

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ

**Προσδιορισμός φθαλικών εστέρων σε δείγματα
αναψυκτικών(τύπου σόδας)**

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ
Μπούντα Διονυσία
ΑΡΙΘΜΟΣ ΜΗΤΡΩΟΥ:1457

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ : Ευριπίδης Στεφάνου

ΗΡΑΚΛΕΙΟ

2014

Ευχαριστίες

Αρχικά θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κ. Ευριπίδη Στεφάνου για την ευκαιρία που μου έδωσε να εκπονήσω τη διπλωματική μου εργασία στο εργαστήριό του. Ευχαριστώ ιδιαίτερα τη Δρ. Μαρία Αποστολάκη για την αμέριστη βοήθεια της καθώς και για τις συμβουλές, τις εύστοχες υποδείξεις και την καθοδήγηση καθ' όλη τη διάρκεια αυτής της πτυχιακής εργασίας. Επίσης την ευχαριστώ γιατί ήταν δίπλα μου, με εμπύχωνε και ήταν πάντοτε πρόθυμη να με βοηθήσει, στην επίλυση διαφόρων προβλημάτων που προέκυψαν κατά τη πορεία αυτής της μελέτης. Την πτυχιακή μου εργασία θα ήθελα να την αφιερώσω στο μικρό μου ανιψάκι που πρόκειται να έρθει σε λίγους μήνες στη ζωή.

Περίληψη

Οι φθαλικοί εστέρες είναι ενώσεις που χρησιμοποιούνται ευρύτατα, κυρίως ως πλαστικοποιητές στα πολυμερή για να τους προσδώσουν ευελιξία, διαφάνεια και άλλες επιθυμητές ιδιότητες. Ωστόσο, επειδή οι ενώσεις αυτές δεν προσδέονται χημικά με το πολυμερές, απλά προστίθενται σε αυτό, μπορούν να διαφύγουν πολύ εύκολα στο περιβάλλον. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα να έχουν ανιχνευθεί σε πλήθος περιβαλλοντικών δειγμάτων όπως στην ατμόσφαιρα και το έδαφος, αλλά και στα τρόφιμα και το νερό, λόγω της παρουσίας τους στις πλαστικές συσκευασίες που τα περιέχουν. Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης των φθαλικών εστέρων σε δείγματα αναψυκτικών (τύπου σόδας) που εμπεριέχονται σε πλαστικές συσκευασίες. Για την ανάλυσή τους χρησιμοποιήθηκε η τεχνική της υγρής-υγρής εκχύλισης σε συνδυασμό με σύστημα αέριας χρωματογραφίας-φασματομετρίας-μάζας(GC-MS).

Οι συγκεντρώσεις των φθαλικών εστέρων στα περισσότερα δείγματα της παρούσας μελέτης ήταν κάτω από τα όρια ανίχνευσης της μεθόδου που χρησιμοποιήθηκε. Σε κάποια δείγματα αναψυκτικών (τύπου σόδας) που ανιχνεύθηκαν φθαλικοί εστέρες, σε μεγαλύτερη αφθονία βρέθηκε ο DEHP (μέγιστη συγκέντρωση 149,9 ng/L) ενώ η σχετική συνεισφορά του κυμάνθηκε μεταξύ 43-100%.

Abstract

Phthalates are compounds widely used mainly as plasticizers in polymers to impart flexibility, transparency and other desirable properties. However, as these compounds are simply added to the polymer without binding chemically to its molecules they can be easily released into the environment. This has been detected in a variety of environmental samples such as air and soil, as well as in food and water, packaged in plastic packs containing phthalates. The objective of this study was to determine the concentration of phthalates in samples of soft drinks (soda type) contained in plastic bottles. For this analysis was used the technique of liquid-liquid extraction system in combination with gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS).

The concentrations of phthalates in most samples of this study were below the detection limits of the methodology used. In some samples of soft drinks (soda type) where phthalate esters were detected the DEHP was found in greater abundance (maximum concentration 149,9 ng / L) and its relative contribution ranged between 43-100%.

Περιεχόμενα

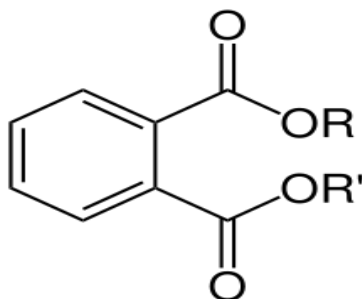
1.Θεωρητικό μέρος.....	7
1.1 Ονοματολογία.....	7
1.2 Εφαρμογές φθαλικών εστέρων.....	10
1.3 Φυσικοχημικές ιδιότητες.....	11
1.3.1 Διαλυτότητα στο νερό.....	11
1.3.2 Συντελεστής λιποφιλίας: συντελεστής κατανομής οκτανόλης/νερού K_{ow}	11
1.3.3 Φθαλικοί εστέρες στην ατμόσφαιρα.....	13
1.4 Τρόποι έκθεσης.....	13
1.5 Φθαλικοί εστέρες σε δείγματα αναψυκτικών και μεταλλικού νερού.....	13
1.6 Τοξικότητα των φθαλικών εστέρων και πρόκληση ενδοκρινικής διαταραχής...14	
1.7 Στόχος μελέτης.....	14
2. Πειραματικό μέρος.....	15
2.1 Δείγματα.....	15
2.2 Αναλυτική διαδικασία.....	16
2.2.1 Υλικά.....	16
2.2.2 Επεξεργασία δειγμάτων.....	17
2.3 Οργανολογία.....	18
2.3.1 Αέρια χρωματογραφία –φασματομετρίας μάζας τετραπολικού φίλτρου...18	
2.3.2 Αρχή λειτουργίας φασματογράφου μάζας τετραπολικού φίλτρου.....	19
2.3.3 Χαρακτηριστικά ιόντα και χρόνος κατακράτησης.....	21
2.4 Ποσοτικός προσδιορισμός.....	22
3.Αποτελέσματα.....	24
3.1 Τυφλά δείγματα.....	24
3.2 Συγκεντρώσεις των φθαλικών εστέρων στα δείγματα.....	27

3.3	Σχετική συνεισφορά των φθαλικών εστέρων στα δείγματα.....	29
3.4	Σύγκριση με άλλες μελέτες.....	30
4.	Συμπεράσματα.....	33
5.	Βιβλιογραφία.....	34

1.Θεωρητικό μέρος

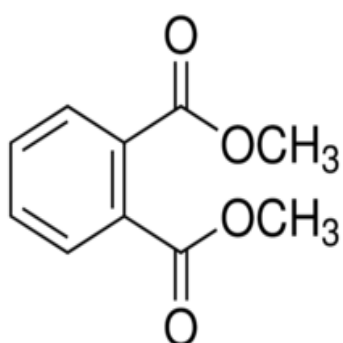
1.1 Ονοματολογία

Οι φθαλικοί εστέρες είναι δι-εστέρες ή αλλυλικοί εστέρες του 1,2-βενζοδικαρβοξυλικού οξέος- εμφανίζουν μικρή διαλυτότητα στο νερό, υψηλή διαλυτότητα σε έλαια και χαμηλή πτητικότητα. Οι πολικές καρβοξυλομάδες συνεισφέρουν λίγο στις φυσικοχημικές ιδιότητες των φθαλικών ενώσεων, εκτός από την περίπτωση που οι R και R' ομάδες είναι πολύ μικρού μοριακού βάρους (για παράδειγμα μεθυλ- ή αιθυλομάδες). Πρόκειται για άχρωμα και άοσμα υγρά που προκύπτουν από την αντίδραση ενός φθαλικού ανυδρίτη με μία αλκοόλη(συνήθως 6 ως 13 άνθρακες). Η γενική δομή των φθαλικών εστέρων απεικονίζεται στην Εικόνα 1:

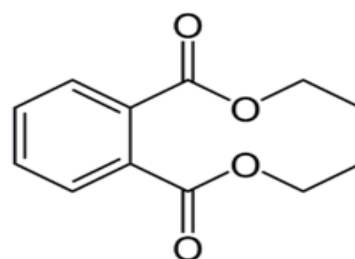


Εικόνα 1: Γενική δομή των φθαλικών εστέρων

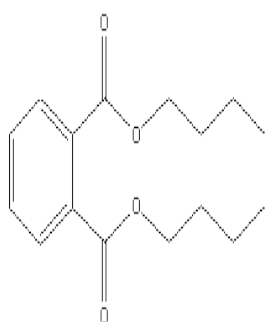
Οι εστερομάδες είναι συνδεδεμένες στο βενζολικό δακτύλιο σε δυο γειτονικές θέσεις. Οι ενώσεις που μελετήθηκαν στην παρούσα εργασία είναι οι διμέθυλ¹-(DMP), διαίθυλ²-(DEP), διβούτυλ³-(DBP), διισοβούτυλ⁴-(DiBP), βενζυλβουτυλ⁵-(BBP), δι(2-αιθυλοξέυλ)⁶-(DEHP) και διοκτυλ⁷-(DOP) εστέρες του όρθο-φθαλικού οξέος. Οι δομές των ενώσεων φαίνονται στην Εικόνα 2:



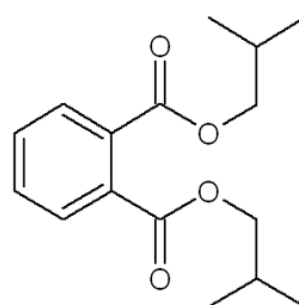
(1)



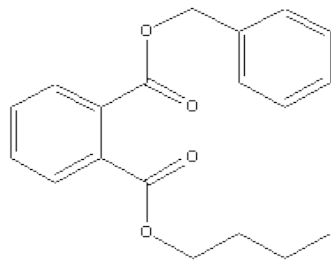
(2)



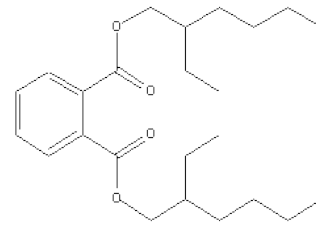
(3)



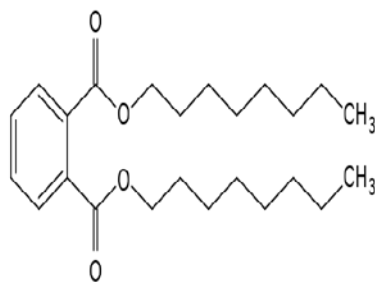
(4)



(5)



(6)



(7)

Εικόνα 2: Δομές φθαλικών ενώσεων

1.2 Εφαρμογές φθαλικών εστέρων

Λόγω της ευρείας χρήσης τους εδώ και 50 χρόνια, οι φθαλικοί εστέρες έχουν αναγνωριστεί ως σημαντικές πηγές ρυπαντών του περιβάλλοντος. Ενσωματώνονται μέσα στο PVC επιτρέποντας στα μακρομόρια του πολυβινυλο-πολυμερούς να ολισθαίνουν το ένα παράλληλα με το άλλο, προσδίδοντας έτσι ευκαμψία, ευελιξία, διαφάνεια και ανθεκτικότητα σε πολλά πλαστικά τα οποία είναι σκληρά. Λόγω της παρουσίας τους στις πλαστικές συσκευασίες, οι φθαλικοί εστέρες ανιχνεύονται σε περιβαλλοντικά δείγματα καθώς επίσης σε τρόφιμα, ποτά και νερό (Amiridou and Voutsas, 2011; ECPI, 2009).

Είναι γεγονός ότι οι φθαλικές ενώσεις παίζουν καθοριστικό ρόλο, όσο αφορά τη χρήση τους στα πλαστικά. Λόγω του ότι δε δημιουργείται ομοιοπολικός δεσμός αλλά μόνο διπολικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των φθαλικών εστέρων και των πλαστικών, απελευθερώνονται πολύ εύκολα στο περιβάλλον με αποτέλεσμα να το επιβαρύνουν. (Χυ *et al.*, 2007)

Οι περισσότεροι φθαλικοί εστέρες ανιχνεύονται σε πολλά καταναλωτικά προϊόντα. Προστίθενται σε αυτά για να προσδώσουν άρωμα και χρώμα (Cao, 2008). Επίσης βρίσκονται σε μια μεγάλη ποικιλία προϊόντων όπως πλαστικά PVC, συσκευασίες περιτυλίγματος τροφίμων, παιχνίδια, ιατρικές συσκευές, σφραγίδες, κόλλες, μελάνια, χρώματα, μονωτικά, καλλυντικά, αρώματα κ.α. (Hadjimohammadi and Ranjbari, 2011; Tienpont *et al.*, 2005).

Οι μεγάλοι μοριακού βάρους φθαλικοί εστέρες χρησιμοποιούνται σε δομικά υλικά, ρουχισμό, και έπιπλα. Μεγαλύτερη όμως εφαρμογή έχουν στην παραγωγή PVC. Αντίθετα οι μικρού μοριακού βάρους φθαλικοί εστέρες όπως οι DMP, DEP, και DBP δρουν ως διαλύτες σε κεριά, κόλλες, βαφές καλλυντικά εντομοκτόνα και φαρμακευτικά προϊόντα (Schettler, 2006)

1.3 Φυσικοχημικές ιδιότητες

1.3.1 Διαλυτότητα στο νερό

Η διαλυτότητα στο νερό παίζει σημαντικό ρόλο όσον αφορά τη βιοδιάσπαση και τη βιοσυσσώρευση μιας χημικής ουσίας, την τοξικότητά της καθώς επίσης και την κατανομή της στο περιβάλλον. Για τις φθαλικές ενώσεις χαμηλού μοριακού βάρους υπάρχει μια τάση μείωσης της διαλυτότητας καθώς αυξάνεται ο αριθμός των ανθράκων στο τμήμα OR' (Εικόνα 1) του διεστέρα, ενώ για τις φθαλικές ενώσεις υψηλού μοριακού βάρους δεν φαίνεται να υπάρχει παρόμοια τάση.

1.3.2 Συντελεστής λιποφιλίας: συντελεστής κατανομής οκτανόλης/νερού K_{ow}

Ο λιπόφιλος χαρακτήρας μιας ένωση μπορεί να προσεγγιστεί μέσω της τάσης της να κατανέμεται μεταξύ οκτανόλης και νερού. Η μέθοδος που χρησιμοποιείται για την εύρεση του συντελεστή λιποφιλίας υδρόφοβων ενώσεων με μικρή διαλυτότητα, όπως οι φθαλικοί διεστέρες, είναι «η αργή ανάδευση». Η μέθοδος αυτή οδηγεί στο σχηματισμό ισορροπίας μειώνοντας με αυτό τον τρόπο τον σχηματισμό γαλακτωμάτων. Οι φθαλικοί εστέρες χαμηλού μοριακού βάρους, όπως οι DMP, DEP, DBP και BBP εμφανίζουν αρκετά σταθερές τιμές $\log K_{ow}$. Όσο αυξάνεται το μέγεθος της αλκυλο-αλυσίδας των φθαλικών εστέρων, το $\log K_{ow}$ αυξάνεται, γεγονός που δείχνει ότι οι ίδιοι εμφανίζουν πολύ μεγάλη υδροφοβία. (De Bruijn *et al.*, 1989; Brooke *et al.*, 1990; Ellington and Floyd., 1996).

Στον Πίνακα (1) παρουσιάζονται οι ονομασίες των συνηθέστερα απαντούμενων στις βιομηχανικές εφαρμογές φθαλικών εστέρων, ενώ παράλληλα παρατίθενται συνοπτικά οι φυσικοχημικές τους ιδιότητες και οι πλέον συνηθισμένες εφαρμογές τους (Staples *et al.*, 1997); (ECRI, 2009). Η διαλυτότητα των ενώσεων αυτών στο νερό καθώς και ο συντελεστής κατανομής είναι δύσκολο να προσδιοριστούν με ακρίβεια λόγω της τάσης τους να σχηματίζουν κολλοειδή γαλακτώματα. Οι τιμές που αναφέρονται στον Πίνακα (1) είναι αυτές που προτείνουν οι Staples *et al.*, (1997).

Πίνακας (1): Ονομασία, φυσικοχημικές ιδιότητες και εφαρμογές των κυριότερων φθαλικών εστέρων. (Γάκου , 2010)

Πλήρης ονομασία	Βραχυγραφία	Φυσικοχημικές ιδιότητες	Εφαρμογές
δι-(2-αιθυλοξυ-)	DEHP	M.B:390.5 logKow:7.94 Διαλυτότητα στο νερό: 0,34 mg*L ⁻¹	Φαρμακευτικές συσκευασίες, οικοδομικά υλικά, είδη ρουχισμού, ιατρικά είδη, βερνίκια, κόλλες
διβούτυλ-	DBP	M.B: 278.4 logKow:4.45 Διαλυτότητα στο νερό: 11.2 mg*L ⁻¹	Διαλύτης, στερεωτικό αρωμάτων, πλαστικοποιητής νιτροκυτταρίνης και πολύ(οξικού βινυλεστέρα)
διμέθυλ-	DMP	M.B: 194.2 logKow:1.61 Διαλυτότητα στο νερό: 4200mg*L ⁻¹	Διαλυτικό, πλαστικοποιητής παραγωγών κυτταρίνης, εντομοαπωθητικό
διαίθυλ-	DEP	M.B: 222.2 logKow:2.38 Διαλυτότητα στο νερό: 1100mg*L ⁻¹	Διαλύτης, πλαστικοποιητής παραγωγών κυτταρίνης, καλλυντικά

1.3.3 Φθαλικοί εστέρες στην ατμόσφαιρα

Εξαιτίας της υψηλής σχετικά τάσης των ατμών τους, οι φθαλικοί εστέρες πτητικοποιούνται εύκολα, διαχέονται στην ατμόσφαιρα, παγιδεύονται σε μάζες νεφών και καταλήγουν, με τις βροχοπτώσεις, στους υδάτινους αποδέκτες και το έδαφος (Dargnat *et al.*, 2009).

1.4 Τρόποι έκθεσης

Οι άνθρωποι εκτίθενται στους φθαλικούς εστέρες μέσω της κατάποσης της εισπνοής, της δερματικής επαφής αλλά και ενδοφλεβίως. Η ανθρώπινη έκθεση στους φθαλικούς εστέρες μπορεί να συμβεί είτε με απευθείας επαφή ή με τη χρήση προϊόντων που τους περιέχουν. Αυτό γίνεται διαμέσου της διαφυγής των φθαλικών ενώσεων από το ένα προϊόν στο άλλο, όπως για παράδειγμα συμβαίνει με τις συσκευασίες τροφίμων, με τους ορούς που χορηγούνται ενδοφλεβίως αλλά και με τη γενικότερη επιμόλυνση του περιβάλλοντος από αυτές τις συνθετικές χημικές ενώσεις (Aurela *et al.*, 1999).

1.5 Φθαλικοί εστέρες σε δείγματα αναψυκτικών και μεταλλικού νερού

Μία πρόσφατη μελέτη κάνει λόγο για το επίπεδο των φθαλικών εστέρων που ανιχνεύονται σε δείγματα αναψυκτικών και μεταλλικού νερού. Η ανάλυση στη συγκεκριμένη μελέτη περιλαμβάνει 45 δείγματα προϊόντων τα οποία συσκευάζονται σε δοχεία κατασκευασμένα από τερεφθαλικό πολυαιθυλένιο (Bosnir *et al.*, 2007). Συγκεκριμένα η μέση τιμή της συνολικής συγκέντρωσης των φθαλικών εστέρων που ανιχνεύθηκαν σε κάθε ομάδα των παραπάνω δειγμάτων ήταν: 91,67μg/L, 116,93μg/L, 819,40μg/L, 542,63μg/L, και 20,22μg/L αντίστοιχα. Σε μια επίσης πρόσφατη μελέτη, οι φθαλικοί εστέρες που ανιχνεύθηκαν σε ανθρακούχα και μη ανθρακούχα ύδατα ήταν οι DiBP, DBP, BBP και DEHP. Το εύρος των συγκεντρώσεων των παραπάνω ενώσεων σε όλα τα μη ανθρακούχα δείγματα μεταλλικού νερού ήταν: <3.0ng/L–0.2 μg/L, < 6.6 ng/ L–0.8 μg/ L, < 6.0 ng /L–0.1 μg/ L, και <16.0 ng/L -1.7 μg/ L αντίστοιχα. (Keresztes *et al.*, 2013).

1.6 Τοξικότητα των φθαλικών εστέρων και πρόκληση ενδοκρινικής διαταραχής

Τα τελευταία χρόνια το ενδιαφέρον των επιστημόνων στρέφεται προς τη μελέτη τυχόν τοξικών επιδράσεων των φθαλικών εστέρων σε ζωντανούς οργανισμούς. Μάλιστα, το έτος 2000, η Ευρωπαϊκή Κοινότητα συμπεριέλαβε τον DEHP στη λίστα των 33 πλέον επικίνδυνων για την υγεία του ανθρώπου ενώσεων, ενώ σήμερα η ευρωπαϊκή νομοθεσία συνιστά μείωση της χρήσης φθαλικών εστέρων σε προϊόντα κοσμετολογίας και συσκευασίες τροφίμων. Επίσης από άποψη τοξικότητας ο δι-(2-αιθυλοξέυλο) φθαλικός εστέρας χαρακτηρίζεται ως παράγοντας R60, που μπορεί να βλάψει τη γονιμότητα και ως R61 που μπορεί να προκαλέσει βλάβη στο αγέννητο παιδί (Βαλαβανίδης, 2006).

Η έκθεση των ανθρώπων σε φθαλικές ενώσεις προκαλεί αρνητικές επιδράσεις στην υγεία τους. Μάλιστα έχει αποδειχθεί ότι οι φθαλικοί εστέρες είναι καρκινογόνοι και τοξικοί. Έτσι οι DEHP, DBP και DINP είναι ισχυρά καρκινογόνα καθώς επίσης και τοξικά για το ήπαρ, τα νεφρά (Gomez-Hens and Aguilar-Caballos, 2003) και τα αναπαραγωγικά όργανα (Swan et al., 2005). Μέχρι στιγμής έχει δειχθεί ότι οι φθαλικοί εστέρες είναι καρκινογόνοι σε τρωκτικά και ειδικότερα ο DEHP αποτελεί ένα ισχυρό καρκινογόνο για το ήπαρ (Cao, 2008).

1.7 Στόχος μελέτης

Στόχος της μελέτης ήταν ο ποσοτικός προσδιορισμός φθαλικών εστέρων σε δείγματα αναψυκτικών (τύπου σόδας), ώστε να αποτιμηθεί η μετανάστευση αυτού του τύπου ενώσεων από τις πλαστικές συσκευασίες στο περιεχόμενο αναψυκτικό.

2. Πειραματικό μέρος

2.1 Δείγματα

Στο πλαίσιο της παρούσας εργασίας αναλύθηκαν 10 δείγματα αναψυκτικών (τύπου σόδας), τα οποία περιέχονται σε πλαστικές φιάλες (PET,PE). Στον Πίνακα 2 παρουσιάζονται τα χαρακτηριστικά των υπό ανάλυση δειγμάτων που βρέθηκαν επάνω στις πλαστικές συσκευασίες.

Δείγματα	Ημερομηνία ανάλυσης	Εταιρία εμφιάλωσης	Υλικό συσκευασίας	ISO
B ₁	7/04/2014	Εμφιάλωση από super market	PE	-----
B ₂	12/05/2014	Ελληνική εταιρία εμφιάλωσης	PET	ISO 9001:2008
B ₃	7/07/2014	Ελληνική εταιρία εμφιάλωσης	PET	ISO 9001:2008
B ₄	20/05/2014	Ελληνική εταιρία εμφιάλωσης	PET	ISO 9001:2008
B ₅	23/05/2014	Ελληνική εταιρία εμφιάλωσης	PET	-----
B ₆	27/05/2014	Ελληνική εταιρία εμφιάλωσης	PET	-----
B ₇	29/05/2014	Ελληνική εταιρία εμφιάλωσης	PET	ISO 9001:2008
B ₈	11/07/2014	Ελληνική εταιρία εμφιάλωσης	PET	-----
B ₉	11/07/2014	Εμφιάλωση από super market	PET	-----
B ₁₀	14/07/2014	Εμφιάλωση από super market	PE	-----

ISO: Σύστημα Διαχείρισης Ποιότητας

Πίνακας 2: Χαρακτηριστικά των υπό ανάλυση δειγμάτων

Επίσης θα πρέπει να τονιστεί ότι η επιλογή των διαφόρων σκευασμάτων αναψυκτικών (τύπου σόδας) έγινε με τα ακόλουθα κριτήρια:

- Να μην περιέχουν συντηρητικά και άλλα πρόσθετα όπως για παράδειγμα ζαχαρη
- Να είναι εμφιαλωμένα σε πλαστικές φιάλες
- Να είναι σε συσκευασίες των 500 ml

2.2 Αναλυτική διαδικασία

2.2.1 Υλικά

Οι δύο διαλύτες που χρησιμοποιήθηκαν (διχλωρομεθάνιο, εξάνιο) καθώς επίσης το βαμβάκι και το άνυδρο Na_2SO_4 ήταν υψηλής καθαρότητας. Επίσης οι μικροσύριγγες ξεπλένονταν πριν και μετά τη χρήση τους, 12-15 φορές με ακετόνη και τολουόλιο. Τέλος τα γυάλινα σκεύη (πιπέτες, σφαιρικές φιάλες, απιοειδής, διαχωριστικές χοάνες, και καπάκια) ξεπλένονταν επιμελώς πριν και μετά τη χρήση τους, με υπερκάθαρο νερό και ακετόνη. Στη συνέχεια τοποθετούνταν στο φούρνο για καθαρισμό, στους 420°C για 4 ώρες. Επιπρόσθετα, το πρότυπο ανάκτησης που χρησιμοποιήσαμε για τον ποσοτικό προσδιορισμό των φθαλικών εστέρων ήταν το DEHP-d4 (δι(2-αιθυλοξέυλο)-φθαλικός εστέρας, δευτεριωμένος)), το οποίο παρασκευάστηκε σε διαλύτη ισοπροπανόλη. Επίσης ως εσωτερικό πρότυπο για τα δείγματά μας χρησιμοποιήθηκε ο βενζυλικός εστέρας του βενζοϊκού οξέος (benzyl benzoate), ο οποίος παρασκευάστηκε σε διαλύτη εξάνιο. Η προμηθεύτρια εταιρία και για τα δύο αυτά πρότυπα ήταν η Dr. Ehrenstorfer.

2.2.2 Επεξεργασία δειγμάτων

Αρχικά τοποθετούνταν 480ml δείγματος σε διαχωριστική χοάνη των 500ml, όπου και πραγματοποιούνταν η απαέρωση αυτών για αφαίρεση του CO₂. Εν συνεχεία, γινόταν προσθήκη προτύπου ανάκτησης (DEHP-d4) περίπου 58 ng. Ακολουθώς προστίθονταν 15ml οργανικού δ/τη CH₂Cl₂ για να γίνει υγρή-υγρή εκχύλιση (LLE) με σκοπό την απομόνωση των φθαλικών εστέρων και την συμπύκνωση τους από τα δείγματα αναψυκτικών (τύπου σόδας). Η οργανική στοιβάδα μεταφερόταν σε καθαρή απιοειδή φιάλη, ενώ η παραπάνω διαδικασία επαναλαμβανόταν άλλες δύο φορές. Το συνολικό εκχύλισμα, όγκου 45 ml τοποθετούνταν σε μικροστήλη που περιείχε εκχυλισμένο βαμβάκι και άνυδρο Na₂SO₄ (6 cm), για την απομάκρυνση τυχόν υγρασίας. Πριν την τοποθέτηση του δείγματος η στήλη ξεπλενόταν με μικρή ποσότητα διχλωρομεθανίου. Στη συνέχεια το εκχύλισμα συμπυκνωνόταν σε περιστροφικό εξατμιστήρα (Rotavapor R-200, BUCHI) μέχρι όγκου περίπου 0,5ml. Το συμπυκνωμένο δείγμα μεταφερόταν με τη βοήθεια πιπέτας σε φιαλίδιο του συστήματος αέριας χρωματογραφίας και ακολουθούσε ξέπλυμα της φιάλης δύο φορές με διχλωρομεθάνιο και μία με εξάνιο. Έπειτα γινόταν εξάτμιση του δείγματος σε ήπιο ρεύμα αζώτου μέχρι όγκου περίπου 80μl. Στο τελικό στάδιο γινόταν προσθήκη 73ng εσωτερικού προτύπου (benzyl benzoate). Τέλος τα φιαλίδια τοποθετούνταν στην κατάψυξη μέχρι την ημέρα που γινόταν ένεση στο σύστημα αέριας χρωματογραφίας-φασματομετρίας μάζας.

Παράλληλα με τα δείγματα αναψυκτικών που αναλύθηκαν, πραγματοποιήθηκε ανάλυση τεσσάρων τυφλών δειγμάτων. Για την ανάλυση των τυφλών ακολουθήθηκε η διαδικασία που περιγράφηκε παραπάνω, με τη διαφορά ότι στη διαχωριστική χοάνη δεν γινόταν προσθήκη δείγματος. Η αναφορά στα τυφλά δείγματα πρέπει να γίνεται διότι θεωρείται ίσως το βασικότερο πρόβλημα στην ανάλυση των φθαλικών εστέρων στα δείγματα αναψυκτικών (τύπου σόδας).

2.3 Οργανολογία

Για τον ποσοτικό προσδιορισμό των φθαλικών εστέρων χρησιμοποιήθηκε σύστημα αέριας χρωματογραφίας-φασματομετρίας μάζας της Agilent (6890N- 5973i).

2.3.1 Αέρια χρωματογραφία –φασματομετρίας μάζας τετραπολικού φίλτρου

Στον αέριο χρωματογράφο η εισαγωγή του δείγματος γινόταν με εισαγωγή τύπου on-column. Η έκλυση πραγματοποιείται με ροή αδρανούς αερίου, που αποτελεί την κινητή φάση, η οποία σε αντίθεση με τους περισσότερους τύπους χρωματογραφίας, δεν αλληλεπιδρά με τα μόρια του υπό ανάλυση δείγματος. Ο μόνος ρόλος της είναι η διευκόλυνση της διέλευσης του δείγματος κατά μήκος της στήλης. Ο διαχωρισμός των ενώσεων βασίζεται στην κατανομή τους μεταξύ ενός μη πτητικού υγρού, ακινητοποιημένου στην επιφάνεια ενός αδρανούς στερεού. Επιπλέον, η πολικότητα της στατικής φάσης, θα πρέπει να ταιριάζει με αυτή των διαχωριζόμενων ουσιών.

Για τις αναλύσεις των φθαλικών εστέρων που πραγματοποιήθηκαν στο σύστημα αυτό χρησιμοποιήθηκε η τριχοειδής στήλη DB-5MS(Agilent J &W Scientific) της οποίας τα χαρακτηριστικά είναι τα ακόλουθα:

- Μήκος στήλης (L):30m
- Εσωτερική διάμετρος (ID):250μm
- Πάχος στατικής φάσης (Film thickness):0,25μm
- Στατική φάση: 5% phenyl, 95% dimethyl arylene siloxane

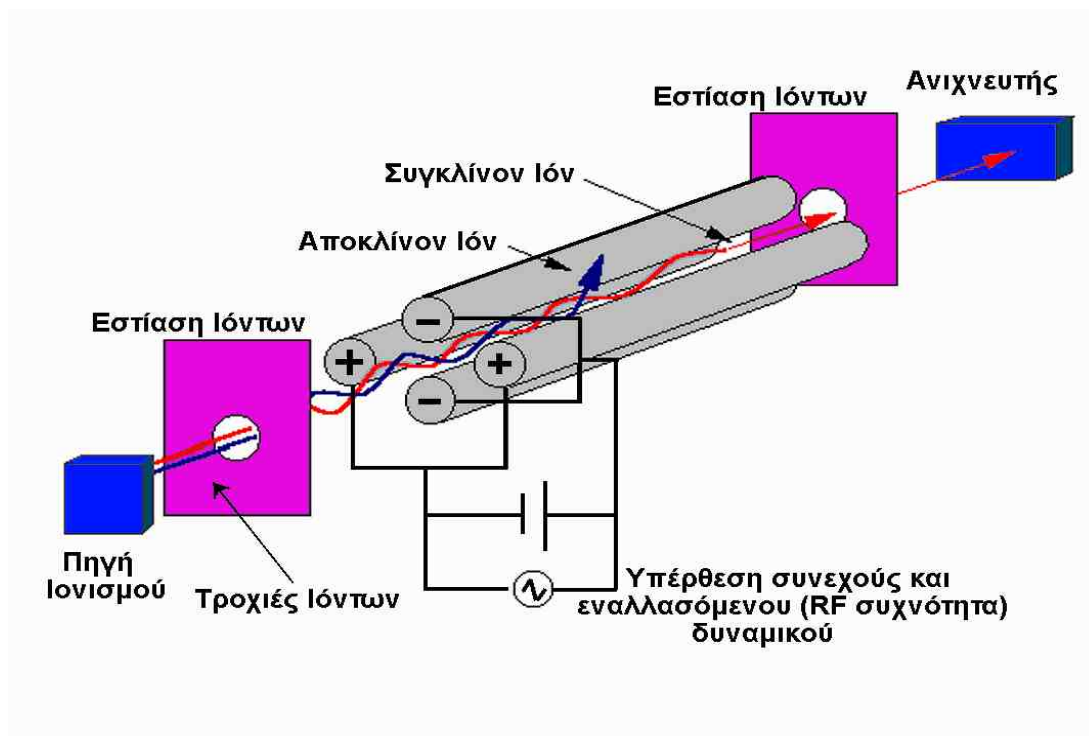
Το φέρον αέριο που χρησιμοποιήθηκε ήταν το Ήλιο(He), λόγω της χαμηλής του πυκνότητας και του ότι είναι αδρανές και μη εύφλεκτο. Το θερμοκρασιακό πρόγραμμα του φούρνου για τους φθαλικούς εστέρες διαρκούσε 27 min και είχε τα εξής:

- ✓ Αρχική θερμοκρασία 60⁰C
- ✓ Αύξηση έως τους 180⁰C με ρυθμό 20⁰C/min
- ✓ Αύξηση έως τους 290⁰C με ρυθμό 10⁰C/min
- ✓ Παραμονή στους 290⁰C για 10 min

Όλες οι ενέσεις των δειγμάτων έγιναν με αυτόματο δειγματολήπτη και ο όγκος του εισαγόμενου δείγματος ήταν 1μl.

2.3.2 Αρχή λειτουργίας φασματογράφου μάζας τετραπολικού φίλτρου

Ο φασματογράφος μάζας τετραπολικού φίλτρου αποτελείται από την πηγή ιονισμού, τον αναλυτή μαζών και το σύστημα ανίχνευσης. Τα μόρια καθώς εξέρχονται από τη στήλη εισέρχονται μέσω της γραμμής μεταβίβασης στην πηγή ιόντων. Στο όργανο αυτό χρησιμοποιείται πηγή ιονισμού πρόσκρουσης ηλεκτρονίων(EI). Τα ηλεκτρόνια εκπέμπονται από ένα θερμαινόμενο νήμα ρηνίου και επιταχύνονται με μια τάση περίπου 70eV η οποία εφαρμόζεται μεταξύ του νήματος και μιας ανόδου. Οι διαδρομές ηλεκτρονίων και μορίων σχηματίζουν ορθή γωνία και διασταυρώνονται στο κέντρο της πηγής, όπου γίνεται η πρόσκρουση και ο ιονισμός. Τα μονοφορτισμένα θετικά ιόντα, δημιουργούνται όταν ηλεκτρόνια μεγάλης ενέργειας πλησιάσουν τόσο, ώστε να προκαλέσουν την απόσπαση ηλεκτρονίων από αυτά λόγω ηλεκτροστατικής άπωσης. Εν συνεχεία τα δημιουργούμενα ιόντα, εφαρμόζοντας κατάλληλα ηλεκτρικά δυναμικά ευθυγραμμίζονται επιταχύνονται και αποκτούν την τελική ταχύτητά τους, με την οποία εισάγονται υπό τη μορφή ταινιωτής δέσμης στον αναλυτή μαζών που είναι ένα τετραπολικό φίλτρο. Ο τετραπολικός αναλυτής μαζών αποτελείται από τέσσερις μεταλλικές ράβδους στις οποίες εφαρμόζεται ένα σταθερό δυναμικό, αλλά και ένα εναλλασσόμενο δυναμικό ραδιοσυχνότητας. Το ηλεκτρικό πεδίο εκτρέπει τα ιόντα σε διάφορες τροχιές, καθώς αυτά κινούνται από τον θάλαμο ιοντισμού προς τον ανιχνευτή, αφήνοντας ιόντα με συγκεκριμένο λόγο m/z να φθάσουν στον ανιχνευτή. Ένα δυναμικό που μεταβάλλεται πολύ γρήγορα επιτρέπει σε ιόντα με διαφορετικές μάζες να φθάσουν στον ανιχνευτή. Τα τετραπολικά όργανα μπορούν να καταγράψουν 2-8 φάσματα το δευτερόλεπτο, καλύπτοντας ένα εύρος έως και 4000 μονάδες m/z . Μάλιστα αυτά τα όργανα μπορούν να διαχωρίζουν κορυφές που διαφέρουν κατά m/z 0,3(Skoog *et al.*, 2005;Harris, 2010).Στην Εικόνα 3 φαίνεται ένας τετραπολικός αναλυτής μαζών:



Εικόνα 3: Τετραπολικός αναλυτής μαζών

Η ανάλυση των φθαλικών εστέρων έγινε με τη Μέθοδο Επιλεγμένων Ιόντων (Selected Ion Monitoring, SIM). Επιλέγεται η ανίχνευση ορισμένων μόνο ιόντων, τα οποία γνωρίζουμε εκ των προτέρων ότι είναι χαρακτηριστικά των ενώσεων που εξετάζουμε. Η SIM είναι μια μέθοδος κατά την οποία παρακολουθούνται ένα ή παραπάνω χαρακτηριστικά ιόντα. Είναι εξαιρετικά χρήσιμη για την ανίχνευση μικρών ποσοτήτων ενώσεων σε σύνθετα μίγματα. Επιπλέον η μέθοδος αυτή εξασφαλίζει χαμηλότερα όρια ανίχνευσης εφόσον ο χρόνος μέτρησης των ιόντων, που επιλέγονται από το φάσμα μάζας της προς ανάλυσης ένωσης, είναι μεγαλύτερος και επιπρόσθετα εξασφαλίζει ταχύτερη ανάλυση, διότι παρακολουθούνται λιγότερα ιόντα. Η βαθμονόμηση του συστήματος GC-MS λαμβάνει χώρα πριν τη χρήση του, ώστε να επιτευχθεί η βέλτιστη λειτουργία του. Αυτή είναι μία αυτοματοποιημένη διαδικασία (autotune). (Skoog *et al.*, 2005; Harris, 2010).

2.3.3 Χαρακτηριστικά ιόντα και χρόνος κατακράτησης

Στον Πίνακα 3 παρουσιάζονται ο χρόνος κατακράτησης των πρότυπων ενώσεων και τα ιόντα που επιλέχθηκαν για παρακολούθηση. Για κάθε ένωση επιλέχθηκαν δύο ιόντα: το πιο άφθονο ιόν που χρησιμοποιήθηκε ως ιόν ποσοτικοποίησης και ένα δεύτερο ιόν που χρησιμοποιήθηκε ως ιόν επιβεβαίωσης.

Πρότυπη ένωση	Χρόνος κατακράτησης (min)	Ιόν ποσοτικοποίησης	Ιόν επιβεβαίωσης (% σχετική αφθονία)
DMP	7,09	163	194(8.83%)
DEP	8,14	149	177(26,25%)
DiBP	10,42	149	223(10,19%)
DBP	11,26	149	223(6,42%)
BBP	14,63	149	206(29,21%)
DEHP-d4	16,03	153	279(10,00%)
DEHP	16,04	149	279(16,65%)
DOP	17,55	149	279(13,00%)

Πίνακας 3: Χρόνος κατακράτησης, επιλεγμένα ιόντα ποσοτικοποίησης και ιόντα επιβεβαίωσης

2.4 Ποσοτικός προσδιορισμός

Στην παρούσα μελέτη, ο ποσοτικός προσδιορισμός των φθαλικών εστέρων έγινε με τη μέθοδο της προσθήκης προτύπου ανάκτησης πριν την επεξεργασία του δείγματος. Αυτό επιτρέπει να λαμβάνονται υπόψη τυχόν απώλειες και διαφοροποιήσεις που μπορεί να συμβούν κατά την αναλυτική μέθοδο, έτσι ώστε να μην επηρεάσουν την ακρίβεια της μεθόδου.

Για τέτοιου είδους πρότυπα χρησιμοποιούνται ενώσεις που πληρούν τις παρακάτω προϋποθέσεις:

- Έχουν παρόμοια δομή με αυτές που μελετώνται
- Δεν συνεκλούνται με κάποια από τις υπό μελέτη ενώσεις
- Δεν έχουν προσδιορισθεί στο περιβάλλον

Επομένως οι πρότυπες ενώσεις που χρησιμοποιούνται είναι κατά κανόνα οι αντίστοιχες δευτεριωμένες. Στη συγκεκριμένη εργασία η ένωση που χρησιμοποιήθηκε γι' αυτό το σκοπό είναι η DEHP-d4.

Για να πραγματοποιηθεί ο ποσοτικός προσδιορισμός μιας υπό μελέτη ένωσης x στα δείγματα μας, ήταν απαραίτητος ο υπολογισμός του σχετικού συντελεστή απόκρισης (Relative Response Factor, RRF) της συγκεκριμένης ένωσης ως προς το πρότυπο ανάκτησης. Επομένως γνωστή ποσότητα από την προς ανάλυση ένωση αναμίχθηκε με γνωστή ποσότητα από το αντίστοιχο πρότυπο ανάκτησης και έγινε ένεση αυτού του διαλύματος στο GC-MS. Ο σχετικός συντελεστής απόκρισης για τη συγκεκριμένη ένωση x υπολογίζεται από την παρακάτω εξίσωση:

$$RRF_x = A_x * C_{IS} / A_{IS} * C_x$$

Όπου RRF_x είναι ο σχετικός συντελεστής απόκρισης της ένωσης x , A_x είναι η επιφάνεια ολοκλήρωσης της κορυφής της ένωσης x , A_{IS} είναι η επιφάνεια ολοκλήρωσης του εσωτερικού προτύπου του, C_x και C_{IS} είναι οι ποσότητες της ένωσης x και του εσωτερικού προτύπου αντίστοιχα στο συγκεκριμένο διάλυμα.

Η ποσότητα της ένωσης x στο δείγμα μπορεί να προσδιορισθεί από την παρακάτω εξίσωση:

$$C_x = A_{x(\Delta)} * C_{IS(\Delta)} / A_{IS(\Delta)} * RRF_x$$

όπου $C_{IS(\Delta)}$ είναι η συγκέντρωση του προτύπου που προστέθηκε στο δείγμα και $A_{IS(\Delta)}$ και $A_{x(\Delta)}$ είναι οι επιφάνειες ολοκλήρωσης των κορυφών του προτύπου ανάκτησης και της υπό ανάλυση ένωσης x αντίστοιχα.

Επιπλέον ο προσδιορισμός των ανακτήσεων σε κάθε ένα από τα δέκα δείγματα που αναλύθηκαν, έγινε με τη χρήση του εσωτερικού προτύπου. Ως εσωτερικό πρότυπο χρησιμοποιήθηκε ο βενζοϊκός βενζυλεστέρας, ο οποίος προστίθεται στο δείγμα πριν γίνει ένεση στο σύστημα αέριας χρωματογραφίας-φασματομετρίας μάζας. Με βάση την ποσότητα του εσωτερικού προτύπου και γνωρίζοντας την τιμή του σχετικού συντελεστή απόκρισης του προτύπου ανάκτησης (DEHP-D4), μπορεί να υπολογιστεί η ποσότητα του προτύπου ανάκτησης που έχει απομείνει στο φιαλίδιο έπειτα από το τελευταίο στάδιο της επεξεργασίας. Επομένως, γνωρίζοντας την ποσότητα του προτύπου ανάκτησης που είχε προστεθεί πριν την κατεργασία του δείγματος και την ποσότητα που παρέμεινε στο τελικό δείγμα, η ανάκτηση του προτύπου ανάκτησης υπολογίζεται από την παρακάτω εξίσωση:

$$\% \text{ ανάκτηση } IS_{(x)} = \frac{\text{Αρχική ποσότητα } IS(X) * \text{Τελική ποσότητα } IS(X)}{\text{Αρχική ποσότητα } IS(X)}$$

3.Αποτελέσματα

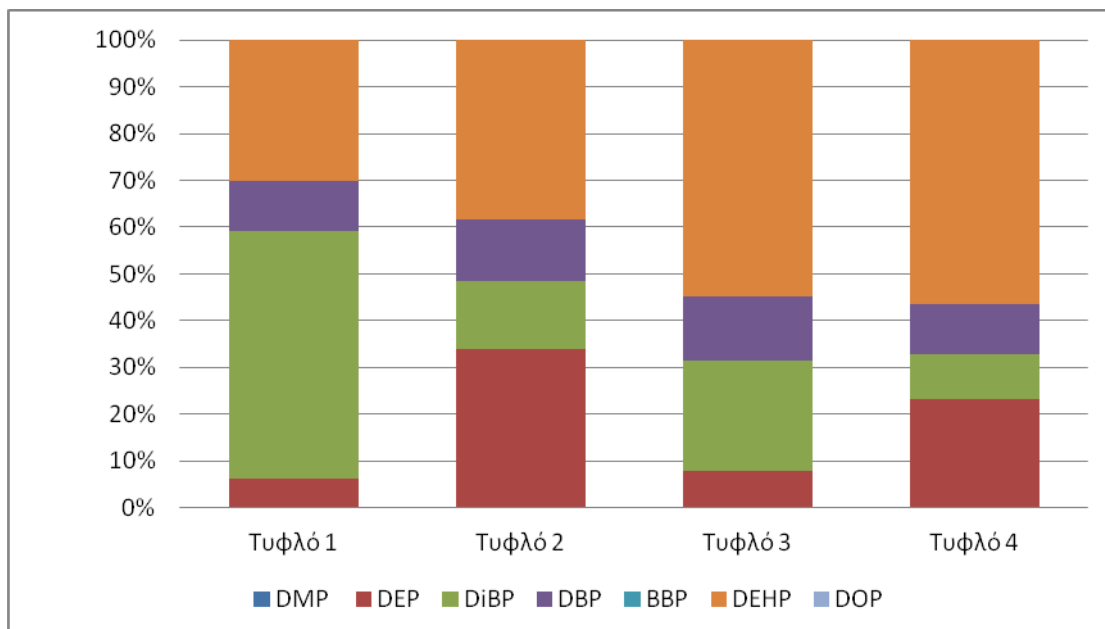
3.1 Τυφλά δείγματα

Στα πλαίσια της παρούσας μελέτης όπως αναφέρθηκε αναλύθηκαν 4 τυφλά δείγματα (A_1, A_2, A_3 και A_4), με σκοπό να ελέγξουμε αν οι κορυφές στο φάσμα ανήκουν στις υπό μελέτη ενώσεις μας ή οφείλονται σε κάποια επιμόλυνση του εργαστηρίου. Στον Πίνακα 4 παρατίθενται τα αποτελέσματα σε ng από τις αναλύσεις των τυφλών δειγμάτων.

Ενώσεις	A_1	A_2	A_3	A_4	Μέση τιμή(Mean)	Τυπική απόκλιση
DMP	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
DEP	6,8	45,9	5,9	20,1	19,7	18,6
DiBP	58,3	19,9	17,5	8,4	26,0	22,0
DBP	11,8	17,6	10,3	9,5	12,3	3,7
BBP	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
DEHP	33,2	52,1	40,9	49,1	43,9	8,5
DOP	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

Πίνακας 4: Ποσότητα φθαλικών εστέρων (ng) στα τυφλά δείγματα

Στην Εικόνα 4 παρουσιάζεται η % κατανομή των φθαλικών εστέρων στα τυφλά δείγματα που αναλύθηκαν.



Εικόνα 4: % κατανομή των φθαλικών εστέρων στα τυφλά δείγματα

Παρατηρούμε ότι οι DMP, BBP και DOP δεν ανιχνεύθηκαν σε κανένα από τα 4 τυφλά δείγματα που αναλύθηκαν. Αντίθετα μεγαλύτερη αφθονία παρουσίασαν οι DEP, DiBP και DEHP, με τον DEHP να αποτελεί το 30-55 % της συνολικής ποσότητας των φθαλικών εστέρων. Το γεγονός αυτό έχει παρατηρηθεί και σε άλλες μελέτες (Περράκη, 2011) και οφείλεται πιθανόν στην ευρεία χρήση και κατά συνέπεια στην υψηλή συγκέντρωση του συγκεκριμένου φθαλικού εστέρα στο περιβάλλον. Σε ότι αφορά τους DEP και DiBP, όπως προκύπτει και από τον Πίνακα 4, η ποσότητά τους στα τυφλά δείγματα παρουσίασε σημαντική διακύμανση και χαμηλή επαναληψιμότητα. Οι ενώσεις αυτές όπως αναφέρθηκε χρησιμοποιούνται κατά κύριο λόγο σε προϊόντα περιποίησης, οπότε οι υψηλές τιμές πιθανόν να οφείλονται σε προσωπικό λάθος κατά την πειραματική διαδικασία.

Ο υπολογισμός των ορίων ανίχνευσης της μεθόδου των φθαλικών εστέρων DEP, DiBP, DBP και DEHP βασίστηκε στην ανάλυση των τυφλών δειγμάτων, ενώ για τους υπολοίπους που δεν προσδιορίστηκαν στα τυφλά, βασίστηκε στο όριο ανίχνευσης του οργάνου (Κατσικαντάμη, 2014). Για τον προσδιορισμό του ορίου ανίχνευσης της μεθόδου σύμφωνα με τη βιβλιογραφία είναι απαραίτητη η ανάλυση τουλάχιστον 7 τυφλών δειγμάτων. Ωστόσο στα πλαίσια της παρούσας εργασίας δεν ήταν εφικτή η ανάλυση αυτού του αριθμού τυφλών, οπότε ο προσδιορισμός του ορίου ανίχνευσης της μεθόδου βασίστηκε στα 4 τυφλά και ο υπολογισμός έγινε με κάποιες τροποποιήσεις στην εξίσωση. Έτσι για τον υπολογισμό χρησιμοποιήθηκε η παρακάτω εξίσωση:

$$MDL = X \text{ μέση τιμή} + \text{τυπική απόκλιση} \times t(n-1, 1-\alpha=0,975)$$

Στον Πίνακα 5 παρουσιάζονται τα όρια ανίχνευσης της μεθόδου (ng/L) για τους φθαλικούς εστέρες.

Ένωση	Όριο ανίχνευσης(MDL)
DMP*	7,5
DEP	81,2
DiBP	98,8
DBP	24,4
BBP*	8,5
DEHP	72,0
DOP*	7,5

**(Κατσικαντάμη, 2014)*

Πίνακας 5: Όρια ανίχνευσης της μεθόδου (ng/L) για τους φθαλικούς εστέρες

Στον Πίνακα 6 παρουσιάζεται το % ποσοστό ανάκτησης του δευτεριωμένου προτύπου (DEHP-d4) που προσδιορίστηκε στα δέκα δείγματα αναψυκτικών που αναλύθηκαν. Το ποσοστό της ανάκτησης ήταν ικανοποιητικό (70,0-76,9%) και παρουσίασε καλή επαναληψιμότητα. Η τυπική απόκλιση (SD) του ποσοστού ανάκτησης βρέθηκε ίση με 2,7.

Ένωση	B ₁	B ₂	B ₃	B ₄	B ₅	B ₆	B ₇	B ₈	B ₉	B ₁₀
DEHP-d4	75,8	70,2	76,9	76,2	75,4	72,1	76,9	70,0	72,3	72,5

Πίνακας 6: % ανάκτηση του DEHP-d4 για κάθε δείγμα.

3.2 Συγκεντρώσεις των φθαλικών εστέρων στα δείγματα

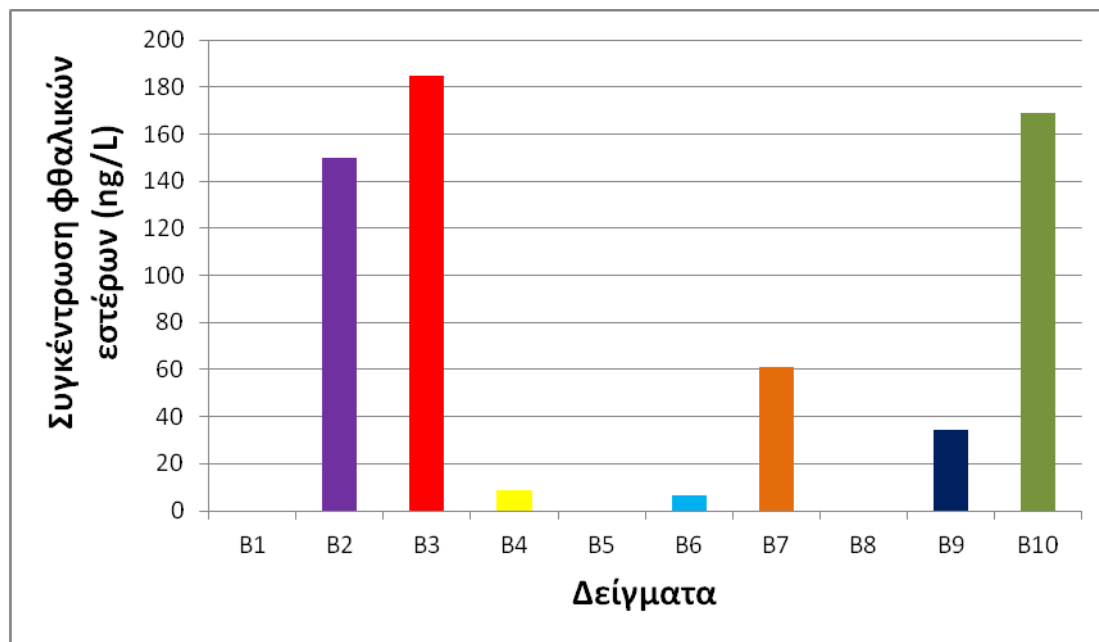
Στον Πίνακα 7 παρουσιάζονται οι συγκεντρώσεις των φθαλικών εστέρων που προσδιορίστηκαν στα δείγματα αναψυκτικών.

Πίνακας 7: Συγκεντρώσεις των φθαλικών εστέρων (ng/L) στα δείγματα που αναλύθηκαν

Δείγμα	DMP	DEP	DiBP	DBP	BBP	DEHP	DOP	Σύνολο
	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L	ng/L
B ₁	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	0
B ₂	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	149,9	n.d	149,9
B ₃	n.d	80,9	n.d	22,9	n.d	81,1	n.d	184,9
B ₄	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	8,6	n.d	8,6
B ₅	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	0
B ₆	n.d	n.d	n.d	6,8	n.d	n.d	n.d	6,8
B ₇	n.d	54,3	n.d	7,0	n.d	n.d	n.d	61,2
B ₈	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	0
B ₉	n.d	34,5	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	34,5
B ₁₀	n.d	7,2	n.d	45,2	n.d	116,5	n.d	168,9
Mean	0	44,2	0	20,5	0	89,0	0	87,8

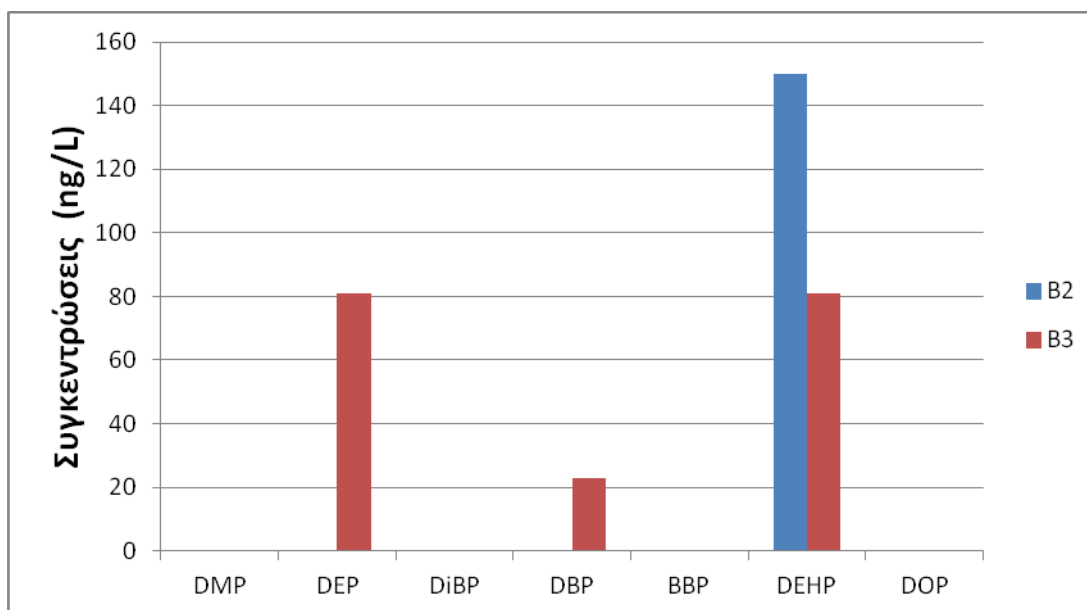
n.d=not detected=δεν ανιχνεύτηκε. Η συγκέντρωση είναι κάτω από το όριο ανίχνευσης

Στην Εικόνα 5 παρουσιάζεται η συνολική συγκέντρωση των φθαλικών εστέρων (ng/L) στα δείγματα που αναλύθηκαν.



Εικόνα 5:Συνολική συγκέντρωση φθαλικών εστέρων (ng/L) στα δείγματα

Η συνολική συγκέντρωση των φθαλικών εστέρων κυμάνθηκε από 6,8 έως 184,9ng/L, ενώ η μέση συγκέντρωση ήταν ίση με 87,8ng/L. Όπως φαίνεται στον Πίνακα 7, τα δείγματα που παρουσίασαν τις υψηλότερες συγκεντρώσεις φθαλικών εστέρων ήταν το B₂, B₃, και B₁₀. Μάλιστα και στα τρία αυτά δείγματα, ο DEHP ήταν αυτός που εμφάνισε την υψηλότερη συγκέντρωση, δηλαδή 149,9ng/L, 81,1ng/L και 116,5ng/L αντίστοιχα. Η παρουσία του συγκεκριμένου εστέρα σε υψηλότερες συγκεντρώσεις πιθανόν να οφείλεται στην ευρύτατη χρήση του. Σημειωτέον ότι τα δείγματα B₂ και B₃ ήταν της ίδιας εταιρείας. Το πρώτο δείγμα αναλύθηκε αμέσως, ενώ το δεύτερο τοποθετήθηκε σε μέρος με έντονη ηλιοφάνεια για δέκα εβδομάδες και αναλύθηκε στη συνέχεια. Στην Εικόνα 6 παρουσιάζονται οι συγκεντρώσεις (ng/L) των δειγμάτων B₂ και B₃ πριν και μετά την έκθεση στον ήλιο.

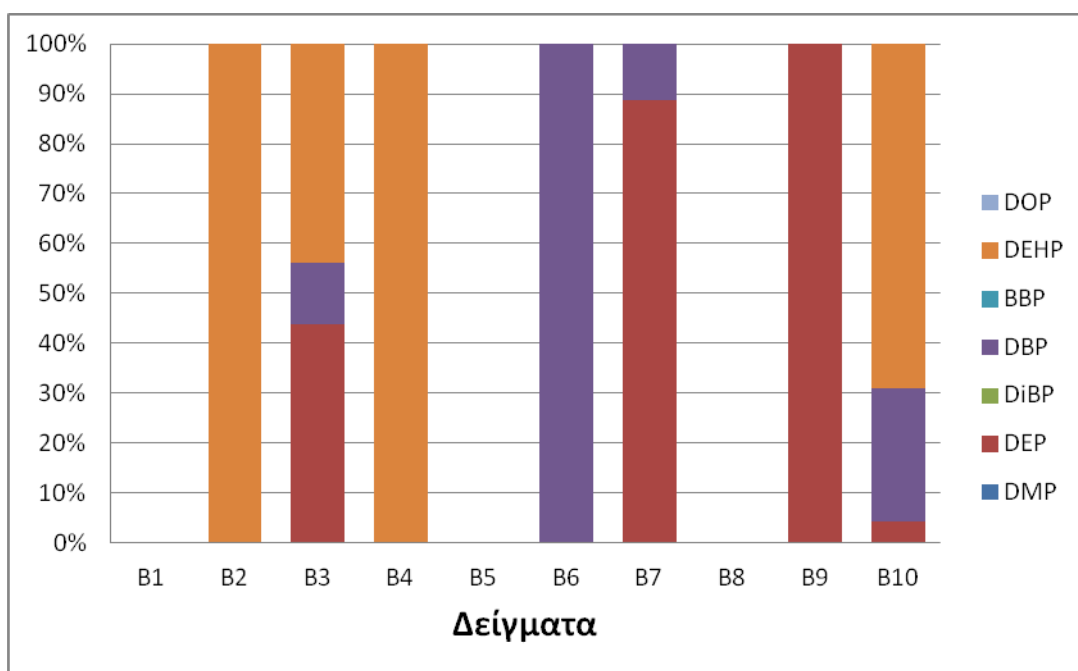


Εικόνα 6: Συγκεντρώσεις (ng/L) των δειγμάτων B₂ και B₃.

Από την Εικόνα 6 παρατηρούμε ότι οι φθαλικές ενώσεις DMP, DiBP, BBP και DOP δεν ανιχνεύθηκαν σε κανένα από τα δείγματα B₂ και B₃. Αντίθετα οι DEP και DBP ανιχνεύθηκαν μόνο στο δείγμα B₃. Όπως αναφέρθηκε, αυτό ίσως να οφείλεται στο γεγονός ότι το συγκεκριμένο δείγμα είχε τοποθετηθεί για αρκετές εβδομάδες στον ήλιο. Είναι επίσης αξιοσημείωτη η ιδιαίτερα υψηλή συγκέντρωση του DEHP στο δείγμα B₂ σε σχέση με αυτή στο B₃.

3.3 Σχετική συνεισφορά των φθαλικών εστέρων στα δείγματα

Στην Εικόνα 7 παρουσιάζεται η σχετική συνεισφορά των φθαλικών εστέρων στα δείγματα αναψυκτικών.



Εικόνα 7: Σχετική συνεισφορά των φθαλικών εστέρων στα δείγματα

Από την παραπάνω εικόνα, οι φθαλικοί εστέρες που παρουσίασαν τη μεγαλύτερη σχετική συνεισφορά ήταν ο DEHP και ο DEP, ενώ στο δείγμα B₆ ο μοναδικός φθαλικός εστέρας που προσδιορίστηκε ήταν ο DBP (100%). Η συνεισφορά του DEHP κυμάνθηκε μεταξύ 43-100%, ενώ του DEP μεταξύ 4 και 100%.

3.4 Σύγκριση με άλλες μελέτες

Γενικά, δεν έχουν πραγματοποιηθεί αρκετές μελέτες για την ανίχνευση των φθαλικών εστέρων στα αναψυκτικά. Αντίθετα οι περισσότερες μελέτες ασχολούνται με φθαλικές ενώσεις σε δείγματα ανθρακούχων και μη ανθρακούχων μεταλλικών υδάτων.(Cao,2008;Keresztes *et al.*, 2013;Tienpront *et al.*,2005). Στον Πίνακα 8 παρουσιάζονται οι μέσες συγκεντρώσεις σε μg/L των φθαλικών εστέρων που προσδιορίστηκαν στην παρούσα μελέτη και εκείνες που προσδιορίστηκαν σε αναψυκτικά στην μελέτη των Bosnir *et al.*, (2007). Μάλιστα στην μελέτη αυτή, τα δείγματα των αναψυκτικών ομαδοποιήθηκαν με βάση τα συντηρητικά που περιέχουν και το pH (Bosnir *et al.*, 2007).

Ενώσεις	Παρούσα μελέτη (10) Ελλάδα	Bosnir et al. 2007 (9) Κροατία	Bosnir et al. 2007 (14) Κροατία	Bosnir et al. 2007 (5) Κροατία	Bosnir et al. 2007 (8) Κροατία
DMP	0	60,56	62,57	759,80	500,88
DEP	0,0442	1,11	17,14	8,60	0
DBP	0,0205	12,89	21,29	9,00	26,75
BBP	0	0	0	5,40	0
DEHP	0,089	17,11	15,93	36,60	15,00
DOP	0	0	0	0	0

Ο αριθμός στην παρένθεση αναφέρεται στο αριθμό των δειγμάτων που αναλύθηκαν

Πίνακας 8: Συγκεντρώσεις των φθαλικών εστέρων (μg/L) σε δείγματα αναψυκτικών

Από τον Πίνακα 8 παρατηρούμε ότι οι συγκεντρώσεις (μg/L) των φθαλικών εστέρων στα δείγματα αναψυκτικών της παραπάνω μελέτης ήταν αρκετά υψηλότερες από εκείνες που προσδιορίστηκαν στην παρούσα μελέτη. Αυτό μπορεί να οφείλεται στο γεγονός ότι τα δείγματα αναψυκτικών περιέχουν διάφορα συντηρητικά όπως φωσφορικό οξύ, βενζοϊκό νάτριο και σορβικό κάλιο, τα οποία αυξάνουν σημαντικά τις συγκεντρώσεις των φθαλικών εστέρων. Τα δείγματα της παρούσας μελέτης δεν περιείχαν συντηρητικά ή άλλα πρόσθετα. Επίσης ο DOP δεν ανιχνεύθηκε σε καμία από τις δύο αυτές μελέτες. Είναι επίσης αξιοσημείωτη η ιδιαίτερα υψηλή συγκέντρωση του DMP στη συγκεκριμένη μελέτη σε σύγκριση με τις τιμές που ανιχνεύθηκαν στη δική μας εργασία.

Μια σύγκριση του μέσου όρου των συγκεντρώσεων των φθαλικών εστέρων στα δείγματα της παρούσας μελέτης τα οποία συσκευάζονται σε πλαστικές φιάλες και των αντίστοιχων στα δείγματα ανθρακούχων και μη ανθρακούχων νερών που εμφιαλώνονται επίσης σε πλαστικές φιάλες (PETE,PC) (Cao, 2008), απεικονίζεται στον Πίνακα 9:

Ενώσεις	Παρούσα μελέτη (10) Ελλάδα	Cao 2008 (8) Καναδάς
DMP	0	0
DEP	0,0442	0,079
DiBP	0	0,219
DBP	0,0205	0,335
BBP	0	0
DEHP	0,089	0,132
DOP	0	0

Ο αριθμός στην παρένθεση αναφέρεται στο αριθμό των δειγμάτων που αναλύθηκαν

Πίνακας 9: Συγκεντρώσεις των φθαλικών εστέρων (μg/L) σε δείγματα που συσκευάζονται σε πλαστικές φιάλες.

Από τον Πίνακα 9 παρατηρούμε ότι σε γενικές γραμμές οι συγκεντρώσεις των φθαλικών εστέρων που προσδιορίστηκαν και στις δύο μελέτες σε δείγματα που εμφιαλώνονται σε πλαστικές φιάλες, βρίσκονται στην ίδια τάξη μεγέθους. Ενδιαφέρον είναι ότι οι DMP, BBP και DOP δεν έχουν ανιχνευτεί σε καμία από τις μελέτες αυτές. Επίσης το όριο ανίχνευσης που έχει θεσπίσει η EPA για τον DEHP στο νερό είναι 6μg/L. Άρα σε σχέση με την τιμή αυτή, οι συγκεντρώσεις των φθαλικών ενώσεων που προσδιορίστηκαν στα συγκεκριμένα δείγματα αναψυκτικών ήταν χαμηλότερες.

4. Συμπεράσματα

- Οι συγκεντρώσεις των φθαλικών εστέρων στα περισσότερα δείγματα της παρούσας μελέτης ήταν κάτω από τα όρια ανίχνευσης.
- Το εύρος των συγκεντρώσεων των φθαλικών εστέρων DEP, DBP και DEHP, στα υπό μελέτη δείγματα ήταν : <7,2 ng/L – 80,9 ng/L, < 6,8 ng/ L – 45,2 ng/ L και < 8,6 ng /L – 149,9 ng/ L, αντίστοιχα. Σε κάποια δείγματα αναψυκτικών (τύπου σόδας) που ανιχνεύθηκαν φθαλικοί εστέρες, σε μεγαλύτερη αφθονία βρέθηκε ο DEHP (μέγιστη συγκέντρωση 149,9 ng/L) ενώ η σχετική συνεισφορά του κυμάνθηκε μεταξύ 43-100%.
- Οι συγκεντρώσεις των φθαλικών εστέρων στα δείγματα της παρούσας μελέτης, ήταν αρκετά χαμηλότερες σε σύγκριση με τις αντίστοιχες τιμές που αναφέρονται στη βιβλιογραφία για αναψυκτικά.
- Τα περισσότερα αναψυκτικά (τύπου σόδας) της συγκεκριμένης εργασίας δεν αποτελούν μεγάλο κίνδυνο για την υγεία των ανθρώπων. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι δεν ανιχνεύθηκαν φθαλικοί εστέρες σε αυτά. Άρα θα μπορούσαμε να πούμε ότι η κατανάλωση των συγκεκριμένων αναψυκτικών κρίνεται κατάλληλη για το ευρύ κοινό.

5. Βιβλιογραφία

Διεθνής Βιβλιογραφία

Amiridou D., and Voutsas D., (2011). Alkylphenols and phthalates in bottled waters. *Journal of Hazardous Materials*, 185, 281-286

Aurela B., Kulmala H., Soderhjelm L., (1999). Phthalates in paper and board packaging and their migration into Tenax and sugar. *Food Additives and Contaminants*, 16, 571-577

Bosnir J., Puntaric D., Galic A., Skes I., Dijanic T., Klaric M., Grgic M., Curkovic M., Smit Z., (2007). Migration of Phthalates from Plastic Containers into Soft Drinks and Mineral Water. *Migration of Phthalates from Containers into Drinks, Food Technol. Biotechnol*, 45(1), 91-95

Brooke D., Nielsen I., De Bruijn J., Hermens J., (1990). An interlaboratory evaluation of the stir flask method for the determination of octanol/water partition coefficients (Log P). *Chemosphere*, 21(1-2), 119-133

Cao X.L., (2008). Determination of phthalates and adipate in bottled water by headspace solid-phase microextraction and gas chromatography/mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1178, 231-238

Dargnat C., Teil M.J., Chevreuil M., Blanchard M., (2009). Phthalate removal through wastewater treatment plant: case study of Marne Aval station (France). *The science of the total environment*, 407, 1235-1244

De Bruijn, J., Busser J.F., Seinen, W., Hermens J., (1989). Determination of octanol/water partition coefficients for hydrophobic organic chemicals with the slow-stirring method. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 8, 499-512

Ellington J.J., and Floyd T.L., (1996). Octanol/water partition coefficients for eight phthalate esters. EPA/600/S-96/006, GA: USEPA (National Exposure Research Lab).

European Council for Plasticizers and Intermediates (ECPI)-Plasticizers, 2009, URL: <http://ecpi.org>

Gomez-Hens A., and Aguilar-Caballo MP., (2003). Social and economic interest in the control of phthalic acid esters. *TrAC Trends Anal Chem* 22, 847–857

Hadjmohammadi M.R., and Ranjbari E., (2011). Utilization of homogeneous liquid–liquid extraction followed by HPLC-UV as a sensitive method for the extraction and determination of phthalate esters in environmental water samples. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 92, 1312-1324

Keresztes S., Tatár E., Czégény Z., Záray G., Mihucz V.G., (2013). Study on the leaching of phthalates from polyethylene terephthalate bottles into mineral water. *Science of the Total Environment*, 458-460, 451-458

Schettler T., (2006). Human exposure to phthalates via consumer products. *International Journal of Andrology*, 29(1), 134-139, discussion 181-185

Skoog D., Holler J., Nieman T., (2005). Principles of Instrumental Analysis Athens: Kostarakis editions (5th)

Staples C.A., Peterson D.R., Parkerton T.F., Adams W.J., (1997). The environmental fate of phthalate esters: a literature review. *Chemosphere*, 35, 667-749

Swan S.H., Main K.M., Liu F., Stewart S.L., Kruse R.L., Calafat A.M., Mao C.S., Bruce Redmon J., Ternand C.L., Sullivan S., Lynn Teague J., (2005). Decrease in anogenital distance among male infants with prenatal phthalate exposure. *Environ Health Perspect*, 113, 1056–1061

Tienpont B., David F., Dewulf E., Sandra P., (2005). Pitfalls and Solutions for the Trace Determination of Phthalates in Water Samples. *Chromatographia*, 61,365-370

Xu J., Liang P., Zhang T., (2007). Dynamic liquid-phase microextraction of three phthalate esters from water samples and determination by gas chromatography. *Analytica Chimica Acta*, 597, 1-5

Ελληνική Βιβλιογραφία

Βαλαβανίδης Α.(2006). Φθαλικός δι-(2-αιθυλοξέυλο) εστέρας (DEHP). www.chem.uoa.gr/chemicals/chem_phthalates.htm

Πάκου Κ. (2010). Απομάκρυνση Ξενοβιοτικών Ουσιών κατά τη Βιοσταθεροποίηση της Ιλύος και άλλες Αερόβιες Διεργασίες. Διδακτορική Διατριβή, Πανεπιστήμιο Πάτρας, Τμήμα Χημικών Μηχανικών.

Περράκη Α. (2011). Μελέτη της παρουσίας φθαλικών εστέρων σε εσωτερικούς χώρους με τη χρήση αέριας χρωματογραφίας-φασματομετρίας μάζας. Μεταπτυχιακό Δίπλωμα Ειδίκευσης, Πανεπιστήμιο Κρήτης, Τμήμα Χημείας.

Harris D.C, (2010). Ποσοτική χημική ανάλυση. Τόμος II, Κεφ. 22, Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης

Κατσικαντάμη Ι. (2014). Δεδομένα, από το μη δημοσιευμένο μεταπτυχιακό δίπλωμα ειδίκευσης με τίτλο: Προσδιορισμός φθαλικών εστέρων σε πόσιμα ύδατα στην Κρήτη.

