης ταυτίζονται, γεγονός που εξηγείται από τη απομάκρυνση του σημείου μέγιστης απορρόφησης από την εκπεμπόμενη ακτινοβολία του λαμπτήρα στα 254 nm. Στη συγκεκριμένη έρευνα, η περιοχή μέγιστης απορρόφησης στα 256nm καλύπτει μεγαλύτερο εύρος τιμών του pH σε σχέση με την δική μας έρευνα και

επιπλέον η χρήση διαφορετικού ρυθμιστικού διαλύματος μπορεί να έχουν επιπτώσεις στην ταχύτητα της φωτοδιάσπασης. Από την άλλη πλευρά, οι Canosa et al. [2] που εξέτασαν τον ρυθμό φωτοαποδόμησης του EP για διάφορες τιμές του pH και σε διάφορες συγκεντρώσεις χλωρίου, αναφέρουν διαφοροποίηση του ρυθμού της φωτοαποδόμησης όσο απομακρυνόμαστε από το pH 6,3 στο 8,5.

Στις Εικόνες 4 και 5 δίνονται τα χρωματογραφήματα των εξεταζόμενων ουσιών στα 0 και 120 min, για αρχική συγκέντρωση 10 µg/mL σε pH 5.



Εικόνα 4: Χρωματογράφημα των εξεταζόμενων ουσιών στα 0 min.

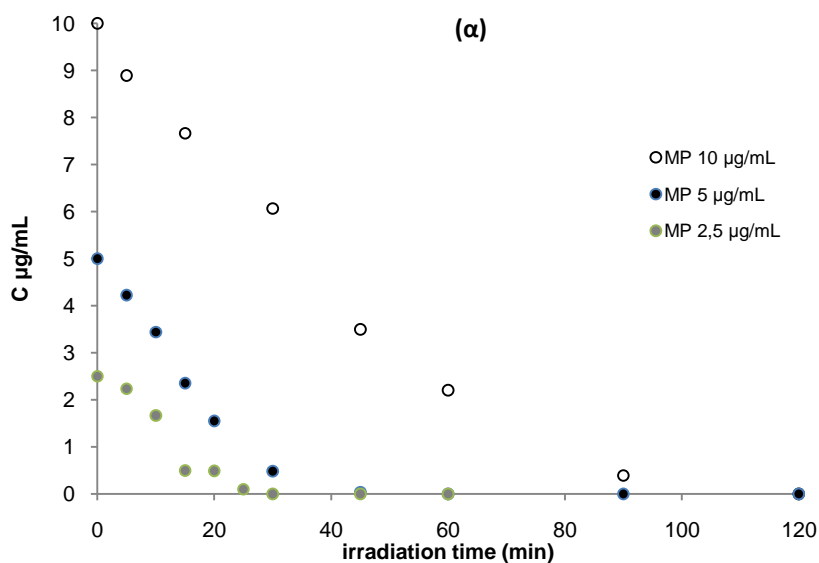


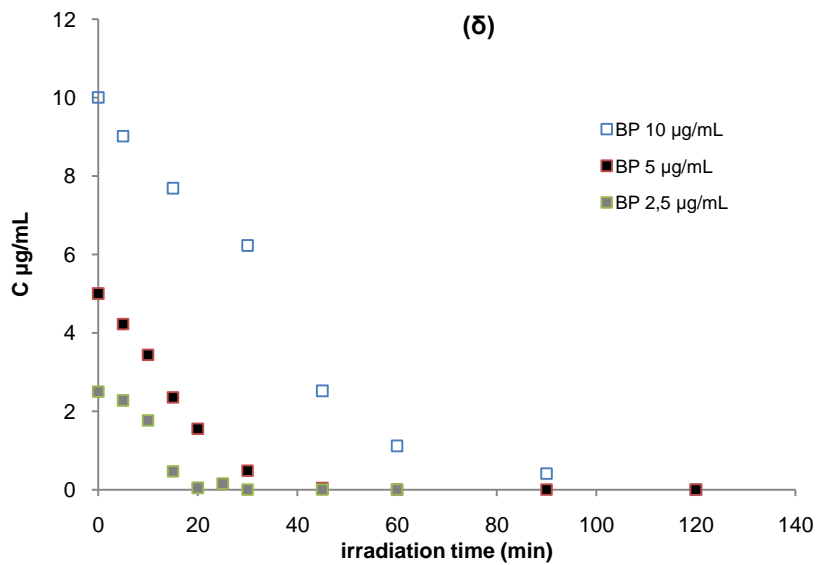
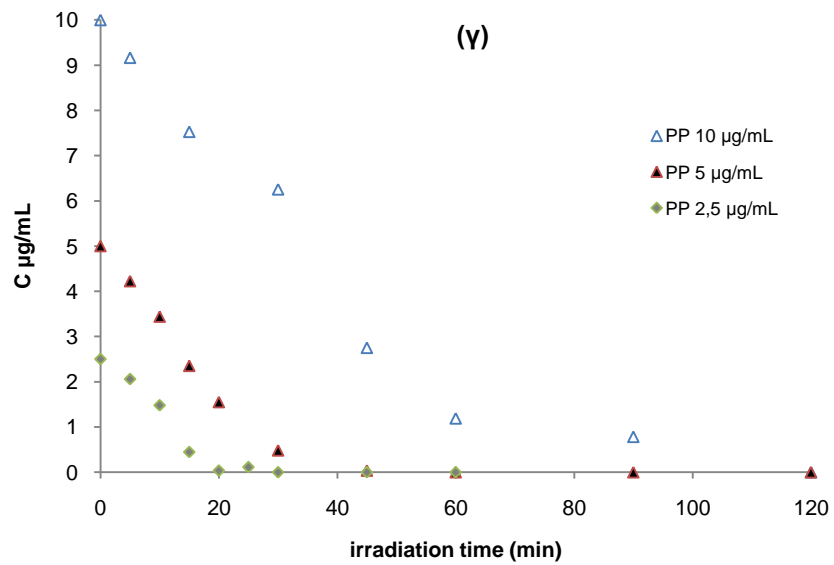
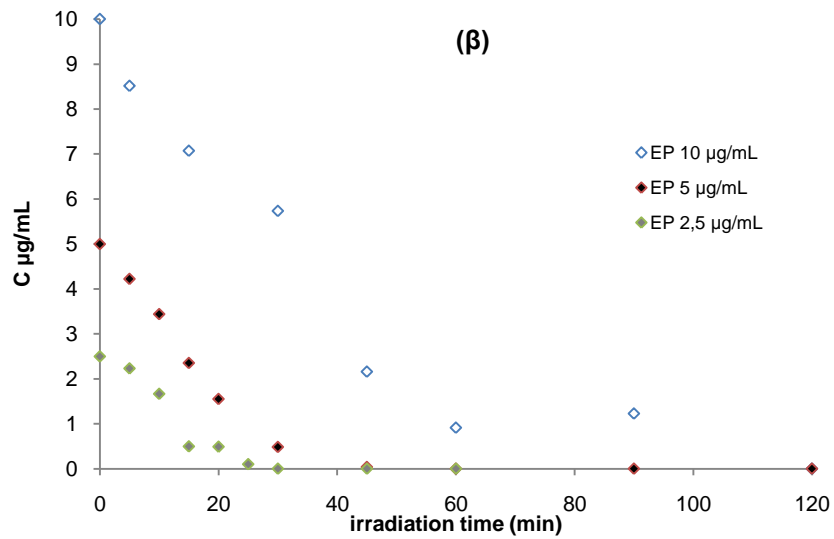
Εικόνα 5: Χρωματογράφημα των εξεταζόμενων ουσιών στα 120 min.

Στην Εικόνα 4 βλέπουμε την εμφάνιση των ουσιών MP, EP, PP και BP στους αντίστοιχους χρόνους κατακράτησης. Μετά από 120 min φωτοαποδόμησης οι εξεταζόμενες ουσίες φαίνεται να έχουν διασπαστεί πλήρως γιατί δεν εμφανίζονται στους αντίστοιχους χρόνους κατακράτησης, Εικόνα 5.

3.2.2 Επίδραση συγκεντρώσεων

Στο Γράφημα 4 φαίνεται η αλλαγή του ρυθμού της φωτόλυσης των παραβενίων για αρχικές τιμές συγκεντρώσεων 2,5, 5 και 10 $\mu\text{g/mL}$ μίγματος των ουσιών σε ρυθμισμένο pH 5. Ο λόγος της επιλογής του pH 5 είναι η δυνατότητα μελέτης της διαφοροποίησης της ταχύτητας της αντίδρασης για διάφορες συγκεντρώσεις σε διάστημα 120 min.



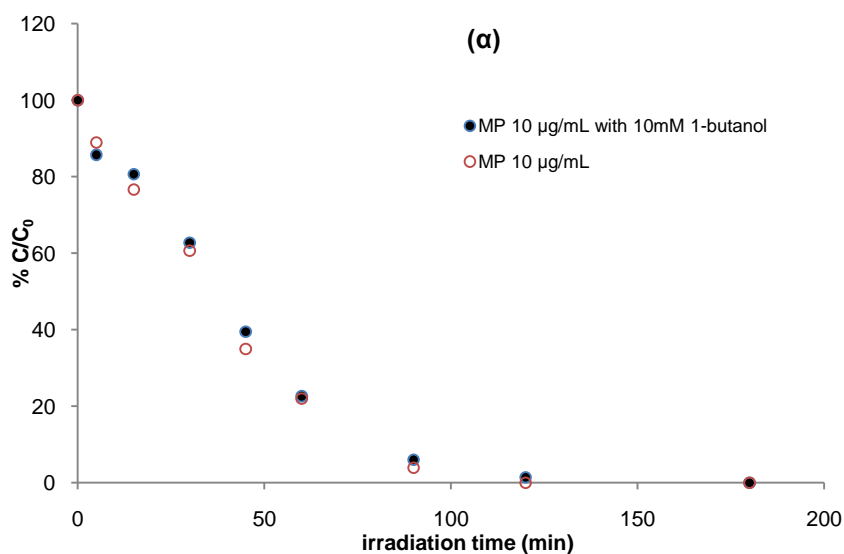


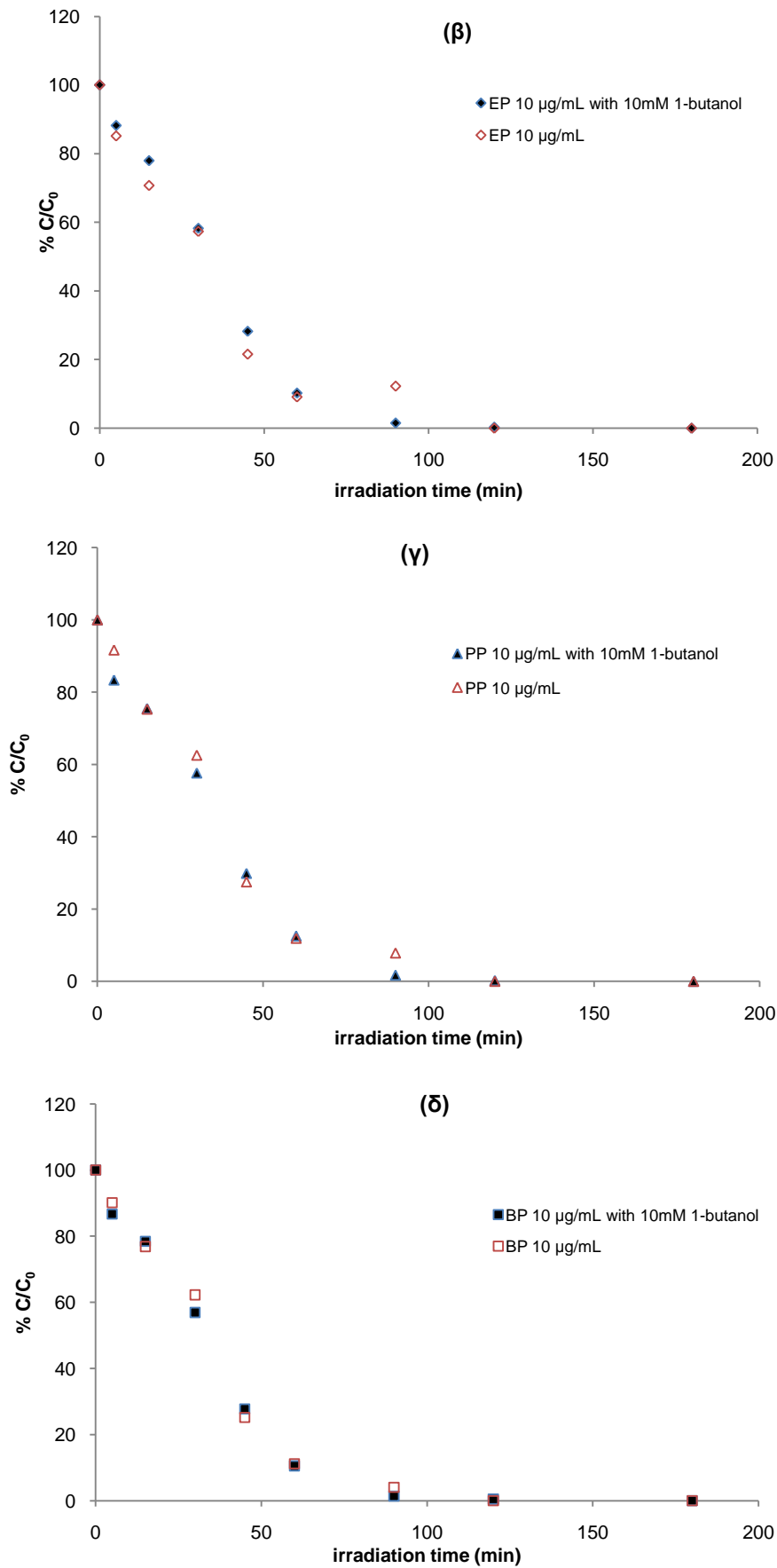
Γράφημα 4: Φωτοαποδόμηση των εξεταζόμενων ουσιών (α) *MP*, (β) *EP*, (γ) *PP* και (δ) *BP* για διαφορετικές αρχικές συγκεντρώσεις.

Από το Γράφημα 4 βλέπουμε ότι η μείωση της αρχικής ποσότητας συγκέντρωσης των παραβενίων στα εξεταζόμενα δείγματα έχει ως αποτέλεσμα την μείωση του απαιτούμενου χρόνου έκθεσης στην ακτινοβολία UV για την πλήρη διάσπαση των ουσιών. Πιο συγκεκριμένα, παρατηρείται ότι όταν έχουμε αρχική συγκέντρωση 10μg/mL οι εξεταζόμενες ουσίες έχουν φτάσει σχεδόν στην πλήρη αποδόμησή τους στα 120 min, για αρχική συγκέντρωση 5μg/mL στα 45min και για αρχική συγκέντρωση 2,5 μg/mL στα 20 με 25 min. Ακόμη, παρατηρείται διαφοροποίηση της ταχύτητας φωτοαποδόμησης για τα MP, EP, PP και BP. Το γεγονός αυτό αποτελεί ένδειξη ότι όσο αυξάνεται το μήκος της αλυσίδας των εστέρων απαιτείται μεγαλύτερη ποσότητα ενέργειας για την φωτοδιάσπαση των παραβενίων. Πρόσφατη έρευνα [1] όπου μελετάται η επίδραση διάφορων παραμέτρων στην ταχύτητα της φωτοδιάσπασης του BP καταλήγει επίσης στην αξιοσημείωτη εξάρτηση της ταχύτητας φωτόλυσης από την ποσότητα της αρχικής συγκέντρωσης.

3.2.3 Επίδραση προσθήκης Βουτανόλης

Στο Γράφημα 5 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της εξέτασης πιθανής μεταβολής του ρυθμού της φωτόλυσης των παραβενίων με την προσθήκη βουτανόλης, ως αναστολέας ριζών υδροξυλίου της αντίδρασης (hydroxyl radical scavenger), σε διαλύματα με αρχική συγκέντρωση 10 μg/mL, σε pH 5 και με συγκέντρωση 10mM 1-βουτανόλης.



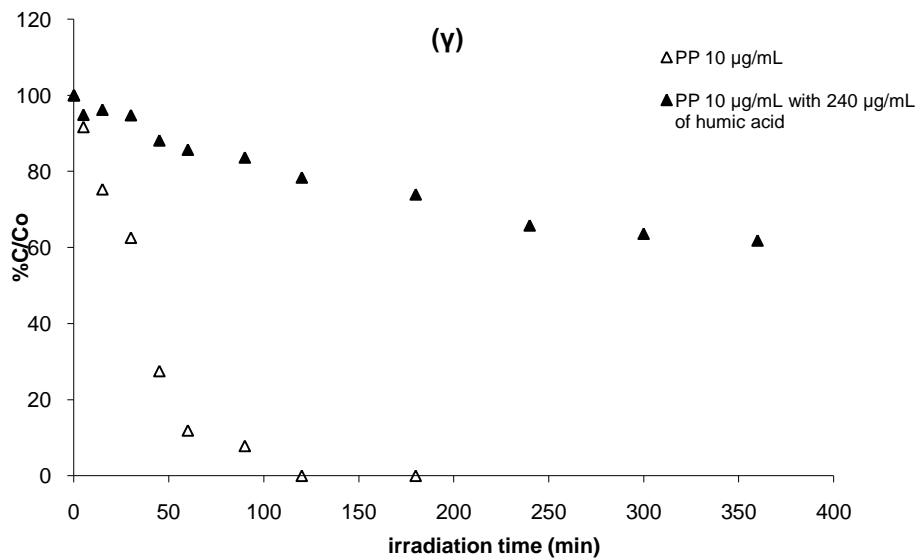
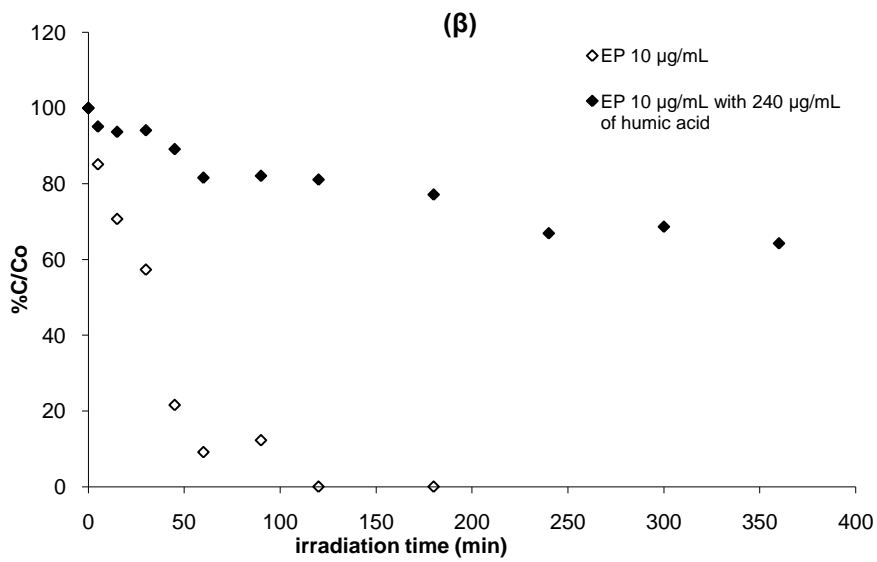
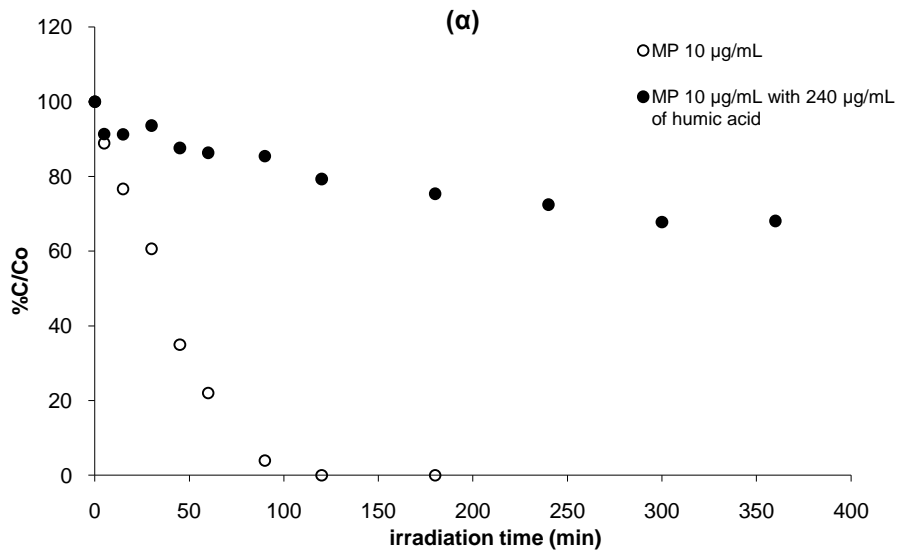


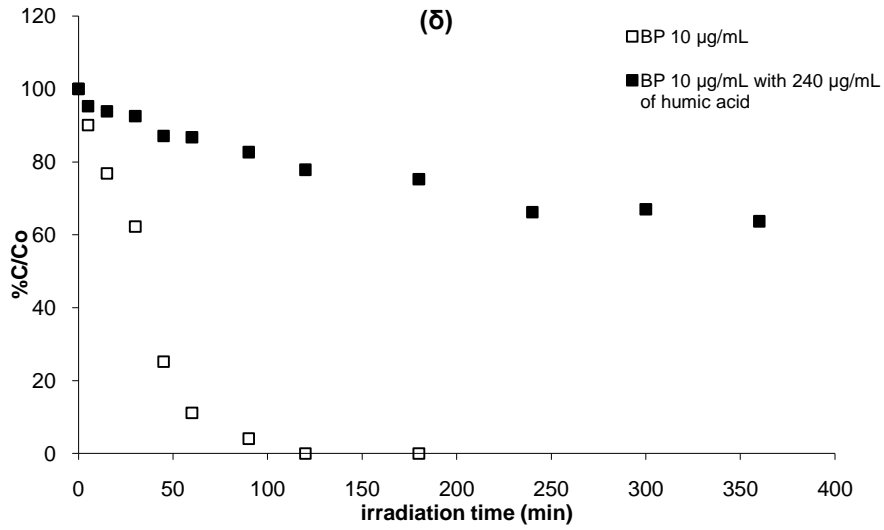
Γράφημα 5: Σύγκριση του ρυθμού φωτοδιάσπασης των παραβενίων (α) MP, (β)EP, (γ) PP και (δ) BP με και χωρίς την προσθήκη βουτανόλης.

Κατά τη διάρκεια της φωτοαποδόμησης των εξεταζόμενων ουσιών η φωτοδιάσπαση μπορεί να γίνει άμεσα ή έμμεσα με την αντίδραση μέσω δευτερεύουσων οξειδωτικών ουσιών όπως οι ρίζες του υδροξυλίου. Είναι δυνατό να ληφθούν πληροφορίες για την πιθανότητα έμμεσης φωτόλυσης μέσω των ριζών υδροξυλίου, με την προσθήκη βουτανόλης, ως αναστολέα ριζών υδροξυλίου (hydroxyl radical scavenger). Σε περίπτωση που το ποσοστό αποδόμησης των εξεταζόμενων ουσιών μειώνεται αρκετά με την προσθήκη αυτών των ενώσεων «παγίδας», συμπεραίνουμε ότι λαμβάνουν χώρα αλυσιδωτές αντιδράσεις ελεύθερων ριζών. Σύμφωνα με έρευνα που μελετάται η κινητική αντιδράσεων φωτόλυσης με την προσθήκη βουτανόλης [22], υποστηρίζεται ότι η προσθήκη βουτανόλης σε ποσό 10 mM είναι επαρκής για την αναστολή του σχηματισμού των ριζών υδροξυλίων. Με σκοπό την πιθανότητα ύπαρξης τέτοιων ριζών στη διαδικασία της φωτοαποδόμησης εξετάστηκε η επίδραση της προσθήκης βουτανόλης στο υδατικό διάλυμα. Από το Γράφημα 5 φαίνεται ότι η προσθήκη βουτανόλης δεν επηρέασε την φωτοαποδόμηση των εξεταζόμενων ουσιών, γεγονός που δείχνει ότι δεν λαμβάνουν χώρα αντιδράσεις που απαιτούν την ύπαρξη ελεύθερων ριζών. Στο ίδιο συμπέρασμα κατέληξε και πρόσφατη έρευνα που εξέτασε την επίδραση της προσθήκης 0,1M τ- βουτανόλης σε διάλυμα που περιείχε BP 10 µg/mL[1].

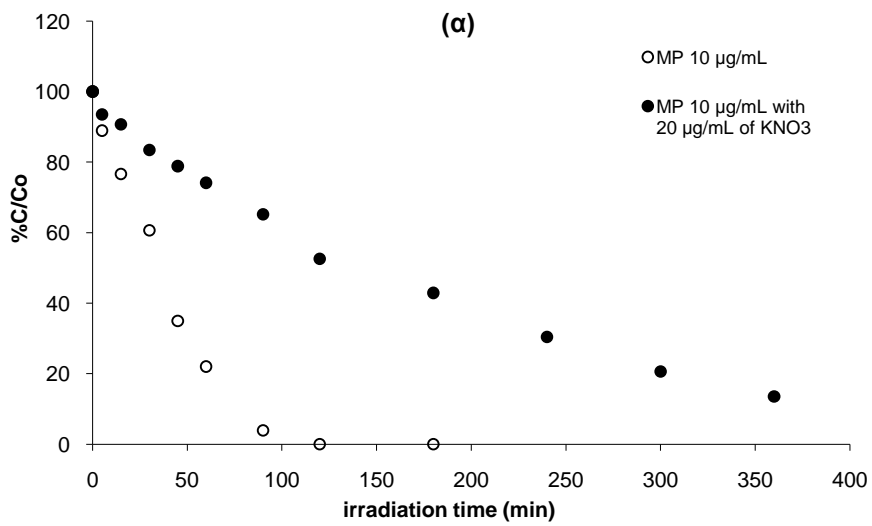
3.2.4 Επίδραση προσθήκης Χουμικών οξέων και Νιτρικών ιόντων

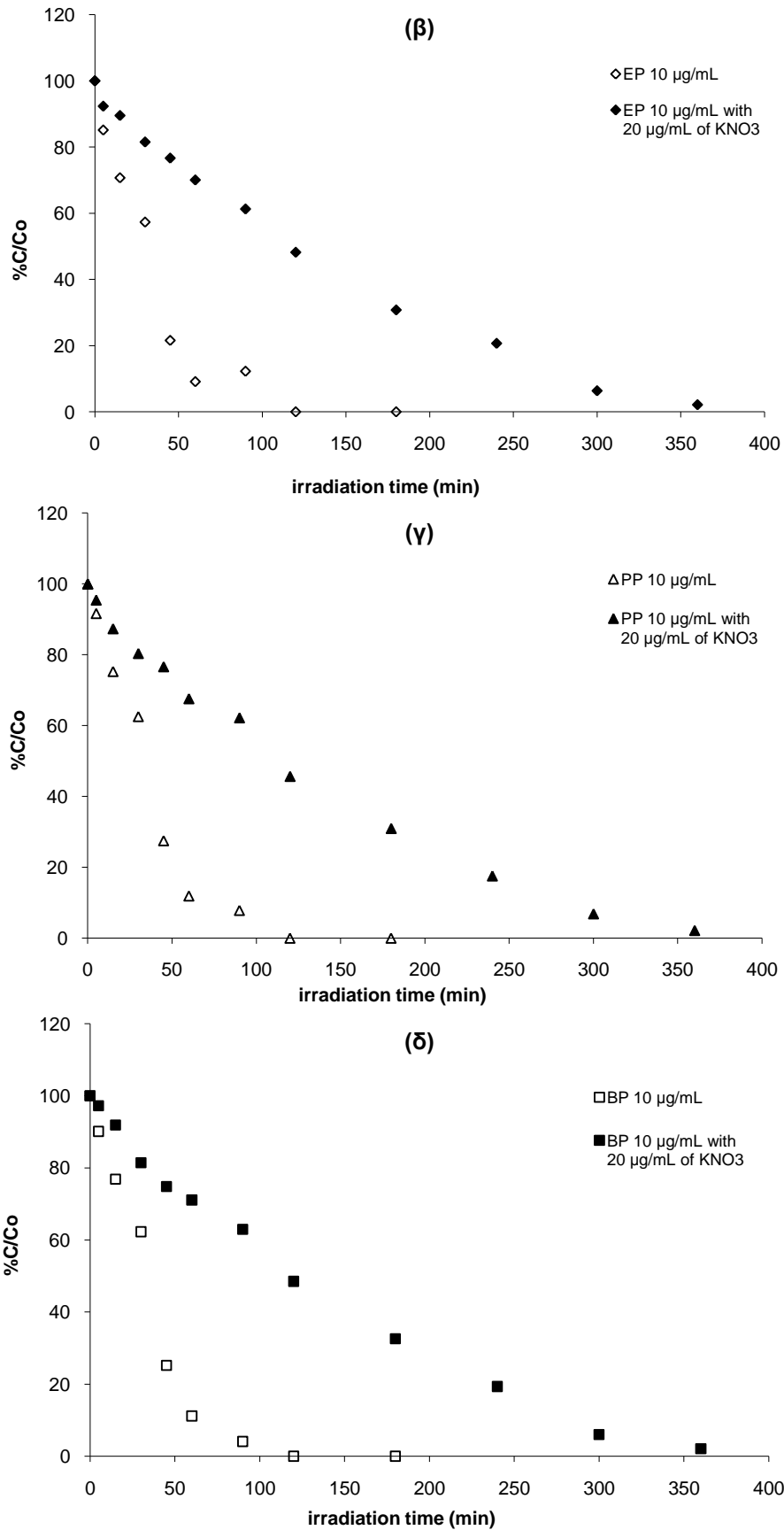
Τα αποτελέσματα της επίδρασης προσθήκης χουμικών οξέων και νιτρικού καλίου στα εξεταζόμενα υδατικά διαλύματα παρουσιάζονται στα Γραφήματα 6 και 7 αντίστοιχα. Τα εξεταζόμενα διαλύματα είχαν αρχική συγκέντρωση 10 µg/mL μίγματος των εξεταζόμενων ουσιών και pH 5. Η συγκέντρωση των χουμικών οξέων ήταν 240 µg/mL και του νιτρικού καλίου 20 µg/mL.





Γράφημα 6: Σύγκριση του ρυθμού φωτοαποδόμησης των παραβενίων (α) *MP*, (β) *EP*, (γ) *PP* και (δ) *BP* με και χωρίς την προσθήκη χουμικών οξέων.





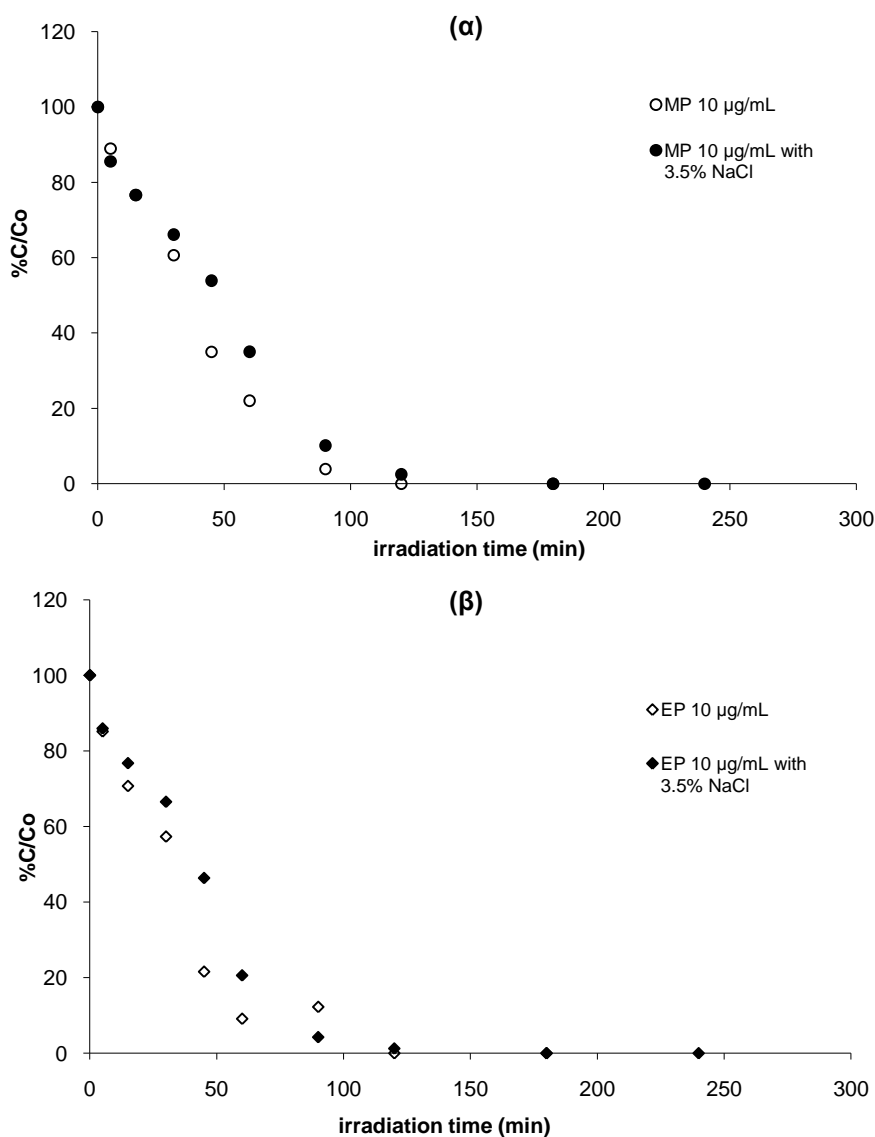
Γράφημα 7: Σύγκριση του ρυθμού φωτοαποδόμησης των παραβενίων (α) *MP*, (β) *EP*, (γ) *PP* και (δ) *BP* με και χωρίς την προσθήκη νιτρικών ιόντων του καλίου.

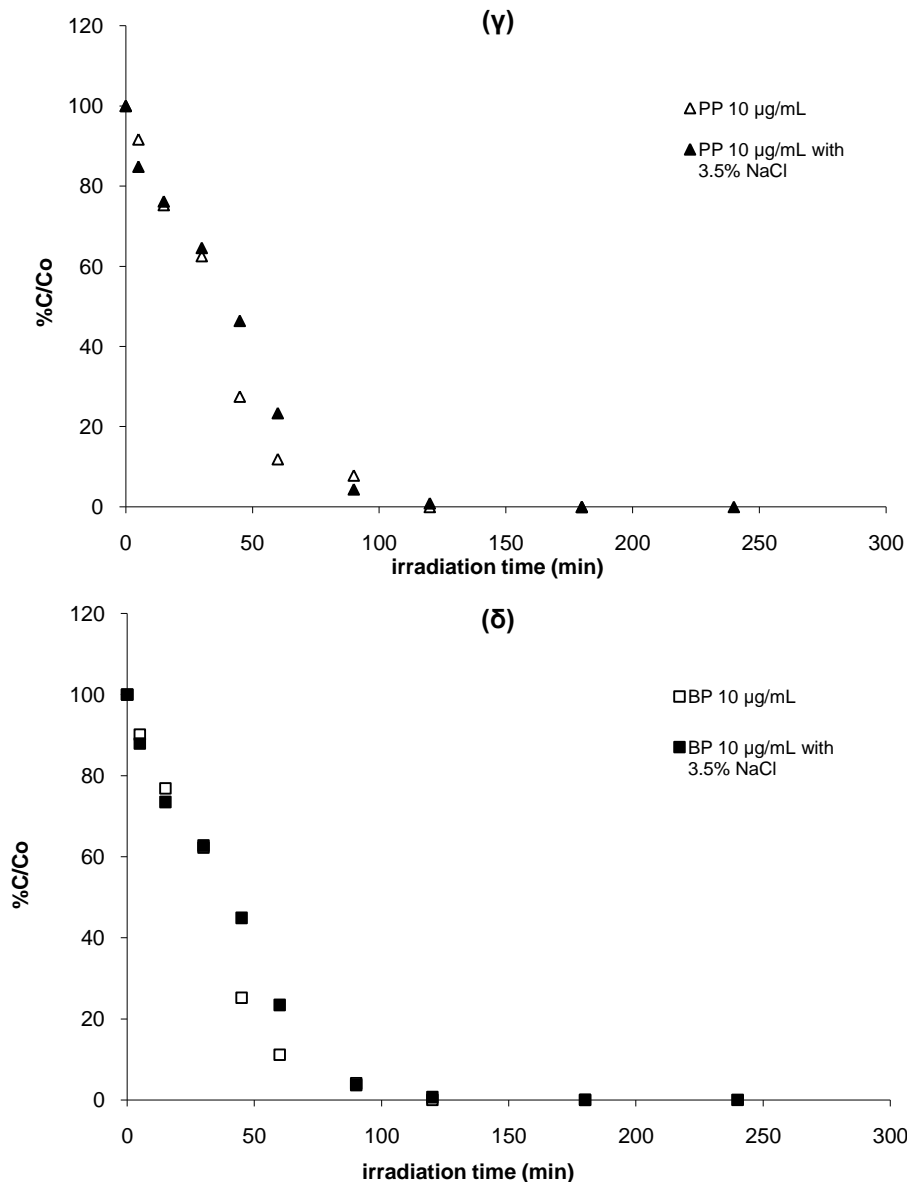
Τα φυσικά νερά περιέχουν διάφορες χημικές ουσίες που μπορούν να επηρεάσουν την φωτοαποδόμηση των διαφόρων ρυπαντών. Τέτοιες ουσίες είναι διαλελυμένες οργανικές ενώσεις όπως είναι τα χουμικά οξέα ή ανόργανες ενώσεις όπως είναι τα νιτρικά και νιτρώδη ιόντα. Αυτές οι ουσίες μπορεί να λειτουργούν ως «φωτο-ευαισθητοποιητές» (photo-sensitizers) απορροφώντας μεγάλο μέρος της ακτινοβολίας UV με αποτέλεσμα τον σχηματισμό ασταθών ριζών όπως το O_2 , H_2O_2 , ή OH, τα οποία μπορούν να αντιδράσουν γρήγορα με άλλες οργανικές ενώσεις που βρίσκονται στο νερό. Από την άλλη πλευρά, υπάρχει η πιθανότητα να λειτουργούν ως «φίλτρα» της ακτινοβολίας που παρεμποδίζουν την φωτόλυση των οργανικών ρυπαντών. Επομένως, η ύπαρξή τους μπορεί να ευνοεί ή να εμποδίζει (quenching) την φωτοαποδόμηση, ανάλογα με τον τύπο του ρυπαντή [28].

Με σκοπό την μελέτη της φωτοαποδόμησης των παραβενίων με την παρουσία τέτοιων συστατικών των φυσικών νερών, προστέθηκαν στα αρχικά διαλύματα χουμικά οξέα και νιτρικά ιόντα. Από τα Γράφημα 6 και 7 παρατηρείται ότι η ύπαρξη χουμικών οξέων αλλά και νιτρικών ιόντων του καλίου έχει ως αποτέλεσμα την μείωση του ρυθμού φωτοδιάσπασης των παραβενίων λόγω της ανταγωνιστικότητας αυτών των ουσιών και των παραβενίων για απορρόφηση της ακτινοβολίας, αποδεικνύοντας την ιδιότητά τους ως «παρεμποδιστές» (quenchers). Συγκεκριμένα όπως φαίνεται από το Γράφημα 6 η πλήρης φωτοδιάσπαση των παραβενίων γίνεται στα πρώτα 120 min έκθεσης στην ακτινοβολία UV, ενώ με την προσθήκη χουμικών οξέων 240 $\mu\text{g}/\text{mL}$ στον ίδιο χρόνο παρατηρείται μείωση των εξεταζόμενων ουσιών σε ποσοστό μόλις 20%. Επιπλέον, στο Γράφημα 7 φαίνεται ότι η ύπαρξη νιτρικών ιόντων του καλίου της τάξεως των 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ έχει ως αποτέλεσμα την μείωση των εξεταζόμενων ουσιών σε ποσοστό από 47 έως 54% της αρχικής τους συγκέντρωσης στον ίδιο χρόνο. Η διαφοροποίηση των ποσοστών απομάκρυνσης των MP, EP, PP και BP επιβεβαιώνει το γεγονός ότι η αύξηση της αλυσίδας των εστέρων έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της απαιτούμενης ενέργειας για διάσπαση. Πρόσφατη έρευνα [1] καταλήγει ότι ο «ανταγωνισμός» των χουμικών οξέων και των παραβενίων για την απορρόφηση της UV ακτινοβολίας έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση του χρόνου πλήρους φωτοαποδόμησης των ουσιών από 120 min σε 240min.

3.2.5 Επίδραση προσθήκης NaCl

Ακολουθώς, εξετάστηκε η πιθανή επίδραση του ρυθμού της φωτοαποδόμησης με την προσθήκη NaCl στα υδατικά δείγματα με συγκέντρωση 10μg/mL των παραβενίων, σε pH 5 και με 3,5% περιεκτικότητα NaCl. Τα αποτελέσματα των αναλύσεων δίνονται στο Γράφημα 8.





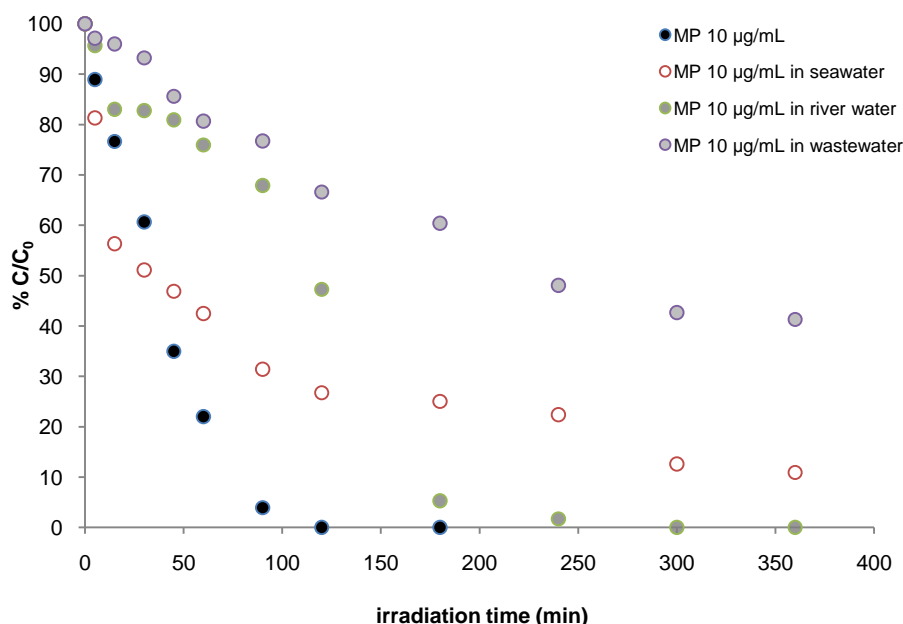
Γράφημα 8: Σύγκριση του ρυθμού φωτοαποδόμησης των παραβενίων (α) *MP*, (β) *EP*, (γ) *PP* και (δ) *BP* με και χωρίς την προσθήκη *NaCl*.

Γενικά, είναι γεγονός ότι η προσθήκη άλατος στα υδατικά διαλύματα μπορεί να μειώσει την διαλυτότητά τους στο νερό με αποτέλεσμα την αύξηση της υδροφοβικότητάς τους. Αυτό οφείλεται στο φαινόμενο της εξαλάτωσης, δηλαδή στο γεγονός ότι τα μόρια του νερού προτιμούν να περιβάλλουν τα ιόντα του ηλεκτρολύτη και κατά συνέπεια μειώνονται τα διαθέσιμα μόρια του νερού για την διάλυση των διαλυμένων ουσιών [27]. Επιπλέον, οι αδύναμες διαμοριακές δυνάμεις μεταξύ των οργανικών ουσιών ή μη ηλεκτρολυτών και του νερού μπορούν να διαταραχθούν από την ενυδάτωση των ηλεκτρολυτών [21]. Στο Γράφημα 8 βλέπουμε ότι η προσθήκη

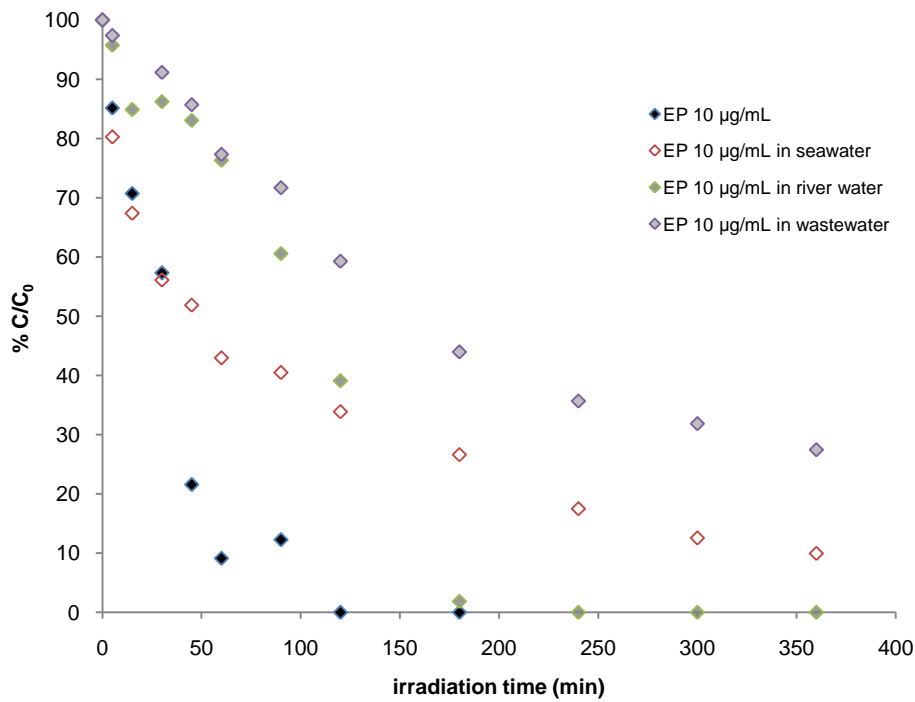
NaCl με περιεκτικότητα 3,5% δεν επηρεάζει σημαντικά την ταχύτητα της φωτοαποδόμησης οπότε συμπεραίνουμε ότι η προσθήκη μιας τέτοια ποσότητας δεν είναι ικανή να επηρεάσει σημαντικά τη διαλυτότητα των ουσιών ώστε να καθυστερήσει η φωτοδιάσπαση τους.

3.3 Φωτολυτική τύχη των παραβενίων σε φυσικά υδατικά δείγματα και επεξεργασμένα λύματα

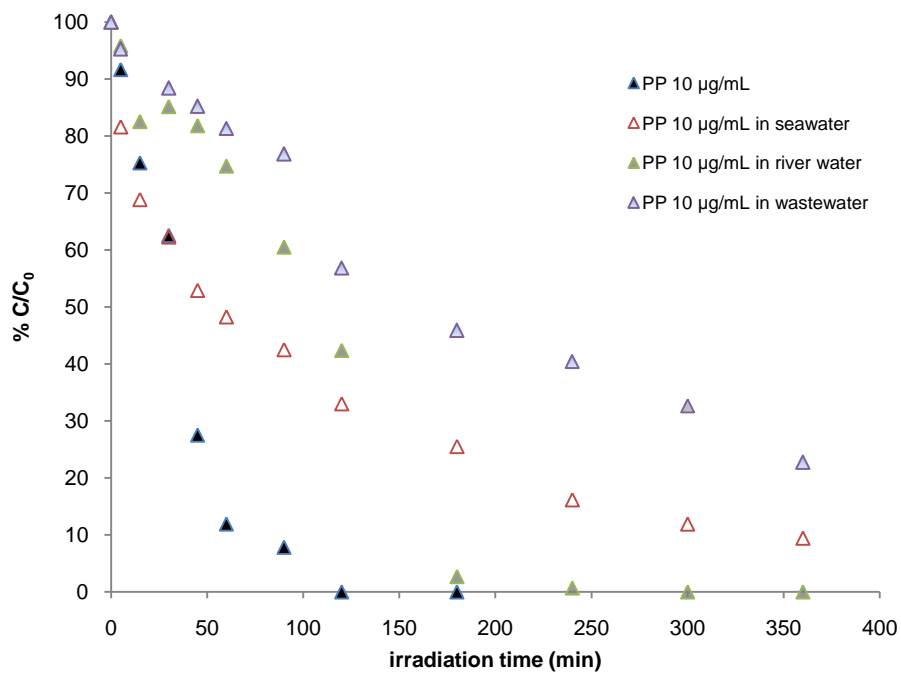
Σε αυτή την ενότητα παρουσιάζεται η σύγκριση του ρυθμού της φωτοδιάσπασης των εξεταζόμενων ουσιών σε απιονισμένο νερό και από την άλλη σε φυσικά ύδατα, και συγκεκριμένα σε θαλασσινό νερό και νερό ποταμού καθώς και σε επεξεργασμένο νερό εξόδου βιολογικού καθαρισμού. Η διεξαγωγή των πειραμάτων έγινε σε pH 5 και σε αρχική συγκέντρωση 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ για όλα τα υδατικά δείγματα. Η παρουσίαση της μείωσης της συγκέντρωσης με το χρόνο για απιονισμένο και θαλασσινό νερό, νερό ποταμού και επεξεργασμένο νερό από έξοδο βιολογικού καθαρισμού δίνεται στα Γραφήματα 9-12.



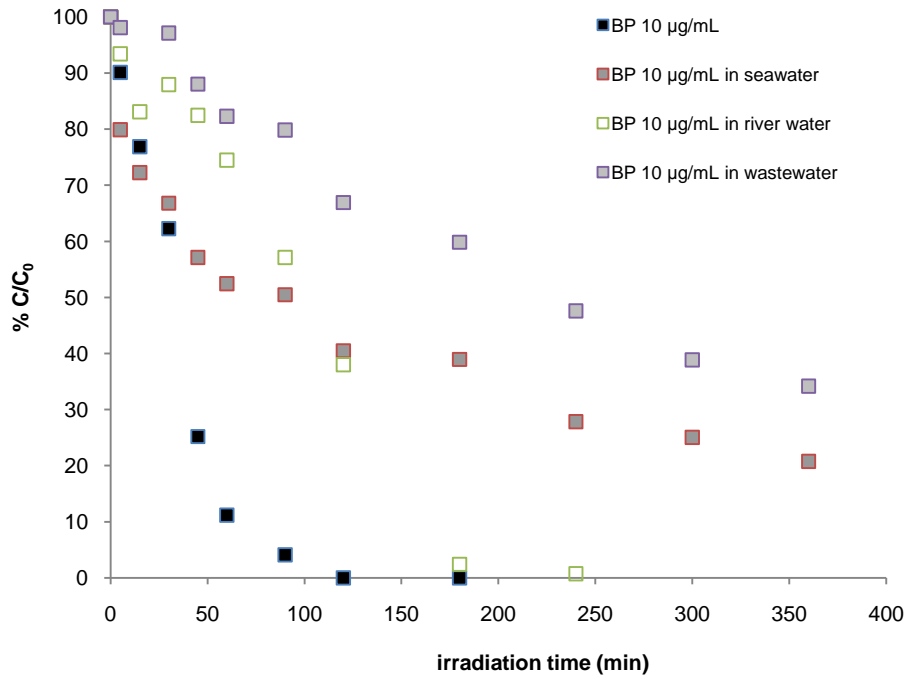
Γράφημα 9: Ο ρυθμός φωτόλυσης του MP σε απιονισμένο νερό, θαλασσινό νερό, νερό ποταμού και επεξεργασμένο νερό από έξοδο βιολογικού καθαρισμού λυμάτων σε pH 5.



Γράφημα 10: Ο ρυθμός φωτόλυσης του EP σε απιονισμένο νερό, θαλασσινό νερό, νερό ποταμού και επεξεργασμένο νερό από έξοδο βιολογικού καθαρισμού λυμάτων σε pH 5.



Γράφημα 11: Ο ρυθμός φωτόλυσης του PP σε απιονισμένο νερό, θαλασσινό νερό, νερό ποταμού και επεξεργασμένο νερό από έξοδο βιολογικού καθαρισμού λυμάτων σε pH 5.



Γράφημα 12: Ο ρυθμός φωτόλυσης του BP σε απιονισμένο νερό, θαλασσινό νερό, νερό ποταμού και επεξεργασμένο νερό από έξοδο βιολογικού καθαρισμού λυμάτων σε pH 5.

Η μελέτη της ταχύτητας φωτοδιάσπασης των παραβενίων σε φυσικά υδατικά δείγματα γίνεται με σκοπό την εξέταση της πιθανής αλλαγής του ρυθμού της αντίδρασης λόγω επίδρασης κάποιων συστατικών των φυσικών νερών. Τέτοια συστατικά μπορεί να είναι οι διαλυμένες οργανικές ουσίες, όπως για παράδειγμα τα χουμικά οξέα, κάποια ιόντα όπως τα νιτρικά, φωσφορικά ή θειικά αλλά και ανόργανες ουσίες όπως το χλώριο. Συγκρίνοντας τον ρυθμό της φωτοδιάσπασης των εξεταζόμενων ουσιών στα διάφορα υδατικά δείγματα στα Γραφήματα 9-12, παρατηρούμε ότι η πιο γρήγορη φωτοαποδόμηση γίνεται στο απιονισμένο νερό. Στη συνέχεια η φωτοαποδόμηση στο νερό ποταμού παρουσιάζει μικρή επιβράδυνση ακολουθεί το θαλασσινό νερό και τέλος στο νερό εξόδου του βιολογικού καθαρισμού όπου παρατηρείται η πιο αργή φωτοδιάσπαση σε σχέση με τα άλλα δείγματα. Στον Πίνακα 5 δίνονται τα ποσοστά απομάκρυνσης των παραβενίων μετά από 120 min έκθεση στην UV ακτινοβολία και για τις τέσσερις εξεταζόμενες μήτρες.

Πίνακας 5: Ποσοστά απομάκρυνσης των παραβενίων μετά από 120 min φωτοαποικοδόμησης σε διαφορετικά υδατικά δείγματα.

Ενώσεις	Απιονισμένο νερό	Θαλασσινό νερό	Νερό ποταμού	Νερό εξόδου βιολογικού καθαρισμού
MP	100%	75%	53%	33%
EP	100%	73%	61%	41%
PP	100%	74%	58%	43%
BP	100%	61%	62%	33%

Τα φυσικά νερά περιέχουν οργανικά συστατικά που προέρχονται από διάφορες πηγές. Αρχικά, από τη διάσπαση των οργανικών ενώσεων που υπάρχουν στη φύση και αποτελείται κυρίως από χουμικά υλικά και τους μεταβολίτες τους, από οικιακές, γεωργικές και βιομηχανικές απορροές που περιλαμβάνουν φυτοφάρμακα, διαλύτες, πλαστικοποιητές και απορρυπαντικά και επιπλέον από αντιδράσεις που λαμβάνουν χώρα κατά την επεξεργασία και μεταφορά του νερού. Η μείωση του ρυθμού της φωτοδιάσπασης των παραβενίων στα φυσικά νερά και επεξεργασμένα νερά από βιολογικό καθαρισμό που παρατηρείται παραπάνω πιθανά οφείλεται στην παρουσία τέτοιων ουσιών στα εξεταζόμενα δείγματα.

Επιπλέον, στον Πίνακα 2 της παραγράφου 2.5 όπου δίνεται η χημική σύσταση των εξεταζόμενων δειγμάτων παρατηρούμε την ύπαρξη νιτρικών, νιτρωδών και φωσφορικών ιόντων που μπορεί να αποτελεί άλλη πιθανή αιτία μείωσης του ρυθμού φωτοαποδόμησης. Συγκεκριμένα, το επεξεργασμένο νερό από βιολογικό καθαρισμό φαίνεται να έχει υψηλότερο ποσό νιτρικών και φωσφορικών ιόντων σε σχέση με τα άλλα δείγματα, γεγονός που αποτελεί πιθανή αιτία μείωση της ταχύτητας φωτοαποδόμησης των παραβενίων. Οι ανασταλτικές ιδιότητες των συστατικών των φυσικών νερών όπως νερά ποταμών και νερά εγκαταστάσεως επεξεργασίας αποβλήτων έχουν επισημανθεί από πρόσφατες έρευνες [1, 13] που έγιναν με σκοπό την μελέτη της φωτοδιάσπασης του BP σε υδατικό περιβάλλον.

4 Συμπεράσματα και μελλοντικές κατευθύνσεις

Η φωτοδιάσπαση των παραβενίων σε υδατικά δείγματα κάτω από την επίδραση ακτινοβολίας UV που παρέχεται στα δείγματα από λαμπτήρα που εκπέμπει ακτινοβολία μήκος κύματος 254 nm φαίνεται να γίνεται με αργό ρυθμό. Συγκεκριμένα η πλήρης φωτοδιάσπαση μιας ποσότητας 10 $\mu\text{g/mL}$ μίγματος των εξεταζόμενων ουσιών κάτω από σταθερές συνθήκες με pH 5 γίνεται μετά από δυο ώρες. Από την άλλη πλευρά, σε αλκαλικό pH παρατηρείται ότι η φωτοδιάσπαση γίνεται με πολύ αργό ρυθμό με ενδεικτική μείωση περίπου του 80% της συγκέντρωσης των εξεταζόμενων ουσιών μετά από δυο ώρες. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της έρευνας η προσθήκη βουτανόλης και NaCl δεν επηρεάζουν σημαντικά την ταχύτητα της φωτοδιάσπασης ενώ τα νιτρικά ιόντα και τα χουμικά οξέα φαίνεται να έχουν ανασταλτική δράση στη διαδικασία της φωτόλυσης των παραβενίων. Η μελέτη της φωτοδιάσπασης σε φυσικά υδατικά δείγματα όπως θαλασσινό νερό και νερό ποταμού καθώς και σε επεξεργασμένα νερά όπως αυτά της εξόδου βιολογικού καθαρισμού έδειξαν μείωση του ρυθμού φωτοαποδόμησης γεγονός που πιθανά οφείλεται στην χημική σύστασή τους.

Η ευρεία χρήση των παραβενίων σε διάφορους τύπους προϊόντων έχει ως αποτέλεσμα την εμφάνισή τους στα περιβαλλοντικά ύδατα. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της παρούσας έρευνας κάποια συστατικά των φυσικών νερών μπορεί να αποτελούν ανασταλτικό παράγοντα της διάσπασης των παραβενίων. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την παραμονή τους στο υδατικό περιβάλλον και τον πιθανό σχηματισμό παραπροϊόντων τους που μπορεί να είναι τοξικά τους εκτιθέμενους οργανισμούς.. Επιπλέον, οι συμβατές μέθοδοι επεξεργασίας και απολύμανσης μπορεί να μην είναι επαρκείς για την εξάλειψή τους. Είναι εμφανής λοιπόν η ανάγκη της μελέτης και άλλων παραμέτρων που πιθανά επηρεάζουν την τύχη των παραβενίων στο υδατικό περιβάλλον με σκοπό την εύρεση των κατάλληλων συνθηκών για την διάσπασή τους και κατ'επέκταση την δημιουργία κατάλληλων τεχνολογιών για την απομάκρυνσή τους.

5 Βιβλιογραφία

- [1] D. Błędzka, D.Grylik and J.S.Miller, Photodegradation of butylparaben in aqueous solutions by 254 nm irradiation, *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 203, 2009, pages 131-136
- [2] P. Canosa, I. Rodríguez, E. Rubí, N. Negreira and R. Cela, Formation of halogenated by-products of parabens in chlorinated water, *Analytica Chimica Acta* 575, 2006, pages 106-113
- [3] T. Angelov, A. Vlasenco and W. Tashkov, HPLC Determination of pKa of Parabens and Investigation on their Lipophilicity Parameters, *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies* 31, 2008, pages 188-197
- [4] M. G. Soni, I. G. Carabin and G. A. Burdock, Safety assessment of esters of p-hydroxybenzoic acid (parabens), *Food and Chemical Toxicology* 43, 2005, pages 985–1015
- [5] T. A. M. Msagati, T. Barri, N. Larsson and J. Å. Jönsson, Analysis and quantification of parabens in cosmetic products by utilizing hollow fibre-supported liquid membrane and high performance liquid chromatography with ultraviolet detection, *International Journal of Cosmetic Science* 30, 2008, pages 297–307
- [6] M. Terasaki and M. Makino, Disinfection By-Products of para-Hydroxybenzoate Esters (Parabens): Synthesis and Mass Spectrometric Study, *Journal of Health science* 55(4), 2009, pages 631-635
- [7] M. C. Pietrogrande and G. Basaglia, GC-MS analytical methods for the

determination of personal-care products in water matrices, *Trends in Analytical Chemistry* 26(11), 2007, pages 1086-1094

[8] A. Prichodko, K. Jonusaite and V. Vickackaite, Hollow fibre liquid phase microextraction of parabens, *Central European Journal of Chemistry* 7(3), 2009, pages 285-290

[9] J. Regueiroa, E. Becerril, C. Garcia-Jaresa and M. Llomperta, Trace analysis of parabens, triclosan and related chlorophenols in water by headspace solid-phase microextraction with in situ derivatization and gas chromatography–tandem mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*, 1216, 2009, pages 4693–4702

[10] L. Núñez, J. L. Tadeo, A. I. García-Valcárcel and E. Turiel, Determination of parabens in environmental solid samples by ultrasonic-assisted extraction and liquid chromatography with triple quadrupole mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*, 1214, 2008, pages 178–182

[11] I. González-Mariño, J. Benito Quintana, I. Rodríguez and R. Cela, Simultaneous determination of parabens, triclosan and triclocarban in water by liquid chromatography/electrospray ionisation tandem mass spectrometry, *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 23, 2009, pages 1756–1766

[12] M. Terasaki and M. Makino, Determination of chlorinated by-products of parabens in swimming pool water, *International Journal of Environmental Analytical Chemistry* 88(13), 2008, pages 911–922

[13] D. Gryglik, M. Lach and J. S. Miller, The aqueous photosensitized degradation of butylparaben, *Photochemical and Photobiological Sciences*, 8, 2009, pages 549–555

[14] X. Ye, L.-Y. Wong, L. T. Jia, L. L. Needham and A. M. Calafat, Stability of the conjugated species of environmental phenols and parabens in human serum, *Environment International* 35, 2009, pages 1160–1163

- [15] W. Giger, F. L. P. Gabriel, N. Jonkers, F. E. Wettstein and H.-P. E. Kohler, Environmental fate of phenolic endocrine disruptors: field and laboratory studies, Philosophical Transactions of the Royal Society A 367, 2009, pages 3941-3963
- [16] C. Zwiener and S. D. Richardson, Analysis of disinfection by-products in drinking water by LC-MS and a related MS techniques, Trends in Analytical Chemistry 24(7), 2005, pages 613-621
- [17] <http://www.chembuddy.com/?left=pH-calculation&right=pH-buffers-henderson-hasselbalch>
- [18] <http://www.chemguide.co.uk/analysis/uvvisible/beerlambert.html>
- [19] <http://www.utc.edu/Faculty/Gretchen-Potts/chemistryhelp/acidbase.htm>
- [20] <http://karnet.up.wroc.pl/~weber/kwasy2.htm>
- [21] <http://www.britannica.com/EBchecked/topic/519912/salting-out-effect>
- [22] M. Kuosa and J. Kallas, Influence of *t*-butanol on multicomponent reaction kinetics and mass transfer in *p*-nitrophenol ozonation at low pH, Chemical Engineering and Processing 48, 2009, pages 1212–1221
- [23] http://medlab.cs.uoi.gr/env/web_lessons/%CE%95%CE%BD.%CE%A0%CE%B5%CF%81.%CE%91%CE%BDNEW/%CE%A5%CE%B3%CF%81%CE%AE%20%CE%A7%CF%81%CF%89%CE%BC%CE%B1%CF%84%CE%BF%CE%B3%CF%81%CE%B1%CF%86%CE%AF%CE%B1.htm
- [24] I. A. Τοσσίδης, Γενική και ανόργανη χημεία, Εκδόσεις Ζήτη, 1996

[25] C. Jewell, J. J. Prusakiewicz, C. Ackermann, N. A. Payne, G. Fate, R. Voorman and F. M. Williams, Hydrolysis of a series of parabens by skin microsomes and cytosol from human and minipigs and in whole skin in short-term culture, *Toxicology and Applied Pharmacology* 225, 2007, pages 221–228

[26] P. D. Darbre and P. W. Harvey, Paraben esters: review of recent studies of endocrine toxicity, absorption, esterase and human exposure, and discussion of potential human health risks, *Journal of Applied Toxicology* 28, 2008 pages 561–578

[27] E. Manousaki, E. Psillakis, N. Kalogerakis and D. Mantazavinos, Degradation of sodium dodecylbenzene sulfonate in water by ultrasonic irradiation, *Water Research* 38, 2004, pages 3751-3759

[28] O. Mihas, N. Kalogerakis and E. Psillakis, Photolysis of 2,4-dinitrotoluene in various water solutions: effect of dissolved species, *Journal of Hazardous Materials* 146, 2007, pages 535-539