

ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ ΚΡΗΤΗΣ
ΤΜΗΜΑ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ



**ΓΡΗΓΟΡΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΩΝ
ΚΑΤΑΝΟΜΗΣ ΟΚΤΑΝΟΛΗΣ-ΝΕΡΟΥ
ΟΡΓΑΝΟΧΛΩΡΙΩΜΕΝΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ**

ΚΟΥΤΣΙΟΥΜΠΗ ΕΥΑΓΓΕΛΙΑ
ΧΗΜΙΚΟΣ ΜΗΧΑΝΙΚΟΣ ΕΜΠ

ΧΑΝΙΑ, ΙΑΝΟΥΑΡΙΟΣ 2008

*Αυτή την εποχή δεν ξέρω, τρόπος του λέγειν, τι θέλω -
ίσως δεν θέλω ότι ξέρω και θέλω ότι δεν ξέρω.*

Μαρσίλιο Φιτσίνο

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα μεταπτυχιακή εργασία ξεκίνησε το Μάρτιο του 2007 και ολοκληρώθηκε τον Ιανουάριο του 2008. Πραγματοποιήθηκε στο εργαστήριο υδατικής χημείας του τμήματος Μηχανικών Περιβάλλοντος του Πολυτεχνείου Κρήτης.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω, κατ' αρχήν, την καθηγήτρια του τμήματος Μηχανικών Περιβάλλοντος του Πολυτεχνείου Κρήτης κα Ψυλλάκη Ελευθερία για την επιστημονική καθοδήγηση και την εμπιστοσύνη της, καθώς και την κα Ελένη Καστανάκη, Χημικό Μηχανικό και Υ.Δ., για την ουσιαστική βοήθειά της στην αξιολόγηση των αποτελεσμάτων της διπλωματικής μου εργασίας. Η εργασία αυτή έχει επίσης ωφεληθεί σημαντικά από τις υποδείξεις της κα Ευαγγελίας Γιαντζή, Χημικό, την οποία και ευχαριστώ.

Τέλος, η περάτωση της εργασίας μου και του μεταπτυχιακού κύκλου οφείλεται κατά ένα μεγάλο μέρος στους γονείς μου, Βασίλη και Γιωργία τους οποίους ευχαριστώ για την αμέριστη συμπαράσταση, αγάπη και υπομονή, όλα αυτά τα χρόνια.

Πιστεύω ότι το σύγγραμμα αυτό προσεγγίζει ικανοποιητικά τους στόχους που τέθηκαν, ενώ ταυτόχρονα σηματοδοτεί το τέλος μίας ξένοιαστης εποχής και την αρχή μίας νέας.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Κεφάλαιο	Σελ
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	9
1. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	11
1.1 Γενικά για τους συντελεστές κατανομής	13
1.2 Ο συντελεστής οκτανόλης-νερού	14
1.3 Μέθοδοι προσδιορισμού του συντελεστή οκτανόλης-νερού	17
1.3.1 Μέθοδος αργής ανάδευσης (Slow stir)	18
1.3.2 Μέθοδος Shake flask	19
1.3.3 Μέθοδος συνεισφοράς των θραυσμάτων	20
1.3.4 pH-μετρική μέθοδος	23
1.3.5 Θεωρητικοί υπολογισμοί	24
1.3.6 Θεωρητικοί υπολογισμοί με το λογισμικό ClogP	24
1.3.7 Μέθοδος RP-High performance liquid chromatography	25
1.3.8 Μέθοδος προσδιορισμού του K_{ow} με την αέρια χρωματογραφία	26
1.4 Μέθοδοι εκχύλισης	27
1.5 Μέθοδος προσδιορισμού του K_{ow} με Hollow fiber LPME	28
1.6 Μέθοδος προσδιορισμού του K_{ow} με Free drop microextraction	29

1.7 Οργανοχλωριωμένα φυτοφάρμακα	31
1.7.1 Το alpha-BHC	33
1.7.2 Το endosulfan I	35
1.7.3 Το alachlor	36
1.7.4 Το gamma chlordane	38
 2. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	 39
2.1 Χημικές ουσίες και προετοιμασία των διαλυμάτων	41
2.2 Τα αναλυτικά όργανα	42
2.3 Η βαθμονόμηση του αέριου χρωματογράφου	43
2.4 Η διαδικασία προσδιορισμού του K_{ow}	46
2.5 Έλεγχος γραμμικότητας των υδατικών διαλυμάτων	47
 3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ	 49
3.1 Προσδιορισμός του συντελεστή οκτανόλης νερού	51
3.2 Αποτελέσματα της βελτιστοποίησης	54
3.3 Μοντέλο πρόβλεψης του συντελεστή οκτανόλης νερού	60
 4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	 63
 5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	 67

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Τα οργανοχλωριωμένα φυτοφάρμακα είναι οργανικοί μικρορυπαντές που έχουν την τάση να συσσωρεύονται στους οργανισμούς. Η ρυπαντική φύση των οργανοχλωριωμένων είναι ένα αποτέλεσμα της τοξικότητάς τους σε συνδυασμό με τη χημική και βιολογική τους σταθερότητα και τη μεγάλη λιποφιλικότητά τους. Τα χημικά αυτά χρησιμοποιούνταν αλόγιστα στη γεωργία τις περασμένες δεκαετίες και κατά συνέπεια τα περισσότερα από αυτά έχουν απαγορευτεί σε πολλές χώρες. Ο προσδιορισμός τους στο νερό, το χώμα, και τα φυτά είναι πολύ σπουδαίος για την προστασία της δημόσιας υγείας και τον έλεγχο του περιβάλλοντος. Τα περισσότερα οργανοχλωριωμένα εντομοκτόνα είναι επικίνδυνα σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις, γεγονός που καθιστά την ανίχνευσή τους πολύ δύσκολη.

Η μικροεκχύλιση ελεύθερης σταγόνας (Free Drop Micro-Extraction (FDME)) αναπτύχθηκε ως μία εναλλακτική μέθοδος προετοιμασίας του δείγματος, στην καθιερωμένη εκχύλιση υγρού-υγρού (Liquid-Liquid Extraction (LLE)). Απαιτεί τη χρήση μικρότερων όγκων οργανικού διαλύτη για την εκχύλιση οργανικών ουσιών από επίσης μικρούς όγκους υδατικής μήτρας. Η FDME απαιτεί πολύ απλές και χαμηλού κόστους συσκευές.

Σκοπός της παρούσας μεταπτυχιακής εργασίας είναι η ανάπτυξη και βελτιστοποίηση μίας αναλυτικής μεθόδου, που συνδυάζει αέρια χρωματογραφία με μικροεκχύλιση υγρής φάσης, για τον γρήγορο προσδιορισμό του συντελεστή οκτανόλης νερού ορισμένων οργανοχλωριωμένων ενώσεων.

Οι οργανοχλωριωμένες ενώσεις που εξετάστηκαν στην παρούσα εργασία ήταν τέσσερις: το a-BHC, το gamma chlordan, το endosulfane I, και το alachlor. Πειραματικές παράμετροι όπως ο όγκος της υδατικής φάσης, ο όγκος της οργανικής φάσης και ο χρόνος ανάδευσης των δύο φάσεων, βελτιστοποιήθηκαν στα πλαίσια του πειραματικού μέρους.

1. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1.1 ΓΕΝΙΚΑ ΓΙΑ ΤΟΥΣ ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΕΣ ΚΑΤΑΝΟΜΗΣ

Από το 1900 οι ερευνητές ανακάλυψαν το ρόλο των συντελεστών κατανομής και τη μεγάλη τους σπουδαιότητα για την περιβαλλοντική επιστήμη. Οι συντελεστές αυτοί αποτελούν φυσικοχημική ιδιότητα που χρησιμοποιείται για την εκτίμηση της βιοσυσσωρεύσης των επικίνδυνων οργανικών ουσιών και στην πρόβλεψη των τοξικών τους επιπτώσεων. Επομένως, αξίζει να εξεταστεί ο τρόπος κατανομής των διαφόρων οργανικών ουσιών ανάμεσα στην οργανική και την υδατική φάση. Η τιμή των συντελεστών κατανομής είναι χαρακτηριστική της τάσης που έχει η οργανική ουσία να διαλυθεί περισσότερο στην υδατική ή στην οργανική φάση. Έτσι, αρχικά, ορίστηκε ο συντελεστής κατανομής οργανικής φάσης -νερού, ως εξής:

$$K_{sw} = \frac{\text{συγκέντρωση του συστατικού στην οργανική φάση}}{\text{συγκέντρωση του συστατικού στην υδατική φάση}}$$

Όταν ένα συστατικό εισάγεται μέσα σε ένα διφασικό σύστημα, το περιβάλλον σε κάθε μια από τις δύο φάσεις είναι εντελώς διαφορετικό. Με την ανάμειξη των δύο φάσεων γίνεται μεταφορά μάζας της οργανικής ένωσης από την υδατική στην οργανική φάση. Η ανάμειξη συνεχίζεται μέχρι την αποκατάσταση της ισορροπίας. Ισορροπία σημαίνει ότι έχει σταματήσει η μεταφορά μάζας από τη μία φάση στην άλλη και ο λόγος της συγκέντρωσης του συστατικού στη φάση της οκτανόλης προς τη συγκέντρωσή του στην υδατική φάση, είναι σταθερός. Για παράδειγμα αν ο οργανικός διαλύτης είναι η οκτανόλη, στην ισορροπία, θα υπάρχει ένα μόριο νερού για κάθε τέσσερα μόρια οκτανόλης και στην υδατική φάση θα υπάρχουν οκτώ μόρια οκτανόλης για κάθε 100.000 μόρια νερού. Επιπλέον, για ορισμένους διαλύτες η παρουσία του νερού επηρεάζει τον μοριακό όγκο τους. Για παράδειγμα στους 25°C η καθαρή οκτανόλη έχει μοριακό όγκο 0,16 l/mol ενώ η κορεσμένη με νερό οκτανόλη έχει μοριακό όγκο 0,12 l/mol. Αντίθετα, αν η οργανική φάση είναι το εξάνιο, τότε η αλλαγή του μοριακού όγκου είναι αμελητέα.

1.2 Ο ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΗΣ ΟΚΤΑΝΟΛΗΣ-ΝΕΡΟΥ

Η περιβαλλοντική συμπεριφορά των εντομοκτόνων εξαρτάται άμεσα από τις φυσικοχημικές ιδιότητες των συστατικών τους. Συγκεκριμένα η λιποφιλικότητα μίας χημικής ουσίας εκφράζεται από το συντελεστή οκτανόλης-νερού. Τις δύο τελευταίες δεκαετίες, ο ρόλος του συντελεστή οκτανόλης-νερού (K_{ow}) έχει αποκτήσει μεγάλη σπουδαιότητα για την περιβαλλοντική επιστήμη. Είναι μία φυσικοχημική ιδιότητα που χρησιμοποιείται για την εκτίμηση της βιοσυσσωρεύσης των επικίνδυνων οργανικών ουσιών και στην πρόβλεψη των τοξικών τους επιπτώσεων. [14, 15]

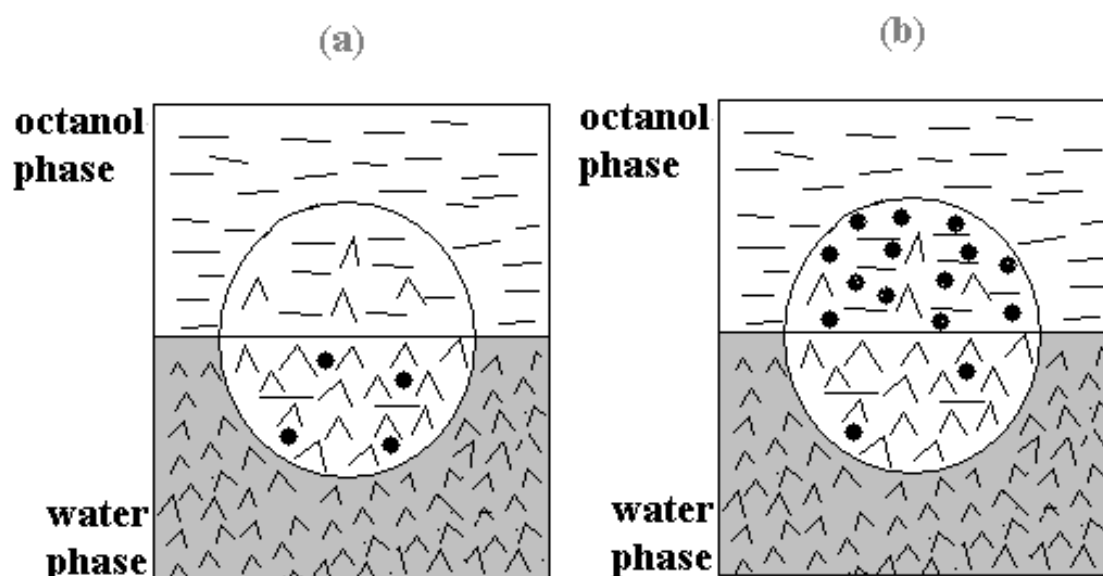
Ο συντελεστής οκτανόλης-νερού (K_{ow}) ορίζεται ως το πηλίκο της συγκέντρωσης του συστατικού στη φάση της οκτανόλης προς τη συγκέντρωσή του στην υδατική φάση. Οι τιμές του συντελεστή οκτανόλης νερού δεν έχουν μονάδες.

$$K_{ow} = \frac{\text{συγκέντρωση του συστατικού στη φάση της οκτανόλης}}{\text{συγκέντρωση του συστατικού στην υδατική φάση}}$$

Η μέτρηση του συντελεστή K_{ow} γίνεται συνήθως σε θερμοκρασία δωματίου (20 ή 25°C). Παρά το γεγονός αυτό, η επίδραση της θερμοκρασίας στον προσδιορισμό του K_{ow} είναι πολύ μικρή (περίπου 0,001-0,01 log K_{ow} μονάδες ανά βαθμό Κελσίου) και μπορεί να είναι αρνητική ή θετική.

Το εύρος τιμών K_{ow} που έχουν προσδιοριστεί πειραματικά, ξεκινά από 10^{-3} και φάνει το 10^7 , καλύπτοντας μία περιοχή 10^{10} μονάδων. Ο λογάριθμος log K_{ow} παίρνει τιμές από -3 ως 7. Είναι όμως δυνατό να γίνει εκτίμηση του log K_{ow} από 7 ως 10 μονάδες, με διάφορες-όχι ακριβείς μεθόδους. Η τιμή του K_{ow} είναι χαρακτηριστική της τάσης που έχει η οργανική ουσία να διαλυθεί περισσότερο στην υδατική ή στην οργανική φάση. Για παράδειγμα, ουσίες με χαμηλό K_{ow} χαρακτηρίζονται ως σχετικά υδροφιλικές, έχουν υψηλή διαλυτότητα στο νερό και αντιστρόφως, ουσίες με υψηλό K_{ow} χαρακτηρίζονται ως υδροφοβικές. Στην εικόνα 1 παρουσιάζεται ο τρόπος κατανομής μίας οργανικής ουσίας ανάμεσα στην οργανική και την υδατική φάση. [6, 8, 10, 14, 15]

Εικόνα 1: Παρουσιάζεται ο τρόπος κατανομής μίας οργανικής ουσίας ανάμεσα στην οργανική και την υδατική φάση α) πριν και β) μετά την αποκατάσταση της ισορροπίας.



Ο συντελεστής οκτανόλης-νερού δεν ισούται με τη διαλυτότητα ενός συστατικού στην οκτανόλη προς τη διαλυτότητά του στο νερό, διότι η οργανική και η υδατική φάση δεν αποτελούνται από καθαρή οκτανόλη και υπερκάθαρο νερό. Όταν οι δύο φάσεις (οκτανόλη και νερό) έρθουν σε ισορροπία, τότε η οργανική φάση περιέχει 2,3 mol/l νερού και η υδατική περιέχει $4,5 \cdot 10^{-8}$ mol/l οκτανόλης. Επιπλέον, το K_{ow} έχει αποδειχθεί ότι εξαρτάται από τη συγκέντρωση της διαλυμένης ουσίας. Η χημική ουσία που εξετάζεται, προστίθεται σε ένα μίγμα οκτανόλης-νερού, του οποίου η αναλογία προσαρμόζεται ανάλογα με την αναμενόμενη τιμή του K_{ow} . Η οκτανόλη και το νερό που θα χρησιμοποιηθούν πρέπει να είναι υψηλής καθαρότητας και η συγκέντρωση της διαλυμένης ουσίας πρέπει να είναι μικρότερη από 0,01 mol/l. Στη συνέχεια ακολουθεί ήπια ανάδευση (15min ως 1h) μέχρι να επιτευχθεί ισορροπία και το μίγμα υπόκειται σε φυγοκέντρωση για να διαχωριστούν οι δύο φάσεις. Τέλος, μία αναλυτική μέθοδος χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης της διαλυμένης ουσίας σε κάθε μια φάση. [6, 8, 10, 14, 15]

Στην ερώτηση γιατί χρησιμοποιείται η οκτανόλη την απάντηση δίνει ο υδροφιλικός, αλλά ταυτόχρονα και υδροφοβικός της χαρακτήρας. Επίσης, το υδροξύλιο (OH) που περιέχει προσομοιάζει όσο το δυνατό καλύτερα τον ανθρώπινο οργανισμό. Η μη επιλογή του εξανίου ως οργανικό διαλύτη δικαιολογείται εν μέρει, από τις ιδιότητες της οκτανόλης. Επιπλέον, ο μη πολικός χαρακτήρας του καθώς και ανικανότητά του να σχηματίζει σταγόνα, ήταν σημαντικοί παράγοντες για την επιλογή της οκτανόλης.

Τα τελευταία χρόνια ο συντελεστής οκτανόλης-νερού αποτελεί το κλειδί για τη μελέτη της περιβαλλοντικής τύχης (environmental fate) των οργανικών ουσιών. Εξάλλου, έχει βρεθεί ότι σχετίζεται με τη διαλυτότητα του νερού, τις σταθερές προσρόφησης του χώματος και τους παράγοντες βιοσυσσώρευσης. Ο συντελεστής οκτανόλης-νερού θεωρείται μία πολύ σημαντική ιδιότητα των οργανικών ουσιών μιας και χρησιμοποιείται ευρέως στον προσδιορισμό των παραπάνω ιδιοτήτων. Από τα παραπάνω είναι φανερό ότι ο προσδιορισμός του συντελεστή οκτανόλης νερού είναι αναγκαίος. [6, 8, 10, 14, 15]

1.3 ΜΕΘΟΔΟΙ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΤΟΥ ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΗ ΟΚΤΑΝΟΛΗΣ-ΝΕΡΟΥ

ΓΕΝΙΚΑ

Ένας ικανοποιητικός αριθμός τεχνικών έχει αναπτυχθεί για τη μέτρηση ή τον υπολογισμό του $\log K_{ow}$. Εξαιτίας των διαφορετικών μεθόδων προσδιορισμού που υπάρχουν, πολλές φορές οι τιμές του $\log K_{ow}$ για μια συγκεκριμένη χημική ουσία διαφέρουν. Βέβαια αυτές οι διαφορές στις τιμές του K_{ow} είναι μικρές και πάντα μέσα στα όρια του πειραματικού λάθους. Για το λόγο αυτό κρίνεται αναγκαίο να χρησιμοποιούνται παραπάνω από μία μέθοδοι για τον προσδιορισμό του. Οι μέθοδοι προσδιορισμού του συντελεστή οκτανόλης νερού, που μπορούν να είναι εργαστηριακές ή θεωρητικές, διακρίνονται σε:

Άμεσες:

- slow stir method (SSM)
- shake flask method (SFM)

και έμμεσες:

- Θεωρητικός υπολογισμός με βάση τη συνεισφορά των θραυσμάτων.
- pH-metric method (PCA)
- Θεωρητικοί υπολογισμοί με τη διαλυτότητα
- Θεωρητικοί υπολογισμοί με το λογισμικό ClogP
- Reversed phase high performance liquid chromatography (RP-HPLC)
- Αέρια χρωματογραφία με ανιχνευτή μάζας (GC-MS)
- Αέρια χρωματογραφία με electron capture detector (GC-ECD)

[7, 10, 14, 15, 20, 22, 23, 26,28]

1.3.1 Μέθοδος αργής ανάδευσης (slow stir)

Η μεθοδολογία της slow stir (SSM) έχει ως εξής: Ποσότητα υδατικού διαλύματος (που περιέχει την προς εξέταση χημική ουσία) ίση με 0,5 l τοποθετείται σε γυάλινο δοχείο. Το διάλυμα αναδεύεται με μαγνητικό αναδευτήρα μέχρι η θερμοκρασία του να σταθεροποιηθεί στους 25°C. Έπειτα, προστίθεται η οκτανόλη (10ml) στην επιφάνεια του διαλύματος. Το διάλυμα αναδεύεται για τρεις ημέρες. Δείγματα οκτανόλης και νερού αναλύονται καθημερινά μέχρι η αναλογία των συγκεντρώσεων της οκτανόλης προς τη συγκέντρωση του νερού να είναι σταθερή, δηλαδή να έχει επέλθει ισορροπία. Η ανάλυση των δειγμάτων γίνεται σε κάποιο αναλυτικό όργανο, όπως την υγρή (HPLC) ή την αέρια χρωματογραφία (GC).

Ο προσδιορισμός του συντελεστή K_{ow} με τη μέθοδο slow stir είναι εξαιρετικά χρονοβόρος, παρουσιάζει πολλά προβλήματα και απαιτεί μεγάλη ποσότητα καθαρών συστατικών. Επίσης το γεγονός ότι χρησιμοποιείται μεγάλη ποσότητα οργανικού διαλύτη, (από τα 10 ml οκτανόλης θα αναλυθούν τα 2 μ l) οδηγεί στο ότι η μέθοδος δεν έχει μεγάλη ευαισθησία. Παρόλα αυτά, η μέθοδος έχει μεγάλη ακρίβεια στο προσδιορισμό του $\log K_{ow}$.

Έχοντας υπόψη τη μεθοδολογία υπάρχουν ορισμένα σημεία που πρέπει να επισημανθούν:

1. Δεν είναι απαραίτητο οι δύο φάσεις να είναι κορεσμένες πριν την έναρξη του πειράματος
2. Απαιτείται ολοκληρωτικός διαχωρισμός των δύο φάσεων, αφού μία μικρή ποσότητα οκτανόλης μέσα στο νερό θα έχει μεγάλη ποσότητα δείγματος
3. Οι μετρήσεις πρέπει διεξαχθούν σε συγκεντρώσεις μικρότερες από τη διαλυτότητα των προς εξέταση ουσιών στο νερό

Κατά καιρούς έχουν αναπτυχθεί πολλές αυτοματοποιημένες παραλλαγές της κλασσικής μεθόδου SSM που τείνουν να μειώσουν τις χρονοβόρες διαδικασίες. Η μέθοδος slow stir, παρόλο που είναι χρονοβόρα και ακριβή, παραμένει αξιόπιστη. [6, 7, 8, 27]

1.3.2 Μέθοδος Shake flask

Μία από τις παραδοσιακές, άμεσες μεθόδους προσδιορισμού του συντελεστή οκτανόλης νερού είναι η shake flask (SFM) η οποία περιλαμβάνεται στις standard OECD (Organization for Economic Cooperation and Development) procedures. Στη μέθοδο αυτή, η χημική ένωση που εξετάζεται αναμειγνύεται με την κατάλληλη ποσότητα οκτανόλης και νερού και ανακινείται μέχρι να επιτευχθεί η ισορροπία μεταξύ των δύο φάσεων. [1, 2, 7]

Η μεθοδολογία της shake flask (SFM) έχει ως εξής: Το πείραμα εκτελείται σε θερμοκρασία 25°C. Σε γυάλινη φιάλη των 50ml τοποθετούνται 15ml νερό κορεσμένο σε οκτανόλη που περιέχει την προς εξέταση χημική ουσία. Στη συνέχεια προστίθεται 5ml οκτανόλης κορεσμένης σε νερό. Η φιάλη σφραγίζεται και ανακινείται με το χέρι ή με vortex για 10 και 3 λεπτά αντίστοιχα, μέχρι να επιτευχθεί η ισορροπία. Ύστερα οι δύο φάσεις διαχωρίζονται με φυγοκέντρωση ή παραμένουν σε ηρεμία για περίπου μία ώρα. Τέλος, δείγματα από τις δύο φάσεις οδηγούνται προς ανάλυση με κάποια αναλυτική μέθοδο όπως η υγρή (HPLC) ή η αέρια χρωματογραφία (GC). [8]

Έχοντας υπόψη τη μεθοδολογία αξίζει να σημειωθούν τα εξής:

1. πρέπει απαραίτητα οι δύο φάσεις να είναι κορεσμένες ή μία στην άλλη πριν αναμειχθούν με την προς εξέταση χημική ουσία
2. απαιτείται ολοκληρωτικός διαχωρισμός των δύο φάσεων, αφού μία μικρή ποσότητα οκτανόλης μέσα στο νερό θα έχει μεγάλη ποσότητα δείγματος
3. το φάσμα μέτρησης της μεθόδου SFM προσδιορίζεται από το όριο ανίχνευσης της αναλυτικής μεθόδου
4. η μέθοδος δεν ενδείκνυται για επιφανειακώς ενεργές χημικές ενώσεις.

Η μέθοδος αυτή, παρόλο που στη βάση της είναι σωστή, παρουσιάζει ορισμένα μειονεκτήματα όσον αφορά το χρόνο που απαιτείται για τη διεξαγωγή των πειραμάτων, την ποσότητα των χημικών ουσιών που χρησιμοποιούνται και την αναξιοπιστία της στον προσδιορισμό του συντελεστή K_{ow} πολύ λιπόφιλων χημικών ουσιών ($\log K_{ow} > 4$). Στην προσπάθεια να αποφευχθούν τα προαναφερόμενα μειονεκτήματα, αναπτύχθηκαν και άλλες παρόμοιες μέθοδοι όπως οι column generator techniques (CGT). [21]

1.3.3 Μέθοδος συνεισφοράς των θραυσμάτων

Ένας άλλος τρόπος εκτίμησης του συντελεστή οκτανόλης νερού, γίνεται με το να εκφραστεί η ελεύθερη ενέργεια μεταφοράς ενός συστατικού, σε ένα δοσμένο διφασικό σύστημα, ως το άθροισμα των ελεύθερων ενεργειών που συνεισφέρουν τα διάφορα μέρη του μορίου. Από τη στιγμή που οι χιλιάδες οργανικές ουσίες που πρέπει να επεξεργαστούν, αποτελούνται από ένα μικρό αριθμό δομικών μονάδων, αυτή η συσχέτιση δομής - ιδιότητας, επιτρέπει την εκτίμηση μίας συγκεκριμένης ιδιότητας της εξεταζόμενης οργανικής ουσίας.

Η πιο αναπτυγμένη και διαδεδομένη συσχέτιση ιδιότητας - δομής είναι ο συντελεστής κατανομής οκτανόλης νερού. Η παρούσα μέθοδος επιτρέπει την εμβάθυνση σε θέματα μοριακής δομής, μοριακών δυνάμεων και αλληλεπιδράσεων, που υπολογίζουν την ελεύθερη ενέργεια μίας ένωσης στην υδατική και την οργανική φάση. Επίσης βοηθά στην καλύτερη κατανόηση της κατανομής της οργανικής ένωσης μεταξύ των δύο φάσεων.

Η ολική ελεύθερη ενέργεια μεταφοράς κάθε οργανικής ένωσης, ανάμεσα στην οκτανόλη και το νερό, ισούται με το άθροισμα των ελεύθερων ενεργειών του κάθε ατόμου ή ομάδας ατόμων από τα οποία αποτελείται το μόριο αυτό. Συνεπώς,

$$\log K_{ow} = \sum_i f_i + \sum_j F_j$$

Όπου οι τιμές f_i αποτελούν τη συνεισφορά της κάθε δομικής μονάδας της οργανικής ένωσης και οι τιμές F_j είναι ενδεικτικές των ενδομοριακών αλληλεπιδράσεων μεταξύ αυτών των δομικών μονάδων. Ορισμένες τιμές f_i και F_j , παρουσιάζονται στους πίνακες 1 και 2 αντίστοιχα.

Πίνακας 1: Παρουσιάζονται ορισμένες σταθερές θραυσμάτων (f_i) που είναι χρήσιμες για τον προσδιορισμό του $\log K_{ow}$

θραύσμα	f	f^Φ	$f^{\Phi\Phi}$
-H	0.23	0.23	
-C-	0.20	0.20	
-F	-0.38	0.37	
-Cl	0.06	0.94	
-Br	0.20	1.09	
-I	0.59	1.35	
-O-	-1.82	-0.61	0.53
-OH	-1.64	-0.44	
-N<	-2.18	-0.93	
-NH-	-2.15	-1.03	-0.09
-NH ₂	-1.54	-1.00	
-NO ₂	-1.16	-0.03	
-C(=O)-	-1.90	-1.09	-0.50
-COO ⁻	-5.19	-4.13	
-COOH	-1.11	-0.03	
-COO-	-1.49	-0.56	-0.09
Ο εκθέτης Φ υποδηλώνει σταθερά για θραύσματα που είναι συνδεδεμένα με δεσμό με αρωματικό άνθρακα, και ο εκθέτης $\Phi\Phi$ αναφέρεται σε θραύσματα που είναι συνδεδεμένα με αρωματικό άνθρακα και από τις δύο πλευρές.			

Πίνακας 2: Παρουσιάζονται ορισμένες σταθερές ενδομοριακών αλληλεπιδράσεων (F_i) που είναι χρήσιμες για τον προσδιορισμό του $\log K_{ow}$

Ενδομοριακές αλληλεπιδράσεις	F
Γεωμετρικοί παράγοντες	
Διπλός δεσμός	-0,09
Τριπλός δεσμός	-0,50
Long chain flexing	-0,12
Ring flexing	-0,09
Nonpolar chain branch	-0,13
Polar chain branch	-0,22
Ηλεκτρονικοί παράγοντες	
2 αλογόνα στον ίδιο C	0,60
3 αλογόνα στον ίδιο C	1,59
4 αλογόνα στον ίδιο C	2,88
2 αλογόνα στο διπλανό C	0,28
3 αλογόνα στο διπλανό C	0,56
4 αλογόνα στο διπλανό C	0,84
5 αλογόνα στο διπλανό C	1,12
6 αλογόνα στο διπλανό C	1,40

Οι παραπάνω πίνακες είναι βασικοί για τον προσδιορισμό του συντελεστή οκτανόλης νερού. Όμως υπάρχουν και άλλου τύπου αλληλεπιδράσεις, όπως οι ενδομοριακοί δεσμοί υδρογόνου και οι διορθωτικοί παράγοντες, που βοηθούν στον ακριβέστερο προσδιορισμό του K_{ow} .

Η χρήση των σταθερών φραγμάτων και των σταθερών ενδομοριακών αλληλεπιδράσεων, στον προσδιορισμό του συντελεστή οκτανόλης νερού, αποτελεί μια πολύ ενδιαφέρουσα προσέγγιση. Εξαιτίας του μεγάλου αριθμού σταθερών φραγμάτων και σταθερών ενδομοριακών αλληλεπιδράσεων, οι εκτιμήσεις του $\log K_{ow}$ είναι συνήθως ικανοποιητικές, ιδιαίτερα όταν εξετάζονται μόρια με απλή δομή. Πρόσφατα είναι διαθέσιμο το λογισμικό για μία καθαρά υπολογιστική έκδοση της μεθόδου. Τέλος, πρέπει να υπάρχει μεγάλη προσοχή όταν εξετάζονται μεγάλα μόρια πολύπλοκης δομής γιατί τα δεδομένα που υπάρχουν καθώς και η εμπειρία μας με τέτοιου είδους μόρια, είναι περιορισμένη.

1.3.4 pH-μετρική μέθοδος

Η pH μετρική τεχνική αποτελεί έναν έμμεσο, γρήγορο και εύκολο τρόπο προσδιορισμού του συντελεστή οκτανόλης νερού για χημικές ουσίες που είναι λιποφιλικές που μπορούν εύκολα να ιονιστούν.

Αναλυτικά η πειραματική διαδικασία έχει ως εξής: Όλες οι τιτλοδοτήσεις γίνονται σε θερμοκρασία 25°C. Πριν από κάθε σειρά τιτλοδοτήσεων γίνεται βαθμονόμηση του pHμέτρου. Η οκτανόλη που χρησιμοποιήθηκε είναι κορεσμένη σε υδατικό διάλυμα potassium chloride 0,15M. Αρχικά γίνεται τιτλοδότηση τυφλού. 20ml υδατικού διαλύματος potassium chloride 0,15M τοποθετείται στη φιάλη τιτλοδότησης με αρκετή ποσότητα υδροχλωρικού οξέος για να σταθεροποιηθεί το pH στο 1,8. Αυτό στη συνέχεια τιτλοδοτείται μέχρι το pH να γίνει 12,2 με potassium chloride 0,5M. Κατάλληλη ποσότητα του εντομοκτόνου η οποία έχει συγκέντρωση 10^{-3} M όταν αναμειχθεί σε 20ml υδατικού διαλύματος potassium chloride 0,15M. Το όργανο (PCA) έχει προγραμματιστεί να κάνει την τιτλοδότηση με οξύ ή βάση μέχρι να επιτευχθεί κάποια συγκεκριμένη τιμή του pH. Όταν τελειώσει η πρώτη τιτλοδότηση το όργανο έχει προγραμματιστεί να προσθέσει κατάλληλη ποσότητα οκτανόλης, της οποίας ο όγκος εξαρτάται από την αναμενόμενη τιμή του $\log K_{ow}$ και στη συνέχεια να επαναλάβει την τιτλοδότηση. Ο συντελεστής οκτανόλης νερού σχετίζεται άμεσα με την τιμή του pKa και έτσι γίνεται ο υπολογισμός του.

Οι τιμές του συντελεστή οκτανόλης νερού που υπολογίζονται με τη μέθοδο αυτή θεωρούνται αξιόπιστες σε σχέση με τις τιμές που προκύπτουν από τις άμεσες μεθόδους. Συμπερασματικά, η pH μετρική μέθοδος είναι μία πολύ γρήγορη, εύκολη και αξιόπιστη μέθοδος προσδιορισμού του συντελεστή οκτανόλης νερού των χημικών ουσιών που ιονίζονται εύκολα. [8, 29]

1.3.5 Θεωρητικοί υπολογισμοί

Μελέτες έχουν δείξει ότι η σχέση της διαλυτότητας με το συντελεστή οκτανόλης νερού είναι άμεση. Στη βιβλιογραφία υπάρχουν διάφορες εξισώσεις που υπολογίζουν το συντελεστή K_{ow} διαφόρων χημικών ουσιών από τη διαλυτότητά τους (S) στο νερό. Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται ορισμένες εξισώσεις οι οποίες έχουν επιλεγεί με κριτήριο το συντελεστή γραμμικής συσχέτισης R^2 και τον αριθμό των διαφορετικών χημικών ουσιών που περιλαμβάνει. Γενικά η μέθοδος δεν είναι αξιόπιστη σε σύγκριση με τις άμεσες μεθόδους. [7, 8, 24]

Πίνακας 3: Εξισώσεις που υπολογίζουν το συντελεστή K_{ow} διαφόρων χημικών ουσιών από τη διαλυτότητά τους (S) στο νερό

n°	εξίσωση	Μονάδες διαλυτότητας	R^2	Χημικές ενώσεις
1	$\text{Log } K_{ow} = 4.62 - 0.72 \log S$	mg/l	0.93	Διάφορες ενώσεις
2	$\text{Log } K_{ow} = 4.54 - 1.08 \log S$	mg/l	0.74	φυτοφάρμακα
3	$\text{Log } K_{ow} = 5.01 - 0.67 \log S$	μmol/l	0.97	φυτοφάρμακα
4	$\text{Log } K_{ow} = 5.30 - 0.73 \log S$	μmol/l	0.90	Χλωριωμένοι υδρογονάνθρακες

1.3.6 Θεωρητικοί υπολογισμοί από το λογισμικό ClogP

Για τον υπολογισμό του συντελεστή οκτανόλης νερού είναι διαθέσιμο κατάλληλο λογισμικό όπως το ClogP. Το φάσμα εφαρμογών της συγκεκριμένης μεθόδου είναι ευρύτερο συγκρινόμενο με άλλες διεργασίες. Για την ακρίβεια έχει αποδειχθεί αξιόπιστο για πολύ λιποφιλικές χημικές ενώσεις όπως τα οργανοχλωριωμένα. Η μέθοδος συμφωνεί με τις άμεσες μεθόδους για τις περισσότερες χημικές ενώσεις, ενώ παρουσιάζει κάποια αναξιοπιστία για ορισμένα εντομοκτόνα με πολύπλοκα μόρια. Γενικά αυτή η μέθοδος κάνει καλή εκτίμηση του συντελεστή οκτανόλης νερού για τα οργανοχλωριωμένα εντομοκτόνα. Οι τιμές του K_{ow} που έχουν υπολογιστεί με αυτή τη μέθοδο προτιμούνται μόνο σε περίπτωση που δεν υπάρχουν επαρκή πειραματικά δεδομένα και για τιμές $K_{ow} > 6$. [7, 8]

1.3.7 Μέθοδος RP-HPLC

Η μέθοδος RP-HPLC (Reversed-phase high performance liquid chromatography) αποτελεί μία έμμεση μέθοδο προσδιορισμού του συντελεστή οκτανόλης νερού. Η μέθοδος εφαρμόζεται για τιμές του K_{ow} από 0 ως 6. Πριν ξεκινήσει οποιαδήποτε πειραματική διαδικασία πρέπει να γίνει μία πρώτη εκτίμηση της τιμής του K_{ow} (συνήθως από τη βιβλιογραφία). Η μέθοδος HPLC δεν εφαρμόζεται σε ισχυρά οξέα και ισχυρές βάσεις και σε επιφανειακώς ενεργές ουσίες. Επιπλέον, η παρούσα μέθοδος είναι λιγότερο ευαίσθητη όσο αφορά τις εργαστηριακές επιμολύνσεις, όμως πολλές φορές σε ένα γράφημα είναι πολύ δύσκολο να διακριθούν οι κορυφές μεταξύ τους. [2, 6, 7]

Όσο αφορά τη μεθοδολογία, αρχικά γίνεται βαθμονόμηση του οργάνου. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιείται μία χημική ουσία που έχει K_{ow} λίγο μικρότερο, και μία άλλη χημική ουσία που να έχει K_{ow} λίγο μεγαλύτερο από την τιμή του K_{ow} του συστατικού που εξετάζεται. Για μεγαλύτερη ακρίβεια είναι προτιμότερο να επιλέγονται χημικές ουσίες που έχουν την παρόμοια δομή με την εξεταζόμενη ουσία. Οι μετρήσεις γίνονται εις διπλούν για να αυξηθεί η αξιοπιστία τους. [8, 19, 25]

Με την HPLC μέθοδο οι χημικές ενώσεις με πολύ χαμηλή διαλυτότητα στην οκτανόλη έχουν χαμηλή τιμή $\log K_{ow}$ και οι κορυφές στο γράφημα εμφανίζονται περίπου ίσες με αυτές του διαλύτη. Από όλες τις πειραματικές μεθόδους αυτή είναι η λιγότερο ακριβή και η πιο γρήγορη. Παρόλα αυτά όμως δεν πρέπει να ξεχνιέται ότι είναι μια έμμεση και όχι άμεση μέθοδος προσδιορισμού του K_{ow} . [8, 19, 25]

Η HPLC μέθοδος προτιμάται σε περίπτωση που υπάρχουν δεδομένα για ουσίες παρόμοιας δομής με την εξεταζόμενη χημική ένωση. Επίσης, είναι αξιόπιστη μέθοδος και τα αποτελέσματά της συμφωνούν με αυτά που έχουν προσδιοριστεί από τις άμεσες μεθόδους. Όσο αφορά τις οργανοχλωριωμένες ενώσεις, η HPLC μέθοδος, δεν προσδιορίζει μεγάλο εύρος τιμών $\log K_{ow}$ (από 4,7 ως 5,6). [8, 19, 25]

1.3.8 Προσδιορισμός του K_{ow} με την αέρια χρωματογραφία GC-ECD και GC-MS

Η αέρια χρωματογραφία είναι μία καινούρια μέθοδος όσο αφορά τη χρησιμοποίησή της στον προσδιορισμό του συντελεστή οκτανόλης-νερού των οργανοχλωριωμένων ενώσεων. Ο προσδιορισμός των οργανοχλωριωμένων φυτοφαρμάκων γίνεται με χρωματογραφικές μεθόδους με διάφορους ανιχνευτές όπως flame ionization detection (FID), mass spectrometric (MS) και electron capture detection (ECD). Ο ανιχνευτής MS μέχρι στιγμής, έχει τα χαμηλότερα όρια ανίχνευσης για πολλές χημικές ενώσεις. Από την άλλη πλευρά ο ανιχνευτής ECD είναι ευρέως χρησιμοποιούμενος και αποτελεί ένα πολύτιμο εργαλείο για την ανάλυση περιβαλλοντικών δειγμάτων. [3, 4]

Συνήθως οι δύο αυτές τεχνικές έχουν αποδεχθεί κατάλληλες για την ανάλυση περιβαλλοντικών δειγμάτων και πιο αξιόπιστες από τις συμβατικές τεχνικές εκχύλισης. Μέχρι τον Μάιο του 1999, είχαν βρεθεί 416 παραπομπές στην τεχνική εκχύλισης SPME και 40% αυτών αφορούσαν τα περιβαλλοντικά δείγματα. Επίσης την ίδια περίοδο η υγρή χρωματογραφία GC ήταν η μόνη αναλυτική μέθοδος που χρησιμοποιούταν σε ποσοστό 95%. Όπως στις άλλες αναλυτικές μεθόδους, έτσι και στην αέρια χρωματογραφία πριν την ανάλυση των δειγμάτων είναι απαραίτητο να γίνει βαθμονόμηση του οργάνου. Η βαθμονόμηση γίνεται με direct injection της προς εξέταση ουσίας στο GC σε τουλάχιστον 5 διαφορετικές συγκεντρώσεις. Με τον τρόπο αυτό δημιουργείται μία γραμμική συσχέτιση μεταξύ του σήματος του ανιχνευτή και της συγκέντρωσης της χημικής ουσίας. [5, 7, 8, 11]

Η μέθοδος GC μπορεί να ανιχνεύσει με επιτυχία τα οργανοχλωριωμένα φυτοφάρμακα με εξαίρεση δύο: το lindane και heptachlor που λόγω της δομής τους, αποτελούν ένα «case study» για την αέρια χρωματογραφία. Στην αέρια χρωματογραφία μπορεί να σχεδιαστεί από το χειριστή θερμοκρασιακό πρόγραμμα ανάλυσης και συνεπώς κάτι τέτοιο ευνοεί την ανάλυση διαφορετικών χημικών ουσιών. [5, 7, 8, 11]

Δεν υπάρχει επαρκής βιβλιογραφία που να πιστοποιεί ότι η αέρια χρωματογραφία μπορεί με ακρίβεια να προσδιορίσει το συντελεστή K_{ow} . Η μέθοδος είναι ευαίσθητη, ακριβής, εκλεκτική και γραμμική για ένα μεγάλο φάσμα ενώσεων. Τα όρια ανίχνευσης της μεθόδου μπορούν να φτάσουν μεταξύ 0.0013-0.45 ng/L⁻¹. [5, 7, 8, 11]

1.4 ΜΕΘΟΔΟΙ ΕΚΧΥΛΙΣΗΣ

Η εκχύλιση είναι μια μέθοδος διαχωρισμού, στην οποία μία ουσία κατανέμεται μεταξύ δύο υγρών που δεν αναμιγνύονται. Παρακάτω δίνονται οι αναλυτικοί ορισμοί μερικών μεθόδων εκχύλισης, οι οποίοι θα βοηθήσουν στην καλύτερη κατανόηση της παρούσας εργασίας.

- 1. Εκχύλιση υγρού-υγρού (LLE):** (Liquid-Liquid Extraction) Αποτελεί την πιο συνηθισμένη μέθοδο εκχύλισης και περιλαμβάνει ένα σύστημα δύο υγρών φάσεων, στο οποίο η ουσία κατανέμεται μεταξύ των δύο αυτών φάσεων. Ο διαχωρισμός επέρχεται μετά από την αποκατάσταση της ισορροπίας μεταξύ των δύο φάσεων. [18]
- 2. Μικροεκχύλιση στερεής φάσης (SPME):** Η μικροεκχύλιση στερεής φάσης είναι μία νέα και διαδεδομένη μέθοδος η οποία έρχεται να αντικαταστήσει την κλασική εκχύλιση υγρού –υγρού. Τα πλεονεκτήματα της μεθόδου είναι ότι μειώνει σημαντικά τον όγκο του δείγματος και έχει αυξημένη ευαισθησία. Η SPME χρησιμοποιεί στερεές ίνες πυριτίου που είναι καλυμμένες με μία στατική φάση πολυμερούς. Η ίνα αυτή αντικαθιστά τη βελόνα της μικροσύριγγας, και εμβαπτίζεται μέσα στο υδατικό διάλυμα που περιέχει την οργανική ουσία. Η οργανική ουσία διαχέεται στο πολυμερικό κάλυμμα της ίνας, και στη συνέχεια γίνεται ένεση στον αέριο ή τον υγρό χρωματογράφο. [13, 18]
- 3. Μικροεκχύλιση υγρής φάσης (LPME):** Η μικροεκχύλιση υγρής φάσης (Liquid phase Micro-Extraction (LPME)) αναπτύχθηκε ως μία εναλλακτική μέθοδος προετοιμασίας του δείγματος, στην καθιερωμένη εκχύλιση υγρού-υγρού (LLE). Απαιτεί τη χρήση μικρότερων όγκων οργανικού διαλύτη για την εκχύλιση οργανικών ουσιών από επίσης μικρούς όγκους υδατικής μήτρας. Η LPME απαιτεί πολύ απλές και χαμηλού κόστους συσκευές. [16, 17, 18]

1.5 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΟΥ K_{ow} ΜΕ HOLLOW-FIBER LPME

Πρόσφατα δημοσιεύτηκε μία μελέτη, στην οποία έγινε προσδιορισμός του συντελεστή οκτανόλης νερού με Hollow fiber membrane solvent microextraction (HFMSME). Η μέθοδος θεωρείται καινοτόμα όσο αφορά τον υπολογισμό του K_{ow} και παρουσιάζεται πολύ βελτιωμένη σε σχέση με τις παραδοσιακές μεθόδους (shake flask, slow stir).

Η πειραματική διαδικασία έχει ως εξής: Αρχικά, παρασκευάζονται υδατικά διαλύματα όλων των οργανικών ενώσεων. 10 ml διαλύματος τοποθετούνται σε ειδικό γυάλινο δοχείο. Η ίνα εισάγεται στο διάλυμα, και στο άνω άκρο της γίνεται ένεση 25 μ l οκτανόλης. Το διάλυμα αναδεύεται για 60 min με μαγνητικό αναδευτήρα σε ταχύτητα 600 rpm. Στη συνέχεια γίνεται μέτρηση της οργανικής και της υδατικής φάσης στην HPLC. Το νερό και η οκτανόλη που χρησιμοποιήθηκαν στην πειραματική διαδικασία, ήταν εκ των προτέρων κορεσμένες η μία φάση στην άλλη. Οι τιμές του συντελεστή οκτανόλης νερού υπολογίστηκαν από το λόγο του εμβαδού κορυφής της οργανικής και της υδατικής φάσης.

Οι τιμές του K_{ow} που υπολογίστηκαν, προσεγγίζουν πολύ τα βιβλιογραφικά δεδομένα και για το λόγο αυτό η μέθοδος HFMSME είναι αξιόπιστη. Επίσης έχει καλή επαναληψιμότητα. Συγκρινόμενη με τη παραδοσιακή slow stir μέθοδο στην HFMSME, το υδατικό διάλυμα αναδεύεται πιο έντονα, με αποτέλεσμα να αυξάνεται η μεταφορά μάζας από τη μία φάση στην άλλη και να μειώνεται σημαντικά ο χρόνος εκχύλισης.

Ίσως ο σημαντικότερος παράγοντας της συγκεκριμένης εργασίας είναι ο χρόνος ανάδευσης των δύο φάσεων. Όλη η εργασία έγινε με την προϋπόθεση ότι το σύστημα των δύο φάσεων βρίσκεται σε ισορροπία. Δηλαδή ο λόγος των συγκεντρώσεων μίας ουσίας μεταξύ των δύο φάσεων, στην ισορροπία είναι σταθερός. Επίσης είναι πολύ σημαντικό ότι η αποκατάσταση της ισορροπίας καθώς και η τιμή του συντελεστή οκτανόλης νερού είναι ανεξάρτητη της αρχικής συγκέντρωσης της υδατικής φάσης. Είναι αναμενόμενο ότι συνθήκες όπως η θερμοκρασία και η πίεση θα επηρεάζουν αυτή την ισορροπία. Για το λόγο αυτό η θερμοκρασία ήταν ελεγχόμενη στους 25°C και η πίεση 0,1 MPa. Κάτω από τις συγκεκριμένες συνθήκες ανάδευσης η ισορροπία

μεταξύ των δύο φάσεων είχε επέλθει σε λιγότερο από 60 min για όλες τις εξεταζόμενες ενώσεις.

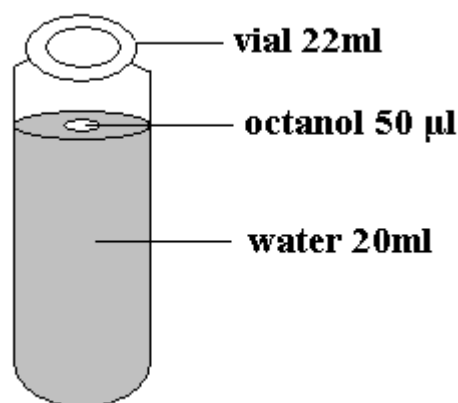
Σε αντίθεση με την LLE η HFMSME μειώνει σημαντικά το λόγο του όγκου της οργανικής προς τον όγκο της υδατικής φάσης. Επιπλέον, επιτρέπει τη χρήση μικρότερης ποσότητας οργανικού διαλύτη, έχει χαμηλό κόστος και είναι μία φιλική προς το περιβάλλον μέθοδος. Η HFMSME είναι γρήγορη, αποτελεσματική και ευαίσθητη μέθοδος όσο αφορά τον προσδιορισμό του K_{ow} . Ακόμα, μπορεί να χρησιμοποιηθεί με ακρίβεια για τον προσδιορισμό ενός μεγάλου φάσματος τιμών K_{ow} . Ωστόσο, η HFMSME, όπως και κάθε τεχνική, έχει ορισμένα μειονεκτήματα. Για παράδειγμα ο χειριστής της ίνας πρέπει να είναι πολύ προσεκτικός γιατί είναι ιδιαίτερα εύθραυστη, και η μέθοδος δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον προσδιορισμό του συντελεστή οκτανόλης νερού πολύ πτητικών ενώσεων.

1.6 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΟΥ K_{ow} ΜΕ ΤΗ ΜΙΚΡΟΕΚΧΥΛΙΣΗ ΕΛΕΥΘΕΡΗΣ ΣΤΑΓΟΝΑΣ

Η μικροεκχύλιση ελεύθερης σταγόνας (Free Drop Micro-Extraction) αποτελεί μια καινούρια μέθοδο όσο αφορά τον υπολογισμό του K_{ow} και παρουσιάζει πολύ βελτιωμένες ιδιότητες σε σχέση με τις παραδοσιακές μεθόδους (shake flask, slow stir).

Η πειραματική διαδικασία έχει ως εξής: (εικόνα 2) Αρχικά, παρασκευάζονται υδατικά διαλύματα όλων των οργανικών ενώσεων. 20 ml διαλύματος τοποθετούνται σε ειδικό γυάλινο φιαλίδιο μαζί με 50 μ l οκτανόλης. Το διάλυμα αναδεύεται στο vortex για 2 min και μετά φυγοκεντρείται με ταχύτητα 3500 rpm για να γίνει γρήγορος διαχωρισμός των δύο φάσεων. Στη συνέχεια γίνεται μέτρηση της οργανικής φάσης στο GC-ECD. Το νερό και η οκτανόλη που χρησιμοποιήθηκαν στην πειραματική διαδικασία, ήταν εκ των προτέρων κορεσμένες η μία φάση στην άλλη. Από το ισοζύγιο μάζας της οργανικής ένωσης μπορεί πλέον να υπολογιστεί ο συντελεστής οκτανόλης νερού.

Εικόνα 2: Σχηματικό διάγραμμα της πειραματικής διάταξης που χρησιμοποιείται στην FDME



Ο λόγος Voct/Vaq είναι ο ίδιος με τη μέθοδο HFMSME. Η επιλογή του συγκεκριμένου λόγου όγκων υδατικής και οργανικής φάσης δεν ήταν τυχαία. Ο λόγος αυτός επιτρέπει τη χρήση μικρότερης ποσότητας οργανικού διαλύτη και καθαρών οργανικών ενώσεων που είναι εν δυνάμει τοξικοί. Επιπλέον οι όγκοι που έχουν επιλεγεί, διευκολύνουν τη μεταφορά μάζας μεταξύ των δύο φάσεων και προσδίδουν στη μέθοδο μεγαλύτερη ευαισθησία όσο αφορά τον προσδιορισμό του συντελεστή οκτανόλης νερού. Αυτό συμβαίνει γιατί από τα 50 µl της οργανικής φάσης γίνεται ένεση 2 µl στο GC-ECD, ενώ για παράδειγμα με τη shake flask μέθοδο από τα 5ml οκτανόλης γίνεται ένεση 2 µl στο GC-ECD. Έτσι η FDME έχει καλύτερη ευαισθησία από τις παραδοσιακές μεθόδους προσδιορισμού του $\log K_{ow}$ (shake flask, slow stir).

Ίσως ο σημαντικότερος παράγοντας της συγκεκριμένης εργασίας είναι ο χρόνος ανάδευσης των δύο φάσεων. Ο χρόνος που χρειάζεται το σύστημα των δύο φάσεων να έρθει σε ισορροπία είναι το σημαντικότερο κριτήριο για τον υπολογισμό της χρονικής διάρκειας του πειράματος. Το πόσο μεγάλος ή μικρός θα είναι ο χρόνος υπολογισμού του συντελεστή οκτανόλης νερού, εξαρτάται άμεσα από το χρόνο που χρειάζεται το σύστημα των δύο φάσεων να φτάσει σε ισορροπία. Όλη η εργασία έγινε με την προϋπόθεση ότι το σύστημα των δύο φάσεων βρίσκεται σε ισορροπία. Δηλαδή ο λόγος των συγκεντρώσεων μίας ουσίας μεταξύ των δύο φάσεων, στην ισορροπία είναι σταθερός. Η έντονη ανάδευση που παρέχει το vortex αυξάνει σημαντικά τη μεταφορά μάζας μεταξύ των δύο φάσεων και δίνει τη δυνατότητα στο ερευνητή να κάνει μία πολύ γρήγορη και αποτελεσματική εκχύλιση. Κάτω από τις συγκεκριμένες

συνθήκες ανάδευσης η ισορροπία μεταξύ των δύο φάσεων είχε επέλθει σε λιγότερο από 2 min για όλες τις εξεταζόμενες ενώσεις. Ο εκτιμώμενος χρόνος ολοκλήρωσης της FDME μαζί με την ανάλυση στο GC-ECD είναι τα 20min και αποτελεί χρόνο ρεκόρ αφού οι υπόλοιπες μέθοδοι προσδιορισμού του συντελεστή οκτανόλης νερού χρειάζονται από 2 ως 48 ώρες.

Σε αντίθεση με την LLE η FDME μειώνει σημαντικά το λόγο του όγκου της οργανικής προς τον όγκο της υδατικής φάσης. Επιπλέον, επιτρέπει τη χρήση μικρότερης ποσότητας οργανικού διαλύτη, έχει χαμηλό κόστος και είναι μία φιλική προς το περιβάλλον μέθοδος. Η FDME είναι γρήγορη, αποτελεσματική και ευαίσθητη μέθοδος όσο αφορά τον προσδιορισμό του K_{ow} .

1.7 ΟΡΓΑΝΟΧΛΩΡΙΩΜΕΝΑ ΦΥΤΟΦΑΡΜΑΚΑ

Τα οργανοχλωριωμένα φυτοφάρμακα είναι οργανικοί μικρορυπαντές που έχουν την τάση να συσσωρεύονται στους οργανισμούς. Η ρυπαντική φύση των οργανοχλωριωμένων είναι ένα αποτέλεσμα της τοξικότητάς τους σε συνδυασμό με τη χημική και βιολογική τους σταθερότητα και τη μεγάλη λιποφιλικότητά τους. Τα παραπάνω αναφερόμενα χαρακτηριστικά, επιτρέπουν στα οργανοχλωριωμένα φυτοφάρμακα να μπαίνουν στην τροφική αλυσίδα και να προκαλούν προβλήματα στους οργανισμούς. Τα χημικά αυτά χρησιμοποιούνταν αλόγιστα στη γεωργία τις περασμένες δεκαετίες και κατά συνέπεια τα περισσότερα από αυτά έχουν απαγορευτεί σε πολλές χώρες. Στην Ελλάδα τα οργανοχλωριωμένα φυτοφάρμακα χρησιμοποιήθηκαν το 1950 ως το 1970 και έτσι ο προσδιορισμός τους στο νερό, το χώμα, και τα φυτά είναι πολύ σπουδαίος για την προστασία της δημόσιας υγείας και τον έλεγχο του περιβάλλοντος. [3, 4, 5, 6]

Τα περισσότερα οργανοχλωριωμένα εντομοκτόνα είναι επικίνδυνα σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις, γεγονός που καθιστά την ανίχνευσή του πολύ δύσκολη. Τα οργανοχλωριωμένα φυτοφάρμακα περιλαμβάνουν μία μεγάλη λίστα οργανικών ενώσεων. Το ενδιαφέρον όμως επικεντρώνεται στα POPs (persistent organic pollutants) των οποίων η λίστα εκδόθηκε από το United Nations Environment Program το 1995 και αρχικά περιείχε 12 ομάδες χημικών ενώσεων αλλά αργότερα

διευρύνθηκε. Παρά το γεγονός ότι τα POPs αποτελούνται από χημικές ενώσεις με διαφορετικές ιδιότητες, στην πραγματικότητα όλες έχουν κοινά χαρακτηριστικά όπως τα υψηλά επίπεδα σταθερότητας, τοξικότητας και τη μεγάλη τους κινητικότητα σε σημείο που μπορούν να βρεθούν μεγάλες ποσότητες των συστατικών αυτών σε πολύ απομακρυσμένα σημεία του πλανήτη, όπως οι πόλοι. Επίσης τα οργανοχλωριωμένα φυτοφάρμακα έχουν την τάση να συσσωρεύονται στους λιπώδεις ιστούς, να παρουσιάζουν υδροφοβικές ιδιότητες και κατά συνέπεια έχουν τιμή συντελεστή οκτανόλης νερού μεγαλύτερο από 5. [11, 12, 30]

Ορισμένα οργανοχλωριωμένα εντομοκτόνα και οι συντελεστές οκτανόλης νερού παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 4: Παρουσιάζονται οι τιμές του συντελεστή οκτανόλης νερού ορισμένων οργανοχλωριωμένων ενώσεων.

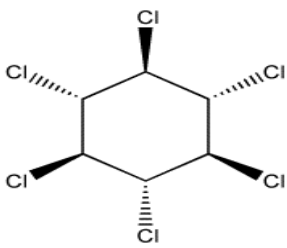
Οργανοχλωριωμένη ένωση	Log K_{ow}
4.4 DDE	6.5
DDD	6.22
DDT	4.64
Aldrin	6.5
Atrazine	2.64
α- BHC	3.81
β- BHC	3.84
γ- BHC (lindane)	3.72
δ- BHC	4.14
Chlordane	6.00
Dieldrin	5.54
Heptachlor	6.06
Heptachlor epoxide	5.40
Metoxychlor	5.08
Alachlor	3.27
Endrin	5.05

Atrazine	2.63
Endosulfane	3.65
Endrin aldehyde	4.53
Endosulfane sulfate	3.66

1.7.1 Το alpha-BHC

Το α- BHC είναι μία οργανοχλωριωμένη ένωση που χρησιμοποιήθηκε ευρύτατα στο παρελθόν ως φυτοφάρμακο. Οι φυσικοχημικές του ιδιότητες παρουσιάζονται στον πίνακα 5.

Πίνακας 5: Φυσικοχημικές ιδιότητες του α- BHC

Cas Number	319-84-6
Ονομασία	Alpha-hexachlorocyclohexane
Μοριακός τύπος	C ₆ H ₆ Cl ₆ 
Μοριακό βάρος	290.83
Σημείο τήξης	159.5° C
Σημείο ζέσεως	288° C
Διαλυτότητα	2mg/l (25° C)
Τάση ατμών	4.5E-005 mm Hg
Σταθερά Henry	1.22E-005 atm·m ³ /mole(25° C)
Log K_{ow}	3.80
Χρήση	Φυτοφάρμακο, εντομοκτόνο
Πυκνότητα	1.87 (20° C)
Odor Threshold Conc.	0.088 mg/l

Τα συμπτώματα της δηλητηρίασης με α-BHC περιλαμβάνουν δυσκολία αναπνοής και δερματοπάθειες. Μικρές ποσότητες του α-BHC προκύπτουν από τον ισομερισμό του γ-BHC με την επίδραση της ηλιακής ακτινοβολίας. Η έκλυση του α-BHC στο περιβάλλον οφείλεται κυρίως από τη αλόγιστη χρήση του ως φυτοφάρμακο. Όταν απελευθερώνεται στο νερό, το α-BHC, δεν υδρολύεται εύκολα. Όταν απελευθερώνεται στο χώμα το πιο πιθανό είναι ότι θα καταλήξει στο υπόγειο νερό. Επίσης ένα μικρό ποσοστό μπορεί να εξαχνωθεί. Το alpha-BHC που εκλύεται στην ατμόσφαιρα, σε αναλογία με το γ-BHC μπορεί να μεταφερθούν μέσω της βροχής στα υπόγεια ύδατα. Κατά εκτίμηση ο χρόνος ημιζωής του α-BHC στην ατμόσφαιρα είναι 1.63 ημέρες. Η βιοαποδόμησή του μπορεί να συμβεί αργά σε αερόβιο περιβάλλον ενώ συμβαίνει γρήγορα σε αναερόβιες συνθήκες. Το alpha-BHC έχει παρατηρηθεί ότι βιοαποδομεύεται στο νερό με τη επίδραση του φωτός αλλά η φωτόλυση δεν θεωρείται η κύρια μέθοδος βιοαποδόμησής του. Το α-BHC βιοσυσσωρεύεται σε μικρό βαθμό στους οργανικούς ιστούς των υδρόβιων οργανισμών. Εν τέλει, το α-BHC, αποτελεί μολυσματικό παράγοντα για το νερό, τον αέρα, το χώμα, τα ψάρια, τα τρόφιμα και τον άνθρωπο. Ο άνθρωπος εκτίθεται στην ουσία αυτή κυρίως μέσω των τροφίμων που καταναλώνει. Παρακάτω παρουσιάζεται η επίδραση που έχει το α- BHC με το νερό:

1. Πόσιμο νερό: Τον Ιανουάριο του 1980 μετά από μια δειγματοληψία που έγινε σε 12 διαφορετικές περιοχές του Καναδά, η συγκέντρωση του α-BHC στο πόσιμο νερό κυμαινόταν από 2.7 ως 20.3 $\mu\text{g/ml}$ το χειμώνα και από 0.45 ως 9.7 $\mu\text{g/ml}$ το καλοκαίρι. Ειδικά στο Οντάριο η συγκέντρωση του α-BHC στο πόσιμο νερό έφτανε τα 17 $\mu\text{g/l}$. [14, 15]
2. Υπόγειο νερό: Μετά από δειγματοληψία που έγινε στο New Jersey μεταξύ 1977-1979 η συγκέντρωση του α-BHC στο υπόγειο νερό κυμαινόταν στα 0.1 $\mu\text{g/l}$, ενώ το 15.7% των δειγμάτων βρέθηκαν θετικά. Πέντε δείγματα υπόγειου νερού που η δειγματοληψία του έγινε κατά μήκος του ποταμού Νιαγάρα περιείχαν 0.005-0.007 $\mu\text{g/l}$ α-BHC.
3. Επιφανειακό νερό: Μετά από δειγματοληψία που έγινε στο New Jersey μεταξύ 1977-1979 η συγκέντρωση του α-BHC στο υπόγειο νερό κυμαινόταν στα 0.8 $\mu\text{g/l}$, ενώ το 39% των δειγμάτων βρέθηκαν θετικά. Δείγματα από την Washington, DC and Denver, CO βρέθηκαν κατά 20% θετικά και η συγκέντρωση του α-BHC κυμαινόταν από 0.0027-0.1 $\mu\text{g/l}$. 75 δείγματα

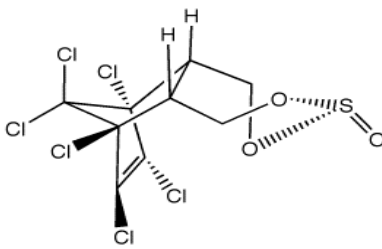
επιφανειακού νερού από τη λίμνη του Νιαγάρα (1980-1981) βρέθηκαν 100% θετικά στο α-BHC με μέση συγκέντρωση τα 10.5 µg/ml.

4. Βροχή / χιόνι: Great Lakes δείγματα βροχόπτωσης, συγκέντρωση 1-35 µg/ml, μέση τιμή 15 µg/ml; Lake Superior Μάιος ως Οκτώβριος 1983, συγκέντρωση 19-65 µg/ml. Lake Superior δείγματα βροχής Απρίλιος ως Μάιος 1983, συγκέντρωσης 3.9-46 µg/ml. Canada δείγματα χιονιού, Απρίλιος 1977 - Δεκέμβριος 1980, το 75-100% των δειγμάτων βρέθηκε θετικό, συγκέντρωση από 0.001 µg/l ως 0.1300 µg/l, με μέση τιμή 0.03 µg/l. Great Lakes (Canadian side) - 49 δείγματα βροχής, το 59% βρέθηκε θετικό, μέση συγκέντρωση 11.7 µg/ml, 17 δείγματα χιονιού, μέση συγκέντρωση 0.9 µg/ml. Η συγκέντρωση του α-BHC στα υπολείμματα των βιολογικών καθαρισμών των διαφόρων βιομηχανιών έχει ως εξής: ανθρακωρυχεία 47 δείγματα, 6.4% βρέθηκαν θετικά, η συγκέντρωση κυμαίνεται από 0.10 ως 2.2 µg/l με μέση τιμή τα 1.5 µg/l, βιοτεχνίες -13 δείγματα, 100% βρέθηκαν θετικά, η συγκέντρωση κυμαίνεται από 5 ως 6 µg/l με μέση τιμή τα 5.1 µg/l. Στις οργανικές βιομηχανίες τρία από ένα μεγάλο αριθμό δειγμάτων περιείχαν 10 µg/l α-BHC.

1.7.2 Το endosulfan I

Το endosulfan I είναι μία οργανοχλωριωμένη ένωση που χρησιμοποιήθηκε ευρύτατα στο παρελθόν ως φυτοφάρμακο. Οι φυσικοχημικές του ιδιότητες παρουσιάζονται στον πίνακα 6.

Πίνακας 6: Φυσικοχημικές ιδιότητες του endosulfane I

Cas Number	103-10-78
Ονομασία	Endosulfan I
Μοριακός τύπος	C ₉ H ₆ Cl ₆ O ₃ S 
Μοριακό βάρος	406.95

Σημείο τήξης	100° C
Σημείο ζέσεως	180° C
Διαλυτότητα	0.32 mg/l (25° C)
Τάση ατμών	1.2 Pa
Σταθερά Henry	1.09 Pa·m ³ /mol (25° C)
Log K_{ow}	3.83
Χρήση	Φυτοφάρμακο, εντομοκτόνο
LD50	30-82 mg/kg
Χρόνος ημιζωής	33-68 hours

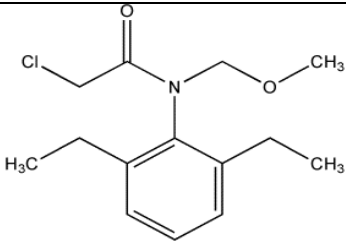
Τα συμπτώματα της δηλητηρίασης με endosulfane I περιλαμβάνουν δυσκολία αναπνοής, πονοκεφάλους, ζαλάδες, ναυτία και δερματοπάθειες. Η έκλυση του endosulfan I στο περιβάλλον οφείλεται κυρίως στην αλόγιστη χρήση του ως φυτοφάρμακο. Όταν απελευθερώνεται στο χώμα το πιο πιθανό είναι ότι θα καταλήξει στο υπόγειο νερό. Επίσης ένα μικρό ποσοστό μπορεί να εξαχνωθεί. Το endosulfan I που εκλύεται στην ατμόσφαιρα, μπορεί να μεταφερθεί μέσω της βροχής στα υπόγεια ύδατα. Το endosulfan I βιοσυσσωρεύεται σε μεγάλο βαθμό στους οργανικούς ιστούς των υδρόβιων οργανισμών. Το endosulfan I, αποτελεί μολυσματικό παράγοντα για το νερό, τον αέρα, το χώμα, τα ψάρια, τα τρόφιμα και τον άνθρωπο. Ο άνθρωπος εκτίθεται στην ουσία αυτή κυρίως μέσω των τροφίμων που καταναλώνει. [14, 15]

1.7.3 Το alachlor

Το alachlor είναι μία οργανοχλωριωμένη ένωση που χρησιμοποιήθηκε ευρύτατα στο παρελθόν ως φυτοφάρμακο. Οι φυσικοχημικές του ιδιότητες παρουσιάζονται στον πίνακα 7.

Πίνακας 7: Φυσικοχημικές ιδιότητες του alachlor

Cas Number	15972-60-8
Ονομασία	alachlor
Μοριακός τύπος	C ₁₄ H ₂₀ ClNO ₂

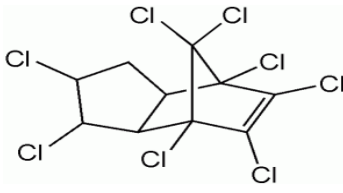
	
Μοριακό βάρος	269.8
Σημείο τήξης	39.5° C
Σημείο ζέσεως	100° C
Διαλυτότητα	200 mg/l (25° C)
Τάση ατμών	1.4E-5 mm Hg
Σταθερά Henry	14*10 ³ Matm ⁻¹ (25° C)
Log K_{ow}	3.09
Χρήση	Φυτοφάρμακο, εντομοκτόνο
Reference dose	10 µg/kg/day
Χρόνος ημιζωής στο έδαφος (αναερόβια)	5 days
Χρόνος ημιζωής στο έδαφος (αερόβια)	20 days

Τα συμπτώματα της δηλητηρίασης με alachlor περιλαμβάνουν δυσκολία αναπνοής, πονοκεφάλους, ζαλάδες, ναυτία και δερματοπάθειες. Η έκλυση του alachlor στο περιβάλλον οφείλεται κυρίως στην αλόγιστη χρήση του ως φυτοφάρμακο. Όταν απελευθερώνεται στο χώμα το πιο πιθανό είναι ότι θα καταλήξει στο υπόγειο νερό. Επίσης ένα μικρό ποσοστό μπορεί να εξαχνωθεί. Το alachlor που εκλύεται στην ατμόσφαιρα, μπορεί να μεταφερθεί μέσω της βροχής στα υπόγεια ύδατα. Το alachlor βιοσυσσωρεύεται σε μεγάλο βαθμό στους οργανικούς ιστούς των υδρόβιων οργανισμών. Το alachlor, αποτελεί μολυσματικό παράγοντα για το νερό, τον αέρα, το χώμα, τα ψάρια, τα τρόφιμα και τον άνθρωπο. Ο άνθρωπος εκτίθεται στην ουσία αυτή κυρίως μέσω των τροφίμων που καταναλώνει. [14, 15]

1.7.4 Το gamma chlordanes

Το gamma-chlordane είναι μία οργανοχλωριωμένη ένωση που χρησιμοποιήθηκε ευρύτατα στο παρελθόν ως φυτοφάρμακο. Οι φυσικοχημικές του ιδιότητες παρουσιάζονται στον πίνακα 8.

Πίνακας 8: Φυσικοχημικές ιδιότητες του clordane

Cas Number	57-74-9
Ονομασία	Gamma chlordanes
Μοριακός τύπος	$C_{10}H_6Cl_8$ 
Μοριακό βάρος	409.76
Σημείο τήξης	96° C
Σημείο ζέσεως	118° C
Διαλυτότητα	0.1 mg/l (25° C)
Τάση ατμών	1E-5 mm Hg
Σταθερά Henry	1.3x10-3 atm-cu m/mole (25° C)
Log K_{ow}	2.7
Χρήση	Φυτοφάρμακο, εντομοκτόνο
LD50	200 mg/kg
Χρόνος ημιζωής στο έδαφος (αναερόβια)	100 days
Χρόνος ημιζωής στο έδαφος (αερόβια)	350 days

Τα συμπτώματα της δηλητηρίασης με chlordane περιλαμβάνουν δυσκολία αναπνοής, πονοκεφάλους, ζαλάδες, ναυτία και δερματοπάθειες. Η έκλυση του chlordane στο περιβάλλον οφείλεται κυρίως στην αλόγιστη χρήση του ως φυτοφάρμακο. Όταν απελευθερώνεται στο χώμα το πιο πιθανό είναι ότι θα καταλήξει στο υπόγειο νερό. Επίσης ένα μικρό ποσοστό μπορεί να εξαχνωθεί. Το chlordane που εκλύεται στην ατμόσφαιρα, μπορεί να μεταφερθεί μέσω της βροχής στα υπόγεια ύδατα. Το chlordane βιοσυσσωρεύεται σε μεγάλο βαθμό στους οργανικούς ιστούς των υδρόβιων οργανισμών. Το chlordane, αποτελεί μολυσματικό παράγοντα για το νερό, τον αέρα, το χώμα, τα ψάρια, τα τρόφιμα και τον άνθρωπο. Ο άνθρωπος εκτίθεται στην ουσία αυτή κυρίως μέσω των τροφίμων που καταναλώνει. [14, 15]

2. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

2. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Η εκτέλεση των πειραμάτων έγινε στο εργαστήριο υδατικής χημείας του τμήματος Μηχανικών Περιβάλλοντος του Πολυτεχνείου Κρήτης. Όλες οι αναλύσεις έγιναν δύο φορές για να ελεγχθεί η επαναληψιμότητα των μετρήσεων. Παρακάτω αναφέρονται αναλυτικά οι χημικές ουσίες και τα εργαστηριακά όργανα που χρησιμοποιήθηκαν στην εκτέλεση των πειραμάτων.

2.1 ΧΗΜΙΚΕΣ ΟΥΣΙΕΣ ΚΑΙ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΤΩΝ ΔΙΑΛΥΜΑΤΩΝ

Όλοι οι οργανικοί διαλύτες που χρησιμοποιήθηκαν για την παρασκευή διαλυμάτων ή για τον καθαρισμό των γυάλινων σκευών καθώς και η 1-οκτανόλη ήταν της εταιρίας Merk (Darmstadt, Germany). Το απιονισμένο νερό που χρησιμοποιήθηκε στην προετοιμασία του δείγματος προήλθε από το σύστημα καθαρισμού νερού (EASypure RF) που είναι εφοδιασμένο με Barnstead/Thermolyne (Dubuque, USA). Η σύριγγα (εικόνα 3) ήταν 10 μ l Hamilton Gastight syringe (Hamilton, Bonaduz, Switzerland), μοντέλο 701SNR, με τα εξής χαρακτηριστικά βελόνας: 5.1 cm μήκος, 0.071 cm εξωτερική διάμετρο και 0.015 cm εσωτερική διάμετρο.



Εικόνα 3 : Η σύριγγα που χρησιμοποιήθηκε στην πειραματική διαδικασία ήταν μία Hamilton των 10 μ l.

Για την παρασκευή των stock διαλυμάτων χρησιμοποιήθηκαν οι ουσίες: α -BHC, της εταιρίας Supelco (Bellefonte, USA), Alachlor, gamma chlordane και endosulfane I της εταιρίας Reidel-de Haen (Sigma - Aldrich) (>98% καθαρότητας) σε στερεά μορφή. Αρχικά παρασκευάστηκαν 4 διαφορετικά διαλύματα συγκέντρωσης 500mg/l το καθένα. Μετά από έλεγχο της σταθερότητας των τριών οργανοχλωριωμένων ενώσεων σε διάφορους διαλύτες, επιλέχθηκε η μεθανόλη. Τα τέσσερα stock διαλύματα αποθηκεύονται τυλιγμένα με φύλλα αλουμινίου (απουσία φωτός) στους -5°C.

2.2 ΤΑ ΑΝΑΛΥΤΙΚΑ ΟΡΓΑΝΑ

Η ανάλυση των οργανοχλωριωμένων ενώσεων, έγινε στον αέριο χρωματογράφο Shimadzu GC-17A version 3 (εικόνα 4) που είναι συζευγμένος με ανιχνευτή σύλληψης ηλεκτρονίων (electron capture detector ^{63}Ni). Ο διαχωρισμός επιτυγχάνεται με τη χρήση μιας τριχοειδούς κολώνας 30 m $\times$ 0.25 mm $\times$ 0.25 μm SPB-1701 (14%-(Cyanopropyl-phenyl)-methylpolysiloxane), της Supelco.



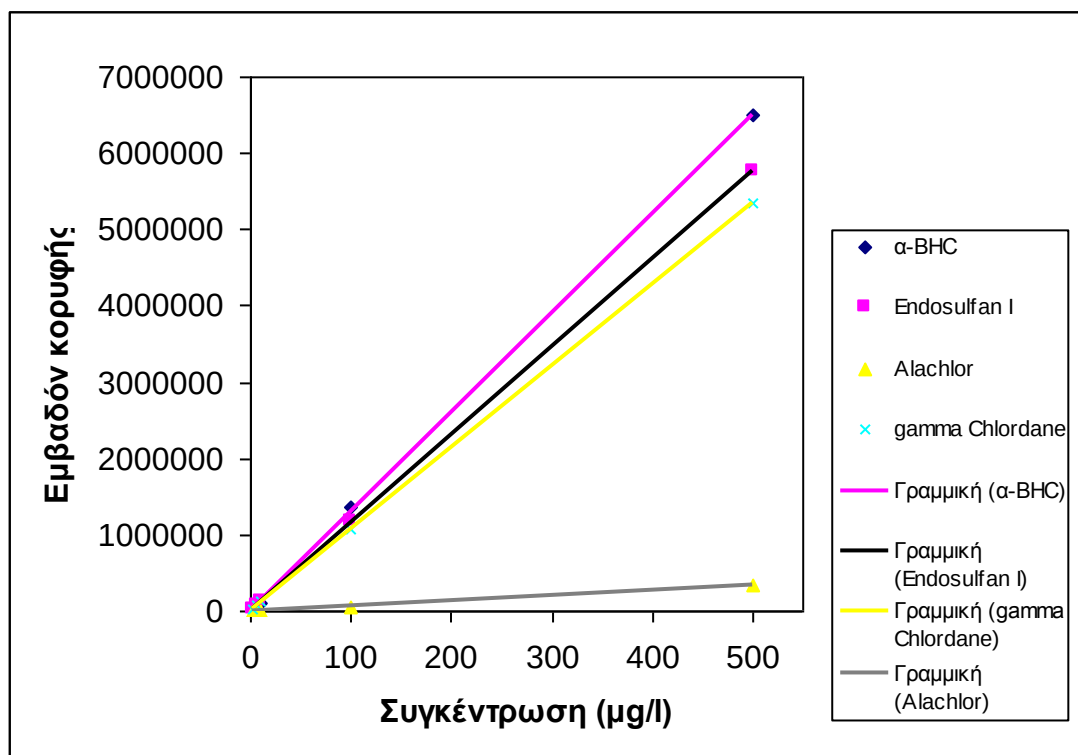
Εικόνα 4 : Το GC-ECD

Το θερμοκρασιακό πρόγραμμα που ακολουθήθηκε ήταν το εξής: Έναρξη από τους 120°C όπου παρέμεινε για 2min, αύξηση της θερμοκρασίας με ρυθμό 10° C/min ως τους 290° C και σταθεροποίηση για 10min. Η θερμοκρασία του εισαγωγέα δείγματος και του ανιχνευτή ήταν 300° C και 100° C αντίστοιχα. Το φέρων αέριο ήταν ECD-grade ήλιο που η ροή του διατηρήθηκε σταθερή και ίση με 1,2ml/min.

2.3 Η ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΣΗ ΤΟΥ ΑΕΡΙΟΥ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΟΥ

Το πειραματικό μέρος ξεκινάει με τη βαθμονόμηση του αέριου χρωματογράφου. Ως γνωστόν ο αέριος χρωματογράφος παρουσιάζει γραμμικότητα για το μεγαλύτερο μέρος των οργανικών ενώσεων. Για τη δημιουργία της καμπύλης βαθμονόμησης έγινε απευθείας ένεση της κάθε ουσίας ξεχωριστά στο GC σε πέντε διαφορετικές συγκεντρώσεις (1 µg/l, 5 µg/l, 10 µg/l, 100 µg/l, 500 µg/l). Ο διαλύτης ήταν η μεθανόλη και η ένεση στο GC ήταν όγκου 2 µl. Η γραμμικότητα της απόκρισης του αέριου χρωματογράφου επαληθεύτηκε και στο σχήμα 1, όπου παρουσιάζονται οι καμπύλες βαθμονόμησης των τριών ουσιών και στον πίνακα 9 φαίνονται οι συναρτήσεις τάσης των καμπύλων βαθμονόμησης. Στο σχήμα 2 γίνεται η βαθμονόμηση του GC-ECD ως προς τη μάζα της οργανικής ένωσης στη φάση της οκτανόλης.

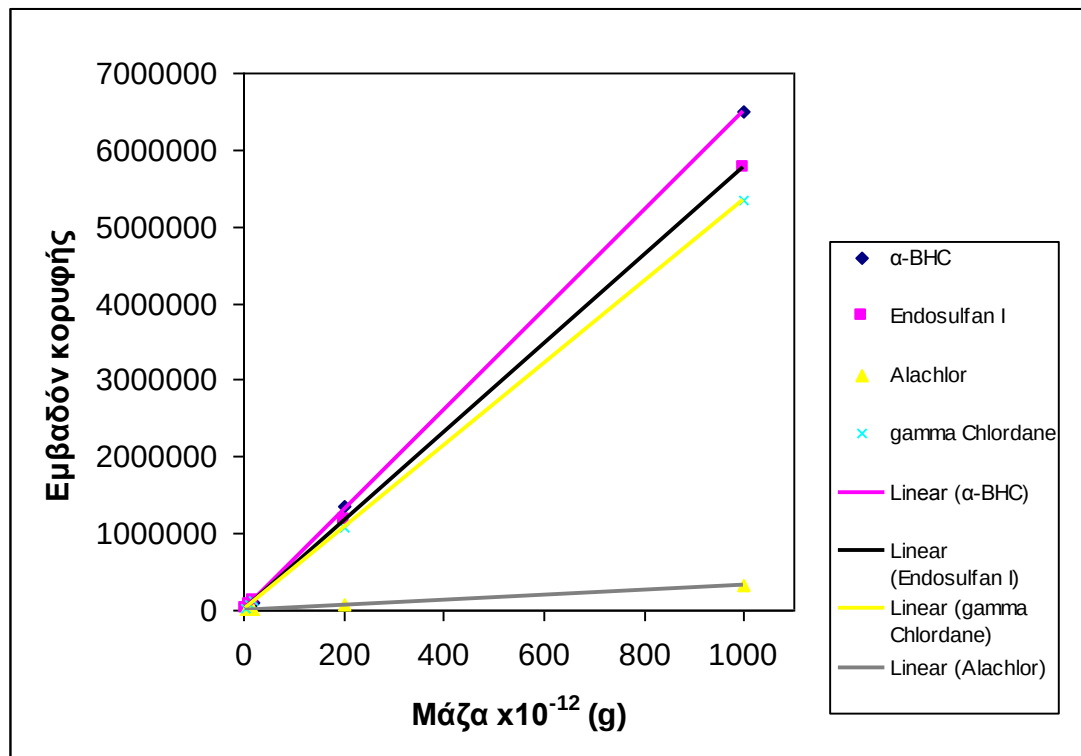
Σχήμα 1 : Παρουσιάζονται οι καμπύλες βαθμονόμησης των τεσσάρων χημικών ουσιών.



Πίνακας 9: Παρουσιάζονται οι συναρτήσεις τάσης και οι συντελεστές γραμμικής συσχέτισης των τεσσάρων χημικών ουσιών.

Ένωση	Συνάρτηση τάσης	R ²
α-BHC	$y = 12983x + 8616$	0,99
Endosulfan I	$y = 11499x + 19016$	0,99
Alachlor	$y = 666x - 1813$	0,99
Gamma Chlordane	$y = 10644x + 14329$	0,99

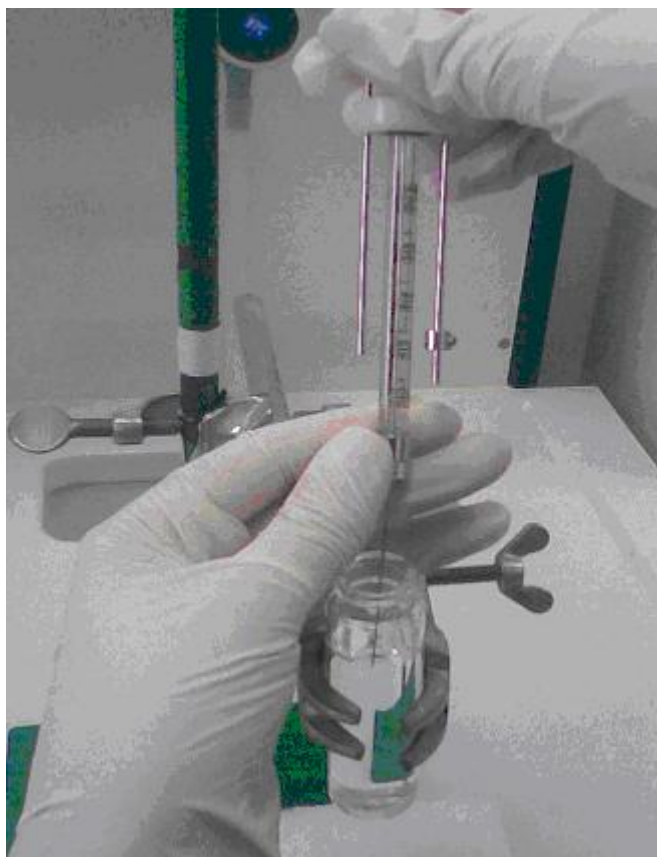
Σχήμα 2: Γίνεται η βαθμονόμηση του GC-ECD ως προς τη μάζα της οργανικής ένωσης στη φάση της οκτανόλης.



Δεδομένου ότι για την παρούσα εργασία, η απόκριση του οργάνου ως προς το ποσό μάζας που εισάγεται κάθε φορά είναι πρωτίστης σημασίας, σχεδιάζεται η καμπύλη βαθμονόμησης ως προς τη μάζα της οργανικής ένωσης που μεταφέρεται στη φάση της οκτανόλης. Το βήμα αυτό είναι πολύ σημαντικό για τον υπολογισμό του συντελεστή οκτανόλης νερού που γίνεται παρακάτω.

2.4 Η ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΤΟΥ K_{ow}

Η μέθοδος που ακολουθεί ονομάζεται μέθοδος ελεύθερης σταγόνας (Free Drop Micro-Extraction). Για τη μέτρηση του συντελεστή οκτανόλης-νερού χρησιμοποιήθηκε υδατικό διάλυμα των οργανοχλωριωμένων ενώσεων σε κατάλληλη συγκέντρωση και κορεσμένη με νερό οκτανόλη. Ειδικότερα, σε φιαλίδιο των 22 ml (Supelco, Bellefonte, USA), τοποθετούνται 20ml υδατικού διαλύματος και 50 μ l οκτανόλης. Το διάλυμα αναδεύεται στον ηλεκτρικό αναδευτή (vortex της εταιρίας Heidolph) για 2 min σε ταχύτητα 3500 rpm. Ακολουθεί φυγοκέντρωση του διαλύματος για 2 min σε ταχύτητα 3500 rpm (η φυγόκεντρος είναι της εταιρίας Heraeus). Στη συνέχεια με τη σύριγγα των 10 μ l και με πολύ προσοχή, τραβάμε 2 μ l από την οκτανόλη (όπως φαίνεται στην εικόνα 5) και την εισάγουμε στο GC.

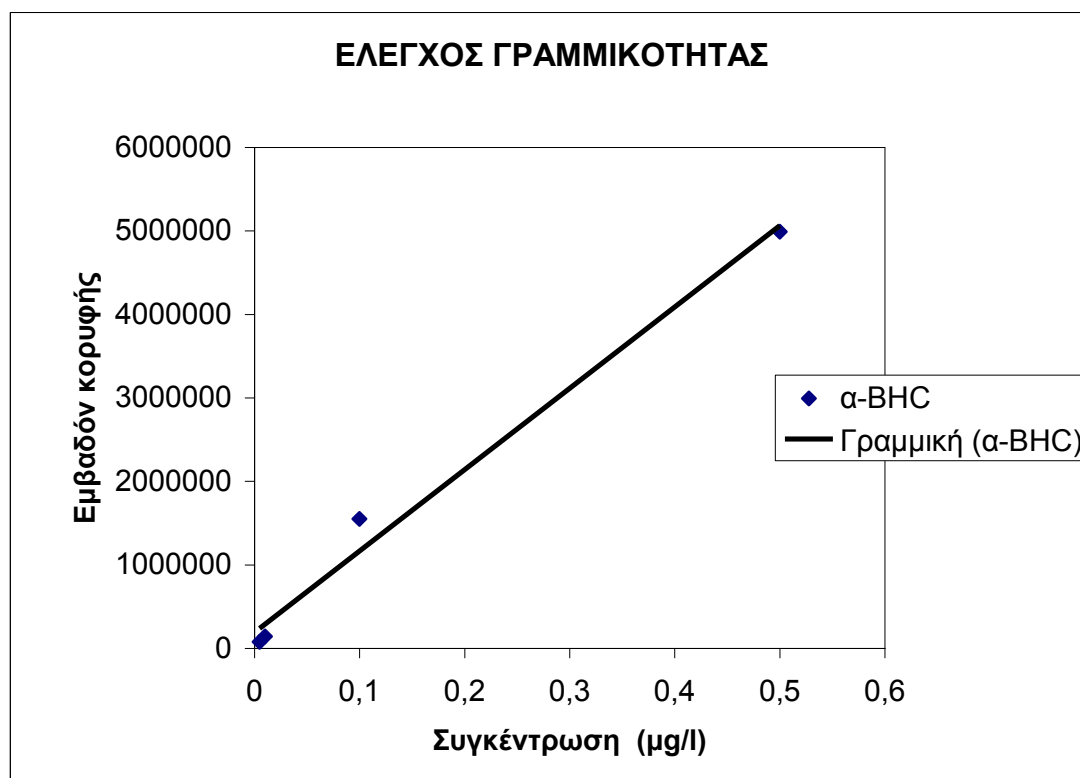


Εικόνα 5 : Εδώ παρουσιάζεται η διαδικασία κατά την οποία με τη σύριγγα των 10 μ l και με πολύ προσοχή, τραβάμε 2 μ l από τη σταγόνα οκτανόλης.

2.5 ΕΛΕΓΧΟΣ ΓΡΑΜΜΙΚΟΤΗΤΑΣ ΥΔΑΤΙΚΩΝ ΔΙΑΛΥΜΑΤΩΝ

Αρχικά έγινε έλεγχος της γραμμικότητας του αέριου χρωματογράφου με απ' ευθείας ένεση των μεθανολικών διαλυμάτων των ενώσεων. Μετά τη βαθμονόμηση, σειρά είχε ο έλεγχος της γραμμικότητας του οργάνου για μικρές συγκεντρώσεις υδατικού διαλύματος. Οι συγκεντρώσεις που ελέγχθηκαν είναι: 0,005 μg/l, 0,01 μg/l, 0,1 μg/l και 0,5 μg/l. Στο σχήμα 3 παρουσιάζεται η καμπύλη τάσης του α- BHC και στον πίνακα 10 φαίνεται η συνάρτηση τάσης της καμπύλης. Οι αναλύσεις των δειγμάτων έγιναν με τη μέθοδο που προαναφέρθηκε (FDME).

Σχήμα 3: Γίνεται έλεγχος της γραμμικότητας των υδατικών διαλυμάτων εφαρμόζοντας τη μέθοδο FDME.



Πίνακας 10: Παρουσιάζονται οι χρόνοι παραμονής, οι συναρτήσεις τάσης και οι συντελεστές γραμμικής συσχέτισης των τριών χημικών ουσιών.

	Χρόνος Έκχυσης (min)	Συνάρτηση τάσης	R ²
α-BHC	0,6	y= 9538415x + 197934	0,98

3.ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

3.1 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΗ ΟΚΤΑΝΟΛΗΣ-ΝΕΡΟΥ

Όπως είναι γνωστό, συντελεστής οκτανόλης-νερού (K_{ow}) ορίζεται ως το γινόμενο της συγκέντρωσης του συστατικού στη φάση της οκτανόλης προς τη συγκέντρωσή του στην υδατική φάση. Για τον υπολογισμό του K_{ow} έγινε μια σειρά πειραμάτων στα οποία ακολουθήθηκε η παρακάτω διαδικασία. Αρχικά δημιουργήθηκαν υδατικά διαλύματα συγκέντρωσης 0,1 $\mu\text{g/l}$ για όλες τις ενώσεις (α -BHC, endosulfan I, alachlor, chlordane). Έπειτα ακολουθήθηκε η διαδικασία της μεθόδου, δηλαδή 20 ml υδατικού διαλύματος, 50 μl οκτανόλης, 2 λεπτά ανάδευση στο vortex, 2 λεπτά φυγοκέντρηση και 2 μl ένεση στο GC. Τα αποτελέσματα των πειραμάτων, καθώς και οι βιβλιογραφικές τιμές των συντελεστών οκτανόλης -νερού, παρουσιάζονται στον πίνακα 13. Αναλυτικά ο υπολογισμός του συντελεστή οκτανόλης - νερού παρουσιάζεται παρακάτω.

Για τον υπολογισμό του συντελεστή οκτανόλης νερού, πρέπει να γίνουν οι καμπύλες βαθμονόμησης όλων των ενώσεων. Στη συνέχεια εφαρμόζεται η μέθοδος για υδατικά διαλύματα όλων των οργανοχλωριωμένων ενώσεων, συγκέντρωσης 0,1 $\mu\text{g/l}$. Από τις συναρτήσεις τάσης των καμπύλων βαθμονόμησης και τα εμβαδά των κορυφών που προκύπτουν, μπορεί άμεσα να υπολογιστεί η συγκέντρωση της οργανικής φάσης (πίνακας 11).

Πίνακας 11: Υπολογισμός της συγκέντρωσης της οργανικής φάσης.

	Εμβαδόν κορυφής	Συγκέντρωση $\mu\text{g/l}$	slope	intercept
α-BHC	1549469	118,68	12983,4	8616,83
endosulfan I	1258621	107,79	11499,9	19015,79
alachlor	88318	135,27	666,3	-1813,33
chlordane	723041	66,58	10644,3	14328,79

Όμως είναι γνωστό ότι:

$$K_{ow} = \frac{\text{συγκέντρωση του συστατικού στη φάση της οκτανόλης}}{\text{συγκέντρωση του συστατικού στην υδατική φάση}}$$

Αυτό που απομένει για τον υπολογισμό του K_{ow} είναι ο υπολογισμός της συγκέντρωσης της υδατικής φάσης. Ο υπολογισμός της συγκέντρωσης της υδατικής φάσης γίνεται έμμεσα, αφού δε γίνεται ένεση της υδατικής φάσης στον αέριο χρωματογράφο.

$$C_{aq} = \frac{m_{aq}}{V_{aq}} = \frac{m_{in} - m_{oct}}{V_{aq}} = C_{in} - \frac{m_{oct}}{V_{aq}}$$

Όπου:

C_{aq} = η συγκέντρωση της οργανοχλωριωμένης ένωσης στην υδατική φάση (μετά την αποκατάσταση της ισορροπίας)

m_{aq} = η μάζα της οργανοχλωριωμένης ένωσης στην υδατική φάση (μετά την αποκατάσταση της ισορροπίας)

V_{aq} = ο όγκος της υδατικής φάσης (20ml)

m_{in} = η μάζα της οργανοχλωριωμένης ένωσης στην υδατική φάση (πριν την αποκατάσταση της ισορροπίας)

C_{in} = η συγκέντρωση της οργανοχλωριωμένης ένωσης στην υδατική φάση (πριν την αποκατάσταση της ισορροπίας), (0,1μg/l)

m_{oct} = η μάζα της οργανοχλωριωμένης ένωσης στην οργανική φάση (μετά την αποκατάσταση της ισορροπίας)

Η μάζα της οργανοχλωριωμένης ένωσης στην οργανική φάση (μετά την αποκατάσταση της ισορροπίας) υπολογίζεται εύκολα, από τη συγκέντρωση της οργανικής φάσης και για όγκο 2μl. Έτσι ολοκληρώνεται ο υπολογισμός του συντελεστή οκτανόλης νερού και καλήγουμε στον πίνακα 12.

Πίνακας 12: Υπολογισμός του K_{ow} και $\text{Log } K_{ow}$

	K_{ow}	$\text{Log } K_{ow}$
a-BHC	1346,60	3,13
endosulfan I	1208,16	3,07
alachlor	1564,25	3,19
chlordan	713,31	2,85

Πίνακας 13: Σύγκριση των πειραματικών και των βιβλιογραφικών τιμών των συντελεστών οκτανόλης -νερού

Ένωση	Πειραματικό $\text{Log } K_{ow}$	Βιβλιογραφικό $\text{Log } K_{ow}$	Μέθοδος
a-BHC	3.13	3.8	RP-HPLC
endosulfan I	3.07	3.7	RP-HPLC
alachlor	3.19	3.1	Shake flask
chlordan	2.85	2.7	Shake flask

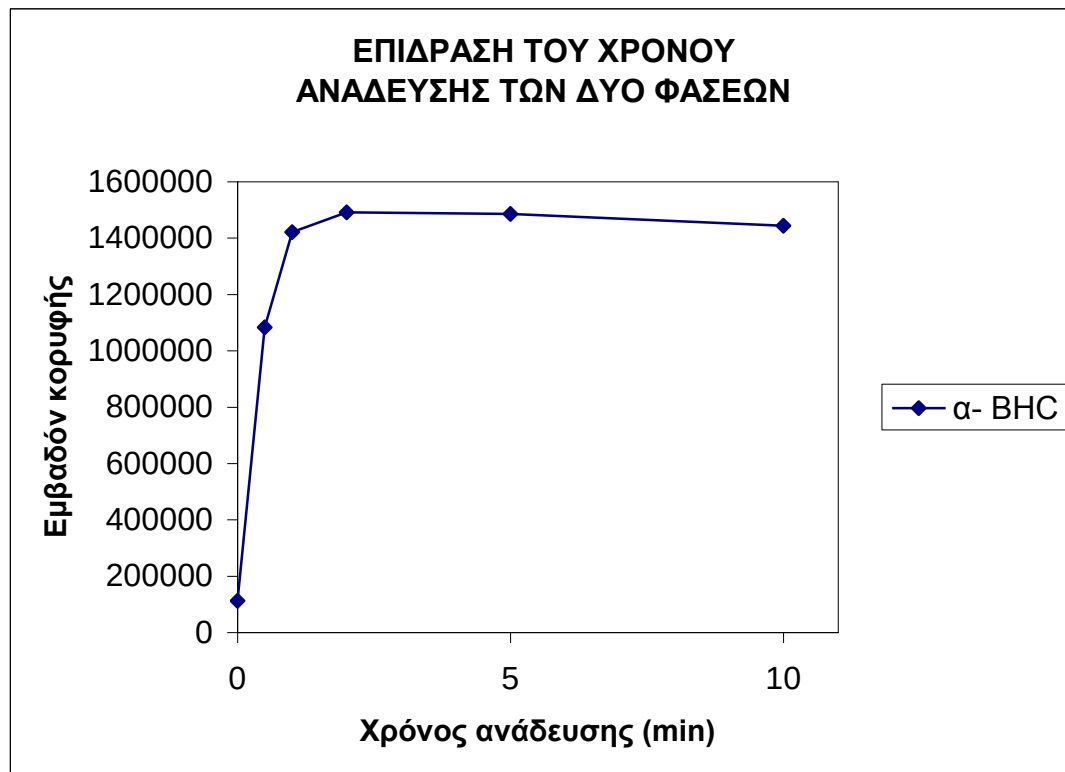
Όσο αφορά τις λιγότερο λιποφιλικές ενώσεις (μικρό K_{ow}) παρατηρούμε ότι η μέθοδος που εφαρμόστηκε παρουσιάζει ικανοποιητικά αποτελέσματα και άρα αποτελεί μία αξιόπιστη μέθοδο για τον υπολογισμό του συντελεστή οκτανόλης νερού. Οι παρεκκλίσεις των πειραματικών τιμών από τις βιβλιογραφικές είναι μέσα στα όρια του πειραματικού σφάλματος.

3.2 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΒΕΛΤΙΣΤΟΠΟΙΗΣΗΣ

Στο κεφάλαιο αυτό, διάφορες πειραματικοί παράμετροι ελέγχονται και βελτιστοποιούνται, προκειμένου να καταλήξουμε στις βέλτιστες πειραματικές συνθήκες προσδιορισμού του συντελεστή οκτανόλης νερού. Η βελτιστοποίηση έχει ως σκοπό να παρατηρηθεί αν ενδεχομένως οι παράμετροι αυτές, επηρεάσουν τις τιμές του K_{ow} . Για το σκοπό αυτό, γίνεται μία σειρά πειραμάτων στα οποία κάθε φορά αλλάζει μία παράμετρος και οι υπόλοιπες μένουν σταθερές.

Αρχικά ελέγχεται ο χρόνος ανάδευσης των δυο φάσεων. Ο χρόνος που χρειάζεται το σύστημα των δύο φάσεων να έρθει σε ισορροπία είναι σημαντικός προκειμένου να υπολογιστεί με ακρίβεια το K_{ow} . Το πόσο μεγάλος ή μικρός θα είναι ο χρόνος υπολογισμού του συντελεστή οκτανόλης νερού, εξαρτάται άμεσα από το χρόνο που χρειάζεται το σύστημα των δύο φάσεων να φτάσει σε ισορροπία. Όλη η εργασία έγινε με την προϋπόθεση ότι το σύστημα των δύο φάσεων βρίσκεται σε ισορροπία. Οι συνθήκες του πειράματος που παραμένουν σταθερές είναι οι εξής: 20 ml υδατικού διαλύματος, 50 ml οκτανόλης, ανάδευση σε ταχύτητα 3500 rpm φυγοκέντρωση για 2 min σε ταχύτητα 3500 rpm, 2 ml ένεση στο GC. Με γνώμονα ότι πρέπει να επέλθει ισορροπία μεταξύ των δύο φάσεων, αξίζει να παρατηρηθεί στο σχήμα 4 η απόκριση του οργάνου σε συνάρτηση με το χρόνο ανάμειξης των δυο φάσεων.

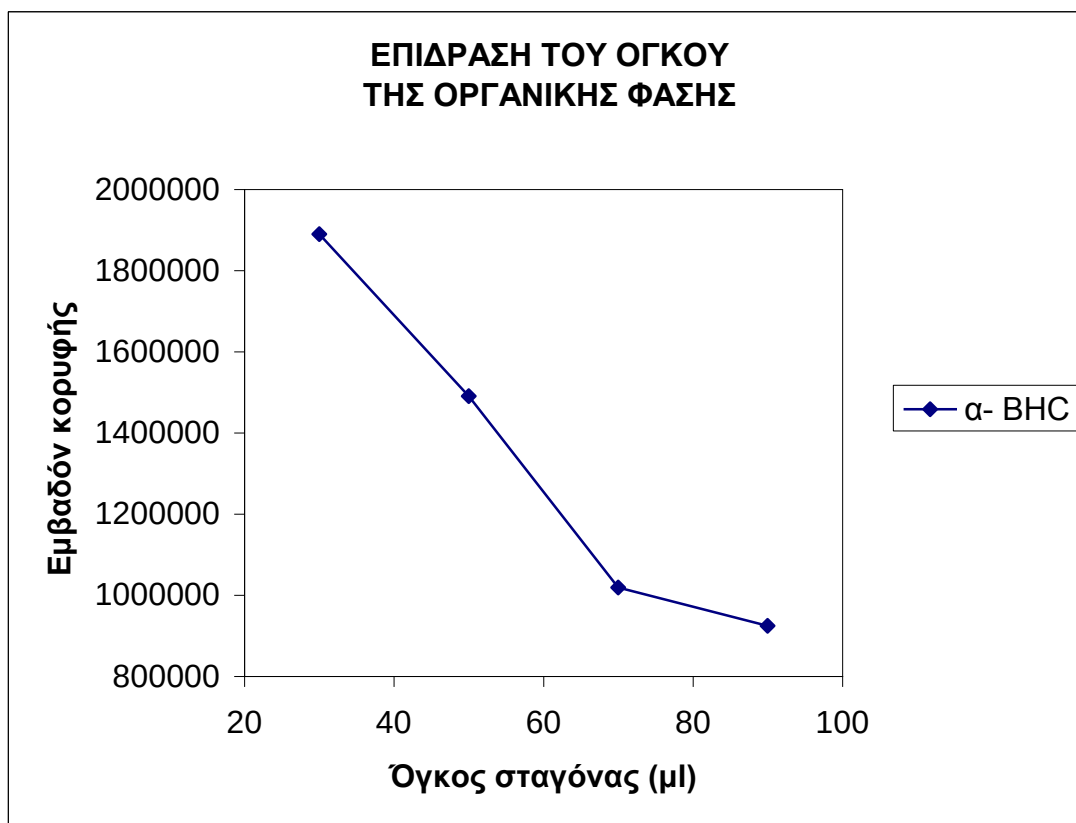
Σχήμα 4: Παρουσιάζεται η απόκριση του οργάνου σε συνάρτηση με το χρόνο ανάμειξης των δυο φάσεων.



Από το παραπάνω σχήμα συμπεραίνουμε ότι μετά το δεύτερο λεπτό ανάδευσης των δύο φάσεων επέρχεται ισορροπία στο σύστημα. Το διάγραμμα αυτό είναι πολύ σημαντικό γιατί μας δείχνει ότι με τη χρήση του vortex το σύστημα έρχεται γρήγορα σε ισορροπία (απαιτούνται μόνο δύο λεπτά) και με τον τρόπο αυτό διευκολύνεται και επιταχύνεται πάρα πολύ η μέτρηση του K_{ow} .

Το δεύτερο βήμα για την βελτιστοποίηση του προσδιορισμού του K_{ow} είναι ο έλεγχος της επίδρασης του όγκου της οργανικής φάσης. Για παράδειγμα ο όγκος του δείγματος, και ο χρόνος που το διάλυμα ανακινείται στο vortex παραμένουν σταθερά, ενώ ο όγκος της σταγόνας αλλάζει. Συγκεκριμένα, δοκιμάζονται διάφορες τιμές του όγκου της σταγόνας (30μl, 50μl, 70μl, 90μl) και στο σχήμα 5 παρατηρείται η απόκριση του οργάνου συναρτήσει του όγκου της σταγόνας. Οι συνθήκες του πειράματος που παραμένουν σταθερές είναι οι εξής: 20ml υδατικού διαλύματος, ανάδευση 2 min σε ταχύτητα 3500 rpm φυγοκέντρωση για 2 min σε ταχύτητα 3500 rpm, 2 μl ένεση στο GC.

Σχήμα 5: Παρουσιάζεται η απόκριση του GC για τους διαφορετικούς όγκους της οργανικής φάσης (σταγόνα) και για τις τρεις οργανοχλωριωμένες ενώσεις.



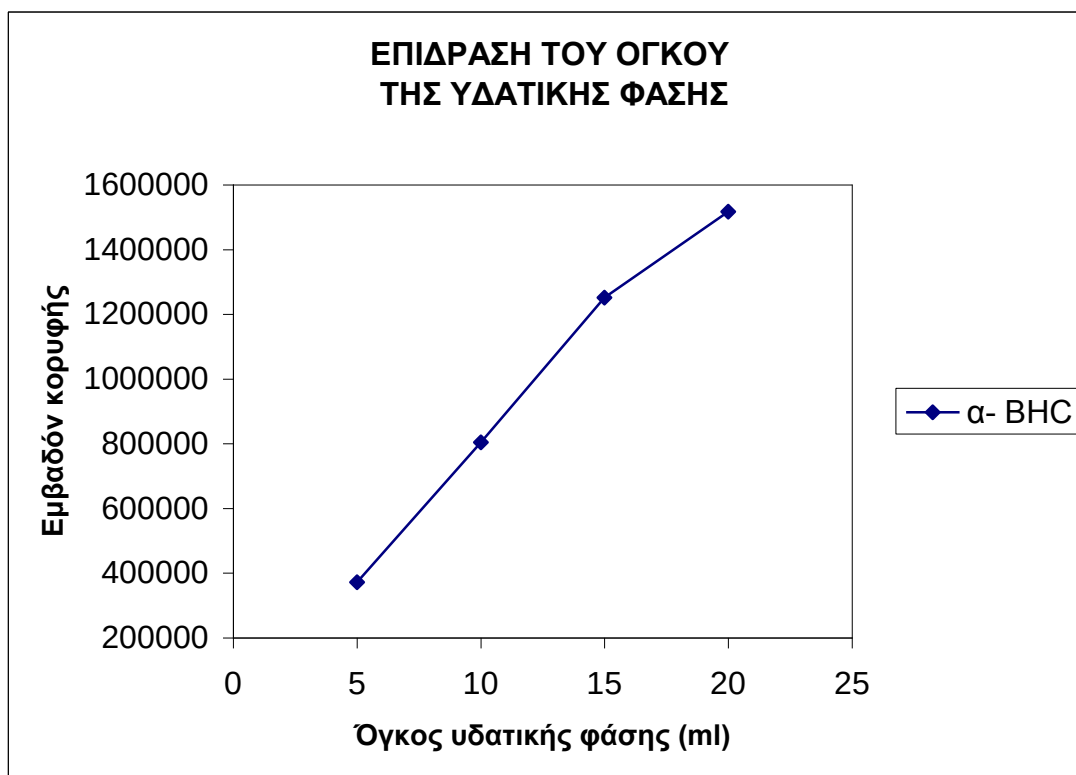
Από το παραπάνω σχήμα συμπεραίνουμε ότι καθώς ο όγκος της οργανικής φάσης αυξάνεται, η απόκριση του οργάνου μειώνεται. Κάτι τέτοιο είναι λογικό αφού η μάζα της χημικής ουσίας που μεταφέρεται από την υδατική στην οργανική φάση είναι σταθερή και κάθε φορά αραιώνεται σε μεγαλύτερη ποσότητα διαλύτη. Παρακάτω, στον πίνακα 14 παρουσιάζονται οι τιμές του συντελεστή οκτανόλης νερού του α -BHC για τους διάφορους όγκους οργανικής φάσης. Η μέτρηση του συντελεστή οκτανόλης νερού έγινε με τη μέθοδο FDME και με τη διαδικασία που περιγράφεται στο προηγούμενο κεφάλαιο. Από τον πίνακα αυτό συμπεραίνουμε ότι ο όγκος της οργανικής φάσης δεν έχει μεγάλη επιρροή στο συντελεστή οκτανόλης νερού. Συγκεκριμένα, καθώς ο όγκος της οργανικής φάσης αυξάνεται, ο $\log K_{ow}$ μειώνεται ελάχιστα.

Πίνακας 14: Τιμές του συντελεστή οκτανόλης νερού του α -BHC για τους διάφορους όγκους οργανικής φάσης.

Όγκος σταγόνας	Log K_{ow}
30μl	3.23
50μl	3.12
70μl	2.98
90μl	2.93
Βιβλιογραφικό K_{ow} : 3,8	

Το τρίτο βήμα για την βελτιστοποίηση είναι η αλλαγή μίας άλλης παραμέτρου, του όγκου της υδατικής φάσης. Οι συνθήκες του πειράματος που παραμένουν σταθερές είναι οι εξής: 50 μl οκτανόλης, ανάδευση 2 min σε ταχύτητα 3500 rpm φυγοκέντρωση για 2 min σε ταχύτητα 3500 rpm, 2 μl ένεση στο GC. Στο σχήμα 6 φαίνεται η απόκριση του οργάνου με την αλλαγή του όγκου της υδατικής φάσης.

Σχήμα 6: Παρουσιάζεται η απόκριση του οργάνου σε συνάρτηση με τον όγκο της υδατικής φάσης.



Από το παραπάνω σχήμα συμπεραίνουμε ότι καθώς ο όγκος της υδατικής φάσης αυξάνεται, η απόκριση του οργάνου αυξάνεται. Κάτι τέτοιο είναι λογικό αφού η μάζα της χημικής ουσίας που μεταφέρεται από την υδατική στην οργανική φάση αυξάνεται (αφού ο όγκος της υδατικής φάσης αυξάνεται) και η οργανική φάση παραμένει σταθερή. Παρακάτω, στον πίνακα 15 παρουσιάζονται οι τιμές του συντελεστή οκτανόλης νερού του α-BHC για τους διάφορους όγκους υδατικής φάσης. Η μέτρηση του συντελεστή οκτανόλης νερού έγινε με τη διαδικασία που περιγράφεται στο προηγούμενο κεφάλαιο. Από τον πίνακα αυτό συμπεραίνουμε ότι ο όγκος της υδατικής φάσης δεν έχει μεγάλη επιρροή στο συντελεστή οκτανόλης νερού. Συγκεκριμένα, καθώς ο όγκος της υδατικής φάσης αυξάνεται, ο $\log K_{ow}$ αυξάνεται.

Πίνακας 15: Τιμές του συντελεστή οκτανόλης νερού του α-BHC για τους διάφορους όγκους υδατικής φάσης.

Όγκος υδατικής φάσης	Log K_{ow}
5ml	2,46
10ml	2,82
15ml	3,03
20ml	3,12
Βιβλιογραφικό K_{ow} : 3,8	

Το τέταρτο βήμα για την βελτιστοποίηση είναι η αλλαγή μίας άλλης παραμέτρου, της συγκέντρωσης της υδατικής φάσης. Οι συνθήκες του πειράματος που παραμένουν σταθερές είναι οι εξής: 50 μl οκτανόλης, 20 ml υδατικής φάσης, ανάδευση 2 min σε ταχύτητα 3500 rpm, φυγοκέντρωση για 2 min σε ταχύτητα 3500 rpm, 2 μl ένεση στο GC. Παρακάτω, στον πίνακα 16 παρουσιάζονται οι τιμές του συντελεστή οκτανόλης νερού του α-BHC για τις διάφορες συγκεντρώσεις της υδατικής φάσης. Από τον πίνακα αυτό συμπεραίνουμε ότι η συγκέντρωση της υδατικής φάσης δεν επηρεάζει το log K_{ow} . Για τα πειράματα που ακολουθούν επιλέχθηκε η συγκέντρωση 0,1 μg/l για το υδατικό διάλυμα.

Πίνακας 16: Τιμές του συντελεστή οκτανόλης νερού του α-BHC για τις διάφορες συγκεντρώσεις της υδατικής φάσης.

Συγκέντρωση (μg/l)	Log K_{ow}
0.005	3.07
0.01	3.05
0.1	3,12
0.5	3,02
Βιβλιογραφικό Log K_{ow} : 3.8	

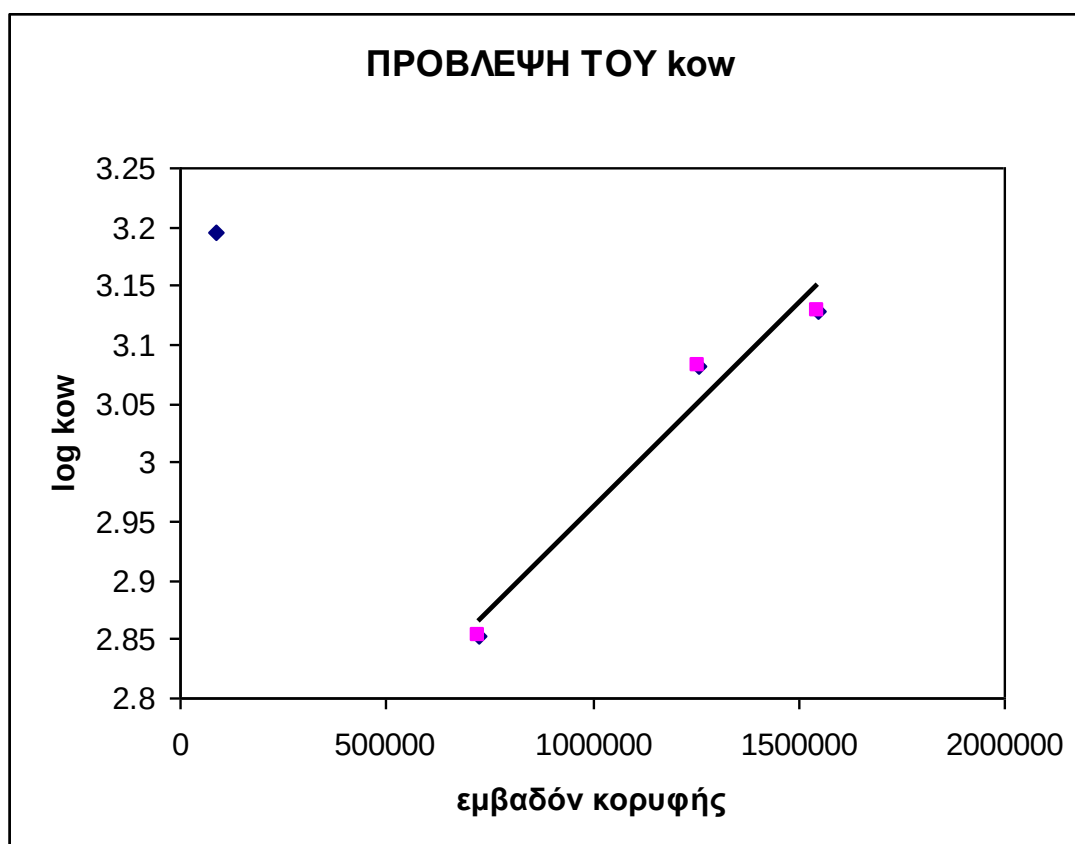
3.3 ΠΡΟΒΛΕΨΗ ΤΟΥ ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΗ ΟΚΤΑΝΟΛΗΣ –ΝΕΡΟΥ

Από τα πειραματικά αποτελέσματα που ήδη υπάρχουν είναι πλέον εύκολο να διατυπωθεί ένα μοντέλο πρόβλεψης του συντελεστή οκτανόλης νερού. Το μοντέλο που παρουσιάζεται παρακάτω, μπορεί να υπολογίσει την τιμή του συντελεστή οκτανόλης -νερού όταν είναι γνωστό το εμβαδόν κορυφής της κάθε οργανοχλωριωμένης ένωσης. Το συγκεκριμένο μοντέλο υπολογίζει τιμές του συντελεστή οκτανόλης νερού από 2.8 έως 3.2, αλλά θεωρητικά έχει μεγαλύτερο φάσμα εφαρμογής (από πολύ μικρά K_{ow} ως 3.5). Στο σχήμα 7 που ακολουθεί, παρουσιάζεται η γραμμή τάσης του μοντέλου και στον πίνακα 18 η συνάρτηση τάσης από την οποία υπολογίζεται ο συντελεστής οκτανόλης νερού, δεδομένου του εμβαδού κορυφής. Στον πίνακα 17 παρουσιάζονται οι τιμές των εμβαδών κορυφής και των συντελεστών οκτανόλης νερού των διαφόρων οργανοχλωριωμένων ενώσεων.

Πίνακας 17: Παρουσιάζονται οι τιμές των εμβαδών κορυφής και των συντελεστών οκτανόλης νερού των διαφόρων οργανοχλωριωμένων ενώσεων.

Ένωση	Εμβαδόν κορυφής	Log K_{ow}
a-BHC	1516808	3.12
endosulfan I	1258621	3.08
alachlor	88318	3.19
chlordan	723041	2.85

Σχήμα 7: Παρουσιάζεται η γραμμή τάσης του μοντέλου πρόβλεψης του συντελεστή οκτανόλης νερού.



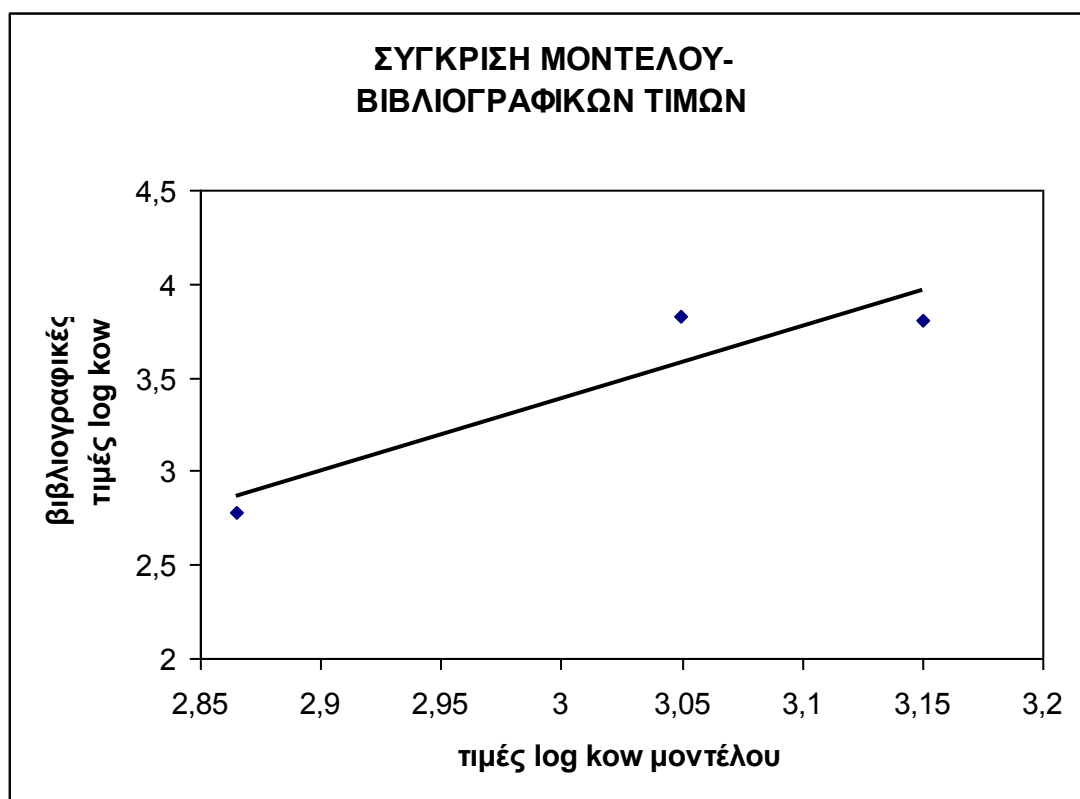
Πίνακας 18: Παρουσιάζεται η συνάρτηση τάσης του μοντέλου πρόβλεψης του συντελεστή οκτανόλης νερού.

Συνάρτηση	$y=3,455E-7 x + 2,615$
y=	Συντελεστής οκτανόλης νερού
x=	Εμβαδόν κορυφής

Πρέπει να σημειωθεί ότι το εμβαδόν κορυφής αντιστοιχεί σε ένεση 2 μl της οργανικής φάσης ενός διαφασικού συστήματος, όπου η προετοιμασία του δείγματος έχει γίνει σύμφωνα με την πειραματική διαδικασία που έχει περιγραφεί στην παρούσα εργασία. Επίσης από το σχήμα 8 φαίνεται ότι η τιμή του alachlor δεν έχει συμπεριληφθεί στη διατύπωση του μοντέλου. Ο λόγος είναι φανερός γιατί το alachlor εμφανίζει μεγάλη τιμή K_{ow} για μικρό εμβαδόν κορυφής, και η τιμή αυτή απέχει σημαντικά από τις υπόλοιπες. Επίσης αν εξεταστεί καλύτερα η μοριακή δομή του

alachlor παρατηρείται ότι όλες οι ενώσεις είναι πολυχλωριωμένες εκτός από το alachlor που είναι μονοχλωριωμένη ένωση.

Σχήμα 8: Παρουσιάζεται η γραμμή τάσης για τη σύγκριση του μοντέλου πρόβλεψης και των βιβλιογραφικών τιμών του συντελεστή οκτανόλης νερού.



Από το παραπάνω σχήμα είναι ξεκάθαρο ότι το μοντέλο προσεγγίζει ικανοποιητικά τις βιβλιογραφικές τιμές του συντελεστή οκτανόλης νερού. Το συγκεκριμένο μοντέλο θεωρείται αξιόπιστο για τον υπολογισμό του συντελεστή οκτανόλης νερού, οργανικών ενώσεων, που είναι λιγότερο λιποφιλικά. Το φάσμα εφαρμογής του μοντέλου είναι από 2 έως 3,5 βαθμοί log K_{ow}.

4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η παρούσα διπλωματική εργασία έχει ως στόχο την ανάπτυξη μίας αναλυτικής μεθόδου, που συνδυάζει αέρια χρωματογραφία με μικροεκχύλιση ελεύθερης σταγόνας, για τον γρήγορο προσδιορισμό του συντελεστή οκτανόλης νερού ορισμένων οργανοχλωριωμένων ενώσεων.

Ο προσδιορισμός του συντελεστή οκτανόλης νερού έγινε με τη μέθοδο της μικροεκχύλισης ελεύθερης σταγόνας. Η μέθοδος αποδείχτηκε πολύ χρήσιμη στον προσδιορισμό του K_{ow} , αφού έχει χαμηλά όρια ανίχνευσης, χρησιμοποιεί μικρές ποσότητες χημικών ουσιών και διαλυτών, είναι οικονομική (όσο αφορά τον εξοπλισμό που απαιτείται), αλλά το σημαντικότερο είναι ότι απαιτεί ελάχιστο χρόνο προετοιμασίας του δείγματος. Ο συνολικός χρόνος προσδιορισμού του K_{ow} με την παρούσα μέθοδο είναι τα 25 λεπτά και αποτελεί ένα σπουδαίο επίτευγμα σε σύγκριση με τα δεδομένα που υπάρχουν.

Στην προσπάθεια να βελτιστοποιηθεί ο προσδιορισμός του συντελεστή οκτανόλης νερού, μελετήθηκαν διάφορες παράμετροι όπως ο όγκος της υδατικής φάσης, ο όγκος της οργανικής φάσης και ο χρόνος ανάδευσης των δύο φάσεων. Όσο αφορά τον όγκο της υδατικής φάσης, συμπεραίνουμε ότι καθώς αυτός αυξάνεται τότε και η απόκριση του οργάνου αυξάνεται. Το αντίθετο συμβαίνει με τον όγκο της οργανικής φάσης, ο οποίος καθώς αυξάνεται, η απόκριση του οργάνου μειώνεται. Τέλος η μελέτη του χρόνου ανάδευσης είναι πολύ σημαντική γιατί μας δείχνει ότι με τη χρήση του ηλεκτρικού αναδευτή το σύστημα έρχεται γρήγορα σε ισορροπία (απαιτούνται μόνο δύο λεπτά έντονης ανάδευσης) και με τον τρόπο αυτό επιτυγχάνεται πάρα πολύ γρήγορη μέτρηση του K_{ow} .

Όσο αφορά τον υπολογισμό του συντελεστή οκτανόλης νερού, η μέθοδος FDME εφαρμόστηκε και στις τέσσερις προς εξέταση ουσίες (a-BHC, endosulfan I, chlordane, alachlor) και τα αποτελέσματα που προέκυψαν είναι ικανοποιητικά. Από βιβλιογραφικές πηγές το K_{ow} των a-BHC, alachlor, endosulfan I και chlordane είναι ίσο με 3,8, 2,7, 3,7 και 3,1 αντίστοιχα. Μετά την εφαρμογή της μεθόδου FDME στις τέσσερις αυτές οργανοχλωριωμένες ενώσεις, το K_{ow} υπολογίστηκε 3,12 για το a-BHC, 3,07 για το endosulfan I, 3,19 για το alachlor και 2,85 για το chlordane. Από τα παραπάνω συμπεράσματα είναι φανερό ότι η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε στην

παρούσα εργασία για τον προσδιορισμό του K_{ow} , θεωρείται αξιόπιστη για μικρούς συντελεστές οκτανόλης νερού. Τέλος, δημιουργήθηκε ένα μοντέλο πρόβλεψης του K_{ow} το οποίο θεωρείται αξιόπιστο για τον υπολογισμό του συντελεστή οκτανόλης νερού, οργανικών ενώσεων, που είναι λιγότερο λιποφιλικά. Το φάσμα εφαρμογής του μοντέλου είναι από 2 έως 3,5 βαθμοί $\log K_{ow}$.

Συγκεντρωτικά η παρούσα μέθοδος παρουσιάζει τα εξής πλεονεκτήματα: γραμμικότητα, χαμηλά όρια ανίχνευσης, καλή επαναληψιμότητα, είναι οικονομική, γρήγορη και πάνω απ' όλα αξιόπιστη όσο αφορά τον υπολογισμό του συντελεστή οκτανόλης νερού.

ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ ΓΙΑ ΠΕΡΑΙΤΕΡΩ ΕΡΕΥΝΑ

Με την ολοκλήρωση της παρούσας διπλωματικής εργασίας, είμαι πεπεισμένη ότι ο στόχος επιτεύχθηκε. Επιπλέον, αξίζει να μελετηθεί κατά πόσο η μέθοδος FDME μπορεί να εφαρμοστεί για μεγάλους συντελεστές οκτανόλης νερού ($\log K_{ow} > 4$), δηλαδή για πολύ λιποφιλικές ενώσεις. Επίσης με την ανάπτυξη της παρούσας μεθόδου μικροεκχύλισης δημιουργούνται οι προϋποθέσεις για ευκολότερη και γρηγορότερη ανάλυση των περιβαλλοντικών δειγμάτων, κάτι που βεβαίως θα βοηθήσει την περαιτέρω έρευνα στον τομέα του περιβάλλοντος.

5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. A.Pasche, P.Neitzel, W.Walther, G.Schurmann, 'Octanol-water partition coefficient of selected herbicides: determination using shake flask method and reversed phase high performance liquid chromatography', J.Chem.Eng. Data, 49,1639-1642, 2004
2. T.M. Xie, B.Hulthe, S.Folestad, Determination of partition coefficients of chlorinated phenols, guaiacols and catechols by shake flask GC and HPLC, Chemosphere, vol. 13, No 3, p. 445-459, 1984
3. N. Ratola, L.Santos, P.Herbert, A.Alves, Uncertainty associated to the analysis of organochlorine pesticides in water by solid phase micro-extraction/ gas chromatography- electron capture detection-evaluation using two different approaches, analytica chimica acta 573-574, 202-208, 2006
4. J.L.Raposo Junior, N Re-Poppi, Determination of organochlorine pesticides in ground water samples using solid phase micro-extraction by gas chromatography- electron capture detection, talanta, 2007
5. E.N.Papadakis, Z.Vryzas, E. Papadopoulou-Mourkidou, Rapid method for the Determination of 16 organochlorine pesticides in sesame seeds by microwave-assisted extraction and analysis of extracts by gas chromatography- mass spectrometry, Journal of chromatography A,1127,6-11, 2006
6. A.Noble, Partition Coefficients (n-octanol-water) for pesticides, Journal of Chromatography, 642,3-14, 1993
7. A.Finizio, M.Vighi, D.Sandroni, Determination of n-octanol-water partition coefficient of pesticide critical review and comparison of methods, Chemosphere, vol. 34, No 1, p. 131-161, 1997
8. S.K.Poole, C.F.Poole, Separation methods for estimating octanol- water partition coefficients, Journal of chromatography, 797, 3-19, 2003
9. Henshel D. S. (1999), 'Detailed Disruptor Data: Environmental Endocrine Disruptors. A Handbook of Property Data, by Lawrence H. Keith', Trends in Endocrinology and Metabolism, 10, 201-204.
10. Basheer C., Lee H. K. and Obbard J. P. (2002), 'Determination of organochlorine pesticides in seawater using liquid-phase hollow fibre membrane microextraction and gas chromatography-mass spectrometry', J. Chromatography A, 968, 191-199

11. Tan B.L.L.. and Mohd M. A. (2003) 'Analysis of selected pesticides and alkylphenols in human cord blood by gas chromatograph-mass spectrometer' *Talanta*, 61, 385-391.
12. Vinggaard A. M., Hnida C., Breinholt V. and Larsen J. C. (2000) 'Screening of selected pesticides for inhibition of CYP19 aromatase activity in vitro' *Toxicology in Vitro*, 14, 227-234.
13. A. Paschke, P. Popp, 2003, 'Solid- phase microextraction fibre - water distribution constants of hydrophobic organic compounds and their correlations with octanol-water partition coefficients', *Journal of chromatography*, A, 999, p. 35-42
14. W. J. Lyman, W. F. Reehl, D. H. Rosenblatt, *Handbook of chemical property estimation methods*, American chemical society, Washington, DC 1990
15. R. P. Schwarzenbach, P. M. Imboden, *Environmental organic chemistry*, Wiley interscience publications, p. 124-156.
16. Psillakis E. and Kalogerakis N. (2003), 'Developments in liquid-phase microextraction', *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 22, 565-574.
17. Rasmussen K. E. and Pedersen-Bjergaard S. (2004), 'Developments in hollow fibre-based, liquid-phase microextraction', *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 23, 1-10.
18. Ridgway K, Lalljie S. P.D and Smith R. M. (2007), 'Sample preparation techniques for the determination of trace residues and contaminants in foods', *J. Chromatography A*, 2007.
19. Yu Gao Guo, J. Zhang, Dan Ning Liu, Hua Feng Fu, 'Determination of n-octanol-water partition coefficients by hollow fiber membrane solvent microextraction coupled with HPLC', *Anal. Bioanal. Chem.* 2006
20. Xiang Q. Kong, D. Shea, R. E. Baynes, J. E. Riviere, Xin-Rui Xia, 'Regression method for the hydrophobicity ruler approach for determining octanol/water partition coefficients of very hydrophobic compounds', *Chemosphere* 2006.
21. EPA, product properties, Test guidelines, OPPTS 830.7550 Partition coefficient (n-octanol/water), shake flask method, EPA 712-C-96-038, August 1996
22. A. F. Jalbout, X. Li, 'The octanol- water partition coefficient: the effect of electronic interactions', *Journal of molecular Structure*, *Theochem* 671, 2004, 249-250

23. E. A. Tehrany, F. Fournier, S. Desobry, 'Simple method to calculate octanol - water partition coefficient of organic compounds', *Journal of food engineering* 64, 2004, 315-320
24. J. Dai, L. Jin, L. Wang, Z. Zhang, 'Determination and estimation of water solubilities and octanol/water partition coefficients for derivatives of benzanilides', *Chemosphere*, vol. 37, No 8, 1419-1426, 1998
25. A. Kaune, M. Knorrenschild, A. Kettrup, 'predicting 1-octanol- water partition coefficient by high performance liquid chromatography gradient elution', *Fresenius' journal of analytical chemistry* 352, 1995, 303-312
26. A. Berthod, S. Canda - Broch, 'Determination of liquid- liquid partition coefficients by separation methods', *Journal of chromatography A*, vol 1037, Issues 1-2, 2004, p. 3-14
27. D. Brooke, I. Neilson, J. de Bruijn, J. Hermens, ' an interlaboratory evaluation of the stir flask method for the determination of octanol- water partition coefficients (log Pow)', *Chemosphere*, vol. 21, No 1-2, p119-133, 1990
28. C. D. Simpson, R. J. Wilcock, T. J. Smith, A. L. Wilkins, A. G. Langdon, 'Determination of octanol - water partition coefficients for the major components of technical chlordane', *Bulletin of environmental contamination and toxicology* 55, 1995, p. 149-153
29. K. Chamberlain, A. Evans, R. H. Bromilow, ' 1- octanol/ water partition coefficient and pKa for ionisable pesticides measured by a ph- metric method', *Pesticide Science* 47, 1996, p. 265-271
30. P. Kaushik, G. Kaushik, 'an assessment of structure and toxicity correlation in organochlorine pesticides', *Journal of hazardous materials* 143, 2007, p. 102-111

