

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ
ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΩΝ ΧΗΜΙΚΩΝ ΔΙΕΡΓΑΣΙΩΝ
ΕΠΙΣΤΗΜΕΣ ΚΑΙ ΜΗΧΑΝΙΚΗ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΧΛΩΡΙΚΩΝ, ΥΠΕΡΧΛΩΡΙΚΩΝ ΚΑΙ ΒΡΩΜΙΚΩΝ ΑΝΙΟΝΤΩΝ ΜΕ
ΧΡΗΣΗ ΥΓΡΗΣ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑΣ-ΔΙΑΔΟΧΙΚΗΣ ΦΑΣΜΑΤΟΜΕΤΡΙΑΣ ΜΑΖΑΣ
ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΝΕΡΟΥ

ΔΙΑΤΡΙΒΗ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟΥ ΔΙΠΛΩΜΑΤΟΣ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ

ΚΑΤΣΑΚΟΥ ΑΛΚΗΣΤΗ

ΗΡΑΚΛΕΙΟ
ΜΑΡΤΙΟΣ 2018

UNIVERSITY OF CRETE
DEPARTMENT OF CHEMISTRY
ENVIRONMENTAL CHEMICAL PROCESSES LABORATORY
ENVIRONMENTAL SCIENCE AND ENGINEERING

**DETERMINATION OF CHLORATE, PERCHLORATE AND BROMATE ANIONS BY
LIQUID CHROMATOGRAPHY-TANDEM MASS SPECTROMETRY FOR WATER
SAMPLE ANALYSIS**

MASTER OF SCIENCE DEGREE (M.Sc.)

KATSAKOU ALKISTI

HERAKLION

MARCH 2018

Στην οικογένειά μου,
Γιώργο, Αλεξία, Κάλλια
Στα σκυλιά μου,
Ειρήνη & Σέρλοκ

Επιβλέπων καθηγητής

Σπύρος Περγαντής

Καθηγητής Τμήματος Χημείας Πανεπιστημίου Κρήτης

Μέλη της εξεταστικής επιτροπής

Ευριπίδης Στεφάνου

Καθηγητής Τμήματος Χημείας Πανεπιστημίου Κρήτης

Απόστολος Σπύρος

Αναπληρωτής Καθηγητής Τμήματος Χημείας Πανεπιστημίου Κρήτης

Ευχαριστίες

Η παρούσα διατριβή πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Περιβαλλοντικών Χημικών Διεργασιών του τμήματος Χημείας του Πανεπιστημίου Κρήτης, υπό την επίβλεψη του καθηγητή κ. Σπύρου Περγαντή, στον οποίο θα ήθελα να εκφράσω τις πιο θερμές και ειλικρινείς ευχαριστίες μου για την υποστήριξή του σε όλη αυτή τη διαδρομή. Επίσης, θα ήθελα να τον ευχαριστήσω για τις πολύτιμες συμβουλές και την συνεχή καθοδήγηση του σε όλη την διάρκεια εκπόνησης της εργασίας. Επιπλέον, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Δρ. Κουβαράκη Αντώνη για την επίσης συνεχή καθοδήγησή του, τις χρήσιμες υποδείξεις και τη συνεχή στήριξή του καθ' όλη την πορεία της έρευνας αυτής.

Θα ήθελα ακόμη να εκφράσω ένα μεγάλο ευχαριστώ την Ειρήνη-Τσαμπίκα Μπαλασκά, για την πολύτιμη βοήθειά που μου έχει προσφέρει όλα αυτά τα χρόνια. Πολύτιμη στάθηκε και η βοήθεια της Λευκοθέας Τρασανίδου στο εργαστήριο, την οποία ευχαριστώ θερμά. Ένα ακόμη ευχαριστώ θέλω να εκφράσω για τα παιδιά από το εργαστήριο του κ. Περγαντή, Λεωνλιδα Μαυρουδάκη και Μάνο Μαυράκη, αλλά και του κ. Μιχαλόπουλου, Παύλο Ζαρμπά, Ειρήνη Τσιόδρα και Μαρία Τσαγκαράκη, για την άψογη συνεργασία μας και συνύπαρξη μας στον εργαστηριακό χώρο.

Τέλος, χρωστάω ένα μεγάλο ευχαριστώ τους γονείς μου, Γιώργο και Αλεξία, την αδερφή μου, Κάλλια και τους μικρούς τριχωτούς μου φίλους, Σέρλοκ και Ειρήνη, για την αστείρευτη στήριξή τους όλα αυτά τα χρόνια. Τους αφιερώνω αυτή τη μελέτη ως ένα ελάχιστο δείγμα της ευγνωμοσύνης μου για όλα όσα έχουν κάνει για μένα.

Περίληψη

Σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (WHO) «όλοι οι άνθρωποι, ανεξάρτητα από την οικονομική τους κατάσταση και την κοινωνική τους θέση, έχουν το δικαίωμα πρόσβασης σε επαρκή ποσότητα ασφαλούς πόσιμου νερού». Αναντίρρητα, λοιπόν, η ανάγκη του ανθρώπου για πόσιμο νερό οδήγησε στη δημιουργία νομοθεσιών που φροντίζουν ώστε κάθε άνθρωπος στη γη να μπορεί να καταναλώνει επαρκείς ποσότητες ασφαλούς πόσιμου ύδατος.

Στις σύγχρονες κοινωνίες κυρίαρχο ως προς κατανάλωση ύδωρ είναι το εμφιαλωμένο νερό. Ελλοχεύει όμως κίνδυνος μόλυνσης αυτού από χημικές ουσίες ή παθογόνους μικροοργανισμούς που μπορεί να προέρχονται είτε από παραπροϊόντα απολύμανσης του εξοπλισμού είτε από το περιβάλλον κατά την αποθήκευση. Τα νερά αυτά επηρεάζονται σε όλη τη διάρκεια της ζωής τους, από τη στιγμή της εμφιάλωσης, την αποθήκευση, το άνοιγμά αυτών και τη συντήρησή τους, καθώς παράγοντες όπως η θερμοκρασία και η υπολειμματική ποσότητα όζοντος μπορούν να οδηγήσουν στη δημιουργία παραπροϊόντων απολύμανσης. Με βάση τα παραπάνω, σκοπός της παρούσας διατριβής αποτελεί η εφαρμογή μιας βέλτιστης αναλυτικής μεθόδου μέσω της οποίας γίνεται εφικτή η μελέτη παρουσίας τριών ιόντων, παραπροϊόντων απολύμανσης, σε δείγματα εμφιαλωμένου νερού εμπορικά διαθέσιμου στους καταναλωτές. Στόχο δεν αποτελεί η ανάλυση νερών συγκεκριμένων εταιρειών, αλλά η απόκτηση μίας γενικής εικόνας της ποιότητας αυτών που κυκλοφορούν στο εμπόριο.

Η μέθοδος εφαρμόστηκε με τη βοήθεια της αναλυτικής τεχνικής υγρής χρωματογραφίας αντίστροφης φάσης – δίδυμης φασματομετρίας μάζας (HPLC-MS/MS). Τα ιόντα αυτά είναι τα οξυαλογονίδια BrO_3^- , ClO_3^- και ClO_4^- και ανιχνεύτηκαν με επιτυχία σε συγκεντρώσεις τάξης μεγέθους των $\mu\text{g/l}$ σε αρκετά δείγματα. Συγκεκριμένα τα βρωμικά ιόντα βρέθηκαν από 0 έως 8.42 $\mu\text{g/l}$, τα χλωρικά από 0 έως 7.54 $\mu\text{g/l}$ και τα υπερχλωρικά από 0 έως 2.91 $\mu\text{g/l}$. Αναλύθηκαν 18 δείγματα εμφιαλωμένου νερού εμπορικά διαθέσιμου. Ακολούθως, η μέθοδος επαληθεύτηκε μέσω της ιοντικής χρωματογραφίας αλλά και την υγρή χρωματογραφία με φασματομετρία μάζας επαγωγικά συζευγμένου πλάσματος.

Abstract

According to the World Health Organization (WHO) agency “every human, despite their financial situation and social status, possesses the right to have access to sufficient quantity of safe drinking water”. Undoubtedly, the human need for drinking water has led to the creation of legislations which ensure that every human being on earth can consume sufficient quantities of safe drinking water.

In most societies, they use bottled drinking water in their everyday needs. However, there is a risk of the water being contaminated by chemical substances or pathogenic micro-organisms that may result either from equipment disinfecting byproducts or from the environment, during storage. Bottled waters are affected throughout their lifetime, from bottling, storage, opening and maintenance and also factors such as temperature and residual ozone quantity.

From the above, the purpose of this thesis is the application of an optimal analytical method by which it is possible to study the presence of three ions, disinfection byproducts, in samples of bottled water that are commercially available to consumers. The objective is not to analyze specific water brands, but to obtain a general picture of the quality of those that are commercially available.

The method used was Reversed Phase Liquid Chromatography - Tandem Mass Spectrometry (HPLC-MS/MS). These oxyhalide ions are BrO_3^- , ClO_3^- and ClO_4^- , and were successfully detected at concentrations of $\mu\text{g/l}$ in several samples. Specifically, the bromide ion concentrations were from 0 to 8.42 $\mu\text{g/l}$, the chlorate ion concentrations were from 0 to 7.54 $\mu\text{g/l}$ and the perchlorate ion concentrations were from 0 to 2.91 $\mu\text{g/l}$. In this study 18 brands of commercially available bottled water were analyzed. Subsequently, the analytical results were verified by ion chromatography and HPLC coupled to inductively coupled plasma mass spectrometry.

Περιεχόμενα

1.Θεωρητικό Μέρος	16
1.1 Εισαγωγή	16
1.1.1 Σκοπός Διατριβής	16
1.1.2 Βιβλιογραφική αναφορά.....	17
1.2 Υδατογενείς λοιμώξεις	20
1.3 Απολύμανση	21
1.4 Κύριες μέθοδοι Απολύμανσης του πόσιμου νερού.....	25
1.4.1 Χλώριο (Cl).....	25
1.4.1.1 Αέριο Χλώριο.....	26
1.4.1.2 Άλατα του υποχλωριώδους οξέος	28
1.4.2 Χλωραμίνες	28
1.4.3 Διοξειδίο του Χλωρίου (ClO ₂).....	30
1.4.4 όζον (O ₃)	33
1.4.5 Ακτινοβολία UV	35
1.4.6 Υπεροξειδίο του υδρογόνου (H ₂ O ₂)	36
1.5 Οξυαλογόνα.....	37
1.5.1. Σύνθεση	37
1.5.2 Ιδιότητες	38
1.6 Βρωμικά.....	40
1.6.1 Επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία	46
1.7 Χλωρικά	47
1.7.1 Επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία	48
1.8 Υπερχλωρικά	49
1.8.1 Μηχανισμός τοξικότητας	51
1.8.2 Επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία	52
2.Πειραματικό Μέρος	54
2.1.Οργανολογία	54
2.1.1.Σύστημα HPLC-ESI-MS/MS	54
2.2. Δειγματοληψίες.....	56
2.3. Αντιδραστήρια, επεξεργασία δειγμάτων	58
2.3.1.Αντιδραστήρια.....	58
2.3.2. Επεξεργασία δειγμάτων νερού	58

3. Αποτελέσματα – Ανάλυση Αποτελεσμάτων	59
3.1. Διεργασίες ανάπτυξης και βελτιστοποίησης της HPLC-ESI-MS/MS	59
3.1.1. Μέθοδος HPLC-ESI-MS/MS	59
3.1.2. Τεχνική σάρωσης με μελέτη χαρακτηριστικών αντιδράσεων και επιλογή θυγατρικών ιόντων	60
3.1.3. Προσδιορισμός βέλτιστης ενέργειας πρόσκρουσης	62
3.2. Υπολογισμοί Ανάκτησης, Ορίων Ανίχνευσης, Ορίων Ανίχνευσης Μεθόδου και Ορίων Ποσοτικοποίησης	64
3.2.1. Υπολογισμός συντελεστών ανάκτησης	64
3.2.2. Έλεγχος της επαναληψιμότητας για την τεχνική HPLC	67
3.2.3. Υπολογισμός του ορίου ανίχνευσης	68
3.3. Μέθοδος προσθήκης γνωστών ποσοτήτων και έλεγχος ύπαρξης παρεμπόδισης μήτρας (matrix effect)	70
3.4. Εφαρμογή HPLC-ESI-MS/MS για τον ποσοτικό προσδιορισμό των υπό μελέτη ιόντων σε δείγματα εμφιαλωμένου νερού	73
3.4.1. Ανάλυση δειγμάτων εμφιαλωμένων νερών HPLC-ESI-MS/MS	73
3.4.2. Ανάλυση δειγμάτων νερού βιομηχανικής μονάδας με τη μέθοδο IC-CD	80
3.4.3. Ανάλυση δειγμάτων εμφιαλωμένου νερού με τη μέθοδο HPLC-ICP-MS	82
3.4.4. Σύγκριση Αποτελεσμάτων HPLC-ESI-MS/MS και HPLC-ICP-MS	86
4. Συμπεράσματα	90
4.1. Συμπεράσματα που αφορούν την ανάπτυξη και βελτιστοποίηση της αναλυτικής μεθόδου	90
4.2. Συμπεράσματα από σύγκριση των τριών αναλυτικών μεθόδων προσδιορισμού	92
5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	94
6. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑΤΑ	101
6.1. Παράρτημα χρωματογραφημάτων της μεθόδου HPLC-ESI-MS/MS	101
6.2. Παράρτημα χρωματογραφημάτων της μεθόδου HPLC-ICP-MS	111

Πίνακας 1. Ταξινόμηση υδοτογενών λοιμώξεων κατά Bradley.....	20
Πίνακας 2. Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα μεθόδων απολύμανσης (W.S.D.H., 2004)...	23
Πίνακας 3. Δείγματα εμφιαλωμένων νερών.....	57
Πίνακας 4. Εενέργεια διάσπασης στην πηγή (Source CID: source collision induced dissociation).....	61
Πίνακας 5. Επιλογή Θυγατρικών Ιόντων.....	62
Πίνακας 6. Ιόντα και βέλτιστες συνθήκες παρακολούθησης τους κατά τη μέθοδο S.R.M....	63
Πίνακας 7. Αποτελέσματα επί τοις εκατό ανάκτησης για τα δείγματα εμφιαλωμένων νερών.	65
Πίνακας 8. Έλεγχος της επαναληψιμότητας της τεχνικής HPLC-ESI-MS/MS.....	67
Πίνακας 9. Υπολογισμός του ορίου ανίχνευσης και ορίου ποσοτικοποίησης του οργάνου για κάθε ιόν.....	68
Πίνακας 10. Δείγματα φυσικών μεταλλικών νερών.....	73
Πίνακας 11. Δείγματα εμφιαλωμένων επιτραπέζιων νερών.....	74
Πίνακας 12. Συνοπτικός πίνακας αποτελεσμάτων με συγκεντρώσεις σε µg/l.....	78
Πίνακας 13. Συγκεντρώσεις δειγμάτων νερού των μεθόδων HPLC MS/MS και IC-CD.....	80
Πίνακας 14. Συνοπτικός πίνακας αποτελεσμάτων HPLC-ICP-MS με συγκεντρώσεις σε ppb.	85

Σχήμα 1. Αντιστάθμιση κινδύνου μικροβιακής μόλυνσης και σχηματισμού DBP (Saliq et al., 2004).....	24
Σχήμα 2. Κύρια μονοπάτια σχηματισμού βρωμικών ιοντων (Song, 1997).....	43
Σχήμα 3. Μηχανισμοί δράσης τοξικότητας των ClO_4^- στον ανθρώπινο οργανισμό (NRC, 2005a).....	53
Σχήμα 4. Ισοκρατική έκλυση οξυαλογονιδίων.....	60
Σχήμα 5. Μηχανισμοί θραυσματοποίησης βρωμικών, χλωρικών και υπερχλωρικών ιόντων.	62
Σχήμα 6. Γράφημα επί τοις εκατό ανάκτησης για τα δείγματα εμφιαλωμένων νερών.	66
Σχήμα 7. Μελέτη ύπαρξης παρεμπόδισης μήτρας για το βρωμικό ιόν.....	71
Σχήμα 8. Μελέτη ύπαρξης παρεμπόδισης μήτρας για το χλωρικό ιόν.	72
Σχήμα 9. Μελέτη ύπαρξης παρεμπόδισης μήτρας για το υπερχλωρικό ιόν.	72
Σχήμα 10. Συγκεντρώσεις BrO_3^- στα φυσικά μεταλλικά νερά και ανώτατο επιτρεπτό όριο από USEPA.....	75
Σχήμα 11. Συγκεντρώσεις BrO_3^- στα επιτραπέζια νερά και ανώτατο επιτρεπτό όριο από USEPA.	75
Σχήμα 12. Συγκεντρώσεις ClO_3^- στα φυσικά μεταλλικά νερά και ανώτατο επιτρεπτό όριο από τον WHO.....	76
Σχήμα 13. Συγκεντρώσεις ClO_3^- στα επιτραπέζια νερά και ανώτατο επιτρεπτό όριο από τον WHO.	76
Σχήμα 14. Συγκεντρώσεις ClO_4^- στα φυσικά μεταλλικά νερά και ανώτατο επιτρεπτό όριο από την USEPA.....	77
Σχήμα 15. Συγκεντρώσεις ClO_4^- στα επιτραπέζια νερά και ανώτατο επιτρεπτό όριο από την USEPA.	77
Σχήμα 16. Σύγκριση μεθόδων HPLC-ESI-MS/MS και IC-CD.....	81
Σχήμα 17. Χρωματογράφημα έκλυσης βρωμιούχων και βρωμικών ιόντων συγκέντρωσης 100 ppb με την στήλη Fortris στην μέθοδο RPLC-ICP-MS.....	83
Σχήμα 18. Χρωματογράφημα έκλυσης βρωμιούχων και βρωμικών ιόντων συγκέντρωσης 100 ppb με την στήλη Hamilton στην μέθοδο HPLC-ICP-MS.....	83
Σχήμα 19. Κατανομή συγκέντρωσης βρωμικών στα δείγματα με τη μέθοδο HPLC-ICP-MS..	84
Σχήμα 21. Γράφημα συγκέντρωσης BrO_3^- και Br^- σε δείγματα εμφιαλωμένων νερών.	87
Σχήμα 22. Διάγραμμα συσχέτισης συγκέντρωσης BrO_3^- και Br^- για όλα τα δείγματα.....	88
Σχήμα 23. Διάγραμμα συσχέτισης συγκέντρωσης BrO_3^- και Br^- για τα δείγματα που εμφάνισαν βρωμικά.....	88
Σχήμα 24. Τυπικό χρωματογράφημα των τριών υπό μελέτη ιόντων με την τεχνική HPLC-ESI-MS/MS.....	101
Σχήμα 25. Χρωματογράφημα δείγματος Δ1 με την τεχνική HPLC-ESI-MS/MS.....	101
Σχήμα 26. Χρωματογράφημα δείγματος Δ2 με την τεχνική HPLC-ESI-MS/MS.....	102
Σχήμα 27. Χρωματογράφημα δείγματος Δ3 με την τεχνική HPLC-ESI-MS/MS.....	102
Σχήμα 28. Χρωματογράφημα δείγματος Δ4 με την τεχνική HPLC-ESI-MS/MS.....	103
Σχήμα 29. Χρωματογράφημα δείγματος Δ5 με την τεχνική HPLC-ESI-MS/MS.....	103
Σχήμα 30. Χρωματογράφημα δείγματος Δ6 με την τεχνική HPLC-ESI-MS/MS.....	104
Σχήμα 31. Χρωματογράφημα δείγματος Δ7 με την τεχνική HPLC-ESI-MS/MS.....	104
Σχήμα 32. Χρωματογράφημα δείγματος Δ8 με την τεχνική HPLC-ESI-MS/MS.....	105
Σχήμα 33. Χρωματογράφημα δείγματος Δ9 με την τεχνική HPLC-ESI-MS/MS.....	105

Συντομογραφία	Αγγλική Ονομασία	Ελληνική Απόδοση
DBP	Disinfection by Products	Παραπροϊόντα απολύμανσης
HPLC	High Performance Liquid Chromatography	Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Απόδοσης
RPLC	Reversed Phase Liquid Chromatography	Υγρή Χρωματογραφία Αντίστροφης Φάσης
ESI	Electrospray ionization	Ηλεκτροψεκασμός
EU	European Union	Ευρωπαϊκή Ένωση
IC	Ion Chromatography	Ιοντική Χρωματογραφία
CD	Conductive Detector	Αγωγιμομετρικός Ανιχνευτής
ICP	Inductive Coupled Plasma	Επαγωγικά Συζευγμένο Πλάσμα
MS	Mass Spectrometry	Φασματομετρία Μάζας
IDL	Instrument Detection Limit	Όριο Ανίχνευσης του Οργάνου
LOD	Limit of Detection	Όριο Ανίχνευσης
LOQ	Limit of Quantification	Όριο Ποσοτικοποίησης
MDL	Method Detection Limit	Όριο Ανίχνευσης της Μεθόδου
NOM	Natural Organic Matter	Οργανική Ύλη
TOC	Total Organic Carbon	Ολικός Οργανικός Άνθρακας
USEPA	United States Environmental Protection	Υπηρεσία Προστασίας Περιβάλλοντος της Αμερικής
WHO	World Health Organization	Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας

DOE	Department of Energy	Υπουργείο Ενέργειας
DoD	Department of Defense	Υπουργείο Άμυνας

1.Θεωρητικό Μέρος

1.1 Εισαγωγή

1.1.1 Σκοπός Διατριβής

Η παρουσία οξυαλογόνων στο πόσιμο νερό αποτελεί ένα σημαντικό θέμα στην βιομηχανία του πόσιμου ύδατος. Τα οξυαλογόνα σχηματίζονται είτε από τις αντιδράσεις ιόντων, που υπάρχουν στο νερό, με διάφορα απολυμαντικά μέσα είτε παράγονται μέσα στα ίδια τα διαλύματα των απολυμαντικών μέσων όπως τα χλωρικά παράγονται σε πυκνά διαλύματα υποχλωριώδους οξέος. Τα βασικά οξυαλογόνα που προκαλούν ανησυχία είναι τα βρωμικά, χλωρικά και υπερχλωρικά. Τα τελευταία χρόνια, έχει προκαλέσει προβληματισμό για τις ρυθμιστικές αρχές το ανώτατο επιτρεπτό όριο των παραγόμενων οξυαλογόνων, καθώς μεγάλη κατανάλωση αυτών προκαλεί αρνητικές επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία. Στα πλαίσια αυτά, ο Οργανισμός Προστασίας Περιβάλλοντος των Ηνωμένων Πολιτειών της Αμερικής (USEPA) καθιέρωσε το ανώτατο επιτρεπτό όριο των βρωμικών ιόντων στα 10 μg/l ενώ των υπερχλωρικών ιόντων ποικίλει από 1 μg/l έως 24.5 μg/l καθώς οι έρευνες για την επίδρασή τους στον ανθρώπινο παράγοντα δεν έχουν ξεκάθαρα αποτελέσματα. Ομοίως, ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (WHO) έχει θεσπίσει ως ανώτατο επιτρεπτό όριο των χλωρικών ιόντων τα 0.7 mg/l.

Η πιο διαδομένη τεχνική που χρησιμοποιείται για την ανάλυση των οξυαλογόνων σε νερό είναι η ιοντική χρωματογραφία με αγωγιμομετρικό ανιχνευτή (IC-CD). Με την τεχνική αυτή όμως δεν επιτυγχάνονται χαμηλά όρια ανίχνευσης ούτε η απαραίτητη εκλεκτικότητα και συνεπώς δεν είναι εφικτή η ανίχνευση ιόντων όπως βρωμικά και υπερχλωρικά, χωρίς την ανάπτυξη πολύπλοκης μεθοδολογίας για την επεξεργασία και την χρωματογραφική ανάλυση των δειγμάτων.

Σκοπός της συγκεκριμένης εργασίας ήταν η ανάπτυξη και εφαρμογή μιας γρήγορης, ευαίσθητης και αξιόπιστης τεχνικής, κατά την οποία θα πραγματοποιείται η ανίχνευση και ποσοτικοποίηση των τριών παραπάνω ιόντων σε δείγματα νερού, με χαμηλά όρια ανίχνευσης και χωρίς ιδιαίτερη επεξεργασία δειγμάτων. Αναπτύχθηκε η μέθοδος της υγρής χρωματογραφίας αντίστροφης φάσης, με αρνητικό ηλεκτροψεκασμό και δίδυμη φασματομετρία μάζας (RPLC-ESI-MS/MS). Με τη μεθοδολογία αυτή επιτυγχάνεται υψηλή

εκλεκτικότητα και ακρίβεια, καθώς το τριπλό τετράπολο επιτρέπει την ανίχνευση μόνο των υπό μελέτη ιόντων. Κατά την επεξεργασία των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκαν Cartridge Ag/H με σκοπό την απομάκρυνση τυχών παρεμποδίσεων, και για την επιβεβαίωση της αξιοπιστίας των αναλύσεων πραγματοποιήθηκε και μελέτη της επίδρασης των συστατικών της μήτρας του δείγματος.

Για την επαλήθευση της μεθόδου πραγματοποιήθηκαν παράλληλα αναλύσεις με τη χρήση δύο συμπληρωματικών τεχνικών, της ιοντικής χρωματογραφίας με αγωγιμομετρικό ανιχνευτή (IC-CD) και της υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης συνδεδεμένη με φασματομετρία μάζας επαγωγικά συζευγμένου πλάσματος (HPLC-ICP-MS). Μέσω της ιοντικής χρωματογραφίας επιτεύχθηκε σύγκριση και επαλήθευση των αποτελεσμάτων των μεθόδων RPLC-ESI-MS/MS και IC-CD για τα χλωρικά ιόντα. Ενώ μέσω της HPLC-ICP-MS έγινε φανερή μία πιο καθαρή εικόνα για τα επίπεδα των βρωμικών ιόντων στα εμφιαλωμένα δείγματα, καθώς και τυχών συσχετισμός των αυξημένων επιπέδων βρωμικών με τα αντίστοιχα επίπεδα βρωμιούχων.

1.1.2 Βιβλιογραφική αναφορά

Το πόσιμο νερό αποτελεί πρωταρχική ανάγκη όλων των ανθρώπων. Ως πόσιμο ύδωρ ορίζεται το νερό εκείνο που είναι ασφαλές για κατάποση είτε μπορεί να χρησιμοποιηθεί στην προετοιμασία φαγητού, χωρίς να προκαλεί προβλήματα υγείας (WHO, 2016). Το δικαίωμα αυτό των ανθρώπων έρχεται να στηρίξει ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (World Health Organization, WHO) τονίζοντας ότι «όλοι οι άνθρωποι, ανεξάρτητα από την οικονομική τους κατάσταση και την κοινωνική τους θέση, έχουν το δικαίωμα πρόσβασης σε επαρκή ποσότητα ασφαλούς πόσιμου νερού» (WHO, 2006).

Το νερό που προορίζεται για ανθρώπινη κατανάλωση θα πρέπει να μην έχει επιμολυνθεί από χημικές ουσίες ή παθογόνους μικροοργανισμούς. Η παρουσία των χημικών ουσιών μπορεί να προέρχεται από παραπροϊόντα απολύμανσης του εξοπλισμού (παρουσία βρωμικών, υπολειμματικό χλώριο), από τη χρήση ακατάλληλων ή ακάθαρτων υλικών συσκευασίας, από το περιβάλλον κατά την αποθήκευση, από ελλιπή προστασία της πηγής υδροληψίας κ.α. Η παρουσία παθογόνων μικροοργανισμών, κυρίως οφείλεται στα υλικά συσκευασίας (ελλιπής πλύση γυάλινων φιαλών), στον εξοπλισμό (μη υγιεινού τύπου

σχεδιασμός, με πολλά νεκρά σημεία και δυσκολία στον καθαρισμό και την απολύμανση), στο προσωπικό (ελλιπής εκπαίδευση και ενημέρωση σε θέματα υγιεινής και ασφάλειας τροφίμων) και στον περιβάλλοντα χώρο. Η παρουσία παθογόνων μικροοργανισμών είναι δυνατόν να οφείλεται επίσης σε μολυσμένη πηγή υδροληψίας ή σε μολυσμένο υδροφόρο ορίζοντα (Υπουργείο.Υγείας, 2006).

Το νερό οφείλει να φέρει κάποια συγκεκριμένα χαρακτηριστικά όπως να μην είναι θολό, να μην έχει χρώμα, ενώ δε θα πρέπει να έχει δυσάρεστη οσμή και γεύση. Συνεπώς, γίνεται φανερό ότι η επίβλεψη μιας πηγής υδροληψίας πρέπει να είναι αδιάκοπη για να μην υπάρχει ρύπανση και μόλυνση του ύδατος της πηγής. Συνεπώς οι πηγές, οι δεξαμενές, η επεξεργασία και η διανομή θα πρέπει να βρίσκονται κάτω από συνεχή έλεγχο. Ακόμη το Υπουργείο Υγείας και Πρόνοιας τονίζει ότι με το όρο «πόσιμο νερό» εννοείται το νερό που προορίζεται για ανθρώπινη κατανάλωση, είτε με προηγούμενη επεξεργασία, είτε όχι, οποιαδήποτε και αν είναι η προέλευσή του (Υπουργείο-Υγείας-και-Πρόνοιας, 2001).

Όταν δεν τηρούνται οι παραπάνω ποιοτικές προδιαγραφές, τότε το νερό θεωρείται επικίνδυνο για τον άνθρωπο. Η μικροβιολογική καθαρότητα των πόσιμων υδάτων για τον άνθρωπο είναι μέγιστης σημασίας, καθότι οποιαδήποτε έλλειψη μικροβιακού ελέγχου του υδάτινου περιβάλλοντος μπορεί να οδηγήσει σε σοβαρές υδατογενείς λοιμώξεις για τον άνθρωπο. Οι λοιμώξεις αυτές οφείλονται στην ύπαρξη παθογόνων μικροοργανισμών, οι οποίοι, εισερχόμενοι στο νερό μέσω λυμάτων, μπορούν να επιβιώσουν άλλοτε για μικρό και άλλοτε για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα. Η κατάποση, η δερματική επαφή, η εισπνοή σταγονιδίων νερού είναι κάποιοι από τους τρόπους με τους οποίους τα προσλαμβάνονται οι παθογόνοι μικροοργανισμοί από τον άνθρωπο και προκαλούν υδατογενή νοσήματα. Ακολούθως μπορούν να προκαλέσουν τυφοειδή πυρετό, βάκιλλο δυσεντερίας, χολέρα, οξείες γαστρεντερίτιδες, ηπατίτιδα Α και Ε και πολιομυελίτιδα (White, 1992).

Οι περισσότερες χώρες, θέλοντας να αποφύγουν ή ακόμη και να εξαλείψουν τις υδατογενείς προέλευσης λοιμώξεις, έχουν καθιερώσει πρότυπα ποιότητας πόσιμου νερού. Η κάθε χώρα ενδεχομένως να έχει θεσπίσει και εφαρμόσει τα δικά της ποιοτικά κριτήρια, κάνουν όμως χρήση παρόμοιων αναλυτικών μεθόδων και εκφράζουν τα αποτελέσματά τους με τέτοιο τρόπο, ώστε να είναι εφικτή η σύγκριση. Έπειτα από αυστηρούς ελέγχους της ποιότητας του πόσιμου νερού από τους υπευθύνους των συστημάτων υδροληψίας και από τις αρμόδιες αρχές υγείας, οι λοιμώξεις αυτές μπορούν να αποφευχθούν. Ένας άλλος τρόπος περιορισμού των υδατογενών λοιμώξεων είναι το να απορρίπτεται πηγή

προέλευσης, μια πηγή ύδατος που δεν πληροί όλους τους κανόνες υγιεινής. Η επιλογή όμως αυτή δεν είναι δυνατή, καθώς υπάρχει μεγάλος βαθμός ζήτησης σε πόσιμο νερό και περιορισμένος αριθμός διαθέσιμων υδάτινων πόρων. Συγκεκριμένα το πόσιμο νερό είναι λιγότερο από το 1 % της συνολικής ποσότητας ύδατος που υπάρχει στη γη. Συνεπώς, για να λυθεί το πρόβλημα αυτό της μικροβιακής μόλυνσης, κρίνεται απαραίτητη η διαδικασία της απολύμανσης.

1.2 Υδατογενείς λοιμώξεις

Οι παθογόνοι μικροοργανισμοί που προϋπάρχουν στο μη επεξεργασμένο νερό οδηγούν στην δημιουργία των υδατογενών λοιμώξεων. Τις λοιμώξεις αυτές κατάφερε να ομαδοποιήσει ο Bradley και οι συνεργάτες του το 1987 και η ομαδοποίηση αυτή στηρίζεται σε επιδημιολογικά δεδομένα, ενώ ταυτόχρονα βοηθά στην κατανόηση των προβλημάτων των υδατογενών λοιμώξεων (WHO, 2001). Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται οι λοιμώξεις που σχετίζονται με το πόσιμο νερό, όπως τις ταξινόμησε ο Bradley:

Πίνακας 1. Ταξινόμηση υδατογενών λοιμώξεων κατά Bradley.

Κατηγορία	Σχόλια
Ασθένειες που μεταδίδονται με το νερό (Water-borne diseases)	Προκαλούνται από κατάποση μολυσμένου νερού από ανθρώπινη δραστηριότητα ή από περιττώματα ζώων. Περιέχουν παθογόνα βακτήρια ή ιούς που προκαλούν χολέρα, τυφοειδή πυρετό, διάρροια.
Ασθένειες που προκαλούνται από ελλιπή χορήγηση νερού (Water-washed diseases)	Προκαλούνται από την έλλειψη προσωπικής υγιεινής όπως ψώρα, ψύλλους, τσιμπούρια, ψείρες.
Ασθένειες που οφείλονται στην παρουσία μικροοργανισμών (Water-based diseases)	Προκαλούνται από παράσιτα που βρίσκονται σε μικροοργανισμούς που ζουν στο νερό.
Ασθένειες που μεταδίδονται από έντομα (Water-related diseases)	Μεταδίδονται από έντομα που εκκολάπτονται στο νερό και προκαλούν μαλάρια, τρυπανοσωμίαση, κίτρινο πυρετό.

Ανάλογα με τον τρόπο πρόκλησής τους οι υδατογενείς λοιμώξεις διακρίνονται στις εξής τρεις κατηγορίες: α) λοιμώξεις από κατάποση νερού, β) λοιμώξεις από επαφή με νερά αναψυχής (θάλασσα, λίμνες, ποτάμια), είτε τεχνητό περιβάλλον (κολυμβητήρια, κέντρα θερμών λουτρών), γ) λοιμώξεις από εισπνοή σταγονιδίων.

1.3 Απολύμανση

Ως απολύμανση ορίζεται κάθε φυσική ή χημική διαδικασία η οποία σκοτώνει ή αδρανοποιεί μικροοργανισμούς όπως βακτήρια, ιούς και πρωτόζωα, τα οποία μπορούν να προκαλέσουν ασθένειες όπως τύφο, χολέρα, ηπατίτιδα (W.S.D.H., 2004). Σκοπός της απολύμανσης δεν αποτελεί η αποστείρωση αλλά η προστασία του νερού από τους παθογόνους μικροοργανισμούς, η καταστροφή δηλαδή όλων των ζωντανών μικροοργανισμών που υπάρχουν στο νερό. Η απολύμανση είναι απαραίτητη διαδικασία για το πόσιμο νερό.

Η απολύμανση του πόσιμου νερού αποτελεί σημαντικό κομμάτι της διαδικασίας διανομής του νερού από τις αρχές του 1900 (White et al., 1998). Υπάρχουν διάφορα απολυμαντικά είδη που χρησιμοποιούνται για τον καθαρισμό του νερού όπως οι χλωραμίνες, το διοξείδιο του χλωρίου (ClO_2), το όζον και η UV ακτινοβολία, ενώ για μικρές ποσότητες νερού όπως ιδιωτικά πηγάδια, χρησιμοποιούνται ολιγοδυναμικές ενώσεις του χαλκού και του σιδήρου. Το πιο διαδεδομένο και ευρέως χρησιμοποιούμενο απολυμαντικό όμως είναι το χλώριο (Cl). Η απολύμανση γενικά πραγματοποιείται μέσω χημικής οξείδωσης στο τελευταίο βήμα της επεξεργασίας του νερού, ενώ ακολουθεί και φιλτράρισμα αυτού. Η διαδικασία της απολύμανσης ιδανικά στοχεύει στους εξής στόχους:

- Στην απομάκρυνση των παθογόνων μικροοργανισμών
- Στην μακράς διάρκειας σταθερότητα του πόσιμου νερού
- Στην ευκολία μέτρησης αυτού μέσω αναλυτικών τεχνικών
- Στην μη παραγωγή μη επιθυμητών παραπροϊόντων απολύμανσης
- Στο χαμηλό κόστος

Δυστυχώς κανένα απολυμαντικό δεν πλήρη όλες τις παραπάνω προϋποθέσεις ταυτόχρονα. Η επιλογή της σωστής μεθόδου απολύμανσης βασίζεται σε συμβιβασμό που εξαρτάται από τα εξής (Haas et al., 1990):

- Την ποιότητα του προς απολύμανση νερού
- Τους μικροοργανισμούς που τυχόν περιέχει
- Το μέγεθος του πληθυσμού που θα το προμηθευτεί
- Την πολυπλοκότητα και αξιοπιστία της τεχνολογίας
- Την αποτελεσματικότητα του απολυμαντικού μέσου

Συγκεκριμένα, η αποτελεσματικότητα του απολυμαντικού μέσου μπορεί να εκφραστεί μαθηματικά για συγκεκριμένο είδος μικροοργανισμού μέσω της εξίσωσης:

$$Constant = C^n t \quad (\text{Εξίσωση 1})$$

όπου C είναι η συγκέντρωση του απολυμαντικού σε mg/l, t είναι ο χρόνος σε λεπτά της αδρανοποίησης συγκεκριμένου ποσοστού μικροοργανισμών (κυρίως 99 %), n αποτελεί ο εκθέτης όπου το εύρος του είναι 0.5 έως 1.8 για τα περισσότερα απολυμαντικά (Hoff et al., 1986).

Τα παραπροϊόντα απολύμανσης και ο σχηματισμός τους είναι γνωστά από τα μέσα της δεκαετίας του 1970, όταν η αέρια χρωματογραφία άρχισε να αναπτύσσεται. Οι πρώτες ενώσεις που αναγνωρίστηκαν ήταν τα τριαλογονομένα μεθάνια (Trihalomethanes – THMs). Έκτοτε, νέες αναλυτικές τεχνικές δημιουργήθηκαν και καινούρια DBPs ανακαλύφθηκαν, τα περισσότερα επιβλαβή για την ανθρώπινη υγεία. Ως αποτέλεσμα, καθίσταται αναγκαίος ο συνεχής έλεγχος του νερού (Praus et al., 2003).

Σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (WHO, 2001) και την USEPA (EPA, 2009) η απολύμανση μπορεί να πραγματοποιηθεί με δύο τρόπους, τον πρωτογενή και τον δευτερογενή. Στην πρωτογενή απολύμανση, πραγματοποιείται προσθήκη ισχυρού απολυμαντικού μέσου, ούτως ώστε να αδρανοποιούνται είτε να σκοτώνονται βακτήρια, ιοί και άλλοι παθογόνοι οργανισμοί στο πόσιμο νερό. Κατά την δευτερογενή απολύμανση, προστίθενται συγκέντρωση ισχυρού απολυμαντικού μέσου, τέτοια ώστε να εξασφαλίζεται η υπολειμματική του δράση κατά τη διανομή του νερού στα συστήματα ύδρευσης. Θα πρέπει ακόμη να τονιστεί, ότι παρότι υπάρχουν ορισμένες φυσικοχημικές διεργασίες, όπως η κροκίδωση, η καθίζηση, η διήθηση και η προσρόφηση (Huck et al., 1993), μέσω των οποίων επιτυγχάνεται σε ικανοποιητικό βαθμό η απομάκρυνση μικροοργανισμών, θεωρείται αναγκαίο το στάδιο της χημικής απολύμανσης, ειδικά στα επιφανειακά ύδατα, ώστε να αποφευχθεί η ανάπτυξη των μικροοργανισμών εκείνων που είναι επικίνδυνοι για τη δημόσια υγεία (Webber et al., 1972). Όταν οξειδωτικοί παράγοντες προστίθενται στο νερό πριν την βασική διαδικασία απολύμανσης, τότε πραγματοποιείται προεπεξεργαστική οξείδωση (pretreatment oxidation).

Οι μέθοδοι απολύμανσης ποικίλουν, με ποιο γνωστή αυτή της χλωρίωσης. Υπάρχουν οι εξής τρόποι απολύμανσης:

- Απολύμανση με Χλωρίωση

- Απολύμανση με Χλωραμίνες
- Απολύμανση με Διοξείδιο του χλωρίου (ClO₂)
- Απολύμανση με Όζον (O₃)
- Απολύμανση με Ακτινοβολία UV
- Απολύμανση με Υπεροξείδιο του Υδρογόνου (H₂O₂)

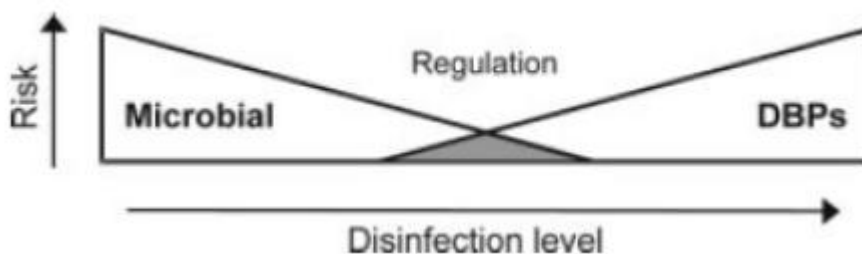
Πιο αναλυτικά, τα πλεονεκτήματα και τα μειονεκτήματα των διαφόρων μεθόδων απολύμανσης παρουσιάζονται στον Πίνακα 2.

Πίνακας 2. Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα μεθόδων απολύμανσης (W.S.D.H., 2004)

Απολυμαντικό	Πλεονεκτήματα	Μειονεκτήματα
Χλώριο χρησιμοποιείται ως αέριο ή υγρό (υποχλωριώδες)	<ul style="list-style-type: none"> - Αποτελεσματικό για τους περισσότερους μικροοργανισμούς - Μπορεί να οξειδώσει Fe και Mn (ευκολότερη απομάκρυνση) - Έχει υπολειμματική δράση - Μπορεί να χρησιμοποιηθεί στην υποχλωριώδη μορφή 	<ul style="list-style-type: none"> - Αντιδρά με την οργανική ύλη και σχηματίζει DBPs - Μπορεί να δημιουργήσει προβλήματα γεύσης και οσμής - Λιγότερο αποτελεσματικό έναντι των πρωτοζώων. - Καθόλου αποτελεσματικό έναντι των πρωτοζώων του είδους <i>Cryptosporidium</i>
Χλωραμίνες σχηματίζονται από χλώριο και αμμωνία	<ul style="list-style-type: none"> - Σχηματίζουν πιο σταθερά κατάλοιπα από το χλώριο - Σχηματίζουν λιγότερα DBPs από το χλώριο - Προκαλούν λιγότερα προβλήματα γεύσης και οσμής από το χλώριο 	<ul style="list-style-type: none"> - Λιγότερο αποτελεσματικό έναντι στους μικροοργανισμούς. - Μειωμένη οξείδωση Fe και Mn - Χρησιμοποιείται, συνήθως, για δευτερογενής απολύμανση
Διοξείδιο του Χλωρίου παράγεται από την αντίδραση χλωρίου με NaClO ₂	<ul style="list-style-type: none"> - Ποιο αποτελεσματικό από την χλωρίωση και τις χλωραμίνες - Έλεγχος γεύσης και οσμής - Σχηματισμός λιγότερων THMs και HAAs 	<ul style="list-style-type: none"> - Πρέπει να παραχθεί στο σημείο της απολύμανσης - Απαιτεί περισσότερα χημικά και εξοπλισμό - Απαιτεί περισσότερες ικανότητες χρήσης
Όζον	<ul style="list-style-type: none"> - Αποτελεί το πιο ισχυρό οξειδωτικό 	<ul style="list-style-type: none"> - Πρέπει να παραχθεί στο σημείο της απολύμανσης - Σχηματίζει βρωμιομένα παράγωγα και DBPs - Απαιτεί περισσότερες ικανότητες χρήσης - Δεν παρέχει υπολειμματική δράση

Ακτινοβολία UV	<ul style="list-style-type: none"> - Δραστική ενάντια σε βακτήρια - Δεν σχηματίζει DBPs 	<ul style="list-style-type: none"> - Λιγότερο αποτελεσματική ενάντια σε ιούς - Δεν παρέχει υπολειμματική δράση - Απαιτεί εκπαίδευση χειρισμού εξοπλισμού για εφαρμογή της - Δεν μειώνει τη συγκέντρωση των DBPs
----------------	---	---

Όπως προαναφέρθηκε η χημική απολύμανση επιτυγχάνεται συνήθως μέσω οξειδωτικών αντιδράσεων. Τα πλέον κοινά απολυμαντικά μέσα είναι αυτά που ήδη αναφέρθηκαν. Οι παραπάνω μέθοδοι καταφέρνουν να προκαλέσουν απενεργοποίηση των παθογόνων μικροοργανισμών με διάφορους τρόπους, ενώ κάθε μία από τις ενώσεις αυτές αντιδρά διαφορετικά ανάλογα με τις συνθήκες στις οποίες πραγματοποιείται η απολύμανση (pH, θερμοκρασία, συγκέντρωση, NOM). Κύριος στόχος κατά την επεξεργασία του νερού με κάποια από τις παραπάνω μεθόδους, είναι η ελαχιστοποίηση των κινδύνων υγείας που κρύβει η έκθεση σε παθογόνους μικροοργανισμούς με ταυτόχρονη ελαχιστοποίηση του σχηματισμού των DBPs. Αυτό σημαίνει την εύρεση μιας ελάχιστης δόσης απολυμαντικού η οποία προσφέρει μέγιστη ασφάλεια όσον αφορά την ανθρώπινη υγεία (Saliq et al., 2004).



Σχήμα 1. Αντιστάθμιση κινδύνου μικροβιακής μόλυνσης και σχηματισμού DBP (Saliq et al., 2004).

1.4 Κύριες μέθοδοι Απολύμανσης του πόσιμου νερού

Οι κύριες μέθοδοι απολύμανσης των νερών που χρησιμοποιούνται κατά την επεξεργασία αυτών αναφέρονται στην παράγραφο 1.3. Αξίζει να σημειωθεί ότι αρκετές φορές χρησιμοποιείται συνδυασμός περισσότερων του ενός απολυμαντικών μέσων, καταφέροντας με αυτό τον τρόπο να μειωθεί ο σχηματισμός κάποιων παραπροϊόντων απολύμανσης και να απενεργοποιηθούν οι παθογόνοι μικροοργανισμοί, που είναι δύσκολο να εξαλειφθούν με μία μόνο τεχνική. Με τον τρόπο αυτό δίνεται η δυνατότητα ενός εναλλακτικού τρόπου απολύμανσης ανάλογα με τις υπάρχουσες συνθήκες. Μερικά από τα βασικά χαρακτηριστικά των απολυμαντικών μέσων αλλά και κάποια κύρια πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα, τα οποία διαθέτουν αυτά, αναπτύσσονται ακολούθως (Praus et al., 2003):

1.4.1 Χλώριο (Cl)

Το χλώριο χρησιμοποιείται από τις αρχές του προηγούμενου αιώνα για την απολύμανση του νερού. Συγκεκριμένα βρίσκεται με τη μορφή ελεύθερου χλωρίου και εισάγεται είτε ως αέριο είτε ως υποχλωριώδες νάτριο ή ασβέστιο. Παρόλα αυτά υπάρχουν πολλά παραπροϊόντα απολύμανσης (Disinfection By-Products-DBP) που παράγονται από την αντίδραση του ελεύθερου χλωρίου με την οργανική ύλη, όπως τα χουμικά και φουλβικά οξέα (Janda et al., 2000).

Τα κύρια οργανικά DBP είναι τα THMs (χλωροφόρμιο, βρωμοφόρμιο, βρώμοδιχλωρομεθάνιο, διβρωμοχλωρομεθάνιο), οι χλωριομένες φαινόλες, τα αλοακετικά οξέα, οι αλοκετόνες κ.ά. Τα κύρια ανόργανα DBP περιλαμβάνουν χλωραμίνες, κυανογόνα χλωρίδια, χλωρικά, βρωμικά, υπερχλωρικά κ.ά.

Το χλώριο, είτε εισάγεται με την αέρια μορφή είτε με τη μορφή αλάτων, μόλις διαλυθεί στο νερό οδηγεί στη δημιουργία ενώσεων που δρουν εναντίον των βακτηρίων και των ιών. Πρέπει επίσης να τονιστεί ότι προσφέρει μια διαρκή προστασία, καθώς η υπολειμματική του δράση αποτρέπει την ανάπτυξη βακτηρίων που βρίσκονται σε λανθάνουσα κατάσταση στο νερό που διακινείται από το δίκτυο. Η απολυμαντική δράση του χλωρίου επηρεάζεται από την τιμή του pH και είναι ισχυρότερη σε όξινο ($\text{pH} < 6$) και ασθενέστερη σε αλκαλικό

περιβάλλον ($\text{pH} > 8$). Η αμμωνία και το άζωτο των οργανικών ενώσεων αντιδρούν με το χλώριο και σχηματίζουν οργανικές και ανόργανες χλωραμίνες.

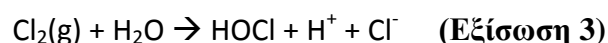
Οι λόγοι που το χλώριο είναι τόσο διαδεδομένο στον τομέα της απολύμανσης, αφορούν την υψηλή βακτηριογόνο δράση του, το χαμηλό κόστος του, την αποτελεσματικότητά του στους περισσότερους μικροοργανισμούς και κυριότερα, την σταθερότητα που διασφαλίζει η υπολειμματική του δράση στο δίκτυο. Επιπλέον η ικανότητα οξείδωσης του σιδήρου και του μαγγανίου από αυτό, κάνοντας έτσι πιο απλή την απομάκρυνσή τους, είναι ένα ακόμη πλεονέκτημα. Τέλος, η γνωστή τεχνολογία και η εφαρμογή του είναι σχετικά εύκολη με τη μορφή υποχλωριώδους. Το βασικό μειονέκτημα της μεθόδου αυτής βρίσκεται στη διαδικασία σχηματισμού των παραπροϊόντων απολύμανσης και αυτό οφείλεται στην υψηλή και μη εκλεκτική δραστηριότητα όλων των μορφών του ελεύθερου χλωρίου, ενώ πρέπει να τονιστεί ότι το χλώριο προσδίδει ιδιαίτερη οσμή και γεύση στο νερό.

1.4.1.1 Αέριο Χλώριο

Η παραγωγή του αέριου χλωρίου μπορεί να πραγματοποιηθεί μέσω της οξείδωσης του χλωριούχου νατρίου σε υδατικό διάλυμα όπως παρουσιάζεται παρακάτω (Webber et al., 1972):



Το μοριακό χλώριο υδρολύεται γρήγορα στο νερό, σχεδόν σε 100 ms (Aieta et al., 1984), σχηματίζοντας υποχλωριώδες οξύ και ανιόν χλωρίου:

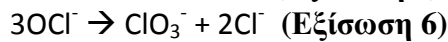
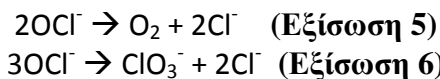


Όταν το pH στο παραπάνω διάλυμα είναι πάνω από 4.4 τότε δεν περιέχεται σχεδόν καθόλου μοριακό χλώριο. Στην εξίσωση 3 τα κύρια προϊόντα είναι το HOCl και το Cl⁻. Το ανιόν χλωρίου είναι σχετικά αδρανές και δεν συμμετέχει στην απολύμανση ή σε άλλη χημική αντίδραση, αντίθετα με το HOCl, όπου η οξειδωτική βαθμίδα του χλωρίου είναι +1. Το HOCl μετατρέπεται μέσω άλλων αντιδράσεων σε ενώσεις του χλωρίου, οπότε η συνολική αποτελεσματικότητα της απολύμανσης και η δραστηριότητα του χλωρίου είναι αποτέλεσμα των διαφορετικών αυτών ενώσεων. Το HOCl είναι ένα ασθενές οξύ με $\text{pK}_a = 7.5$ οπότε διασπάται μερικώς σχηματίζοντας το υποχλωριώδες ανιόν:



Η αναλογία του HOCl και του OCl⁻ εξαρτάται από τη θερμοκρασία, το pH και την ολική συγκέντρωση του χλωρίου. Αυξάνοντας το pH η ισορροπία κινείται προς τα δεξιά, οπότε για τις τιμές του pH πάνω από 8, το OCl⁻ αποτελεί κύρια ένωση. Για τις τιμές του pH μικρότερες από 7, βρίσκεται σε αφθονία το HOCl, ενώ στην περιοχή μεταξύ 7 και 8, έχουμε και τις δύο μορφές (White, 1992). Είναι λοιπόν γεγονός ότι ο έλεγχος του pH είναι πολύ σημαντικός για την επίτευξη αποδοτικής απολύμανσης του νερού με το χλώριο, αφού η απολυμαντική δράση του χλωρίου μειώνεται σημαντικά όταν το pH του νερού είναι πάνω από 8. Σε τιμές pH μεγαλύτερες του 8, το χλώριο θεωρείται μη αποτελεσματικό απολυμαντικό. Το Cl₂, το HOCl και το OCl⁻ αναφέρονται ως «**ελεύθερο ή υπολειμματικό χλώριο**». Συνεπώς, για να διαπιστωθούν τα αποθέματα του απολυμαντικού, πρέπει, εκτός από τη μέτρηση του ελεύθερου χλωρίου, να ελεγχθεί και το επίπεδο του pH.

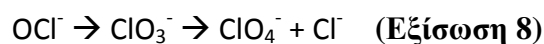
Το OCl⁻ είναι αρκετά ασταθές και ακολουθεί δύο διεργασίες αυτο-αποικοδόμησης (Gordon et al., 1995) (Adam, 1994). Στην πρώτη διεργασία, σχηματίζονται οξυγόνο (O₂) και χλώριο (Cl⁻), ενώ στη δεύτερη διεργασία σχηματίζονται ClO₃⁻ και Cl⁻ όπως φαίνεται παρακάτω:



Ο βαθμός αποικοδόμησης του υποχλωριώδους και δημιουργίας των χλωρικών ή του οξυγόνου δίνεται από τον επόμενο νόμο αναλογίας:

$$\frac{d[\text{OCl}^-]}{3dt} = k_{\text{observed}} [\text{OCl}^-]^2 \quad (\text{Εξίσωση 7})$$

Το ClO₂⁻ (chlorite) σχηματίζεται ως ένα σταθερό είδος των προϊόντων και χρησιμοποιείται ως ενδιάμεσο ανάμεσα στο OCl⁻ και τα ClO₃⁻ και ClO₄⁻. Όταν τα ιόντα χλωρίου αντιδράσουν περαιτέρω με το υποχλωριώδες ιόν τότε σχηματίζονται υπερχλωρικά ιόντα όπως φαίνεται παρακάτω:

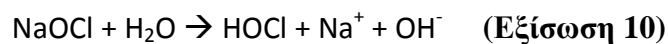


$$\frac{d[\text{ClO}_4^-]}{dt} = k_{\text{observed}} [\text{OCl}^-][\text{ClO}_3^-] \quad (\text{Εξίσωση 9})$$

Ο νόμος αναλογίας φαινομενικά είναι απλός, παρόλα αυτά, δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί έτσι απλά. Για παράδειγμα, μελετώντας την κινητική του σχηματισμού των υπερχλωρικών, θα πρέπει να λάβουμε υπόψη ότι το υποχλωριώδες (πρώτο αντιδρών) καταναλώνεται με δύο πιθανές πορείες, ενώ η συγκέντρωση των χλωρικών (δεύτερο αντιδρών) αυξάνεται συναρτήσει της συγκέντρωσης του υποχλωριώδους. Για να γίνουν τα πράγματα πιο περίπλοκα, ένα κομμάτι των χλωρικών που παράγεται, ταυτόχρονα καταναλώνεται για την παραγωγή των υπερχλωρικών. Συνεπώς, η παρατηρούμενη αύξηση στη συγκέντρωση των χλωρικών, στην πραγματικότητα αποτελεί συνδυαστική εξίσωση της παραγωγής των χλωρικών και ταυτόχρονης οξειδωσής τους για την παραγωγή των υπερχλωρικών. Επιπλέον, πρέπει να τονιστεί ότι ο ρυθμός σχηματισμού των υπερχλωρικών εξαρτάται και από άλλους παράγοντες όπως η θερμοκρασία και η ιοντική ισχύς, πέραν των συγκεντρώσεων OCl^- και ClO_3^- (Stanford et al., 2011).

1.4.1.2 Άλατα του υποχλωριώδους οξέος

Λόγω της αυξημένης τοξικότητάς του, η χρήση αερίου χλωρίου, πολλές φορές περιορίζεται. Αντί αυτού, χρησιμοποιείται συνήθως υποχλωριώδες νάτριο ή υποχλωριώδες ασβέστιο, τα οποία υδρολύονται ως ακολούθως:



Τα κύρια προϊόντα που προκύπτουν και από τις δύο αυτές αντιδράσεις είναι το HOCl και το OCl^- , με αποτέλεσμα τα χαρακτηριστικά της απολύμανσης, όσο και των άλλων χημικών αντιδράσεων να είναι παρόμοια με αυτά του αερίου χλωρίου. Η κατανομή των HOCl και το OCl^- εξαρτάται και πάλι από το pH.

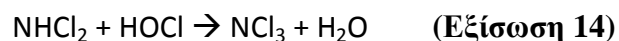
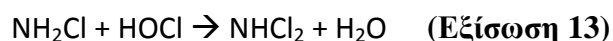
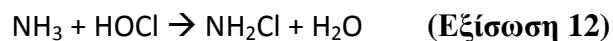
1.4.2 Χλωραμίνες

Οι χλωραμίνες και ειδικότερα η μονοχλωραμίνη, είναι από τα πρώτα απολυμαντικά που χρησιμοποιήθηκαν αρχικά στις ΗΠΑ το 1917 (Wolfe et al., 1984). Πολύ σύντομα έγινε φανερό η ικανότητά τους να μειώνουν τη γεύση και την οσμή που εμφανίζονταν όταν πραγματοποιούνταν απολύμανση με χλώριο, λόγω ότι είναι ασθενέστερα οξειδωτικά από

το χλώριο και δεν οξειδώνουν εύκολα την ΝΟΜ, ενώ επισημάνθηκε ότι παρείχαν πιο σταθερή υπολειμματική δράση μέσα στο δίκτυο (Praus et al., 2003). Βάση αυτών των πλεονεκτημάτων, η χρήση τους αυξήθηκε απότομα μέχρι τις αρχές της δεκαετίας του 1960 όπου η χρήση της μεθόδου αυτής άρχισε να περιορίζεται. Ένας λόγος που οδήγησε σε αυτή τη μείωση είναι η μειωμένη ικανότητα απολύμανσης που παρουσιάζουν σε σχέση με το ελεύθερο χλώριο.

Οι χλωραμίνες παρασκευάζονται όταν στο νερό προστεθούν αμμωνία και χλώριο. Παραμένουν στο νερό και παρουσιάζουν αυξημένη σταθερότητα που τις καθιστά ιδανικές στην παρεμπόδιση της ανάπτυξης βακτηρίων (μεταμόλυνση), κυρίως σε μεγάλα δίκτυα ύδρευσης. Από μόνες τους όμως δε μπορούν να επιτύχουν ικανοποιητική αρχική απολύμανση του νερού, συνεπώς πρέπει να χρησιμοποιούνται σε συνδυασμό με κάποιο άλλο ισχυρό οξειδωτικό όπως το όζον ή το διοξείδιο του χλωρίου, προκειμένου να επιτευχθεί ένα ικανοποιητικό αποτέλεσμα.

Οι χλωραμίνες παρασκευάζονται από την αντίδραση του υποχλωριώδους οξέως με την αμμωνία. Με τη μέθοδο αυτή μπορούν να παρασκευαστούν μονοχλωραμίνες, διχλωραμίνες και τριχλωραμίνες. Ο σχηματισμός των χλωραμινών πραγματοποιείται σύμφωνα με τις εξής αντιδράσεις:



Σε συνθήκες επεξεργασίας νερού, οι αντιδράσεις 12 και 13 λαμβάνουν χώρα σχεδόν ταυτόχρονα και η κατανομή τους εξαρτάται κυρίως από το λόγο του χλωρίου προς την αμμωνία και το pH. Όταν η αναλογία του χλωρίου προς την αμμωνία είναι 3:1 και το pH είναι 7 τότε το κύριο ομόλογο που σχηματίζεται είναι η μονοχλωραμίνη σε ποσοστό 92 % σε αντίθεση με τη διχλωραμίνη που σχηματίζεται σε ποσοστό 8 %. Οι αναλογίες αυτές είναι σχετικές και μπορούν να αλλάξουν με το χρόνο της αντίδρασης (Glaze et al., 1975). Σε υψηλές τιμές του λόγου χλώριο/αμμωνία γίνεται σημαντική η αντίδραση σχηματισμού της τριχλωραμίνης και αν καταναλωθεί η αμμωνία τότε το χλώριο μπορεί να οξειδώσει περαιτέρω τις χλωραμίνες και να σχηματίσει αέριο άζωτο. Συνήθως η αναλογία χλωρίου/αμμωνίας που χρησιμοποιείται κυμαίνεται από 2:1 έως 5:1. Επειδή η διχλωραμίνη

και η τριχλωραμίνη έχουν ιδιαίτερη οσμή, ενδείκνυται ο λόγος χλωρίου/αμμωνία/άζωτο να είναι περίπου 4:1, ώστε να αποφεύγεται ο σχηματισμός τους (ASCE/AWWA, 1990).

Το χλώριο που περιέχεται στις χλωραμίνες έχει οξειδωτική κατάσταση +1, ακριβώς όπως και το χλώριο στο HOCl και στο OCl⁻. Παρόλα αυτά υπάρχουν διαφορές τόσο στην απολυμαντική δράση του όσο και στην απολυμαντική ικανότητά του, λόγο της διαφορετικής κατανομής του φορτίου στο μόριο. Το HOCl συμπεριφέρεται ως οξύ κατά Lewis, εξαιτίας της διαφοράς ηλεκτραρνητικότητας μεταξύ O και Cl, αντίθετα το N και το Cl έχουν ίδια ηλεκτραρνητικότητα με αποτέλεσμα ο δεσμός μεταξύ τους να μην έχει πολικό χαρακτήρα. Ως αποτέλεσμα, το Cl στις χλωραμίνες είναι ισχυρότερα δεσμευμένο και κατά συνέπεια λιγότερο διαθέσιμο σε σχέση με το HOCl. Βασικό πλεονέκτημα της χρήσης χλωραμινών είναι ότι διασφαλίζεται σταθερότερη υπολειμματική δράση στα συστήματα διανομής νερού σε σχέση με το χλώριο. Επίσης κατά τη χρήση τους σχηματίζονται λιγότερα DBPs σε σχέση με το χλώριο. Τέλος, διαθέτει γνωστή τεχνολογία και σχηματίζει λιγότερα προϊόντα που προκαλούν προβλήματα οσμής και γεύσης στο νερό. Το κύριο μειονέκτημα αυτής της μεθόδου εντοπίζεται στο ότι είναι λιγότερο αποτελεσματική από το χλώριο εναντίον μικροοργανισμών και ιδιαίτερα όσον αφορά ιούς και πρωτόζωα. Επίσης η χρήση της μεθόδου των χλωραμινών παρέχει χαμηλή οξείδωση σιδήρου και μαγγανίου. Συνήθως απαιτείται ένα πιο ισχυρό απολυμαντικό στο αρχικό στάδιο της απολύμανσης. Οι χλωραμίνες δε διατίθενται στο εμπόριο σαν έτοιμο προϊόν, παράγονται επιτόπου στο σημείο χρήσης από χλώριο και αμμωνία. Τέλος, βασικό μειονέκτημα της χρήσης χλωραμινών αποτελεί το γεγονός ότι ευνοούν τον πολλαπλασιασμό νιτροβακτηρίων στις δεξαμενές νερού, τα οποία με τη σειρά τους μπαίνουν στην τροφική αλυσίδα άλλων μικροοργανισμών και έτσι αυξάνει ο συνολικός αριθμός μικροοργανισμών του νερού.

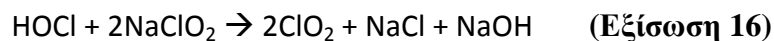
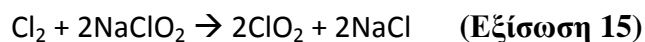
1.4.3 Διοξείδιο του Χλωρίου (ClO₂)

Το διοξείδιο του χλωρίου ανακαλύφθηκε το 1814 από τον Sir Humphrey Davy και ως πρώτη χρήση του ήταν η λεύκανση του χαρτιού. Σήμερα το διοξείδιο του χλωρίου χρησιμοποιείται στην επεξεργασία του νερού για να μειωθούν τα προβλήματα γεύσης και οσμής που παρουσιάζονται κατά τη χλωρίωση όταν στο νερό περιέχονται φαινολικές ενώσεις. Το χλώριο αντιδρά με αυτές τις ενώσεις, σχηματίζοντας χλωριωμένες φαινόλες, που δίνουν δυσάρεστη γεύση στο νερό, ενώ το διοξείδιο του χλωρίου τις καταστρέφει. Το

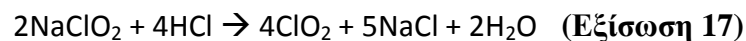
διοξείδιο του χλωρίου δεν αποτελεί φυσικό συστατικό του νερού, αλλά παρασκευάζεται με χημική διεργασία.

Η χρήση του διοξειδίου του χλωρίου ως απολυμαντικό μέσω, δίνει ένα πετυχημένο αποτέλεσμα στην απολύμανση των υδάτων, ενώ ταυτόχρονα η δημιουργία των παραπροϊόντων απολύμανσης περιορίζεται αρκετά. Το πρόβλημα έγκειται στη χημική του μορφή όπου πρόκειται για ένα πολύ ασταθές αέριο. Έτσι εμφανίζονται προβλήματα κατά τη μεταφορά και τη χρήση του, γεγονός που οδηγεί στην ανάγκη δημιουργίας του στο σημείο της απολύμανσης.

Το διοξείδιο του χλωρίου παρασκευάζεται με την προσθήκη αέριου χλωρίου ή υποχλωριώδους οξέος σε υδατικό διάλυμα χλωριώδους νατρίου (Aieta et al., 1984) (Aieta et al., 1986) (Masschelein, 1984). Οι αντιδράσεις που πραγματοποιούνται είναι οι επόμενες:



Το διοξείδιο του χλωρίου μπορεί επίσης να παρασκευαστεί με οξίνιση του χλωριώδους νατρίου με υδροχλωρικό ή θειικό οξύ, όπως φαίνεται παρακάτω:



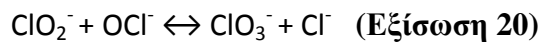
Η δραστηριότητα του χλωρίου στο ClO_2 διαφέρει σημαντικά σε σχέση με τις άλλες μορφές χλωρίου, καθώς η οξειδωτική του βαθμίδα εδώ είναι +4. Η οξειδωτική του κατάσταση του προσδίδει υψηλή δραστηριότητα και όταν απελευθερωθεί στο περιβάλλον δεν παραμένει στην αρχική μορφή για σημαντικό χρόνο. Ως αποτέλεσμα αποσυντίθεται γρήγορα προς χλωριώδη, χλωριούχα και χλωρικά. Σχηματίζει όμως μη πτητικές οργανοχλωριούχες ενώσεις σε πολύ μικρότερο ποσοστό από το χλώριο. Η απολυμαντική του ικανότητα δεν εξαρτάται από το pH και την παρουσία αμμωνίας. Το διοξείδιο του χλωρίου αντιδρά με την αμμωνία, ενώ συμμετέχει σε αντιδράσεις μεταφοράς ηλεκτρονίων, λόγω του ενός ελεύθερου ηλεκτρονίου του χλωρίου. Επίσης, μπορεί να αναχθεί σε χλωριώδες ανιόν (ClO_2^-) εάν υπάρχει σίδηρος ή μαγγάνιο και οργανική ύλη στο νερό (Werdehoff et al., 1987).

Το διοξείδιο του χλωρίου αλλάζει οξειδωτική βαθμίδα με αποτέλεσμα να σχηματίζονται χλωριώδη (ClO_2^-) και χλωρικά ανιόντα (ClO_3^-), ως ενδιάμεσα ανόργανα προϊόντα, πριν την τελική αποικοδόμηση σε αδρανή χλωριούχα ανιόντα. Σε αλκαλικό περιβάλλον ($\text{pH} > 10$) το

διοξείδιο του χλωρίου υδρολύεται ταχύτατα για να δώσει ClO_2^- και ClO_3^- όπως παρουσιάζεται στις παρακάτω αντιδράσεις (Aieta et al., 1986):



Το χλωριώδες ανιόν είναι σχετικά σταθερό παρουσία NOM αλλά μπορεί να οξειδωθεί σε χλωρικά ιόντα εάν προστεθεί στο νερό ελεύθερο χλώριο ως δευτερεύον απολυμαντικό μέσο:



Το χλώριο αποτελεί ισχυρό απολυμαντικό και δρα αποτελεσματικά κατά των βακτηρίων, των πρωτόζωων και των ιών. Οι τιμές του γινομένου C^*t που απαιτούνται για απολύμανση με διοξείδιο του χλωρίου είναι κατά μέσο όρο οι μισές από τις αντίστοιχες του ελεύθερου χλωρίου και ανεξάρτητες από το pH του νερού. Το ClO_2 έχει μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα από το ελεύθερο χλώριο έναντι των παθογόνων βακτηρίων αλλά το ελεύθερο χλώριο είναι πιο αποτελεσματικό έναντι των ιών. Η ποσότητα του διοξειδίου του χλωρίου στο νερό δεν επηρεάζεται από την αμμωνία, όπως γίνεται με την ποσότητα του υπολειμματικού χλωρίου, όμως μπορεί να επηρεαστεί από ανόργανες ουσίες όπως ο σίδηρος, το μαγγάνιο και τα θειικά ιόντα. Αν το νερό είναι πλούσιο σε κάποια από αυτά τα συστατικά τότε μπορεί να είναι δύσκολο να επιτευχθεί σταθερή ποσότητα ClO_2 στο νερό. Αντίθετα η ιδιότητα αυτή μπορεί να το κάνει χρήσιμο, σαν συμπληρωματικό απολυμαντικό, για τη βελτίωση των οργανοληπτικών ιδιοτήτων του νερού που περιέχει τέτοιου είδους ανόργανες ουσίες.

Κύριο πλεονέκτημα της χρήσης του ClO_2 είναι ότι παρέχει μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα από ότι το υποχλωριώδες ή οι χλωραμίνες ενάντια στους μικροοργανισμούς. Παρέχει σημαντική αποτελεσματικότητα στην καταστροφή βακτηρίων και ιών σε ευρεία κλίμακα pH. Ένα μειονέκτημα της μεθόδου είναι ότι σχηματίζονται επιπλέον DBPs όπως χλωριώδη και χλωρικά. Ακόμη το διοξείδιο του χλωρίου θα πρέπει να παραχθεί λίγο πριν τη χρήση του, αυξάνοντας έτσι το κόστος του εξοπλισμού περισσότερο σε σχέση με την μέθοδο της χλωρίωσης.

1.4.4 όζον (O₃)

Το όζον έχει μεγάλη ιστορία όσον αφορά τη χρήση του ως απολυμαντικό μέσο. Έχει την ικανότητα να περιορίζει και να ελέγχει την γεύση, την οσμή και το χρώμα στο πόσιμο ύδωρ. Έχει την πιο ισχυρή βακτηριοκτόνο δράση και αποτελεί ισχυρό οξειδωτικό παράγοντα έναντι της οργανικής ύλης και των μετάλλων όπως ο σίδηρος και το μαγγάνιο. Επειδή πρόκειται για ασταθή ένωση δεν έχει καμία παραμένουσα δράση στο δίκτυο διανομής. Αντίθετα, επειδή οξειδώνει σύνθετες οργανικές ενώσεις σε απλούστερες αφομοιώσιμες μορφές, σε ορισμένες περιπτώσεις μπορεί να αυξήσουν την πιθανότητα ανάπτυξης βακτηρίων στο δίκτυο. Για το λόγο αυτό η οζόνωση χρησιμοποιείται σε βασική απολύμανση, ακολουθούμενη από φιλτράρισμα άμμου ή ενεργού άνθρακα και εφαρμογή τελικής χλωρίωσης με κάποια ουσία η οποία να διαθέτει υπολειμματική δράση στο δίκτυο διανομής νερού.

Το όζον αποτελεί το πιο ισχυρό απολυμαντικό μέσο που μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την απολύμανση του πόσιμου νερού, η δράση του όμως περιορίζεται από το pH, τη συγκέντρωση του μονοξειδίου και του διοξειδίου του άνθρακα και άλλων οργανικών και ανόργανων ενώσεων στο νερό. Ως αποτέλεσμα έχει μεγάλη σημασία η καλή γνώση των χαρακτηριστικών του νερού πριν εφαρμοστεί οζόνωση για την απολύμανσή του.

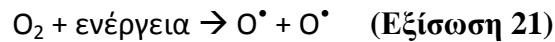
Το όζον οξειδώνει πολλές επιβλαβείς ενώσεις σε απλούστερες αβλαβείς μορφές. Πολύ λίγα DBPs είναι γνωστό ότι σχηματίζονται με τη χρήση όζοντος. Τα πιο επικίνδυνα παραπροϊόντα που παράγονται κατά τη διαδικασία της οζόνωσης είναι ορισμένες ενώσεις του βρωμίου και κατά κύριο λόγω τα βρωμικά ανιόντα (BrO₃⁻). Αυτά μπορούν να σχηματιστούν όταν το προς επεξεργασία νερό περιέχει σημαντικές ποσότητες βρωμιούχων ενώσεων.

Το όζον δεν παραμένει στο νερό για μεγάλο χρονικό διάστημα. Πραγματοποιεί την απολυμαντική του δράση και μετά αποσυντίθεται. Η δράση του είναι ισχυρή και ταχεία. Για παράδειγμα, ο ιός της πολιομυελίτιδας αδρανοποιείται σε ποσοστό 99,99 % σε 4 - 6 λεπτά υπό την επίδραση 0.4 ppm όζοντος (Coin et al., 1987). Επίσης έχει απολυμαντική δράση έναντι των πρωτοζώων (Wickramanayake et al., 1985).

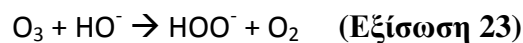
Κατά τη χρήση του όζοντος δε σχηματίζονται πολυαλογονωμένες ενώσεις στο νερό, ενώ αποφεύγονται προβλήματα γεύσης και οσμής στο νερό. Το όζον σε θερμοκρασία και πίεση περιβάλλοντος είναι ένα ασταθές αέριο και μετατρέπεται σε οξυγόνο σε θερμοκρασίες > 35

°C. Το τελευταίο αποτελεί μειονέκτημα της χρήσης όζοντος καθότι αυτό θα πρέπει να παρασκευαστεί στο σημείο που πρόκειται και λίγο πριν τη χρήση του. Επιπλέον βασικό μειονέκτημα αποτελεί ο σχηματισμός επιπλέον DBP, όπως τα βρωμικά. Τέλος η χρήση του όζοντος δε διασφαλίζει υπολειμματική δράση στο σύστημα διανομής νερού.

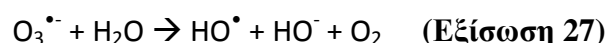
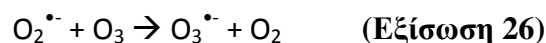
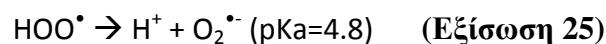
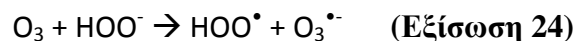
Η πιο διαδεδομένη τεχνική παραγωγής όζοντος αποτελεί η διάσπαση του ατομικού οξυγόνου ως εξής (Glaze et al., 1987):



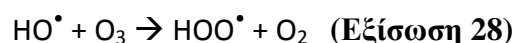
Το 1982, προτάθηκε (Forni et al., 1982) ότι η αποσύνθεση του όζοντος οδηγεί στο σχηματισμό μοριακού οξυγόνου και του ανιόντος υπεροξειδίου, σύμφωνα με την παρακάτω αντίδραση:



Το 1984, ο Buhler και οι συνεργάτες του πρότειναν ως πιθανά προϊόντα της παραπάνω αντίδρασης τις ρίζες HOO^\bullet και $\text{O}_2^{\bullet-}$. Περαιτέρω αντίδραση τόσο της HOO^\bullet όσο και του ιόντος HOO^- οδηγεί στο σχηματισμό της ρίζας υδροξυλίου HO^\bullet , όπως παρουσιάζεται παρακάτω (Buhler et al., 1984):



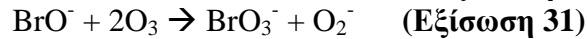
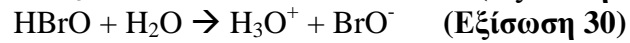
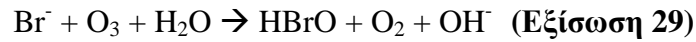
Η ρίζα του υδροξυλίου συμμετέχει στη συνέχεια σε άλλες αντιδράσεις αποσύνθεσης του όζοντος σύμφωνα με την εξής αντίδραση:



Οι ελεύθερες ρίζες HO^\bullet και HOO^\bullet που σχηματίζονται, έχουν υψηλή οξειδωτική ικανότητα και μπορούν να αντιδράσουν με διάφορα συστατικά του νερού, όπως άλατα μετάλλων, οργανική ύλη, H^+ , OH^- , κλπ. Οι ρίζες αυτές είναι και οι κύριες ενεργές ομάδες.

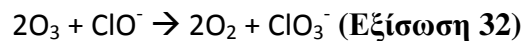
Όταν στο νερό υπάρχουν ανιόντα βρωμίου (Br^-), τότε αυτά, παρουσία όζοντος, οξειδώνονται σε βρώμιο (Br) και οδηγούν στο σχηματισμό βρωμιομένων DBP, περίπτωση

παρόμοια όπως στη μέθοδο της χλωρίωσης. Τα Br^- οξειδώνονται σε διάφορα βήματα και περιλαμβάνουν ως ενδιάμεσα τα HBrO και BrO^- ($\text{pKa}=8.7$) (Praus et al., 2003):



Η μέγιστη δυνατή τιμή του BrO_3^- έχει οριστεί στα 10 $\mu\text{g/l}$ από την US EPA.

Επιπλέον, τα υποχλωριώδη ιόντα που σχηματίζονται κατά τη διεργασία της χλωρίωσης, αντιδρούν με το όζον και σχηματίζουν χλωρικά ανιόντα:



1.4.5 Ακτινοβολία UV

Η υπεριώδης ακτινοβολία (UV) παράγεται από χαμηλής πίεσης λάμπες υδραργύρου. Μολονότι χρησιμοποιείται στην απολύμανση η ίδια η μέθοδος δεν αποτελεί χημικό απολυμαντικό μέσο. Η γενική τάση για αποφυγή προσθήκης χημικών στο νερό έχει δημιουργήσει νέο ενδιαφέρον για τη χρήση της υπεριώδους (UV) ακτινοβολίας σα μέσο αδρανοποίησης ή καταστροφής των βακτηρίων και των ιών, στα οποία εμφανίζει μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα έναντι των πρωτόζωων. Κατά τη χρήση της μεθόδου δε σχηματίζονται DBP. Η μέθοδος αυτή μπορεί να είναι πολύ αποτελεσματική σε νερό που δεν περιέχει αιωρούμενα στερεά που αποτελούν ασπίδα για τους προσκολλημένους σε αυτά οργανισμούς. Για αυτόν τον λόγο η αποτελεσματικότητα και η αποδοτικότητα αυτού του είδους απολύμανσης επηρεάζονται από τη θολερότητα και τις διαλυμένες ουσίες. Το αποτελεσματικότερο μήκος κύματος είναι 240-380 nm.

Για πρακτικούς λόγους χρησιμοποιείται κυρίως σε μικρά συστήματα. Μέσω της UV ακτινοβολίας, οι χημικοί δεσμοί σε πολλά οργανικά μόρια διασπώνται, εξηγώντας με αυτό τον τρόπο την απολυμαντική δράση της μεθόδου αυτής. Η υπεριώδης ακτινοβολία δε σκοτώνει τους μικροοργανισμούς, όπως τα οξειδωτικά απολυμαντικά, αλλά επιδρά στο DNA προκαλώντας αλλαγές στα νουκλεϊκά οξέα με αποτέλεσμα να μην λειτουργεί ο αναπαραγωγικός μηχανισμός. Κατά τη χρήση αυτής της μεθόδου, πρέπει να δίνεται προσοχή στο φαινόμενο της φωτοενεργοποίησης (photoreactivation). Ορισμένοι μικροοργανισμοί, υπό την επίδραση φωτός ορισμένου μήκους κύματος επανεργοποιούνται, πολλαπλασιάζονται και καθίστανται λοιμογόνοι ξανά. Αυτό το φαινόμενο παρατηρείται και

σε βακτήρια που έχουν σημασία για τη δημόσια υγεία, όπως τα κολοβακτηριοειδή και οι σιγκέλλες, δεν παρατηρείται όμως στους ιούς.

Το κύριο μειονέκτημα της μεθόδου αυτής είναι ότι δεν έχει παραμένουσα απολυμαντική δράση στο δίκτυο και συνεπώς η χρήση της απαιτεί δευτεροβάθμια απολύμανση. Παρόλα αυτά, δεν υπάρχουν ενδείξεις ότι αυξάνει το ποσοστό του διαλυμένου βιοδιασπώμενου οργανικού άνθρακα στα υδατικά συστήματα (Shaw et al., 2000). Όταν χρησιμοποιείται σαν δευτεροβάθμιο απολυμαντικό δε μειώνει το σχηματισμό των DBP. Αποτελεί μια τεχνικώς πολύπλοκη μέθοδο και απαιτεί εκπαίδευση για το χειρισμό του εξοπλισμού.

1.4.6 Υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2)

Το υπεροξείδιο του υδρογόνου, αποτελεί ισχυρό οξειδωτικό με καλή αντιβακτηριακή δράση. Όταν το H_2O_2 χρησιμοποιείται σε συνδυασμό με το O_3 τότε οι δύο μέθοδοι παρουσιάζουν εξαιρετική οξειδωτική δράση. Όμως, ένα μέρος του H_2O_2 μπορεί να περάσει στο νερό που πηγαίνει προς κατανάλωση. Μελέτες σε ζώα έχουν δείξει ότι μπορεί να έχει μεταλλάκτική δράση τόσο σε βακτηριακά κύτταρα όσο και σε κύτταρα θηλαστικών. Από τον WHO δεν προβλέπεται κανένα όριο για το παραμένον H_2O_2 , ενώ η USEPA έπειτα από εφαρμογή μαθηματικών μοντέλων πρότεινε τα 0.02 mg/l. Ωστόσο δεν είναι βέβαιο το κατά πόσον το συγκεκριμένο μοντέλο μπορεί να χρησιμοποιηθεί στην περίπτωση του H_2O_2 . Το σχετικά υψηλό κόστος έχει κρατήσει την εφαρμογή του σε περιορισμένα κλίματα, ενώ δεν υπάρχουν διαθέσιμα στοιχεία σχετικά με τα παραπροϊόντα που σχηματίζονται με τη χρήση του.

1.5 Οξυαλογόνα

Τα οξυαλογόνα(oxyhalides) αποτελούν ομάδα χημικών ενώσεων οι οποίες περιέχουν ταυτόχρονα οξυγόνα και αλογόνα σε ένα μόριο. Ως γενική φόρμουλα έχουν τον μοριακό τύπο AO_mX_n , $X = F, Cl, Br, I$, όπου το στοιχείο A μπορεί να είναι ένα από τα στοιχεία της κύριας ομάδας, είτε κάποιο μέταλλο μετάπτωσης, είτε από την κατηγορία των ακτινιδών. Ο όρος οξυαλογόνα μπορεί ακόμη να αναφέρεται σε μεταλλικές ή άλλες κρυσταλλικές ουσίες με την ίδια χημική φόρμουλα αλλά διαφορετική ιοντική δομή (Greenwood et al., 1997).

Η παρουσία των οξυαλογόνα στο πόσιμο νερό αποτελεί κύριο ζήτημα για τη βιομηχανία του νερού. Κατά κύριο λόγο, τα βρωμικά και τα υπερχλωρικά αποτελούν τα οξυαλογόνα αυτά που συγκεντρώνουν πάνω τους τη μεγαλύτερη προσοχή από τις ρυθμιστικές υπηρεσίες. Ο Οργανισμός Προστασίας Περιβάλλοντος (U.S.E.P.A.) έχει προτείνει το ποσοστό στο οποίο η συγκέντρωση του υπερχλωρικού είναι αποδεκτή είναι το 6 $\mu\text{g/l}$. Παρόλα αυτά υπάρχει ασυμφωνία σχετικά με την επιτρεπτή συγκέντρωση των υπερχλωρικών στο πόσιμο νερό καθώς η Διεθνής Ακαδημία Επιστημών (National Academy of Sciences) πρόσφατα την καθιέρωσε σε 24.5 $\mu\text{g/l}$. Στην Αμερική η συγκέντρωση αυτή ποικίλει από πολιτεία σε πολιτεία. Αντίθετα το βρωμικό ιόν, το οποίο αποτελεί παραπροϊόν απολύμανσης, δε θεωρείται τόσο επικίνδυνο και έχει ως ανώτερο επιτρεπτό όριο (maximum contaminant level: M.C.L.) 10 $\mu\text{g/l}$ ως επιτρεπτή τιμή στο πόσιμο νερό. Στα χλωρικά δεν υπάρχει κάποιο όριο στην επιτρεπτή συγκέντρωσή τους, ίσως επειδή υπάρχουν ήδη στο φυσικό περιβάλλον, ενώ μπορούν να εισέλθουν σε αυτό και ως παραπροϊόντα απολύμανσης μέσω των διαδικασιών καθαρισμού του νερού (οζονόλυση, χλωρίωση).

1.5.1. Σύνθεση

Τα οξυαλογόνα μπορούν να θεωρηθούν ενώσεις ανάμεσα σε οξείδια και αλογόνα. Υπάρχουν τρεις γενικοί μέθοδοι σύνθεσης:

- Μερική οξείδωση ενός αλογόνου: $2\text{PCl}_3 + \text{O}_2 \rightarrow 2\text{POCl}_3$. Εδώ η οξειδωτική βαθμίδα αυξάνεται κατά 2 και το ηλεκτρικό φορτίο δεν αλλάζει.
- Μερική αλογόνωση ενός οξειδίου: $2\text{V}_2\text{O}_5 + 6\text{Cl}_2 + 3\text{C} \rightarrow 4\text{VOCl}_3 + 3\text{CO}_2$.
- Αντικατάσταση οξειδίου: $[\text{CrO}_4]^{2-} + 2\text{Cl}^- + 4\text{H}^+ \rightarrow \text{CrO}_2\text{Cl}_2 + 4\text{H}_2\text{O}$.

Επιπρόσθετα, πολλά οξυαλογόνα μπορούν να παραχθούν με αντιδράσεις εναλλαγής αλογόνων. Έτσι προκύπτει ο σχηματισμός μικτών οξυαλογόνων όπως POFCl_2 και CrO_2FCl .

1.5.2 Ιδιότητες

Για τα οξείδια και τα αλογόνα, για δεδομένο αριθμό οξειδωτικής κατάστασης ενός στοιχείου A, εάν δύο αλογόνα αντικαταστήσουν ένα οξυγόνο και αντίστροφα, τότε το συνολικό φορτίο του μορίου δεν αλλάζει, αλλά ο αριθμός συναρμογής του κεντρικού ατόμου μειώνεται κατά ένα. Για παράδειγμα, και το οξυχλωρίδιο του φωσφόρου (POCl_3) και το πενταχλωρίδιο του φωσφόρου (PCl_5) είναι ουδέτερες ομοιοπολικές ενώσεις του φωσφόρου με οξειδωτική κατάσταση +5. Εάν ένα άτομο οξυγόνου απλά αντικατασταθεί από ένα άτομο αλογόνου τότε το φορτίο αυξάνεται κατά +1 ενώ ο αριθμός συναρμογής δεν αλλάζει. Αυτό φαίνεται από την παρακάτω αντίδραση του μίγματος χρωμικού ή διχρωμικού άλατος και του χλωριούχου καλίου με μικρή ποσότητα θειικού οξέος: $[\text{Cr}_2\text{O}_7]^{2-} + 4\text{Cl}^- + 6\text{H}^+ \rightarrow 2\text{CrO}_2\text{Cl}_2 + 3\text{H}_2\text{O}$. Το χλωριούχο χρωμύλιο (CrO_2Cl_2) που παράγεται δεν έχει ηλεκτρικό φορτίο ενώ αποτελεί ένα πτητικό ομοιοπολικό μόριο το οποίο μπορεί να απομονωθεί από το μίγμα της ένωσης μέσω απόσταξης (Sisler et al., n.d.).

Τα οξυαλογόνα των στοιχείων που βρίσκονται σε υψηλές οξειδωτικές καταστάσεις, αποτελούν ισχυρούς οξειδωτικούς παράγοντες με οξειδωτική ικανότητα όμοια με του αντίστοιχου οξειδίου ή αλογόνου. Τα περισσότερα οξυαλογόνα υδρολύονται εύκολα. Για παράδειγμα, το χλωριούχο χρωμύλιο (CrO_2Cl_2) υδρολύεται σε χρωμικό ($[\text{Cr}_2\text{O}_7]^{2-}$) με την αντίθετη αντίδραση σύνθεσης. Η δύναμη που οδηγεί την αντίδραση αυτή είναι ο σχηματισμός δεσμών του στοιχείου A με το οξυγόνο (A-O δεσμοί) που είναι ισχυρότερος από το σχηματισμό δεσμών του στοιχείου A με το χλώριο (A-Cl δεσμοί). Η ενθαλπία είναι ευνοϊκή και συνεισφέρει στην αλλαγή της ελεύθερης ενέργειας Gibbs της αντίδρασης.

Πολλά οξυαλογόνα μπορούν να δράσουν ως οξέα κατά Lewis. Τέτοια οξυαλογόνα έχουν συνήθως αριθμό συναρμογής 3 ή 4 και με την προσθήκη ενός ή περισσότερων ζευγών ηλεκτρονίων από μία βάση Lewis, ο αριθμός συναρμογής γίνεται 5- ή 6-. Ανιόντα οξυαλογόνων όπως $[\text{VOCl}_4]^{2-}$ μπορούν να βρεθούν ως συμπλέγματα οξέων – βάσεων του οξυαλογόνου VOCl_2 με περισσότερα ιόντα αλογόνων που δρουν ως βάσεις κατά Lewis. Άλλο παράδειγμα αποτελεί το VOCl_2 το οποίο σχηματίζει τριγωνικό δυπυραμιδικό σύμπλοκο του $\text{VOCl}_2(\text{N}(\text{CH}_3)_3)_2$ με βάση την τριμεθυλαμίνη.

Το δονητικό φάσμα πολλών οξυαλογόνων έχει δοθεί λεπτομερώς παρέχοντας έτσι σημαντικές πληροφορίες για τις ενέργειες των δεσμών. Για παράδειγμα, στο μόριο του CrO_2F_2 , οι εκτάσεις δόνησης του δεσμού Cr–O εμφανίζονται στους 1006 cm^{-1} και στους 1016 cm^{-1} , ενώ οι εκτάσεις δόνησης του δεσμού Cr–F εμφανίζονται στους 727 cm^{-1} και στους 789 cm^{-1} . Η διαφορά είναι πολύ μεγάλη για να οφείλεται στη διαφορά των μαζών των ατόμων O και F. Αντίθετα, φαίνεται ότι ο δεσμός Cr–O είναι πολύ πιο δυνατός από τον δεσμό Cr–F. Γενικά οι δεσμοί M–O θεωρούνται ως διπλοί δεσμοί και αυτή η άποψη ενδυναμώνεται από τις μετρήσεις των μηκών δεσμών τους. Συνεπάγεται λοιπόν ότι τα στοιχεία A και O είναι χημικά συνδεδεμένα με ένα σ και ένα π δεσμό (Nakamoto et al., 1997).

Οξυαλογόνα στοιχείων σε υψηλές οξειδωτικές καταστάσεις έχουν έντονο χρώμα που οφείλεται σε μεταπτώσεις μεταφοράς φορτίου από το ligand στο μέταλλο (LMCT) (Atkins et al., 2009).

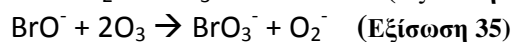
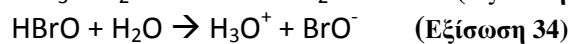
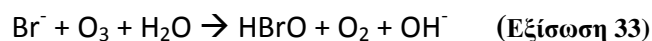
1.6 Βρωμικά

Τα βρωμικά ιόντα αποτελούν παραπροϊόντα απολύμανσης (Disinfection By-Products – DBP) που προέρχονται από την αντίδραση του όζοντος, όταν αυτό χρησιμοποιείται ως απολυμαντικό, με τα φυσικά συστατικά του νερού όπως τα υπολείμματα οργανικής ύλης (Natural Organic Matter – NOM) (Cordeiro.et.al, 2011). Η κατάποση μεγάλων ποσοστών βρωμικών ιόντων φαίνεται να οδηγεί σε ενοχλήσεις του γαστρεντερικού, όπως ναυτία, εμετός, διάρροια και κοιλιακούς πόνους (Department of Health, 2006). Τα βρωμικά αποτελούν ένα ενεργό οξειδωτικό στα βιολογικά συστήματα με αποτέλεσμα να έχουν παρατηρηθεί και περιστατικά όπου υπάρχει αύξηση των καρκινικών κυττάρων στα νεφρά και στα θηροειδή ωοθυλάκια των ποντικών (Bromate, 1999) (Kurokawa.et.al, 1990). Τα παραπάνω στοιχεία οδηγούν στο συμπέρασμα ότι εάν δεν υπάρξει συμβιβασμός στη μικροβιολογική ποιότητα του νερού, τότε θα πρέπει να λαμβάνονται τα απαραίτητα μέτρα για την ελαχιστοποίηση των παραπροϊόντων απολύμανσης στο νερό, καθώς ελλοχεύει κίνδυνος αύξησης των βρωμικών. Ήδη από τη δεκαετία του 1970 γίνεται φανερό ότι η χλωρίωση του πόσιμου νερού οδηγεί στην παραγωγή καρκινογόνων παραπροϊόντων απολύμανσης (Disinfection by-Products-DBP) όπως τα τριαλογονομεθάνια (Trihalomethane-THM) (Kumar.et.al, 2011). Έκτοτε μελετήθηκαν πολλές εναλλακτικές μέθοδοι απολύμανσης για την αποφυγή παραγωγής μεγάλων ποσοτήτων DBP. Ένας από τους τρόπους αυτούς είναι η οζόνωση, η οποία θεωρείται ως η πιο αποτελεσματική εναλλακτική τεχνική απολύμανσης μετά την χλωρίωση καθώς δεν αφήνει γεύση στην υπολειμματική του συγκέντρωση, χρώμα ή οσμή στο νερό (Lawrence.et.al, 1980). Ενώ, όμως, η οζόνωση έχει θεσπιστεί ως μια από τις κύριες μεθόδους απολύμανσης στην βιομηχανία του πόσιμου νερού, επικρατεί ένα κύριο πρόβλημα που αφορά το σχηματισμό των βρωμικών ανιόντων λόγω της οξείδωσης των ιόντων βρωμιδίου.

Η συγκέντρωση των βρωμιδίων (Br^-) και η συγκέντρωση του όζοντος που χρησιμοποιείται κατά την απολύμανση μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την εύρεση της ποσότητας των βρωμιδίων που θα γίνουν βρωμικά, καθώς συνήθως το 50 % των βρωμιδίων γίνονται βρωμικά (Scientific, 2004). Τα βρωμικά σχηματίζονται κατά τη διαδικασία απολύμανσης των νερών με οζόνωση όταν αυτά περιέχουν βρωμίδια ή με την επεξεργασία τους με υποχλωριώδη προϊόντα που περιέχουν ακαθαρσίες βρωμικών (Boylard.et.al, 1992) (Quevauviller.et.al, 2006).

Γενικότερα, το όζον έχει μεγάλη ιστορία όσον αφορά την απολύμανση του νερού και στον έλεγχο της γεύσης, της οσμής και του χρώματός αυτού. Αυτό γιατί αποτελεί έναν από τους ισχυρότερους βιοκτόνους και οξειδωτικούς παράγοντες. Το όζον, ακολούθως, δρα με την οργανική ύλη (Natural Organic Matter – NOM) και οδηγεί στο σχηματισμό αλδεύδων όπως η φορμαλδεύδη, η ακεταλδεύδη και άλλες οργανικές ενώσεις σε χαμηλές συγκεντρώσεις (Jacangelo et al., 1989). Σε νερό που έχει υποστεί απολύμανση υπάρχουν κυρίως φορμικά και οξαλικά οξέα (Song et al., 1997).

Τα ιόντα βρωμίου οξειδώνονται από το όζον δίνοντας BrO_3^- ως τελικό προϊόν και HBrO και BrO^- ως ενδιάμεσα προϊόντα. Τα βήματα που οδηγούν στο σχηματισμό των βρωμικών για $\text{pKa}=8.7$, δίνονται παρακάτω (Praus et al., 2003):



Η μέγιστη δυνατή τιμή του BrO_3^- έχει οριστεί στα 10 $\mu\text{g/l}$ από την US EPA.

Το πρόδρομο ιόν των βρωμικών, το Br^- προέρχεται από ανθρωπογενείς παράγοντες αλλά υπάρχει και στη φύση. Πηγές φυσικής προέλευσης αποτελούν το θαλασσινό νερό, τα φυσικά ύδατα/υπόγεια ύδατα και τα ιζήματα. Πηγές ανθρώπινης προέλευσης αποτελούν τα φυτοφάρμακα, τα φάρμακα και οι βιομηχανικοί διαλύτες, τα πρόσθετα βενζίνης και η απολύμανση νερού (Kumar.et.al, 2011).

Στα νερά της Ελλάδας και ειδικότερα της Κρήτης, υπάρχουν μεγάλες συγκεντρώσεις Br^- και χαμηλά ποσοστά NOM. Οι δυο αυτοί παράγοντες συνδέονται με το φαινόμενο της Ερημοποίησης. Η Ερημοποίηση αποτελεί ένα από τα πιο σοβαρά προβλήματα που αντιμετωπίζει η μεσόγειος σήμερα. Ο λόγος ύπαρξης του φαινομένου έγκειται στις αυξημένες ανθρώπινες εργασίες τα τελευταία χρόνια. Οι αυξημένες καλλιέργειες, η αποψίλωση των δασών και σε μικρότερο ποσοστό η άρδευση και η αστικοποίηση είναι κάποιοι από τους λόγους που εμφανίζεται το συγκεκριμένο φαινόμενο (climate.change, 2017).

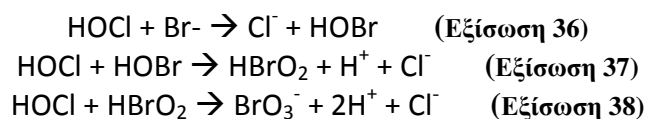
Οι υψηλές θερμοκρασίες οδηγούν στην μείωση της γονιμότητας του εδάφους λόγω αυξημένων ρυθμών αποικοδόμησης και συνεπώς μειωμένου ποσοστού οργανικής ύλης.

Μείωση του ποσοστού των κατακρημνίσεων ή αύξηση του ποσοστού της εξάτμισης οδηγεί σε αύξηση των θαλάσσιων συνθηκών. Δηλαδή, περιοχές που χάνουν μεγάλα ποσοστά νερού είτε λόγω υπέρ άρδευσης είτε λόγω εξάτμισης του από τις πηγές του,

μπορούν εύκολα να αναμιχθούν με νερό θάλασσας το οποίο κινείται υπόγεια από τη θάλασσα προς την αρχική πηγή νερού που έχει στερέψει.

Γενικά, όταν τα βρωμιούχα οξειδώνονται σχηματίζουν μία «ενεργή μορφή ιόντων βρωμιδίου». Στις σύνηθες συνθήκες επεξεργασίας του νερού, τα είδη των ενεργών βρωμιούχων ιόντων είναι το ζεύγος οξέος/βάσεως, HOBr/OBr⁻, το υποβρωμιούχο οξύ και υποβρωμιούχο ιόν. Το ζεύγος αυτό αποτελείται από σταθερά pKa=8.8 και συνεπώς σε pH > 8.8 το OBr⁻ είναι το κυρίαρχο ιόν, ενώ σε pH < 8.8 το HOBr είναι το κυρίαρχο ιόν. Ρυθμίζοντας το pH, αυτόματα ρυθμίζεται το ζεύγος HOBr/OBr⁻ και ακολούθως ο σχηματισμός των βρωμικών και βρωμιομένων παραπροϊόντων απολύμανσης. Το όζον αλλά και η χλωρίωση μπορούν να ενεργοποιήσουν τα ιόντα βρωμιδίου.

Ομοίως, τα βρωμικά ιόντα μπορούν να παραχθούν και κατά την χλωρίωση σύμφωνα με τις παρακάτω αντιδράσεις (Cross-oxidation):

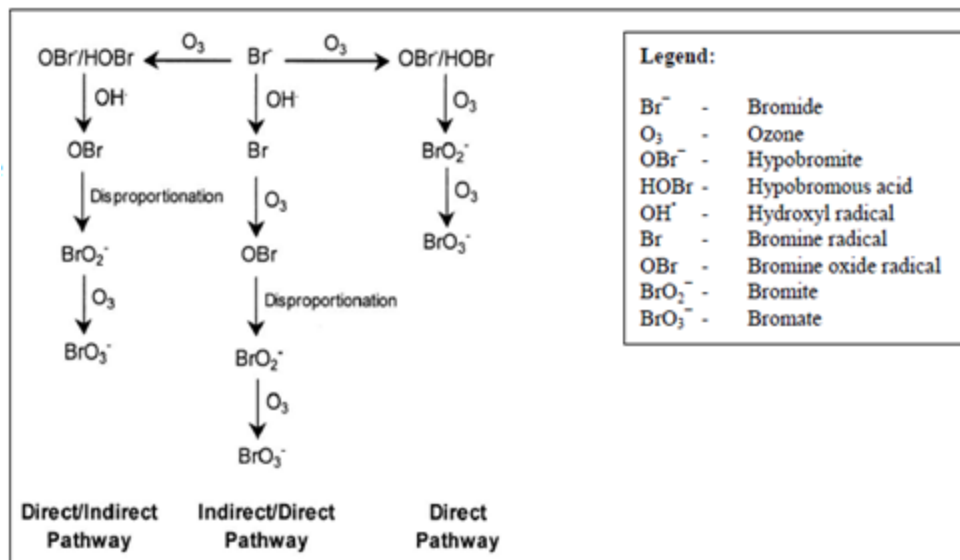


Ο Haag και οι συνεργάτες του έδειξαν ότι τα βρωμικά ιόντα μπορούν να παραχθούν από την χλωρίωση χωρίς την παρουσία φωτός (Haag.et.al., 1981). Βρωμικά σε χαμηλές συγκεντρώσεις σχηματίζονταν σε χρόνο ημερών όταν στο διάλυμα υπήρχε ενεργή μορφή ιόντων βρωμιδίου με αυτό-οξείδωση (auto-oxidation). Εφόσον η ενεργή μορφή του βρωμιδίου εμφανίζεται όταν επιδρά το χλώριο πάνω σε αυτό, τότε αντίστοιχα δημιουργούνται βρωμικά βάση των παραπάνω αντιδράσεων (Cross-oxidation) (DWE.7101, 1993).

Παράγοντες που επηρεάζουν το σχηματισμό των βρωμικών ιόντων (Health-Canada, 2016):

Οξόνωση: το όζον αντιδρά με το ιόν του βρωμιδίου με τρεις τρόπους. Ένα «άμεσο μονοπάτι» όπου το όζον αντιδρά με το βρωμίδιο και σχηματίζουν HOBr/OBr⁻ και με επιπλέον οξείδωση του OBr⁻ από το όζον σχηματίζεται το βρωμικό. Ένα «άμεσο/ έμμεσο» μονοπάτι όπου το όζον αντιδρά με το βρωμίδιο και σχηματίζουν HOBr/OBr⁻ και με επιπλέον οξείδωση από ρίζες OH[•] και O₃ σχηματίζεται βρωμικό ιόν. Τέλος υπάρχει το «έμμεσο/άμεσο» μονοπάτι όπου το ιόν του βρωμιδίου οξειδώνεται από ρίζες OH[•] και σχηματίζονται ρίζες βρωμιδίων. Με επιπλέον οξείδωση με όζον σχηματίζεται το βρωμικό

ίον. Όλες αυτές οι αντιδράσεις είναι περίπλοκες και μη γραμμικές καθώς συμμετέχουν δύο οξειδωτικά, OH^\bullet και O_3 .



Σχήμα 2. Κύρια μονοπάτια σχηματισμού βρωμικών ιοντών (Song, 1997).

Υποχλωριώδη διαλύματα: τα υποχλωριώδη διαλύματα προκύπτουν από την ηλεκτρόλυση χλωριδίου του νατρίου και ασβεστίου σε άλμη. Το ιόν του βρωμιδίου συνυπάρχει με το χλωρίδιο στην άλμη και οξειδώνεται σε βρωμικό κατά την on-site διεργασία της ηλεκτρόλυσης ή κατά την βιομηχανοποίηση του. Το ποσό του βρωμικού που θα παραχθεί εξαρτάται από τις πηγές του αλατιού. Το βρωμίδιο βρίσκεται σε διάφορες συγκεντρώσεις ανάλογα την πηγή του αλατιού που χρησιμοποιείται για την κατασκευή των υποχλωριώδων αλάτων.

Τρόποι εμποδισμού σχηματισμού βρωμικών:

Οζόνωση: για την ελαχιστοποίηση της σχηματιζόμενης ποσότητας βρωμικών θα πρέπει η εκάστοτε εταιρεία να γνωρίζει την ποιότητα του νερού της (πηγή του νερού, χαρακτηριστικά του, συνθήκες εμφιάλωσης και στόχοι επεξεργασίας) και να προσθέτει συγκεκριμένη ποσότητα όζοντος. Η χρήση του όζοντος μπορεί να αυξήσει το οργανικό υλικό του νερού και κατά συνέπεια τα παραπροϊόντα απολύμανσης. Συνεπώς, σταθεροποιώντας την ποιότητα του νερού γίνεται εφικτή και η περιορισμένη δημιουργία βρωμικών.

Υποχλωριώδη διαλύματα: η ύπαρξη φωτός, υψηλών θερμοκρασιών, οργανικής ύλης και βαρέων μετάλλων όπως χαλκός, νικέλιο, κοβάλτιο, αυξάνουν την μετατροπή της χλωρίνης σε υποχλωριώδη διαλύματα. Παρ' όλα αυτά είναι πολύ μικρό το ποσοστό των

βρωμικών που σχηματίζεται και εξαρτάται από την δόση της χλωρίνης που εφαρμόζεται και το ποσοστό της χλωρίνης στα αλάτια που χρησιμοποιούνται.

Παράγοντες που επηρεάζουν το σχηματισμό βρωμικών κατά την οζόνωση:

Συγκέντρωση ιόντος Br⁻: γενικά αναφέρεται ότι όσο αυξάνεται η [Br⁻] τόσο αυξάνεται η συγκέντρωση των σχηματιζόμενων [BrO₃⁻] κατά την οζόνωση. Όμως υπάρχουν κι άλλες παράμετροι που επηρεάζουν τη διαδικασία οξείδωσης, με αποτέλεσμα να είναι δύσκολη η πρόβλεψη του ποσοστού των βρωμικών που θα σχηματιστούν (Gilligly.et.al., 2001).

Δόση O₃: αυξάνοντας την δόση του όζοντος, αυξάνεται και το ποσοστό των βρωμικών. Το παραπάνω συμπέρασμα έχει να κάνει με την εποχική διακύμανση της ποιότητας του νερού, όπως αλλαγές στην οργανική ύλη και τη θερμοκρασία. Οι εταιρείες θα πρέπει να λάβουν υπόψιν τους αυτές τις διακυμάνσεις και να ρυθμίζουν ανάλογα το ποσοστό του όζοντος.

Θερμοκρασία: η θερμοκρασία επηρεάζει το σχηματισμό των βρωμικών σε τρία επίπεδα. Πρώτον, το διαλυμένο όζον είναι πιο σταθερό σε χαμηλές θερμοκρασίες. Δεύτερον, οι ρυθμοί οξείδωσης αυξάνονται με την αύξηση της θερμοκρασίας. Τρίτον, η σταθερά pKa του ζεύγους HOBr/OBr⁻ μειώνεται όσο αυξάνεται η θερμοκρασία. Συνεπώς, η παθογόνος αδράνεια εξαρτάται από την θερμοκρασία. Τέλος, η δράση των ριζών υδροξυλίου δεν εξαρτάται από τη θερμοκρασία, μόνο οι αντιδράσεις του όζοντος (Krasner.et.al, 1991) (Elovitz.et.al, 2000).

pH: το pH αποτελεί σημαντικό παράγοντα για την ισορροπία του ζεύγους HOBr/OBr⁻. Υψηλό pH οδηγεί την ισορροπία προς τη δημιουργία του OBr⁻, το οποίο δρα με το όζον και τις ρίζες υδροξυλίου και σχηματίζουν βρωμικά. Αντίθετα, σε χαμηλό pH, η ισορροπία οδηγείται προς το σχηματισμό του HOBr που είναι λιγότερο πιθανό να σχηματίσει βρωμικά ιόντα, καθώς και ο ρυθμός αποικοδόμησης του όζοντος είναι πιο αργός και χρειάζεται πολύ λιγότερη ποσότητα για την επίτευξη της απολύμανσης.

Αλκαλικότητα: το κύριο μονοπάτι της αλκαλικότητας είναι το ανθρακικό σύστημα (H₂CO₃), που βρίσκεται σε ισορροπία κατά τη διεργασία του νερού. Το δίκαρβονυλικό (HCO₃⁻) και καρβονυλικό (CO₃²⁻) σύστημα αντιδρά με τις ρίζες υδροξυλίου κατά συνέπεια θα έπρεπε να μειώνεται ο σχηματισμός των βρωμικών καθώς εμποδίζονται και το «άμεσο/έμμεσο» μονοπάτι και το «έμμεσο/άμεσο» μονοπάτι. Ακόμη μειώνεται και η αποδόμηση του όζοντος. Παρόλα αυτά, παράγεται ρίζα καρβονυλίου (CO₃^{•-}) που είναι ήπιο οξειδωτικό και βοηθάει στην παραγωγή βρωμικών μέσω του «άμεσου» μονοπατιού

(Gunten, 1995). Παρατηρήθηκε ότι αύξηση της αλκαλικότητας οδηγεί σε αύξηση της παραγωγής των βρωμικών (Krasner.et.al, 1993; Song.et.al, 1996). Συνεπώς η πηγή του νερού και τα χαρακτηριστικά της έχουν τον πρωτεύοντα ρόλο.

Οργανική Ύλη (NOM): όταν η οργανική ύλη υπάρχει στο νερό, τα βρωμικά τείνουν να είναι πιο χαμηλά σε συγκεντρώσεις, γιατί η οργανική ύλη αντιδρά με το όζον και τις ρίζες υδροξυλίου και κατά συνέπεια μειώνονται τα ποσοστά των οξειδωτικών για τα ιόντα βρωμιδίου. Το ποσοστό των βρωμικών που σχηματίζονται εξαρτάται από τη φύση και το ποσοστό της οργανικής ύλης. Οι λόγοι που η οργανική ύλη είναι σημαντική είναι οι εξής: 1) ασκεί μεγάλη ποσότητα όζοντος, 2) αντιδρά με το ζεύγος HOBr/OBr⁻ για τον σχηματισμό παραπροϊόντων απολύμανσης όπως βρωμοφόρμιο και βρωμοακετικά οξέα, 3) αντιδρά με τις ρίζες υδροξυλίου εμποδίζοντας έτσι το σχηματισμό των βρωμικών από δύο μονοπάτια, 4) όταν δρα με το όζον, σχηματίζει ρίζες υδροξυλίου, υπεροξειδίου του υδρογόνου (H₂O₂) και σουπεροξειδίου (O₂⁻) που επιταχύνουν την αποδόμηση του όζοντος (Westerhoff.et.al., 1999) (Amy.et.al, 1997).

Αμμωνία: η αμμωνία αντιδρά ταχύτατα με το ζεύγος HOBr/OBr⁻ για το σχηματισμό μονοβρωμαμινών και κατά συνέπεια εμποδίζει τα «άμεσα» και «άμεσα/έμμεσα» μονοπάτια του σχηματισμού των βρωμικών. Παρόλα αυτά τα βρωμικά εξακολουθούν να σχηματίζονται μέσω του «έμμεσου/άμεσου» μονοπατιού, σε μικρότερο ποσοστό.

Υπεροξειδίου του Υδρογόνου: το υπεροξειδίου του υδρογόνου αυξάνει την ταχύτητα αποδόμησης του όζοντος σε ρίζες υδροξυλίου. Η διάσπαση αυτή οδηγεί σε κατανάλωση του HOBr και σχηματισμό ιόντων βρωμιδίου, αντιδράσεις που εξαρτώνται από το pH. Βρέθηκε ότι σε υψηλό pH μειώνεται ο σχηματισμός των βρωμικών, ενώ σε χαμηλό pH αυξήθηκε ο σχηματισμός των βρωμικών (Amy.et.al., 1999). Η χρήση του υπεροξειδίου θα πρέπει να γίνεται προσεκτικά καθώς αποδομεί το όζον και ενδέχεται να θέσει την απολύμανση ως μη επαρκή.

Γενικά **οι εταιρείες θα πρέπει να γνωρίζουν την ποιότητα του νερού που έχουν**. Από την οργανική ύλη μέχρι το pH και από το ποσοστό της αμμωνίας μέχρι και τις εποχικές διακυμάνσεις, όλα επηρεάζουν τα χαρακτηριστικά του νερού και κατ' επέκταση την εμφάνιση των παραπροϊόντων απολύμανσης, όπως τα βρωμικά (Health-Canada, 2016).

1.6.1 Επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία

Τα βρωμικά ιόντα έχουν χαρακτηριστεί ως καρκινογόνα και συνεπώς επικίνδυνα για την υγεία σε πολύ υψηλές συγκεντρώσεις. Σε έρευνες που έχουν πραγματοποιηθεί σε τρωκτικά και ποντίκια, έγινε φανερό ότι η βραχυπρόθεσμη έκθεση τους σε βρωμικά ιόντα μέσω του νερού, οδηγούσε στην μείωση του σωματικού βάρους, αύξηση του βάρους των εσωτερικών οργάνων (νεφρά, συκώτι, πνεύμονες), ενδείξεις τοξικότητας στον ορό του αίματος, στο συκώτι και στα νεφρά (Kawana et al., 1991) (Kurokawa et al., 1990). Ακολουθώντας, μέσα από την μακροχρόνια έκθεση των ποντικών στο βρωμικό ιόν, παρατηρήθηκε ότι κύριος στόχος του μηχανισμού τοξικότητας είναι τα νεφρά. Σε αρκετά τρωκτικά παρατηρήθηκε μειωμένο μέγεθος πυρήνα (karyoryknotic foci) (Nakano et al., 1989).

Όσον αφορά τον ανθρώπινο παράγοντα, οι περισσότερες περιπτώσεις δηλητηρίασης από βρωμικά ιόντα, προέρχονται από τυχαία ή εκ προθέσεως κατάποση αυτών (WHO, 2005). Η τοξική επίδραση των βρωμικών ιόντων, είτε αυτά προέρχονται από το νερό είτε από άλατα αυτού, μπορεί να προκαλέσει ναυτία, εμετό, κοιλιακό πόνο, ανουρία, διάρροια, πρόβλημα στο κεντρικό νευρικό σύστημα, αιμολυτική αναιμία και πνευμονικό οίδημα. Σχεδόν όλα τα παραπάνω προβλήματα υγείας είναι αντιστρεπτά σε αντίθεση με την νεφρική ανεπάρκεια και την κώφωση, που δημιουργούν μόνιμη βλάβη στον ανθρώπινο οργανισμό (Quick et al., 1975).

Η USEPA, έθεσε το όριο των 10 μg/l ως ημερήσια δόση βρωμικών ιόντων που μπορεί να καταναλώσει κάποιος και να μην αναπτύξει καρκίνο μακροπρόθεσμα. Οι πιο ευπαθείς ομάδες είναι οι γυναίκες και τα παιδιά. Υποθέτοντας ότι ένας ενήλικας καταναλώνει περίπου 2 λίτρα νερό την ημέρα, και το όριο είναι θεσπισμένο στα 10 μg/l, τότε κινδυνεύουν περίπου στο 1/6. Η δημιουργία καρκίνου από το πόσιμο νερό κυμαίνεται σε δύο από τους δέκα χιλιάδες ανθρώπους. Γεγονός που φανερώνει ότι υπερτιμάται το ρίσκο δημιουργίας καρκινικών κυττάρων, καθώς οι περισσότεροι άνθρωποι δύσκολα θα κατανάλωναν δύο λίτρα νερό κάθε μέρα για το υπόλοιπο της ζωής τους (DOH, 2006).

Για να επιτευχθούν όλα τα παραπάνω προβλήματα υγείας, θα πρέπει ο άνθρωπος να εκτίθεται σε μεγάλες ποσότητες βρωμικών αλάτων και ιόντων καθημερινά. Ακόμη, θα πρέπει να γίνει αντιληπτό ότι όλα τα πειράματα για τη δημιουργία καρκίνου πραγματοποιήθηκαν σε τρωκτικά και ποντίκια που είναι πιο ευαίσθητα από τον άνθρωπο. Ο άνθρωπος χρειάζεται μεγάλες ποσότητες για να επιτύχει αυτό το αποτέλεσμα. Σε κάθε

περίπτωση όμως, που κάποιος εμφανίζει οποιαδήποτε από τις παραπάνω ασθένειες, οφείλει να επισκεφτεί ειδικό γιατρό.

1.7 Χλωρικά

Το χλωρικό αποτελεί ιόν με μοριακή φόρμουλα ClO_3^- , όπου το χλώριο βρίσκεται στην οξειδωτική κατάσταση +5. Όπως προβλέπεται από τη θεωρία της VSEPR, το χλωρικό ιόν έχει τριγωνική πυραμιδική δομή. Τα χλωρικά ιόντα συναντώνται στη φύση σε υψηλές συγκεντρώσεις σε άγονες κυρίως, περιοχές (Rao et al., 2010). Σε παλιότερη μελέτη που πραγματοποιήθηκε στο νερό της βροχής έγινε φανερό ότι τα ποσοστά των χλωρικών ήταν παρόμοια με τα ποσοστά των υπερχλωρικών. Δημιουργείται έτσι η υποψία ότι τα χλωρικά και τα υπερχλωρικά ενδεχομένως να μοιράζονται κάποιον κοινό μηχανισμό σχηματισμού, ο οποίος είναι μέρος του βιογεωχημικού κύκλου του χλωρίου. Από μικροβιολογικής άποψης, η παρουσία των χλωρικών στο φυσικό περιβάλλον μπορεί να εξηγήσει το λόγο που υπάρχει ποικιλία μικροοργανισμών ικανών να ανάξουν το χλωρικό ιόν σε χλώριο (Coates et al., 2004).

Στην απολύμανση του πόσιμου νερού χρησιμοποιούνται διάφοροι τύποι χλωρίου, λόγω της ικανότητάς του να διατηρεί μία επαρκή ποσότητα υπολειμματικού χλωρίου και ως αποτέλεσμα την διαρκή απολύμανση του νερού κατά τη διανομή του στο δίκτυο. Το χλώριο χρησιμοποιείται από τις αρχές του προηγούμενου αιώνα για την απολύμανση του νερού. Ένας πρώτος τρόπος είναι η χρήση ελεύθερου χλωρίου. Εισάγεται ως αέριο είτε ως υποχλωριώδες νάτριο ή ασβέστιο. Παρόλα αυτά υπάρχουν πολλά παραπροϊόντα απολύμανσης και κατά κύριο λόγο THMs, και άλλα DBPs που παράγονται από την αντίδραση του ελεύθερου χλωρίου με την οργανική ύλη, όπως τα χουμικά και φουλβικά οξέα (Janda et al., 2000). Ένας δεύτερος τρόπος απολύμανσης είναι η χρήση χλωραμινών, δηλαδή η προσθήκη χλωρίου και αμμωνίας στο νερό για το σχηματισμό χλωραμινών. Επειδή οι χλωραμίνες αποτελούν ασθενής οξειδωτικούς παράγοντες, είναι λιγότερο πιθανή η αντίδρασή τους με την NOM. Ο βασικός τρόπος απολύμανσης είναι η χρήση διοξειδίου του χλωρίου.

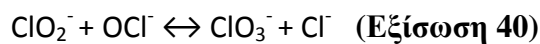
Όπως προαναφέρθηκε στην ενότητα 1.4.3, τα χλωρικά ιόντα σχηματίζονται κατά την διάλυση διοξειδίου του χλωρίου στο νερό. Καθώς ο χρόνος που έχει πραγματοποιηθεί η απολύμανση αυξάνεται, καθίσταται αναγκαία η προσθήκη επιπλέον απολυμαντικού

προϊόντος για την επίτευξη και πάλι της επιθυμητής ποσότητας υπολειμματικού χλωρίου. Συνεπώς αυξάνεται η ποσότητα των χλωρικών ιόντων στο νερό, αντίδραση που ευνοείται σε αλκαλικά περιβάλλοντα.

Όταν πρόκειται για το σχηματισμό του χλωρικού ανιόντος, το διοξείδιο του χλωρίου αλλάζει οξειδωτική βαθμίδα με αποτέλεσμα να σχηματίζονται χλωριώδη (ClO_2^-) και χλωρικά ανιόντα (ClO_3^-), ως ενδιάμεσα ανόργανα προϊόντα, πριν την τελική αποικοδόμηση σε αδρανή χλωριούχα ανιόντα. Σε αλκαλικό περιβάλλον ($\text{pH} > 10$) το διοξείδιο του χλωρίου υδρολύεται ταχύτατα για να δώσει ClO_2^- και ClO_3^- όπως παρουσιάζεται στις παρακάτω αντιδράσεις (Aieta et al., 1986):



Το χλωριώδες ανιόν είναι σχετικά σταθερό παρουσία NOM αλλά μπορεί να οξειδωθεί σε χλωρικά ιόντα εάν προστεθεί στο νερό ελεύθερο χλώριο ως δευτερεύον απολυμαντικό μέσο:



1.7.1 Επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία

Όσον αφορά την τοξικότητα του χλωρικού ιόντος, η δόση που μπορεί να αποβεί θανατηφόρα για ένα ζώο, έχει οριστεί στα 600 mg/kg/bodyweight (Sheahan et al., 1971). Δόση, όμως, που αφορά την μία ημέρα. Σε βραχυπρόθεσμη έκθεση ζώων σε αυτό, σε αναλογία 360 mg/kg/bodyweight την ημέρα, δεν παρατηρήθηκε καμία αρνητική επίπτωση στον οργανισμό των σκύλων που συμμετείχαν. Σε ανάλογη έρευνα που διεξήχθη σε ποντίκια, έγινε αντιληπτή η πρόσληψη σωματικού βάρους των ζώων αυτών, ενώ έχαναν σε βάρος των εσωτερικών τους οργάνων. Σε κάποια υπήρξε μείωση της αιμογλοβίνης και του αιματοκρίτη τους. Επίσης παρατηρήθηκε εξάντληση της βλεννογόνου υπόφυσης και του θυρεοειδούς αδένα όταν αυξήθηκε αισθητά η ημερήσια δόση χλωρικών. Η δόση στην οποία δεν υπήρχε ιδιαίτερη επίπτωση στον οργανισμό (No-Observed-Adverse-Effect-Level, NOAEL) ορίστηκε στα 30 mg/kg/bodyweight (McCaughey et al., 1995).

Δεν υπάρχουν προς το παρόν έρευνες που μελετούν την ικανότητα του χλωρικού ανιόντος να προκαλεί καρκίνο είτε στα ζώα είτε στον άνθρωπο (WHO, 2005). Αυτό γιατί, όπως παρατηρήθηκε παραπάνω, δεν υπάρχουν ενδείξεις ότι μπορεί να προκληθεί τέτοιος

κίνδυνος. Έρευνα που βασίστηκε στην εισαγωγή χλωρικού νατρίου και χλωρικού καλίου σε ποντίκια, αναμενόταν να υπάρξει συσχέτιση της συγκέντρωσης αυτών και της δημιουργίας όγκων στα νεφρά, μιας και αποτελούν εκκινητές των όγκων αυτών. Παρόλα αυτά δεν υπήρξε καμία ιδιαίτερη στατιστική αύξηση στα αποτελέσματα, γεγονός που δεν μπορεί να ρίξει ευθύνες στα χλωρικά ιόντα για τη δημιουργία καρκίνου σε ζώα. Συνεπώς, δεν μπορεί να αποτελέσει κίνδυνο για την ανθρώπινη υγεία (Kurokawa et al., 1985).

Σε έρευνες που διεξήχθησαν, δεν παρατηρήθηκε ιδιαίτερη επίπτωση των χλωρικών στην ανθρώπινη υγεία (WHO, 2005). Αντίθετα, δε φάνηκε να επηρεάζει σχεδόν καθόλου τον άνθρωπο. Εξαιρέση αποτελεί η καταγραφή κάποιων περιστατικών όπου οι άνθρωποι είχαν δηλητηριαστεί με χλωρικό, καθ' όσον εκείνο χρησιμοποιούνταν ως ζιζανιοκτόνο (NAS, 1987). Κάποια συμπτώματα ήταν μεθαιμοσφαιριναιμία, ανουρία, κοιλιακός πόνος και νεφρική ανεπάρκεια. Συμπτώματα, όμως, που δεν επέφεραν θάνατο. Έτσι, η μέγιστη δόση που μπορεί να επιφέρει θάνατο, ορίστηκε στα 20 gr χλωρικού νατρίου, δηλαδή, 230 mg/kg/bodyweight (NAS, 1980). Με τα υπάρχοντα δεδομένα, δεν υπάρχει μια ξεκάθαρη απόδειξη ότι τα χλωρικά ιόντα μπορούν να είναι επιβλαβή για την ανθρώπινη υγεία. Παρ' όλα αυτά, ο WHO έθεσε ως ανώτατο επιτρεπτό όριο τα 0.7 mg/l (WHO, 2003).

1.8 Υπερχλωρικά

Το υπερχλωρικό ιόν αποτελεί ένα αρνητικά φορτισμένο ιόν που αποτελείται από ένα κεντρικό άτομο χλωρίου και τέσσερα άτομα οξυγόνου, με μοριακή φόρμουλα ClO_4^- . Το ιόν αυτό προέρχεται από άλατα των υπερχλωρικών οξέων. Το υπερχλωρικό ιόν παράγεται στη φύση με φυσικές διεργασίες. Παρόλα αυτά το μεγαλύτερο ποσοστό της συγκέντρωσης των ιόντων αυτών στη γη προκαλείται από τον ανθρωπινό παράγοντα. Αυτό γιατί τα άλατα των υπερχλωρικών οξέων χρησιμοποιούνται κυρίως ως προωθητικά καθώς διακατέχουν εκρηκτικές ιδιότητες λόγω ότι αποτελούν ισχυρούς οξειδωτικούς παράγοντες (ATSDR, 2005).

Τα υπερχλωρικά ιόντα δεν έχουν χρώμα ούτε οσμή. Βρίσκονται στη φύση μέσω φυσικού σχηματισμού τους στην ατμόσφαιρα, πράγμα το οποίο οδηγεί στην καθίζηση ιχνών των ιόντων αυτών. Τα ιόντα αυτά υπάρχουν στο περιβάλλον σε δύο μορφές, είτε ως στερεά, είτε διαλυμένα στο νερό. Εάν δεν υπάρχει καμία άλλη ένδειξη νερού στο περιβάλλον, τότε υπάρχουν ως στερεά και μόνο. Εάν όμως υπάρχει νερό, τότε θα διαλυθούν γρήγορα σε αυτό. Ακόμη, τα υπερχλωρικά αποτελούν ιόντα που είναι σταθερά σε θερμοκρασία

δωματίου, ενώ αντίθετα είναι πολύ δραστικά σε υψηλές θερμοκρασίες. Για το λόγο αυτό, παρά τη δραστηριότητά τους, τα υπερχλωρικά αντιδρούν πάρα πολύ αργά ή και καθόλου, στις θερμοκρασίες της γης.

Κάποιες από τις εφαρμογές τους αποτελούν η χρήση ως καύσιμο του υπερχλωρικού αμμωνίου (NH_4ClO_4) στους πυραύλους, η χρήση τους ως εκρηκτικές ύλες στο στρατό, λόγω της δραστηριότητάς τους σε υψηλές θερμοκρασίες, η χρήση τους ως μπαταρίες, στους αερόσακους, ως καθαριστικοί παράγοντες, ως χλωρίνη, ως συγκολλητικοί παράγοντες και ως παράγοντες χάραξης (ATSDR, 2008).

Η είσοδος των υπερχλωρικών στον ανθρώπινο οργανισμό, πραγματοποιείται μέσω κατάποσης και εισπνοής αλλά όχι δερματικής απορρόφησης. Ένας εύκολος τρόπος έκθεσης του ανθρώπου στα ιόντα αυτά είναι μέσω της τροφής. Καταπίνοντας φαγητά ή νερό πλούσια σε ClO_4 αυτά περνούν στο στομάχι και στο έντερο και αφού διαλύονται εύκολα στο νερό, καταλήγουν στο αίμα. Ακόμη και μέσω της εισπνοής, περνούν από τους πνεύμονες και καταλήγουν πάλι στο αίμα. Από εκεί περνούν σε όλο το σώμα χωρίς να αλλάζει η σύστασή τους και αποβάλλονται από αυτό μέσα σε λίγες ώρες. Εξαιρέση αποτελούν οι θυρεοειδής αδένες, ο ιστός του μαστού και οι σιελογόνοι αδένες, όπου μπορούν να κρατήσουν μεγάλες ποσότητες υπερχλωρικών (ATSDR, 2008).

Το υπερχλωρικό ιόν (ClO_4^-) είναι πολύ σταθερό στο νερό, και τα άλατα αυτού έχουν μεγάλη διαλυτότητα σε αυτό. Το υπερχλωρικό υπάρχει στο περιβάλλον, σε αποθέματα νιτρικών και ποτάσας, ενώ ακόμη μπορεί να σχηματιστεί στην ατμόσφαιρα και να καθιζάνει στο χώμα και το έδαφος. Επίσης θεωρείται ως παράγοντα μόλυνσης του περιβάλλοντος όταν προκύπτει από τη χρήση φυτοφαρμάκων που έχουν ως βάση τα νιτρικά ιόντα. Ακόμη, οι κατασκευαστές πυραύλων, πυροτεχνημάτων, αεροσάκων, χρησιμοποιούν υπερχλωρικό αμμώνιο για την κατασκευή των παραπάνω, γεγονός που επιβαρύνει την μολυσματική του δράση. Τέλος, το υπερχλωρικό μπορεί να σχηματιστεί κατά τη διαδικασία αποδόμησης του υποχλωριώδους νατρίου, το οποίο χρησιμοποιείται ως απολυμαντικό στην απολύμανση του νερού και μπορεί να προσβάλλει το δίκτυο του νερού. Το νερό, το χώμα και τα φυτοφάρμακα θεωρούνται πιθανές πηγές μόλυνσης του φαγητού από το υπερχλωρικό ιόν.

Η Ευρωπαϊκή Ένωση καλείται να θεσπίσει ανώτατα επιτρεπτά όρια του υπερχλωρικού ιόντος στο φαγητό και στο πόσιμο νερό. Τον Απρίλιο του 2015 η Ευρωπαϊκή Επιτροπή με την απόφαση EU 2015/682, ξεκίνησε η παρακολούθηση των υπερχλωρικών ιόντων στα τρόφιμα, ενώ το 2016 ξεκίνησε η συγκέντρωση όλων των στοιχείων για τον ορισμό του

ανώτατου επιτρεπτού ορίου. Μέχρι στιγμής, δεν υπάρχει θέσπιση συγκεκριμένης τιμής, παρά μόνο αναμονή για την έκβαση περισσότερων αποτελεσμάτων (Commission, 2017).

Η θέσπιση ορίου του υπερχλωρικού μελετάτε στην Αμερική από τα μέσα της δεκαετίας του 1990. Εν τέλει, το 2009 το Εθνικό Συμβούλιο Ερευνών (National Research Council) κατέληξε ότι το όριο των υπερχλωρικών στο πόσιμο νερό ισούται με 24.5 μg/l. Το 2011 το πρακτορείο προστασίας περιβάλλοντος (USEPA) αποφάσισε ότι το όριο αυτό δεν ήταν αρκετά χαμηλό. Η απόφαση αυτή προήλθε από στοιχεία που εμφανίστηκαν σε έρευνα σχετικά με τις επιπλοκές που προκαλούσε το υπερχλωρικό σε νεογέννητα μωρά, όπως χαμηλότερο βάρος του φυσιολογικού. Αποφάσισε λοιπόν να το εντάξει στη λίστα με τις πιθανές ενώσεις επιμόλυνσης (Contaminant Candidate List) και να ξεκινήσει έρευνα σχετικά με τη θέσπιση νέου ορίου (Maximum Contaminant Level Goal).

Η ανάπτυξη τέτοιας έρευνας περιλαμβάνει περίπλοκα και άλυτα επιστημονικά ερωτήματα όπως τη χρήση της ανάλυσης «των φάσεων ζωής» (life stages) και τη μετατόπιση του τρόπου δράσης σε μία μη-αρνητική επίπτωση. Αυτά τα δύο προβλήματα μπορούν να αποτελέσουν πρόγονο των μελλοντικών ρυθμίσεων δεδομένου ότι τα νεογέννητα καταναλώνουν την ποσότητα νερού που χρειάζεται ένας ενήλικας.

Το 2016, το πρακτορείο περιβαλλοντικής προστασίας, εξέδωσε οδηγίες σχεδίου βιολογικά βασισμένο στη Δόσης-Απόκρισης του υπερχλωρικού (Draft Biologically Based Dose-Response (BBDR) Model for Perchlorate), έγγραφο το οποίο μπορεί κάθε πολιτεία να ακολουθεί σχετικά με τη θέσπιση του ορίου (USEPA, 2016). Ως αποτέλεσμα, η πολιτεία της Καλιφόρνια θέσπισε το ανώτατο επιτρεπτό όριο στα 6 μg/l (USEPA, 2007), ενώ η Μασαχουσέτη στα 2 μg/l (AWWS, 2017). Συνοψίζοντας, το ανώτατο επιτρεπτό όριο υπερχλωρικών ιόντων στο πόσιμο νερό ποικίλει από 2 έως 24.5 μg/l, ανάλογα σε ποια πολιτεία της Αμερικής έχει θεσπιστεί.

1.8.1 Μηχανισμός τοξικότητας

Οι θυρεοειδείς ορμόνες είναι απαραίτητες στην ρύθμιση της κατανάλωσης και του μεταβολισμού του οξυγόνου στο ανθρώπινο σώμα. Τα επίπεδα ρύθμισης των θυρεοειδών ορμονών στον ορό του αίματος και στους ιστούς, εξαρτώνται από μία σειρά αιμοστατικών μηχανισμών που δεν είναι αρκετά κατανοητοί στον άνθρωπο (Greenspan.et.al, 1997). Η θυρεοτροπίνη (Thyrotropin – TSH), ορμόνη που συντίθεται και εκκρίνεται από τον πρόσθιο

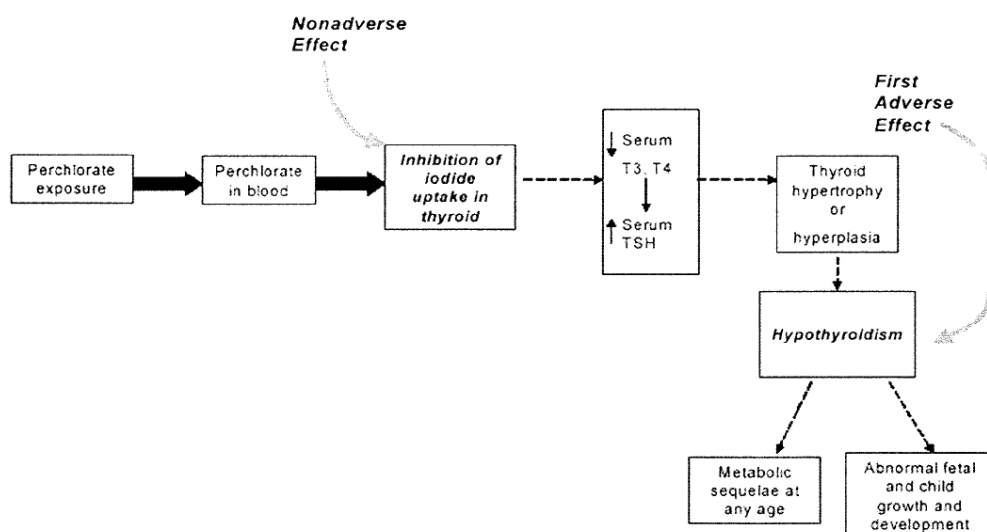
λοβό της υπόφυσης, αποτελεί τον κύριο ρυθμιστή της πρόσληψης του θυρεοειδούς ιωδίου και γενικά των λειτουργιών του αδένου (Scanlon et al., 1996). Η έκκριση της TSH ρυθμίζεται μέσω των επιπέδων των τριιοδοθυρονίνη (triiodothyronine -T₃) και θυροξίνη (thyroxin - T₄) στον ορό του αίματος. Εάν λοιπόν, υπάρχει αναστολή της επαρκούς πρόσληψης του ιωδίου, τότε υπάρχει ύφεση στο σχηματισμό των ορμονών αυτών (Caren, 1997). Ως αποτέλεσμα, παρατεταμένη έκκριση της TSH από τον πρόσθιο λοβό της υπόφυσης θα ενεργοποιήσει το θυρεοειδή να παράγει περισσότερες T₃ και T₄. Η αναστολή της πρόσληψης του ιωδίου αποτελεί τη βάση της φαρμακευτικής χρήσης του ClO₄⁻ (Mattie et al., 2006). Ουσιαστικά, το υπερχλωρικό ιόν λόγω του παρόμοιου ιοντικού μεγέθους και φορτίου με το ιώδιο, το συναγωνίζεται στην πρόσληψη από το θυρεοειδή αδένου (Wolff, 1998). Προβλήματα που μπορούν να προκληθούν είναι η μείωση πρόσληψης T₃ και T₄ και ως αποτέλεσμα ύπαρξη νεύρο-αναπτυξιακών δυσκολιών σε έμβρυα. Άλλο πρόβλημα αποτελεί η αύξηση της TSH που οδηγεί σε θυρεοειδή υπερπλασία και τη δημιουργία όγκων. Επιπλέον μπορεί να οδηγήσει σε αύξηση βάρους.

1.8.2 Επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία

Όπως προαναφέρθηκε, το ClO₄⁻ είναι ευδιάλυτο στο νερό και δεν προσλαμβάνεται ούτε κατακρατείται εύκολα από το ανθρώπινο σώμα. Παρόλα αυτά, ο συναγωνισμός του με το ιώδιο το κάνει απειλητικό σε ότι αφορά το θυρεοειδή αδένου. Οι ορμόνες T₃, T₄, TSH είναι οι πρώτες που παρατηρείται αλλαγή έπειτα από έκθεση του οργανισμού σε υπερχλωρικά. Λόγω των αυξημένων επιπέδων της TSH, προκαλείται θυρεοειδή υπερπλασία που οδηγεί στη δημιουργία όγκων στα τρωκτικά (Hill et al., 1989). Παρόλα αυτά, η συσχέτιση ανάμεσα στους όγκους των τρωκτικών και στους όγκους των ανθρώπων αμφισβητείται καθώς αυτή η εξέλιξη δεν έχει παρατηρηθεί στους ανθρώπους. Αντίθετα, έχει παρατηρηθεί ότι μείωση των επιπέδων της T₄ σε εγκύους και νεογνά, οδηγεί σε μη φυσιολογική ανάπτυξη των νευρώνων, αν και δεν έχει επιβεβαιωθεί ακόμη.

Έπειτα από αίτημα των DoD, EPA, DOE και NASA, το NRC συγκάλωσε επιτροπή, της οποίας στόχος ήταν να βρει τη σύνδεση της συσχέτισης των υπερχλωρικών και της ανθρώπινης υγείας (NRC, 2005a). Η επιτροπή αυτή κατέληξε ότι ο σχηματισμός όγκων είναι το χειρότερο αποτέλεσμα στην υγεία των τρωκτικών που μπορεί να προκληθεί από τη συνεχή κατανάλωση των υπερχλωρικών, αλλά είναι δύσκολο να συμβεί στον άνθρωπο και

να επηρεάσει την υγεία του. Η απόφαση αυτή βασίστηκε σε δύο λόγους. Πρώτον, τα τρωκτικά είναι ευαίσθητα στην ανάπτυξη θυρεοειδών όγκων, καθώς η λειτουργία του θυρεοειδούς αδένου τους διακόπτεται εύκολα. Δεύτερον, ο ανθρώπινος οργανισμός δεν υποχωρεί το ίδιο εύκολα με τα τρωκτικά, με αποτέλεσμα η λειτουργία του θυρεοειδούς αδένου να μην διακόπτεται το ίδιο εύκολα. Συνεπώς, δεν είναι πιθανό να αναπτυχθούν το ίδιο εύκολα όγκοι στον ανθρώπινο οργανισμό. Εν κατακλείδι, η επιτροπή ανακοίνωνε ότι οι αλλαγές που πρόκειται να συμβούν στον ανθρώπινο οργανισμό, έπειτα από τροποποιήσεις στην θυρεοειδή ορμόνη και στην έκκριση της TSH, έγκειται μόνο σε θυρεοειδή υπερτροφία ή υπερπλασμία, που οδηγεί σε υποθυρεοειδισμό (NRC, 2005a). Ο υποθυρεοειδισμός με τη σειρά του οδηγεί σε δύο πιθανά μονοπάτια, όπου το πρώτο μειώνει την απόδοση του μεταβολισμού και κατά συνέπεια τη λειτουργία πολλών οργάνων, ενώ το δεύτερο οδηγεί σε μη φυσιολογική ανάπτυξη των εμβρύων και των παιδιών. Όλα τα παραπάνω συνοψίζονται στην παρακάτω εικόνα.



Σχήμα 3. Μηχανισμοί δράσης τοξικότητας των ClO_4^- στον ανθρώπινο οργανισμό (NRC, 2005a).

2.Πειραματικό Μέρος

Η ταυτοποίηση και ο ποσοτικός προσδιορισμός των οξυαλογονιδίων σε δείγματα πόσιμου νερού, οι μικρές συγκεντρώσεις σε αυτά, ο διαχωρισμός τους από ιόντα που θα παρεμπόδιζαν την ανάλυση και τον ακριβή προσδιορισμό τους, κατέστησε αναγκαία την ανάπτυξη μιας τεχνικής η οποία διαθέτει την ικανότητα ανίχνευσης τους σε ιχνοποσότητες σε όσο το δυνατόν μικρότερο χρόνο. Η τεχνική διαχωρισμού και ανίχνευσης που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα εργασία είναι η υγρή χρωματογραφία αντίστροφης φάσης, με αρνητικό ηλεκτροψεκασμό και δίδυμη φασματομετρία μάζας (RPLC-ESI-MS/MS).

2.1.Οργανολογία

2.1.1.Σύστημα HPLC-ESI-MS/MS

Η υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC: High Performance Liquid Chromatography) χρησιμοποιείται ευρύτατα στην ποιοτική και ποσοτική ανάλυση κυρίως για την ανίχνευση, την ταυτοποίηση και τον ποσοτικό προσδιορισμό οργανικών ουσιών σε πολύπλοκα δείγματα (Θ.Π. Χατζηιωάννου, 1990).

Η αρχή λειτουργίας της τεχνικής αυτής βασίζεται στον διαφορετικό βαθμό κατανομής των συστατικών ενός δείγματος μεταξύ μιας κινητής φάσης, η οποία είναι ένα υγρό, και μιας στατικής φάσης, η οποία είναι καθηλωμένη σε μια στήλη στην οποία οι προς ανάλυση ουσίες αναγκάζονται να κινηθούν κάτω από υψηλή πίεση. Ο διαχωρισμός γίνεται στην στήλη και το ποσοστό του διαχωρισμού εξαρτάται από το μέγεθος της αλληλεπίδρασης μεταξύ των υπό διαχωρισμό συστατικών και της κινητής και στατικής φάσης. Οι διαφορές στην ευκινησία των συστατικών του δείγματος, λόγω της διαφορετικής ισχύος κατακράτησης από την στερεά φάση (που οφείλεται στην κατάλληλη ισορροπία των ενδομοριακών δυνάμεων μεταξύ των τριών δραστικών παραγόντων, δηλαδή της διαλυμένης ουσίας, της κινητής φάσης και της στατικής φάσης) έχει σαν αποτέλεσμα τον διαχωρισμό τους, καταλαμβάνοντας διαφορετικές ζώνες και στην συνέχεια τον ποιοτικό και τον ποσοτικό προσδιορισμό τους. Ο αριθμός των πιθανών αλληλεπιδράσεων μεταξύ του δείγματος και της στερεάς φάσης διευκολύνει την εκλεκτικότητα της, δηλαδή τον βαθμό στον οποίο η συγκεκριμένη τεχνική μπορεί να διαχωρίσει τις προς ανάλυση ουσίες από τις αλληλεπιδράσεις στο αρχικό δείγμα.

Η συγκεκριμένη χρωματογραφική τεχνική που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα εργασία είναι η υγρή χρωματογραφία αντίστροφης φάσης όπου η στατική φάση είναι μη πολική (υδρόφοβη) ενώ η κινητή φάση αποτελείται από έναν πολικό διαλύτη. Στην περίπτωση αυτή το πολικότερο συστατικό εμφανίζεται πρώτο ενώ με αύξηση της πολικότητας της κινητής φάσης αυξάνει ο χρόνος έκλουσης.

Η πολικότητα του υγρού έκλουσης (eluent polarity) παίζει τον μεγαλύτερο ρόλο σε όλους τους τύπους RPLC. Υπάρχουν δύο τύποι έκλουσης: Η ισοκρατική (isocratic elution) και η βαθμιδωτή έκλουση (gradient elution). Στην πρώτη περίπτωση αντλείται σταθερή σύσταση διαλύτη (κινητή φάση) και στη δεύτερη περίπτωση η σύσταση της κινητής φάσης μεταβάλλεται σύμφωνα με το πρόγραμμα της ανάλυσης.

Μία συσκευή RPLC αποτελείται από πέντε βασικά τμήματα. Το σύστημα παροχής κινητής φάσεως, το σύστημα εισαγωγής δείγματος, τη στήλη, τον ανιχνευτή και τον καταγραφέα.

Στην παρούσα εργασία, στο σύστημα παροχής κινητής φάσης, σαν εκλουστικό μέσο χρησιμοποιήθηκαν μεθανόλη (με 0.1 % φορμικό οξύ) και υπερκάθαρο νερό σε αναλογία 20:80, ενώ η έκλουση που πραγματοποιήθηκε ήταν ισοκρατική. Η στήλη διαχωρισμού είναι ένας ευθύγραμμος σωλήνας κατασκευασμένος από χάλυβα. Περιέχει τη στατική φάση η οποία είναι μη πολική και αποτελείται από Silica (σαν υπόστρωμα) στην οποία έχει προσδεθεί με χημικό δεσμό υδρογονάνθρακική αλυσίδα C-18. Στην παρούσα εργασία η στήλη που χρησιμοποιήθηκε είναι η Fortis 3 μm UniverSilUHS18. Το σύστημα υγρής χρωματογραφίας που χρησιμοποιείται στην παρούσα εργασία είναι της κατασκευάστριας εταιρείας Thermo Finnigan (San Jose, USA). Το σύστημα αυτό αποτελείται από μία αντλία (HPLC Surveyor Pump) και έναν αυτόματο δειγματολήπτη (Surveyor AS, Thermo Finnigan).

Ο ιοντισμός της σταγόνας που προκύπτει από την εισαγωγή του δείγματος, βασίζεται στην τεχνική του ηλεκτροψεκασμού (electron spray ionization). Κατά τον ηλεκτροψεκασμό διαλύματος, τα εντός του διαλύματος ιόντα της προσδιοριζόμενης ουσίας μεταβαίνουν στην αέρια κατάσταση. Για την ευκολότερη εκνέφωση του διαλύματος καθώς αυτό εξέρχεται από τη βελόνα ηλεκτροψεκασμού, συνήθως διαβιβάζεται ένα αέριο εκνεύφωσης (sheath gas). Παράλληλα, το αέριο αυτό διευκολύνει και την εξάτμιση του διαλύτη από τις σταγόνες (auxiliary gas). Στην παρούσα εργασία, ως αέριο ξήρανσης (βοηθητικό αέριο, auxiliary gas) καθώς και ως αέριο εκνέφωσης (sheath gas) χρησιμοποιήθηκε άζωτο υψηλής καθαρότητας 99 % που παράγεται από μια γεννήτρια αζώτου. Στη γεννήτρια αζώτου

παρέχεται αέρας από έναν αεροσυμπιεστή (compressor) όπου διατηρείται ο αέρας υπό ατμοσφαιρική πίεση. Η πίεση του αερίου εκνέφωσης έχει επιλεγεί στην τιμή των 45 μονάδων και του βοηθητικού αερίου στην τιμή των 10 μονάδων (οι μονάδες αυτές έχουν οριστεί από τον κατασκευαστή).

Στα υπόλοιπα τμήματα εφαρμόζεται αρνητική πολικότητα (αρνητικά ιόντα), ενώ το εφαρμοζόμενο δυναμικό στη βελόνα ηλεκτροψεκασμού (spray voltage) αντιστοιχεί στην τιμή 3400 Volt. Τέλος, η θερμοκρασία στον θερμαινόμενο τριχοειδή (capillary temperature) ρυθμίζεται στους 300 °C.

2.2. Δειγματοληψίες

Ως δειγματοληψία ορίζεται η διαδικασία επιλογής, συλλογής, διατήρησης και μεταφοράς προς ανάλυση, μιας ενδεικτικής ποσότητας ενός υλικού. Η ποσότητα αυτή (δείγμα) οφείλει να ανταποκρίνεται στα χαρακτηριστικά του προς ανάλυση υλικού και να επιτρέπει την αναγωγή των παραμέτρων που θα προσδιορισθούν στο δείγμα. Όσον αφορά την ανάλυση των δειγμάτων, η σειρά των ενεργειών περιελάμβανε τις διαδικασίες ανάκτησης των συστατικών που έπρεπε να αναλυθούν, την επιλογή των πιο κατάλληλων συνθηκών – μεθόδων για τον διαχωρισμό, τον ποιοτικό και ποσοτικό προσδιορισμό αυτών.

Αρχικά πραγματοποιείται η επιλογή του δείγματος, δηλαδή, γίνεται μελέτη του υλικού που πρόκειται να αναλυθεί, καθορίζονται οι απαιτούμενοι προσδιορισμοί και επιλέγονται οι ποσότητες που θα χρησιμοποιηθούν ως δείγμα. Το δείγμα οφείλει να αναλογεί στο αρχικό υλικό.

Στη συγκεκριμένη μελέτη, εκτός από την ανάπτυξη και βελτιστοποίηση της αναλυτικής μεθοδολογίας, πραγματοποιήθηκε και εφαρμογή της συγκεκριμένης μεθόδου για τον ποιοτικό και ποσοτικό προσδιορισμό των οξυαλογόνων σε πραγματικά δείγματα.

Τα στοιχεία που αφορούν τις δειγματοληψίες που πραγματοποιήθηκαν και σε δείγματα εμφιαλωμένου νερού, καταγράφονται στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 3. Δείγματα εμφιαλωμένων νερών

	ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΕΜΦΙΑΛΩΜΕΝΩΝ ΝΕΡΩΝ	[SO ₄ ²⁻] mg/L	[Cl ⁻] mg/L	Αγωγιμότητα μS/cm (25°C)
1	Δ1	15.0	9.8	396
2	Δ2	10.5	7.8	485
3	Δ3	1121	7.6	-
4	Δ4	12.6	6.8	-
5	Δ5	9.8	6.8	399
6	Δ6	<0.5	9.5	499
7	Δ7	120.0	-	-
8	Δ8	8.5	4.3	344
9	Δ9	6.1	13.6	271
10	Δ10	15.2	6.4	619
11	Δ11	11,6	6,8	478
12	Δ12	13.4	27	433
13	Δ13	6.3	11.3	269
14	Δ14	7.9	17.4	297
15	Δ15	8.7	12.0	251
16	Δ16	<5.0	12.0	289
17	Δ17	7.9	17.4	297
18	Δ18	23.0	66.7	555

Τα παραπάνω δείγματα μπορούν να διατηρηθούν έως και ένα μήνα στο ψυγείο. Σε περίπτωση επανάληψης της ανάλυσης σε χρονικό διάστημα μεγαλύτερο των τριάντα ημερών πραγματοποιούνταν εκ νέου αγορά του δείγματος.

2.3. Αντιδραστήρια, επεξεργασία δειγμάτων

2.3.1. Αντιδραστήρια

1. Μεθανόλη (Sigma Aldrich – 99 %)
2. Απιοντισμένο Νερό (Nanopure Reagent Water 18 ΜΩ)
3. Φορμικό οξύ (Merck 99 %)

2.3.2. Επεξεργασία δειγμάτων νερού

Τα δείγματα νερού λόγω της απλότητας της μεθόδου, δε χρειάστηκαν ιδιαίτερη επεξεργασία. Κάθε δείγμα περάστηκε από Cartridge Ag/H και φίλτρο Whatman (0.2 μm x 25 mm). Τα φυσίγγια αργύρου που χρησιμοποιήθηκαν είναι τις εταιρείας DIONEX OnGuard II Ag/H 2.5 cc. Τα φυσίγγια αυτά αποτελούν μια πολυεπίπεδη κασέτα που περιέχει ρητίνες OnGuard Ag αλλά και OnGuard H. Συνεπώς μπορεί να δεσμεύει και να απομακρύνει εύκολα χλωριούχα, βρωμιούχα και ιωδιούχα ιόντα από συμπυκνωμένες μήτρες όπως οι άλμες. Επιπλέον μπορεί να παγιδεύει διαλυτό ασήμι και άλλα κατιόντα, ενώ αφαιρεί τα υψηλά επίπεδα αλκαλικών γαιών, μετάλλων μετάπτωσης και των ανθρακικών ιόντων (Scientific, 2016).

Το φίλτρο Whatman και το cartridge Ag/H συνδέθηκαν σε σειρά και κατά αυτό τον τρόπο φιλτραρίστηκαν όλα τα δείγματα και τα πρότυπα διαλύματα πριν από την ανάλυσή τους στο σύστημα HPLC-ESI-MS/MS.

3. Αποτελέσματα – Ανάλυση Αποτελεσμάτων

3.1. Διεργασίες ανάπτυξης και βελτιστοποίησης της HPLC-ESI-MS/MS

3.1.1. Μέθοδος HPLC-ESI-MS/MS

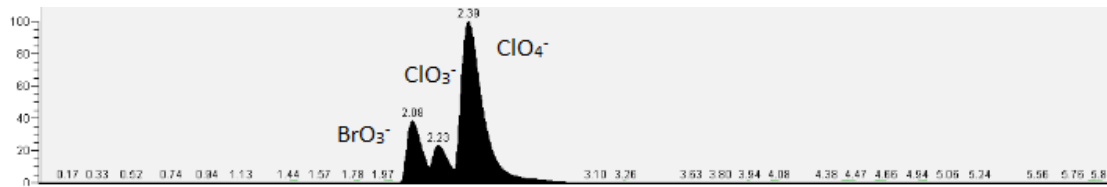
Πριν από την έναρξη ανάλυσης των δειγμάτων, πραγματοποιείται ανάπτυξη της μεθόδου του χρωματογραφικού διαχωρισμού. Πραγματοποιούνται, δηλαδή, πειράματα τα οποία στοχεύουν στη άριστη ρύθμιση των πειραματικών συνθηκών έτσι ώστε οι προς ανάλυση ουσίες να διαχωρίζονται όσο το δυνατόν καλύτερα και βέλτιστα. Τα πειράματα βελτιστοποίησης αποβλέπουν στη μείωση της διεύρυνσης των ζωνών ή στη μεταβολή των σχετικών ταχυτήτων μετανάστευσης των συστατικών.

Στην παρούσα διατριβή, η ανάλυση των συστατικών του δείγματος γίνεται με χρωματογραφία αντίστροφης φάσης σε αναλυτική στήλη C-18. Η στήλη διαχωρισμού που χρησιμοποιήθηκε είναι η Fortis 3 μm UniverSilUHS18 αντίστροφης φάσης, μήκους 150 mm εσωτερικής διαμέτρου 2.1 mm με υλικό πλήρωσης που αποτελείται από πορώδη σωματίδια λεπτότατου διαμερισμού (μέγεθος 3 μm) και υψηλής σφαιρικής ομοιομορφίας. Η θερμοκρασία της στήλης σε όλη τη διάρκεια της ανάλυσης ήταν 40 °C, η ταχύτητα ροής 20.0 ml/min και ο εισαγόμενος όγκος του δείγματος επιλέχθηκε στα 20 μl.

Καλό είναι να σημειωθεί ότι όσο αυξάνεται το μήκος της αναλυτικής στήλης αυξάνεται η ποιότητα του διαχωρισμού, ενώ ταυτόχρονα αυξάνει και ο απαιτούμενος χρόνος ανάλυσης.

Η έκλουση των συστατικών του δείγματος από την αναλυτική στήλη πραγματοποιείται ισοκρατικά, με χρήση μεθανόλης με 0.1% φορμικό οξύ και υπερκάθαρο νερό (20:80). Η ταχύτητα ροής έχει επιλεγθεί στα 0.2 ml/min, ενώ η διάρκεια του προγράμματος ισοκρατικής έκλουσης επιλέχθηκε στα 6.00 min, σαν ένας συμβιβασμός μεταξύ του χρόνου ανάλυσης, της ποιότητας του διαχωρισμού και της ευαισθησίας του συστήματος.

Καθώς αυξάνεται ο χρόνος του προγράμματος της χρωματογραφικής ανάλυσης τόσο καλύτερη προκύπτει η ποιότητα του διαχωρισμού, αλλά ταυτόχρονα αυξάνεται και το πλάτος των κορυφών με αποτέλεσμα να μειώνεται η ευαισθησία της μεθόδου. Με χρήση του προγράμματος έκλουσης για ένα μίγμα τριών ενώσεων, λαμβάνεται το παρακάτω χρωματογράφημα:



Σχήμα 4. Ισοκρατική έκλυση οξυαλογονιδίων.

3.1.2. Τεχνική σάρωσης με μελέτη χαρακτηριστικών αντιδράσεων και επιλογή θυγατρικών ιόντων

Η μέθοδος που αναπτύχθηκε στη συγκεκριμένη μελέτη, εφαρμόζει την τεχνική παρακολούθησης χαρακτηριστικών αντιδράσεων (SRM: Selected Reaction Monitoring) κατά την οποία παρακολουθείται μια χαρακτηριστική αντίδραση ή μια ομάδα αντιδράσεων για κάθε αναλυόμενη ένωση, αντιδράσεις όπως είναι η θραυσματοποίηση ενός ιόντος. Η τεχνική αυτή παρουσιάζει μεγάλο ενδιαφέρον και εμφανίζει εύρος εφαρμογών λόγω της απλότητας, της συντομίας και της μεγάλης ακρίβειας που προσφέρει. Η τεχνική αυτή επιτυγχάνεται συνήθως με τον κατάλληλο καθορισμό του πρόδρομου ιόντος (με βάση το λόγο μάζας προς φορτίο, m/z) και την παρακολούθηση θυγατρικών ιόντων που προκύπτουν από αυτό. Συνεπώς καθορίζεται ένα πρόδρομο ιόν και ένα ή περισσότερα θυγατρικά για κάθε ουσία που μελετάτε (κατάλληλα διαλεγμένα με βάση τα δεδομένα των καμπυλών θραυσματοποίησης - optimizing). Η δυνατότητα επιλογής περισσότερων από ένα θυγατρικών ιόντων σε κάθε υπό μελέτη ένωση, καθιστά τη συγκεκριμένη τεχνική ιδιαίτερα αποτελεσματική στην ανάλυση λόγω της εξαιρετικά μεγάλης ακρίβειας της.

Με αυτή τη μέθοδο, οι παρεμποδίζουσες ενώσεις που περιέχονται στο δείγμα θα πρέπει αρχικά να παράγουν πρόδρομο ιόν, του οποίου η τιμή m/z να είναι ταυτόσημη με αυτήν του πρόδρομου ιόντος που έχει καθορισθεί για την αναλυόμενη ένωση και επιπλέον το πρόδρομο αυτό ιόν θα πρέπει να διασπαστεί προς ορισμένα θραύσματα, ένα από τα οποία θα πρέπει να έχει τον ίδιο λόγο m/z με αυτό του θυγατρικού ιόντος που έχει καθορισθεί για την αναλυόμενη ένωση. Οι συγκεκριμένες, αυτές, συνθήκες που απαιτούνται, καθιστούν την τεχνική αυτή ένα πολύτιμο μέσο για την ανάλυση συγκεκριμένων ενώσεων.

Για την εφαρμογή της μεθόδου SRM απαιτείται η μελέτη των αντιδράσεων διάσπασης των υπό μελέτη ενώσεων στην κυψελίδα πρόσκρουσης του φασματομέτρου μάζας. Αυτό επιτυγχάνεται με την επιτάχυνση των πρόδρομων ιόντων, τα οποία φτάνουν στην κυψελίδα

πρόσκρουσης, σε διάφορες ενέργειες και τελικά την διάσπαση τους από επαγόμενη πρόσκρουση (C.I.D.: Collision Induced Dissociation) με τα άτομα του αργού. Στις περισσότερες τεχνικές ιονισμού ατμοσφαιρικής πίεσης μπορεί να χρησιμοποιηθεί η τεχνική ενίσχυσης σήματος C.I.D., καθώς τα δημιουργούμενα ιόντα, πριν το διαχωρισμό τους, αναγκάζονται να συγκρουστούν με μόρια αργού, με αποτέλεσμα να αυξάνεται και το σήμα που περνάει στον ανιχνευτή αλλά και το σήμα από τα λαμβανόμενα θραύσματα που μπορούν να δώσουν πληροφορίες για τη δομή της ένωσης. Οι συγκρούσεις πραγματοποιούνται σε ειδικά διαμορφωμένες κυψελίδες χαμηλής πίεσης (3×10^{-3} Torr), που βρίσκονται λίγο πριν από το σημείο που γίνεται ο διαχωρισμός.

Οι βέλτιστες τιμές της ενέργειας διάσπασης στην πηγή, οι οποίες εφαρμόζονται ξεχωριστά για κάθε ένωση, αναγράφονται στον πίνακα παρακάτω:

Πίνακας 4. Ενέργεια διάσπασης στην πηγή (Source CID: source collision induced dissociation)

Ένωση	Μοριακό Ιόν (m/z)	Source CID (eV)
$^{79}\text{Br}^{16}\text{O}_3^-$	127	2
$^{35}\text{Cl}^{16}\text{O}_3^-$	83	2
$^{35}\text{Cl}^{16}\text{O}_4^-$	99	1.5

Εφαρμόζοντας τη μέθοδο σάρωσης προϊόντων ιόντων για κάθε ένωση ξεχωριστά, από πρότυπο διάλυμα αυτής (1 ppm), λαμβάνονται χρωματογραφήματα σχετικής αφθονίας συναρτήσει m/z κατά την εφαρμογή διαφορετικών ενεργειών πρόσκρουσης. Με τον τρόπο αυτό είναι εφικτός και ο υπολογισμός της βέλτιστης ενέργειας πρόσκρουσης, αλλά και η επιλογή των παρακολουθούμενων θραυσμάτων.

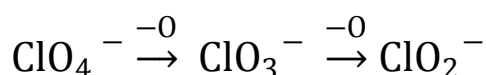
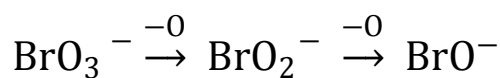
Στηριζόμενοι στα στοιχεία των φασμάτων μάζας που προέκυψαν, επιλέξαμε τα ιόντα εκείνα τα οποία παρουσίαζαν την μεγαλύτερη αφθονία και τα οποία θα παρακολουθούνται κατά την SRM μέθοδο. Για τις ενώσεις της παρούσας εργασίας γίνεται επιλογή τριών ιόντων (2 ζεύγη). Η επιλογή περισσότερων από ένα θυγατρικών ιόντων για την κάθε ένωση ξεχωριστά, δίνει μεγαλύτερη ασφάλεια για το ότι η ένωση που παρακολουθούμε είναι όντως αυτή που μελετάμε και όχι κάποια άλλη που πιθανώς θα έδινε ένα ίδιο θραύσμα. Τα ιόντα αναγράφονται στον παρακάτω πίνακα:

Πίνακας 5. Επιλογή Θυγατρικών Ιόντων

Ένωση	Μοριακό Ιόν (m/z)	SRM Θυγατρικά Ιόντα (m/z)
$^{79}\text{Br}^{16}\text{O}_3^-$	127	111 95
$^{35}\text{Cl}^{16}\text{O}_3^-$	83	67 51
$^{35}\text{Cl}^{16}\text{O}_4^-$	99	83 67

Στην παρούσα μελέτη, οι μηχανισμοί θραυσματοποίησης των ενώσεων δεν αποτελούνται από κάποιο πολύπλοκο μηχανισμό. Σε κάθε πρόδρομο ιόν αποσπάται ένα οξυγόνο (^{16}O) όπου και προκύπτει το πρώτο θυγατρικό ιόν. Κατόπιν πραγματοποιείται απόσπαση ακόμη ενός οξυγόνου (^{16}O) όπου και προκύπτει το δεύτερο θυγατρικό ιόν.

Συνοπτικά παρουσιάζονται παρακάτω οι μηχανισμοί θραυσματοποίησης των τριών υπό μελέτη ιόντων:



Σχήμα 5. Μηχανισμοί θραυσματοποίησης βρωμικών, χλωρικών και υπερχλωρικών ιόντων.

Στο παραπάνω σχήμα παρουσιάζονται τα πρόδρομα και τα θυγατρικά ιόντα για τις ενώσεις που μελετάμε.

3.1.3. Προσδιορισμός βέλτιστης ενέργειας πρόσκρουσης

Η ενέργεια πρόσκρουσης (collision energy) αντιστοιχεί στην ενέργεια εκείνη που εφαρμόζεται στο τετράπολο q2 το οποίο λειτουργεί σαν κυψελίδα πρόσκρουσης. Η

βέλτιστη τιμή της ενέργειας πρόσκρουσης αντιστοιχεί στην ενέργεια εκείνη, στην οποία το κάθε θραύσμα παρουσιάζει μέγιστη αφθονία. Ως αποτέλεσμα εφαρμόζοντας τη συγκεκριμένη ενέργεια πετυχαίνουμε να δούμε το προς παρακολούθηση ιόν στη μέγιστη αφθονία του. Για τον προσδιορισμό της συγκεκριμένης ενέργειας, παριστάνεται η αφθονία των ιόντων συναρτήσει της ενέργειας αυτής σε διαγράμματα από τα οποία προκύπτουν τα εξής:.

Πίνακας 6. Ιόντα και βέλτιστες συνθήκες παρακολούθησής τους κατά τη μέθοδο S.R.M.

Ενώσεις	Μοριακό Ιόν (m/z)	SRM Θυγατρικά ιόντα	Ενέργεια Πρόσκρουσης (eV)	Source CID (eV)
$^{79}\text{Br}^{16}\text{O}_3^-$	127	111 95	25	2
$^{35}\text{Cl}^{16}\text{O}_3^-$	83	67 51	27	2
$^{35}\text{Cl}^{16}\text{O}_4^-$	99	83 67	23	1.5

Στον παραπάνω πίνακα συνοψίζονται τα μοριακά και θυγατρικά ιόντα, καθώς και οι εφαρμοζόμενες τιμές για την ενέργεια η οποία προκαλεί διάσπαση από επαγόμενη πρόσκρουση.

3.2. Υπολογισμοί Ανάκτησης, Ορίων Ανίχνευσης, Ορίων Ανίχνευσης Μεθόδου και Ορίων Ποσοτικοποίησης.

3.2.1. Υπολογισμός συντελεστών ανάκτησης

Η εύρεση των ανακτήσεων των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε με την μέθοδο προσθήκης γνωστής ποσότητας (Standard Addition – SA). Συγκεκριμένα, σε κάθε δείγμα πραγματοποιούνταν ανάλυση του καθαρού δείγματος και ταυτόχρονα επιπλέον ανάλυση με προσθήκη γνωστής ποσότητας και των τριών ιόντων στο δείγμα.

Για την επίτευξη ανάλυσης με χρήση SA παρασκευάστηκε διάλυμα των 0.8 ppm του καθένα από τα τρία υπό μελέτη ιόντα. Σε κάθε vial χωρητικότητας 1.5 ml, φιλτράρονταν 1400 μl δείγματος και προστίθενται 100 μl διαλύματος SA ούτως ώστε ο τελικός όγκος να είναι 1500 μl και η τελική συγκέντρωση των υπό μελέτη ουσιών κοντά στα 50 ppb.

Η ανάκτηση υπολογίζεται από τον τύπο:

$$[(C_{SA}-C)/C]*100 \quad \text{(Εξίσωση 41)}$$

Όπου,

- C_{SA} : η συγκέντρωση για το κάθε ιόν με την προσθήκη γνωστής ποσότητας
- C : η συγκέντρωση του καθαρού δείγματος

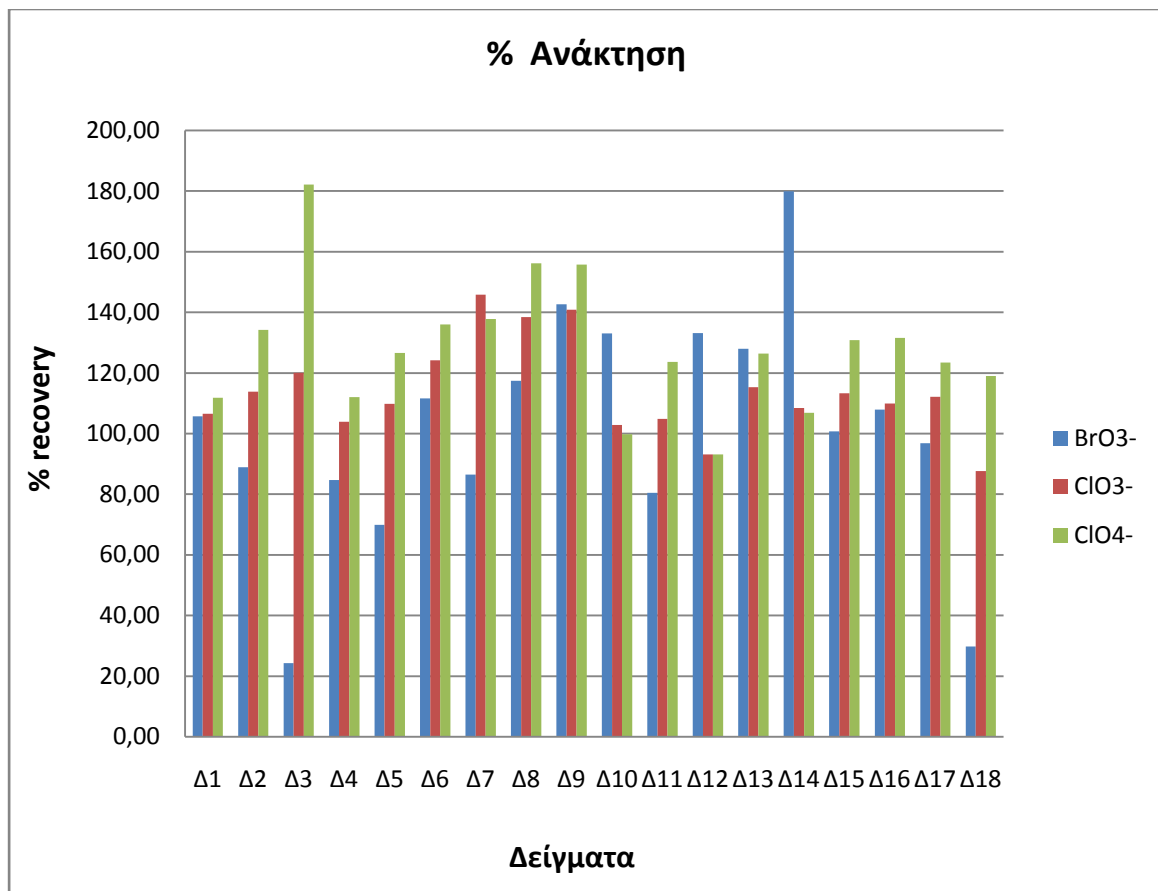
Τα αποτελέσματα παρατίθενται στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 7. Αποτελέσματα επί τοις εκατό ανάκτησης για τα δείγματα εμφιαλωμένων νερών.

Δείγματα	BrO_3^- % ανάκτηση	ClO_3^- % ανάκτηση	ClO_4^- % ανάκτηση
Δ1	105,7	106,6	111,8
Δ2	88,9	113,8	134,2
Δ3	24,2	120,1	182,2
Δ4	84,7	104,0	112,1
Δ5	69,9	109,8	126,6
Δ6	111,6	124,2	136,0
Δ7	86,4	145,8	137,8
Δ8	117,4	138,5	156,2
Δ9	142,7	140,9	155,8
Δ10	133,1	102,8	99,8
Δ11	80,5	104,8	123,7
Δ12	133,2	93,1	93,2
Δ13	127,9	115,4	126,4
Δ14	179,9	108,4	106,9
Δ15	100,7	113,4	130,9
Δ16	107,9	109,9	131,6
Δ17	96,9	112,1	123,5
Δ18	29,8	87,6	119,0

Όπως γίνεται φανερό από τον παραπάνω πίνακα, οι ανακτήσεις για τα βρωμικά ιόντα κυμαίνονται από 80.51 % έως 179.9 % εκτός από τα δείγματα Δ3 και Δ18 όπου το ποσοστό των ανακτήσεων είναι πολύ χαμηλό. Στα χλωρικά ιόντα οι ανακτήσεις κυμαίνονται σε φυσιολογικά επίπεδα από 87.64 % έως 145.80 %, όπως και στα υπερχλωρικά, 93.18 % έως 156.21 %.

Στο επόμενο γράφημα παρουσιάζονται συνοπτικά τα ποσοστά των ανακτήσεων.



Σχήμα 6. Γράφημα επί τοις εκατό ανάκτησης για τα δείγματα εμφιαλωμένων νερών.

3.2.2. Έλεγχος της επαναληψιμότητας για την τεχνική HPLC

Για τη διασφάλιση και την ακρίβεια των αποτελεσμάτων που δόθηκαν από τη χρήση της HPLC μελετήθηκε η επαναληψιμότητα η οποία παρατηρείται με τη χρήση αυτής. Η **επαναληψιμότητα (repeatability)** αποτελεί το βαθμό αμοιβαίας συμφωνίας μεταξύ των δεδομένων τα οποία λαμβάνονται με τον ίδιο τρόπο και περιγράφει τη μεταβλητότητα μεταξύ των αριθμητικών τιμών ενός αριθμού επαναλαμβανόμενων μετρήσεων που λαμβάνονται με την ίδια ακριβώς αναλυτική μέθοδο την ίδια χρονική περίοδο.

Για τον έλεγχο της επαναληψιμότητας πραγματοποιήθηκαν 10 συνεχόμενες μετρήσεις (την ίδια μέρα) ενός μείγματος και των τριών υπό μελέτη ιόντων, συγκέντρωσης 10 ppb. Κατόπιν πραγματοποιήθηκε υπολογισμός της τυπικής απόκλισης και της μέσης τιμής με απώτερο στόχο τον υπολογισμό της % σχετικής τυπικής απόκλισης (% RSD). Τα αποτελέσματα απεικονίζονται στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 8. Έλεγχος της επαναληψιμότητας της τεχνικής HPLC-ESI-MS/MS.

	BrO₃⁻	ClO₃⁻	ClO₄⁻
1	11.88	11.93	9.38
2	9.93	11.14	10.59
3	10.72	14.35	12.76
4	11.97	13.21	12.88
5	12.44	15.24	13.71
6	10.33	14.32	13.86
7	14.44	13.79	15.70
8	13.44	15.45	16.04
9	13.85	15.65	16.34
10	14.28	15.91	15.85
Τυπική απόκλιση (Stdev)	1.65	1.61	2.38
Μέσος όρος (average)	12.33	14.10	13.71
% RSD	13.39	11.41	17.36

Μέτρο της επαναληψιμότητας αποτελεί η τυπική απόκλιση (standard deviation), η οποία έχει μικρή τιμή για όλα τα εξεταζόμενα ιόντα. Συνεπώς τα αποτελέσματα τα οποία λαμβάνονται με τη χρήση της συγκεκριμένης μεθόδου παρουσιάζουν επαναληψιμότητα.

3.2.3. Υπολογισμός του ορίου ανίχνευσης

Το όριο ανίχνευσης (I.D.L.: Instrument Detection Limit) του συστήματος υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης, αντιστοιχεί στην μικρότερη εκείνη συγκέντρωση ή ποσότητα του μετρούμενου συστατικού, που μπορεί να προσδιορισθεί με αξιοπιστία από το συγκεκριμένο όργανο HPLC, με καθορισμένη στάθμη εμπιστοσύνης (Θ.Π. Χατζηζωάννου, 1990). Το πολλαπλάσιο της τυπικής απόκλισης σύμφωνα με το οποίο το ελάχιστο αναλυτικό σήμα μπορεί να γίνει αντιληπτό για όλες τις χρωματογραφικές αναλύσεις θεωρείται το $S/N=3$ με καθορισμένη στάθμη εμπιστοσύνης.

Για τον προσδιορισμό του ορίου ανίχνευσης πραγματοποιήθηκε η ανάλυση στην HPLC-ESI-MS/MS, 7 δειγμάτων πρότυπων διαλυμάτων, συγκεκριμένης συγκέντρωσης για το κάθε ιόν. Οι συγκεντρώσεις του κάθε ιόντος υπολογίσθηκαν με τη βοήθεια καμπυλών αναφοράς.

Πίνακας 9. Υπολογισμός του ορίου ανίχνευσης και ορίου ποσοτικοποίησης του οργάνου για κάθε ιόν.

Αριθμός Μετρήσεων	BrO₃⁻	ClO₃⁻	ClO₄⁻
1	7.75	4.08	0.56
2	8.57	4.65	0.50
3	7.59	5.05	0.63
4	7.25	4.72	0.64
5	8.09	4.46	0.61
6	7.66	4.03	0.60
7	7.65	4.44	0.61
Τυπική Απόκλιση (stdev)	0.42	0.36	0.05
%RSD	5.43	8.02	8.39
IDL	1.33	1.13	0.16
LOQ	4.23	3.60	0.5

Στην παρούσα εργασία, το όριο ανίχνευσης του οργάνου υπολογίζεται χρησιμοποιώντας το **Student's t-value** για καθορισμένη στάθμη εμπιστοσύνης 99 % και n-1 βαθμούς ελευθερίας (Glaser et al., 1981). Συγκεκριμένα πολλαπλασιάστηκε η τυπική απόκλιση με το

3.14 του Student's t -value για την εύρεση του IDL. Όσον αφορά το όριο ποσοτικοποίησης (**LOQ: Limit of Quantitation**), το κατώτερο όριο ποσοτικών μετρήσεων θα θεωρηθεί ότι είναι δεκαπλάσιο της τυπικής απόκλισης της ελάχιστης ποσότητας που μπορεί να μετρηθεί στο όργανο και παρουσιάζεται στον πίνακα 9 (Skoog et al., 2002).

Το IDL υπολογίζεται ως ακολούθως: **IDL=(Stdev)*3.143**

Το LOQ υπολογίζεται ως ακολούθως: **LOQ=10*(stdev)**

Το όριο **ανίχνευσης της μεθόδου (MDL: Method Detection Limit)** υπολογίζεται λαμβάνοντας υπόψη το IDL και το επί τοις εκατό ποσοστό ανάκτησης της μεθόδου. Στην παρούσα εργασία όμως θεωρείται ίσο με το IDL λόγω της αμελητέας επεξεργασίας των δειγμάτων. Συνεπώς IDL ίδιο με MDL. Η **γραμμικότητα** της μεθόδου υπολογίστηκε με βάση τα R^2 από τις καμπύλες βαθμονόμησης για κάθε αναλύτη (Department of Natural Resources, 1996).

3.3. Μέθοδος προσθήκης γνωστών ποσοτήτων και έλεγχος ύπαρξης παρεμπόδισης μήτρας (matrix effect)

Με τον όρο Παρεμπόδιση Μήτρας (matrix effect: M.E.), χαρακτηρίζονται οι φυσικές μη-φασματομετρικές παρεμποδίσεις (επίδραση μήτρας) που οφείλονται στην αλλαγή των φυσικών ιδιοτήτων του διαλύματος (ιξώδους, πυκνότητας, επιφανειακής τάσεως, τάσεως ατμών διαλύματος) από ηλεκτρολύτες ή οργανικές ουσίες. Οι αλλαγές αυτές συνεπάγονται μεταβολές στην αποδοτικότητα της εκνεφώσεως, του ψεκασμού και του ιοντισμού, κι αυτό γιατί στην περίπτωση που η παρεμποδίζουσα ουσία είναι επιφανειοδραστική καταλαμβάνει χώρο πάνω στην σταγόνα κατά τον ηλεκτροψεκασμό και παρεμποδίζει την ουσία που μας ενδιαφέρει να περάσει στην αέρια ιονισμένη μορφή της και συνεπώς το σήμα που λαμβάνουμε για αυτήν είναι μικρότερο από το πραγματικό.

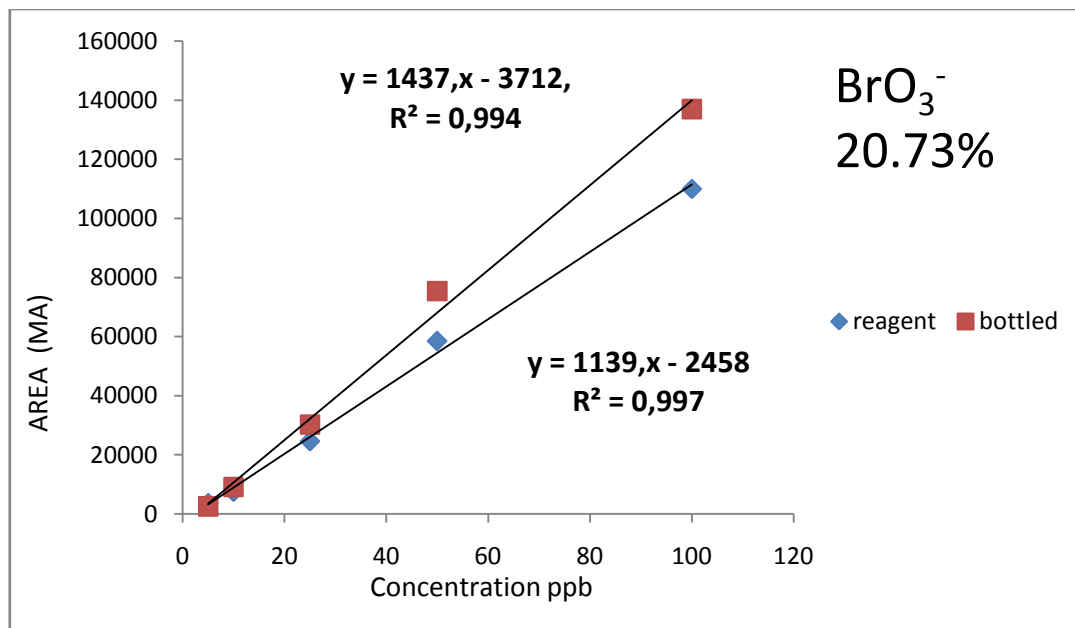
Στην παρούσα εργασία πραγματοποιήθηκε έλεγχος ύπαρξης του φαινομένου M.E. με τη δημιουργία δύο καμπυλών βαθμονόμησης. Οι καμπύλες αυτές αποτελούνταν από τις ίδιες γνωστές ποσότητες των προς μελέτη ιόντων (5 ppb, 10 ppb, 25 ppb, 50 ppb, 100 ppb) με μόνη διαφορά ότι η μία είχε ως μήτρα υπερκάρθαρo νερό και η δεύτερη ένα εμφιαλωμένο νερό. Ο ακριβής ποσοτικός προσδιορισμός έγινε ακολουθώντας τα παρακάτω βήματα:

1. Πραγματοποιούνται μετρήσεις πρότυπων διαλυμάτων διαφόρων συγκεντρώσεων (5 ppb, 10 ppb, 25 ppb, 50 ppb, 100 ppb) και βάση των δεδομένων που προκύπτουν (ολοκληρώματα) γίνεται κατασκευή καμπύλης αναφοράς. Στην καμπύλη αυτή παριστάνεται το ολοκλήρωμα που λαμβάνεται από κάθε δείγμα συναρτήσει της συγκέντρωσης.
2. Στη συνέχεια σε μήτρα του πραγματικού δείγματος προστίθεται σ' αυτό ποσότητα από πρότυπο διάλυμα με τέτοιο τρόπο ώστε να επιτευχθούν ίδιες συγκεντρώσεις με αυτές που κατασκευάστηκε η καμπύλη αναφοράς (5 ppb, 10 ppb, 25 ppb, 50 ppb, 100 ppb).
3. Από τα δεδομένα που λαμβάνονται κατά την μέτρηση των παραπάνω δειγμάτων, κατασκευάζεται δεύτερη καμπύλη.
4. Σε όλα πρότυπα διαλύματα που παρασκευάστηκαν, ακολουθήθηκε η διαδικασία επεξεργασίας των διαλυμάτων όπως στα κανονικά δείγματα. Δηλαδή, υπήρξε προεπεξεργασία με φιλτράρισμα από Cartridge Ag και φίλτρα Whatman.

Εάν το ποσοστό επί τοις εκατό της διαφοράς των κλίσεων των δύο καμπυλών είναι μικρότερο του 20 %, τότε θεωρείται ότι δεν υπάρχει παρεμπόδιση μήτρας και ο ποσοτικός

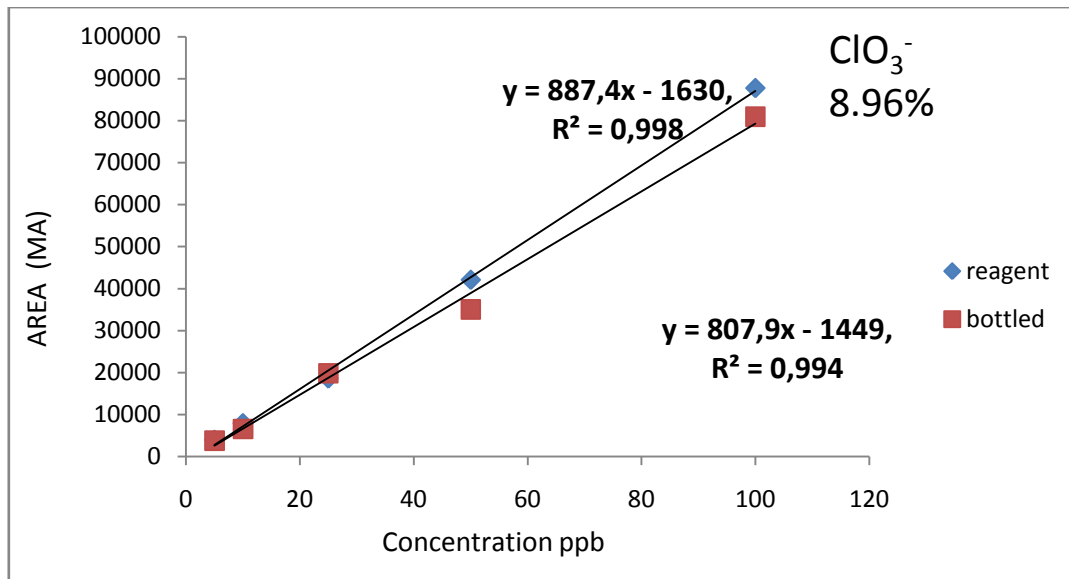
προσδιορισμός των ενώσεων μπορεί να γίνει με χρήση της καμπύλης βαθμονόμησης κατά τον γνωστό τρόπο. Στην περίπτωση όμως που το παραπάνω ποσοστό είναι μεγαλύτερο του 20 %, τότε η πραγματική ποσότητα των ενώσεων που μελετάμε αντιστοιχεί εκτός της καμπύλης βαθμονόμησης και πρέπει να πραγματοποιηθούν περαιτέρω διαφοροποιήσεις στη μέθοδο για την ελάττωση του Μ.Ε..

Παρακάτω παρουσιάζονται τα διαγράμματα με τις καμπύλες βαθμονόμησης του υπερκάθαρου νερού και του νερού μήτρας, καθώς και η διαφορά των κλίσεων των ευθειών για το κάθε ιόν χωριστά.

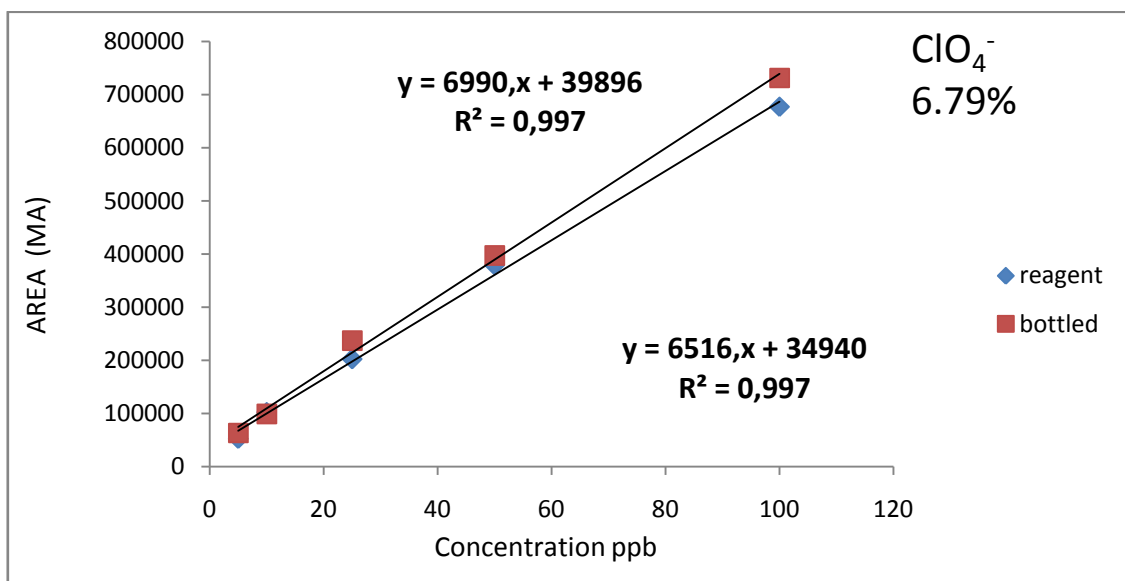


Σχήμα 7. Μελέτη ύπαρξης παρεμπόδισης μήτρας για το βρωμικό ιόν.

Όπως γίνεται αντιληπτό στο σχήμα 7, η διαφορά των κλίσεων των δύο ευθειών είναι οριακά κοντά στο 20 %. Συνεπώς, οριακά θεωρείται ότι δεν υπάρχει παρεμπόδιση μήτρας.



Σχήμα 8. Μελέτη ύπαρξης παρεμπόδισης μήτρας για το χλωρικό ιόν.



Σχήμα 9. Μελέτη ύπαρξης παρεμπόδισης μήτρας για το υπερχλωρικό ιόν.

Παρατηρώντας τα σχήματα 8 και 9, γίνεται φανερό ότι δεν υπάρχει Μ.Ε. για τα χλωρικά και υπερχλωρικά ιόντα.

3.4. Εφαρμογή HPLC-ESI-MS/MS για τον ποσοτικό προσδιορισμό των υπό μελέτη ιόντων σε δείγματα εμφιαλωμένου νερού.

Ο ποσοτικός προσδιορισμός των οξυαλογόνων επιτυγχάνεται με τη χρήση του συστήματος HPLC-ESI-MS/MS, με το οποίο επιτυγχάνεται χαμηλό όριο ανίχνευσης, υψηλή ακρίβεια, υψηλή ευαισθησία και εκλεκτικότητα. Ακόμη η χρήση της μεθόδου SRM επιτρέπει την επιβεβαίωση ότι τα ιόντα που ανιχνεύονται είναι τα επιθυμητά προς μελέτη και όχι κάποια άλλη ένωση.

3.4.1. Ανάλυση δειγμάτων εμφιαλωμένων νερών HPLC-ESI-MS/MS.

Για την παρούσα εργασία αναλύθηκαν δεκαοκτώ μάρκες εμφιαλωμένου νερού. Οι εννέα από αυτές αντιστοιχούν σε φυσικό μεταλλικό νερό και άλλες εννέα σε επιτραπέζιο. Η επεξεργασία των δειγμάτων περιγράφεται στην ενότητα 2.3.2. ενώ η μέτρηση του ποσοστού των ιόντων στα δείγματα πραγματοποιήθηκε με εξωτερική καμπύλη βαθμονόμησης.

Πίνακας 10. Δείγματα φυσικών μεταλλικών νερών.

	ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΕΜΦΙΑΛΩΜΕΝΩΝ ΦΥΣΙΚΩΝ ΜΕΤΑΛΛΙΚΩΝ ΝΕΡΩΝ	[SO ₄ ²⁻] mg/L	[Cl ⁻] mg/L	Αγωγιμότητα μS/cm (25°C)
1	Δ1	15.0	9.8	396
2	Δ2	10.5	7.8	485
3	Δ3	1121	7.6	-
4	Δ4	12.6	6.8	-
5	Δ5	9.8	6.8	399
6	Δ6	<0.5	9.5	499
7	Δ7	120.0	-	-
8	Δ8	8.5	4.3	344
9	Δ9	6.1	13.6	271

Πίνακας 11. Δείγματα εμφιαλωμένων επιτραπέζιων νερών.

	ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΕΜΦΙΑΛΩΜΕΝΩΝ ΕΠΙΤΡΑΠΕΖΙΩΝ ΝΕΡΩΝ	[SO ₄ ²⁻] mg/L	[Cl] mg/L	Αγωγιμότητα μS/cm (25°C)
10	Δ10	15.2	6.4	619
11	Δ11	11,6	6,8	478
12	Δ12	13.4	27	433
13	Δ13	6.3	11.3	269
14	Δ14	7.9	17.4	297
15	Δ15	8.7	12.0	251
16	Δ16	<5.0	12.0	289
17	Δ17	7.9	17.4	297
18	Δ18	23.0	66.7	555

Στους παραπάνω πίνακες παρουσιάζονται οι κωδικές ονομασίες των νερών που αναλύθηκαν στην παρούσα εργασία. Δεν δίνονται οι ονομασίες των νερών επιγραμματικά διότι **η συγκεκριμένη μελέτη δεν έχει σκοπό να αναλύσει εμφιαλωμένα νερά συγκεκριμένων εταιρειών, αλλά να αποκτήσει μία γενική εικόνα της ποιότητας των νερών αυτών που κυκλοφορούν στο εμπόριο**. Τα νερά χωρίζονται σε φυσικά μεταλλικά και επιτραπέζια. Η διαφορά αυτών έγκειται στην επεξεργασία τους. Πιο συγκεκριμένα:

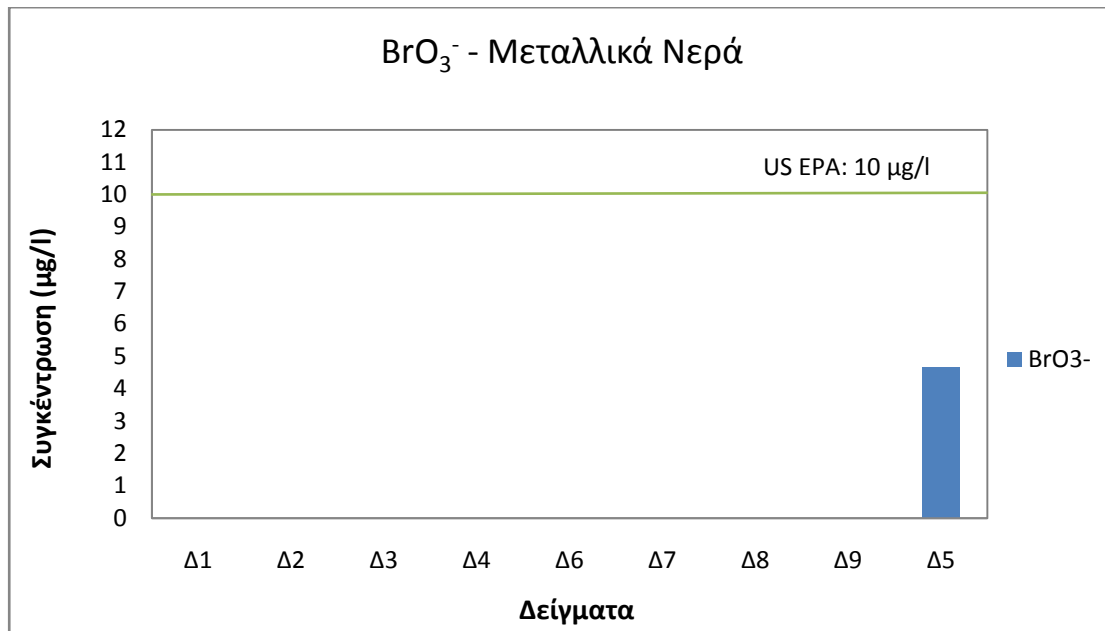
Ως φυσικό μεταλλικό νερό νοείται ένα νερό μικροβιολογικά υγιεινό, που προέρχεται από ένα υπόγειο υδροφόρο ορίζοντα και που υπόκειται σε εκμετάλλευση από μία ή περισσότερες φυσικές ή τεχνητές, μετά από γεώτρηση, εξόδους μίας πηγής.

Ως επιτραπέζιο νερό νοείται το νερό που προσφέρεται από το εμπόριο συσκευασμένο αεροστεγώς εντός υάλινων ή πλαστικών φιαλών ή πλαστικών δοχείων και προορίζεται για ανθρώπινη κατανάλωση, πληροί τις ποιοτικές απαιτήσεις και προδιαγραφές του εκάστοτε νόμου.

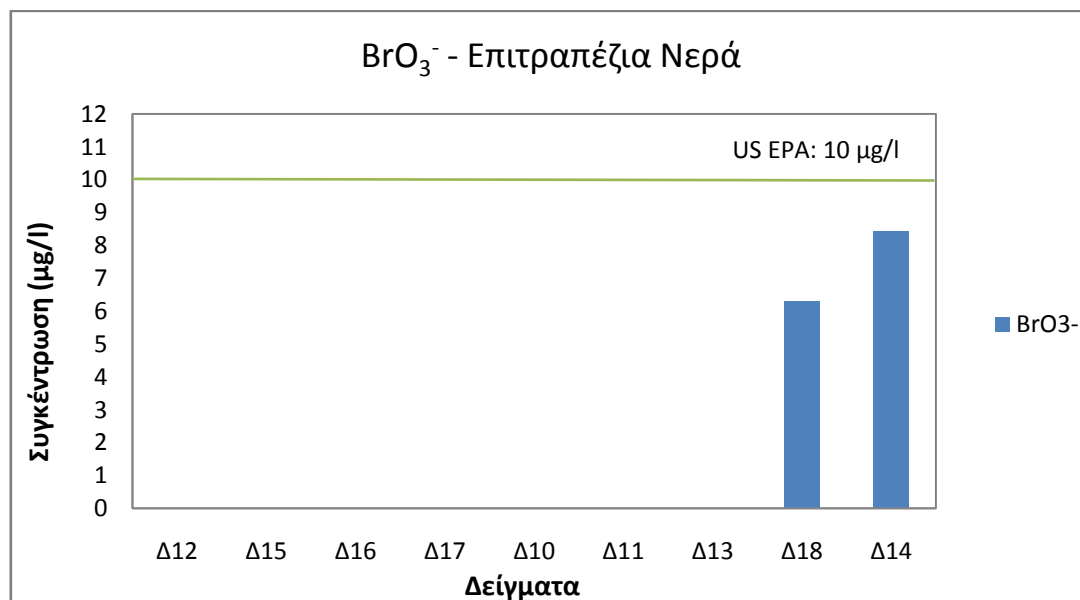
Επισημαίνεται ότι τα φυσικά μεταλλικά νερά διακρίνονται από τα επιτραπέζια καθώς **στα φυσικά μεταλλικά νερά «Απαγορεύεται κάθε επεξεργασία απολύμανσης με**

οποιαδήποτε μέθοδο και αν γίνεται». Ενώ στην περίπτωση των επιτραπέζιων, το νερό πριν την εμφιάλωσή, επιτρέπεται να υποβάλλεται σε αποτελεσματική απολύμανση (Διεύθυνση-Υγιεινής-Περιβάλλοντος, 2009).

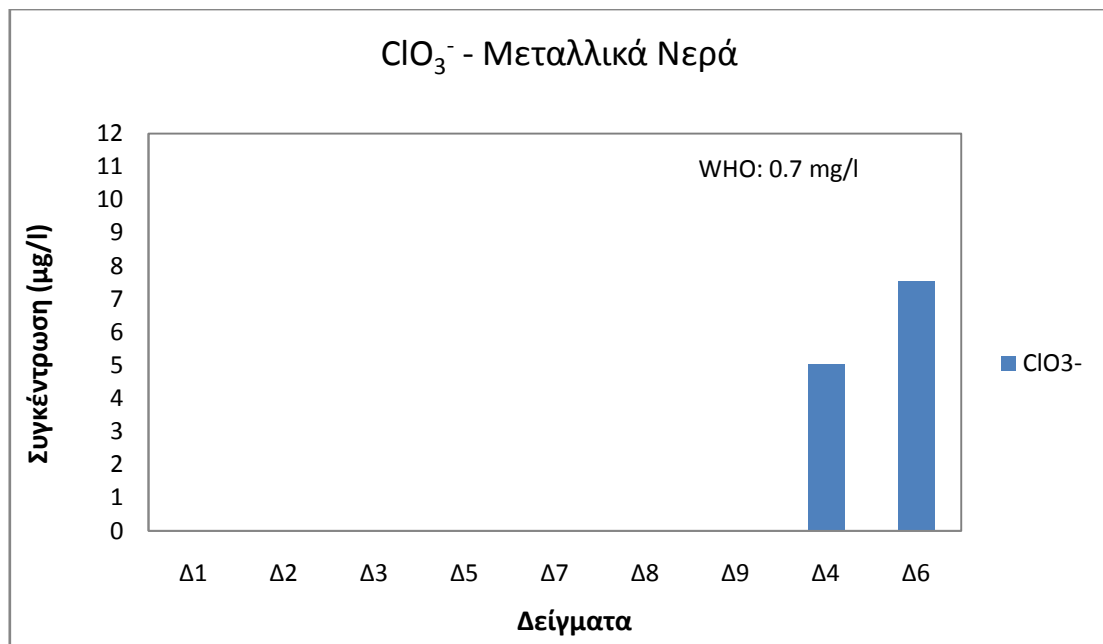
Ακολούθως παρουσιάζονται συνοπτικά στα παρακάτω γραφήματα, οι συγκεντρώσεις των τριών προς μελέτη ιόντων σε φυσικά μεταλλικά και επιτραπέζια νερά.



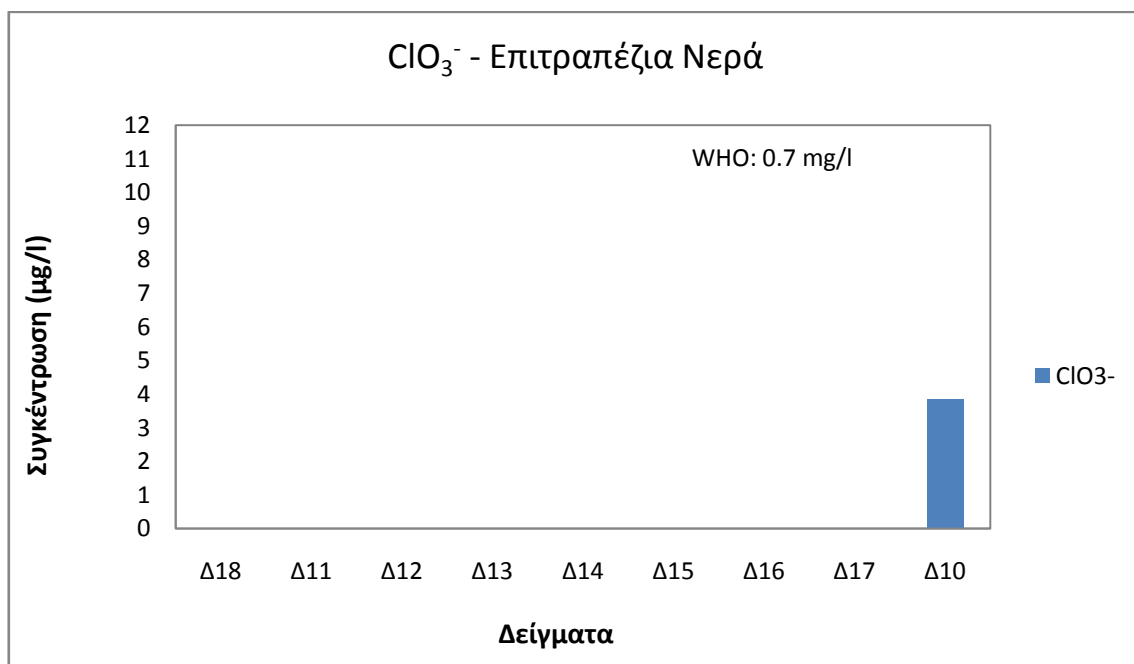
Σχήμα 10. Συγκεντρώσεις BrO_3^- στα φυσικά μεταλλικά νερά και ανώτατο επιτρεπτό όριο από USEPA.



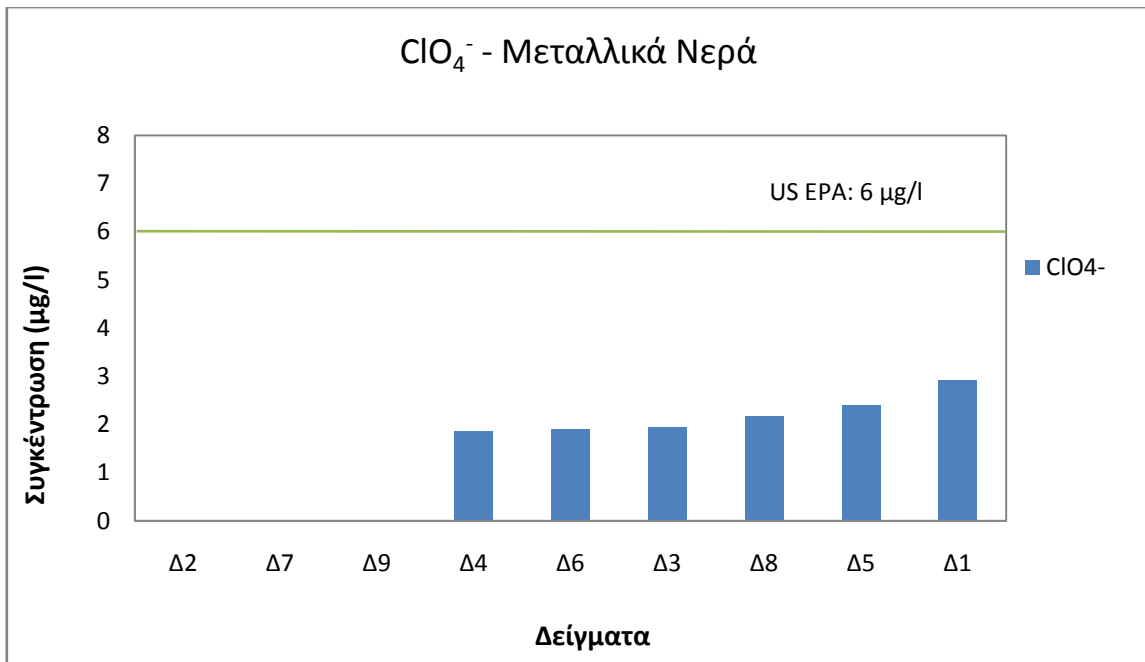
Σχήμα 11. Συγκεντρώσεις BrO_3^- στα επιτραπέζια νερά και ανώτατο επιτρεπτό όριο από USEPA.



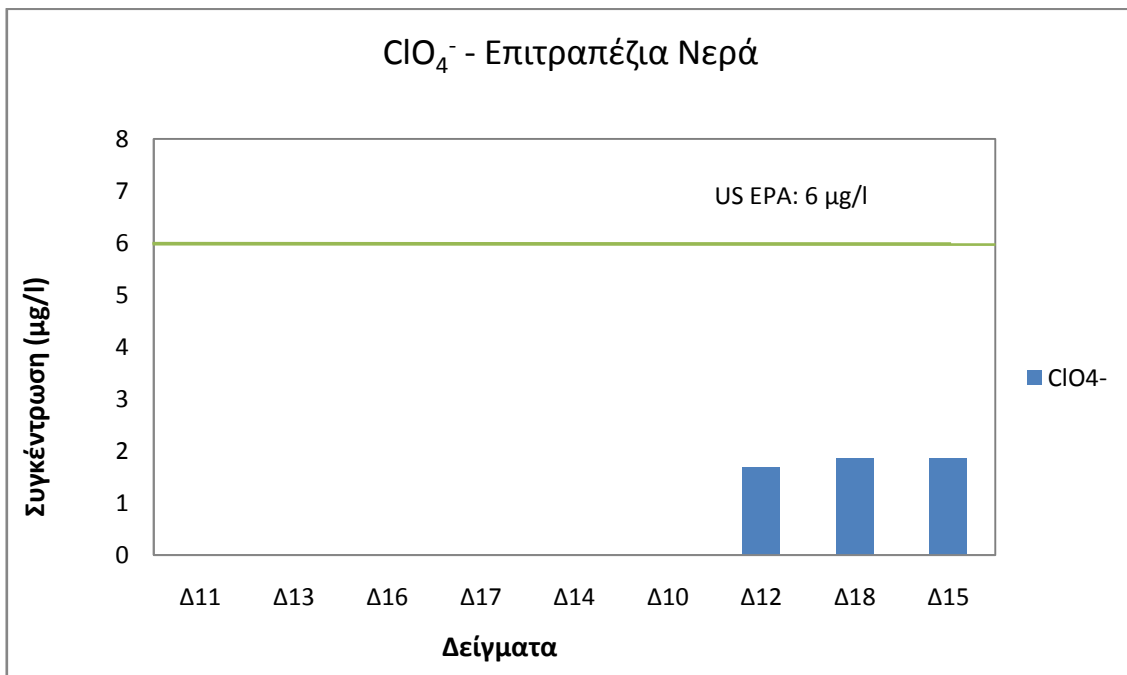
Σχήμα 12. Συγκεντρώσεις ClO₃⁻ στα φυσικά μεταλλικά νερά και ανώτατο επιτρεπτό όριο από τον WHO.



Σχήμα 13. Συγκεντρώσεις ClO₃⁻ στα επιτραπέζια νερά και ανώτατο επιτρεπτό όριο από τον WHO.



Σχήμα 14. Συγκεντρώσεις ClO₄⁻ στα φυσικά μεταλλικά νερά και ανώτατο επιτρεπτό όριο από την USEPA.



Σχήμα 15. Συγκεντρώσεις ClO₄⁻ στα επιτραπέζια νερά και ανώτατο επιτρεπτό όριο από την USEPA.

Συνοπτικά τα αποτελέσματα συνοψίζονται στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 12. Συνοπτικός πίνακας αποτελεσμάτων με συγκεντρώσεις σε $\mu\text{g/l}$.

ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΕΜΦΙΑΛΩΜΕΝΩΝ ΝΕΡΩΝ	BrO_3^- ($\mu\text{g/l}$)	ClO_3^- ($\mu\text{g/l}$)	ClO_4^- ($\mu\text{g/l}$)
Δ1	nd	nd	2.91
Δ2	nd	nd	nd
Δ3	nd	nd	1.94
Δ4	nd	5.02	1.86
Δ5	4.68	nd	2.41
Δ6	nd	7.54	1.90
Δ7	nd	nd	nd
Δ8	nd	nd	2.17
Δ9	nd	nd	nd
Δ10	nd	3.86	nd
Δ11	nq	nd	nd
Δ12	nd	nd	1.68
Δ13	nq	nd	nd
Δ14	8.42	nd	nd
Δ15	nd	nd	1.86
Δ16	nd	nd	nd
Δ17	nd	nd	nd
Δ18	6.31	nd	1.85

*nd = non detected

*nq = non quantified

Από τα παραπάνω αποτελέσματα μπορούμε να συμπεράνουμε τα εξής:

Συγκεκριμένα ξεκινώντας από τα υπερχλωρικά, παρατηρείται ότι εννέα δείγματα από τα 18 περιέχουν υπερχλωρικά. Το αποτέλεσμα αυτό δε χρίζει ανησυχίας καθότι τα

υπερχλωρικά βρίσκονται σε αφθονία στη φύση (βλ. παράγραφο 1.8) είτε μέσω του φυσικού σχηματισμού τους στη ατμόσφαιρα είτε μέσω της ανθρωπογενής δραστηριότητας.

Όσον αφορά τα χλωρικά, μόνο σε τρία δείγματα από τα δεκαοκτώ ανιχνεύτηκαν χλωρικά όπου δύο νερά ήταν μεταλλικά και ένα επιτραπέζιο. Αρχικά θα πρέπει να τονιστεί ότι τα χλωρικά απαντώνται στη φύση και χωρίς την διαδικασία της χλωρίωσης (βλ παράγραφο 1.7). Συνεπώς είναι φυσιολογικό να ανιχνεύονται χλωρικά ακόμη και σε τόσο χαμηλά $\mu\text{g/l}$. Επίσης η μη ύπαρξή τους στα επιτραπέζια νερά, φανερώνει ότι ενδεχομένως, η διαδικασία απολύμανσης των νερών πραγματοποιήθηκε με όζον και όχι με υποχλωριώδη ιόντα.

Όσον αφορά τις συγκεντρώσεις των βρωμικών ιόντων, σε τρία δείγματα από τα δεκαοκτώ ανιχνεύτηκαν τα ιόντα αυτά. Οι συγκεντρώσεις τους ήταν κάτω από το MCL αλλά και πολύ κοντά σε αυτό. Το γεγονός αυτό είναι ανησυχητικό καθώς τα νερά είναι φυσικό να περιέχουν βρωμιούχα ιόντα τα οποία αντιδρούν με το όζον προς το σχηματισμό βρωμικών. Τα βρωμικά σχηματίζονται κατά την απολύμανση με όζον (βλ. παράγραφο 1.6) και λιγότερο με υποχλωριώδη οξέα. Επίσης, ως αποτέλεσμα θα έπρεπε τα φυσικά μεταλλικά νερά να μην περιέχουν βρωμικά ιόντα καθώς δεν απολυμαίνονται. Παρόλα αυτά, σε ένα δείγμα μεταλλικών νερών υπάρχουν. Γεγονός που οδηγεί σε σκέψεις καθώς ενδεχομένως η οζόνωση να μην αποτελεί τον κύριο λόγο δημιουργίας βρωμικών.

3.4.2. Ανάλυση δειγμάτων νερού βιομηχανικής μονάδας με τη μέθοδο IC-CD

Στο συγκεκριμένο κομμάτι της εργασίας, λήφθηκε η απόφαση να πραγματοποιηθεί ταυτόχρονη ανάλυση δειγμάτων νερού εταιρείας αναψυκτικών με την μέθοδο της HPLC-ESI-MS/MS και με την μέθοδο της IC-CD, με στόχο την επαλήθευση της αρχικής μεθόδου.

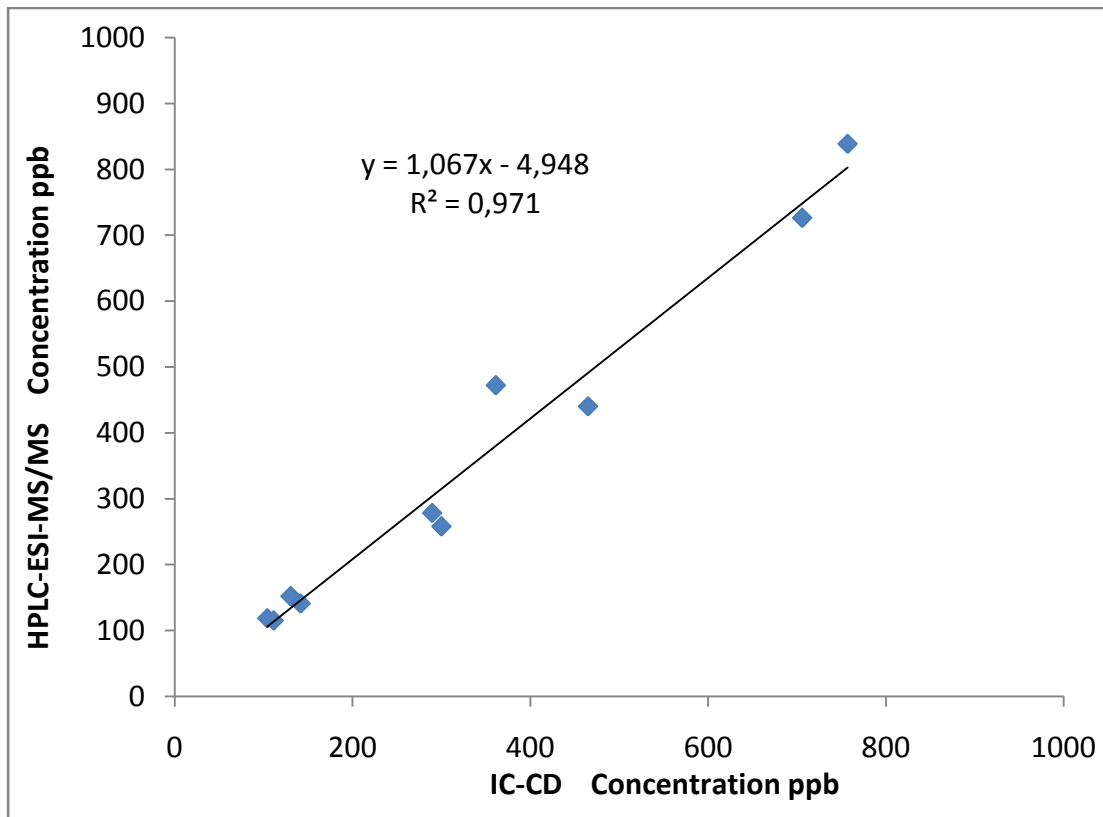
Αναλύθηκαν δέκα δείγματα νερού, σε συγκεκριμένα στάδια της επεξεργασίας τους. Κατόπιν, τα ίδια δείγματα αναλύθηκαν στην ιοντική χρωματογραφία με σκοπό τη σύγκριση των δύο μεθόδων. Πρέπει να αναφερθεί ότι μελετήθηκαν μόνο τα ClO_3^- ιόντα και στις δύο μεθόδους, καθώς τα νερά ήταν επεξεργασμένα και έτοιμα για χρήση μόνο με χλωρίωση οπότε και ωφελήθηκε η δημιουργία χλωρικών ιόντων. Βρωμικά και υπερχλωρικά δεν ανιχνεύτηκαν καθώς βρίσκονταν σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις, αδύνατες να ανιχνευτούν από την ιοντική χρωματογραφία.

Πίνακας 13. Συγκεντρώσεις δειγμάτων νερού των μεθόδων HPLC-ESI- MS/MS και IC-CD.

	Δείγματα	Concentration $\mu\text{g/l}$		% διαφορά $\mu\text{g/l}$
		HPLC-ESI-Ms/Ms	IC	
1	B1 04/10	111,2	115,1	3,4
2	B2 04/10	299,7	258,0	16,2
3	B3 04/10	289,5	278,7	3,9
4	B4 04/10	705,7	726,3	2,8
5	B5 04/10	756,8	838,7	9,8
6	B1 07/10	103,9	118,9	12,6
7	B2 07/10	130,4	152,0	14,3
8	B3 07/10	141,5	141,1	0,3
9	B4 07/10	464,7	440,5	5,5
10	B5 07/10	361,1	472,1	23,5

Στον παραπάνω πίνακα παρουσιάζονται οι συγκεντρώσεις χλωρικών που ποσοτικοποιήθηκαν και από τις δύο μεθόδους και η επί τοις εκατό διαφορά των μεταξύ

τους συγκεντρώσεων στο κάθε δείγμα. Για την μελέτη του ποσοστού της συσχέτισης των δύο μεθόδων, δημιουργήθηκε διάγραμμα των συγκεντρώσεων αυτών, το οποίο παρουσιάζεται παρακάτω:



Σχήμα 16. Σύγκριση μεθόδων HPLC-ESI-MS/MS και IC-CD.

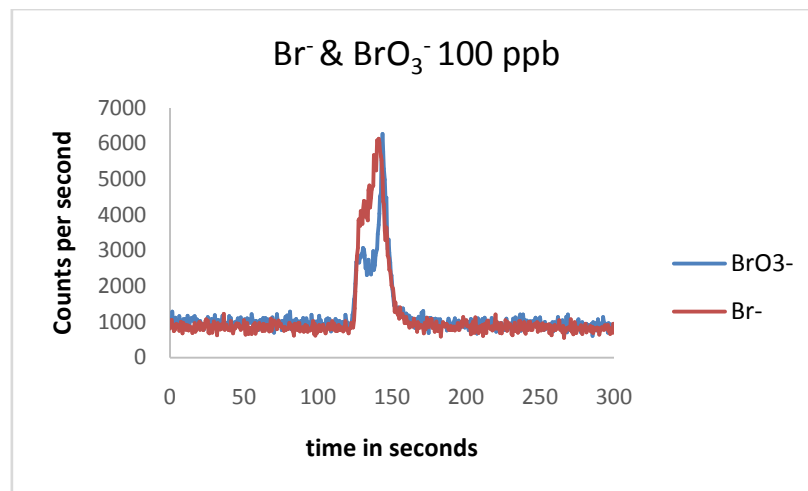
Τα δείγματα αναλύθηκαν σε ίδιο χρόνο και από τις δύο μεθόδους, γεγονός που βοήθησε στην σύγκρισή τους. Όπως γίνεται αντιληπτό από το παραπάνω γράφημα οι δύο μέθοδοι συμφωνούν και τα αποτελέσματα συσχετίζονται. Η απόκλιση μεταξύ των δειγμάτων δεν υπερβαίνει το 16 % και κυμαίνεται από 0.3 έως 16 % . Αποτέλεσμα της όλης συσχέτισης είναι η ενίσχυση της αξιοπιστίας της μίας μεθόδου μέσω της άλλης και η μεταξύ τους επαλήθευση.

3.4.3. Ανάλυση δειγμάτων εμφιαλωμένου νερού με τη μέθοδο HPLC-ICP-MS

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης για τα 18 δείγματα εμφιαλωμένων νερών, υπήρξαν 5 δείγματα από τα 18, όπου βρέθηκαν βρωμικά ιόντα. Στα 3 από αυτά ήταν εφικτή η ποσοτικοποίηση τους. Αυτό, σε συνδυασμό με το γεγονός ότι οι συγκεντρώσεις δύο εξ αυτών ήταν μεγαλύτερες των 5 ppb και κοντά στα 10 ppb, λήφθηκε η απόφαση να πραγματοποιηθεί μελέτη των δειγμάτων σε μέθοδο διαφορετική της HPLC-ESI-MS/MS ούτως ώστε να μελετηθούν με μεγαλύτερη ακρίβεια τα βρωμικά ιόντα. Υπήρξε, λοιπόν, η ανάγκη για χαμηλότερα όρια ανίχνευσης και άρα ποσοτικοποίηση των δειγμάτων που δεν μπόρεσαν να ποσοτικοποιηθούν στη χρωματογραφία υψηλής απόδοσης. Επιπλέον κρίθηκε απαραίτητη η μελέτη βρωμικών και βρωμιούχων ιόντων, στην προσπάθεια εξήγησης της ύπαρξης των βρωμικών ιόντων στα νερά αυτά. Λόγω των παραπάνω επιλέχθηκε η μέθοδος της Υγρής Χρωματογραφίας συνδεδεμένης με Φασματομετρία Μάζας Επαγωγικά Συζευγμένου Πλάσματος.

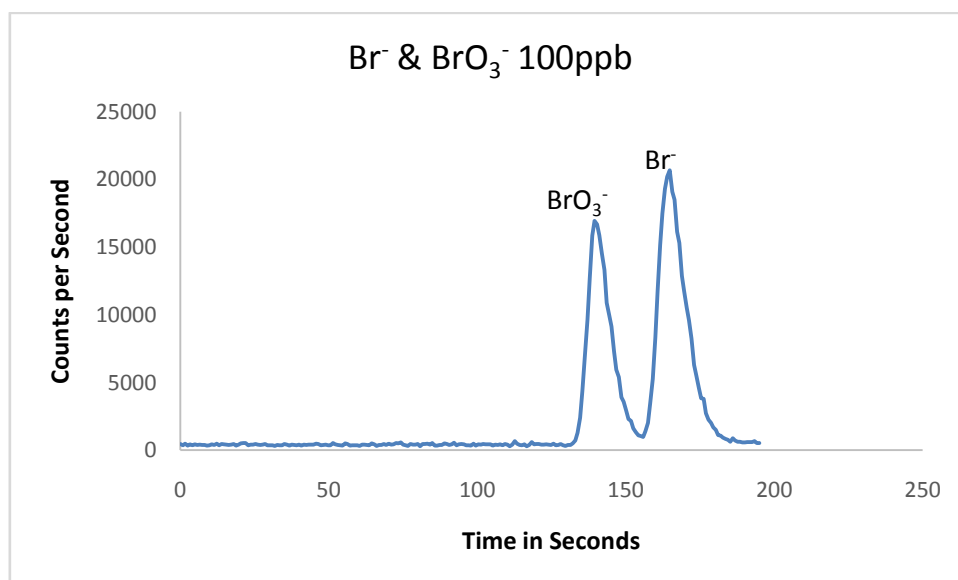
Αρχικά πραγματοποιήθηκε χρήση της ίδιας χρωματογραφίας με την HPLC-ESI-MS/MS στη μέθοδο HPLC-ICP-MS με σκοπό την παρακολούθηση των βρωμικών ιόντων αλλά ταυτόχρονα και των βρωμιούχων σε ανιχνευτή μεγαλύτερης ευαισθησίας και με χαμηλότερα όρια ανίχνευσης.

Σε αυτό το σημείο πρέπει να τονιστεί ότι **η ίδια ακριβώς χρωματογραφία αντίστροφης φάσης της HPLC-ESI-MS/MS αξιολογήθηκε και στο HPLC-ICP-MS**. Πιο συγκεκριμένα, με τη στήλη Fortris αντίστροφης φάσης που χρησιμοποιήθηκε στην HPLC-ESI-MS/MS δεν επιτεύχθηκε διαχωρισμός των κορυφών βρωμιούχων ιόντων και βρωμικών, αλλά οι δύο κορυφές παρουσιάζονταν ως μία στο HPLC-ICP-MS. Αυτό ενώ δεν ήταν πρόβλημα στην τεχνική SRM HPLC-ESI-MS/MS είναι σημαντική παρεμπόδιση για την τεχνική HPLC-ICP-MS. Στο παρακάτω χρωματογράφημα παρουσιάζεται ο μη διαχωρισμός τους.



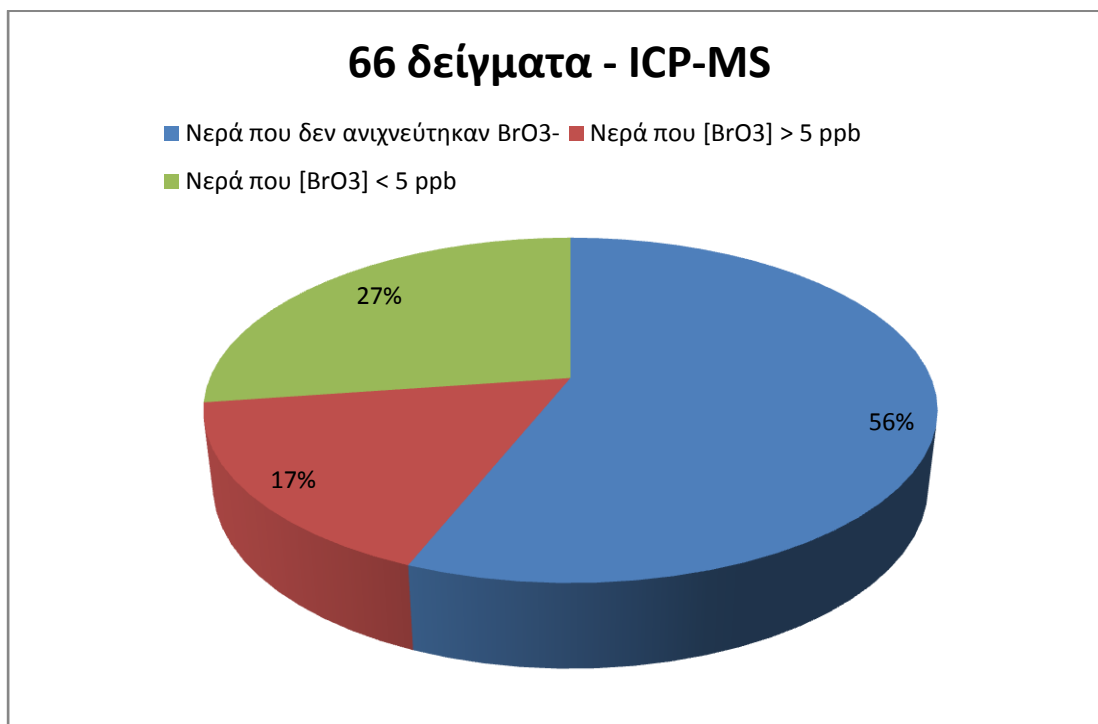
Σχήμα 17. Χρωματογράφημα έκλουσης βρωμιούχων και βρωμικών ιόντων συγκέντρωσης 100 ppb με την στήλη Fortris στην μέθοδο RPLC-ICP-MS.

Ως αποτέλεσμα πραγματοποιήθηκε αλλαγή της χρωματογραφίας, αλλάζοντας τη στήλη. Συγκεκριμένα, χρησιμοποιήθηκε η στήλη ανιονανταλλαγής Hamilton PRP-x100 (10 μm 4.1 x 100 mm) με κινητή φάση 18 mM νιτρικό οξύ και 34 mM υδροξείδιο του αμμωνίου και pH 4.0. Το loop που χρησιμοποιήθηκε ήταν στα 50 μl και η ροή της κινητής φάσης στα 0.8 ml/min. Ο διαχωρισμός ήταν επιτυχής και αυτό παρουσιάζεται στο παρακάτω χρωματογράφημα.



Σχήμα 18. Χρωματογράφημα έκλουσης βρωμιούχων και βρωμικών ιόντων συγκέντρωσης 100 ppb με την στήλη Hamilton στην μέθοδο HPLC-ICP-MS.

Στη συγκεκριμένη μέθοδο αναλύθηκαν 66 δείγματα εμφιαλωμένου νερού – τρία με τέσσερα δείγματα από διαφορετικές παρτίδες το καθένα. Δεν αναλύθηκαν τα 18 δείγματα που είχαν αναλυθεί στην HPLC-ESI-MS/MS καθώς είχε περάσει αρκετός καιρός από το άνοιγμα των μπουκαλιών, με αποτέλεσμα να έχει ξεκινήσει ήδη η παραγωγή περισσότερων παραπροϊόντων λόγω της επαφής τους με το οξυγόνο της ατμόσφαιρας. Κάποια από αυτά είχαν ήδη λήξει. Τα καινούρια δείγματα είτε βρίσκονταν κοντά στην ημερομηνία λήξης τους, είτε ήταν καινούρια. Κανένα όμως δεν είχε λήξει.



Σχήμα 19. Κατανομή συγκέντρωσης βρωμικών στα δείγματα με τη μέθοδο HPLC-ICP-MS.

Όπως παρουσιάζεται στο παραπάνω γράφημα, από τα 66 δείγματα που αναλύθηκαν, τα 37 εξ αυτών δεν περιείχαν βρωμικά ιόντα (56 %), τα 11 δείγματα είχαν συγκεντρώσεις μεγαλύτερες των 5 ppb (17 %) και τα 18 περιείχαν βρωμικά σε συγκεντρώσεις μικρότερες των 5 ppb (27 %).

Παρακάτω παρουσιάζονται οι συγκεντρώσεις των βρωμικών ιόντων και των αντίστοιχων βρωμιούχων τους για όλα τα δείγματα στο HPLC-ICP-MS.

Πίνακας 14. Συνοπτικός πίνακας αποτελεσμάτων HPLC-ICP-MS με συγκεντρώσεις σε ppb.

Δείγμα	[BrO ₃ ⁻] ppb	[Br ⁻] ppb	Δείγμα	[BrO ₃ ⁻] ppb	[Br ⁻] ppb	Δείγμα	[BrO ₃ ⁻] ppb	[Br ⁻] ppb
1	nd	97,95	23	nd	31,38	45	2,22	86,85
2	nd	90,59	24	nd	66,21	46	2,55	21,77
3	nd	45,52	25	nd	64,82	47	2,66	46,66
4	nd	41,22	26	nd	69,30	48	3,08	46,61
5	nd	46,32	27	nd	42,47	49	3,16	46,75
6	nd	29,53	28	nd	42,81	50	3,34	46,11
7	nd	9,24	29	nd	41,78	51	3,50	46,28
8	nd	9,10	30	nd	57,66	52	3,78	50,99
9	nd	8,95	31	nd	57,78	53	3,92	41,42
10	nd	30,94	32	nd	55,19	54	4,82	42,46
11	nd	38,12	33	nd	80,20	55	4,96	196,40
12	nd	39,68	34	nd	100,31	56	6,46	212,13
13	nd	76,86	35	nd	69,79	57	7,87	237,73
14	nd	77,72	36	nd	29,74	58	8,08	74,92
15	nd	74,99	37	nd	17,95	59	8,11	40,17
16	nd	27,04	38	0,26	72,70	60	8,69	38,02
17	nd	30,52	39	1,13	30,43	61	9,35	39,17
18	nd	29,43	40	1,36	26,93	62	10,04	41,72
19	nd	15,05	41	1,37	89,80	63	11,80	68,38
20	nd	14,58	42	1,51	89,00	64	12,70	37,65
21	nd	15,53	43	1,96	20,15	65	14,81	58,45
22	nd	36,25	44	2,15	19,51	66	38,15	30,04

3.4.4. Σύγκριση Αποτελεσμάτων HPLC-ESI-MS/MS και HPLC-ICP-MS

Σε αυτό το κομμάτι της παρούσας διατριβής κρίνεται απαραίτητη η υπενθύμιση ότι **η συγκεκριμένη μελέτη δεν έχει σκοπό να αναλύσει εμφιαλωμένα νερά συγκεκριμένων εταιρειών, αλλά να αποκτήσει μία γενική εικόνα της ποιότητας των νερών αυτών που κυκλοφορούν στο εμπόριο.**

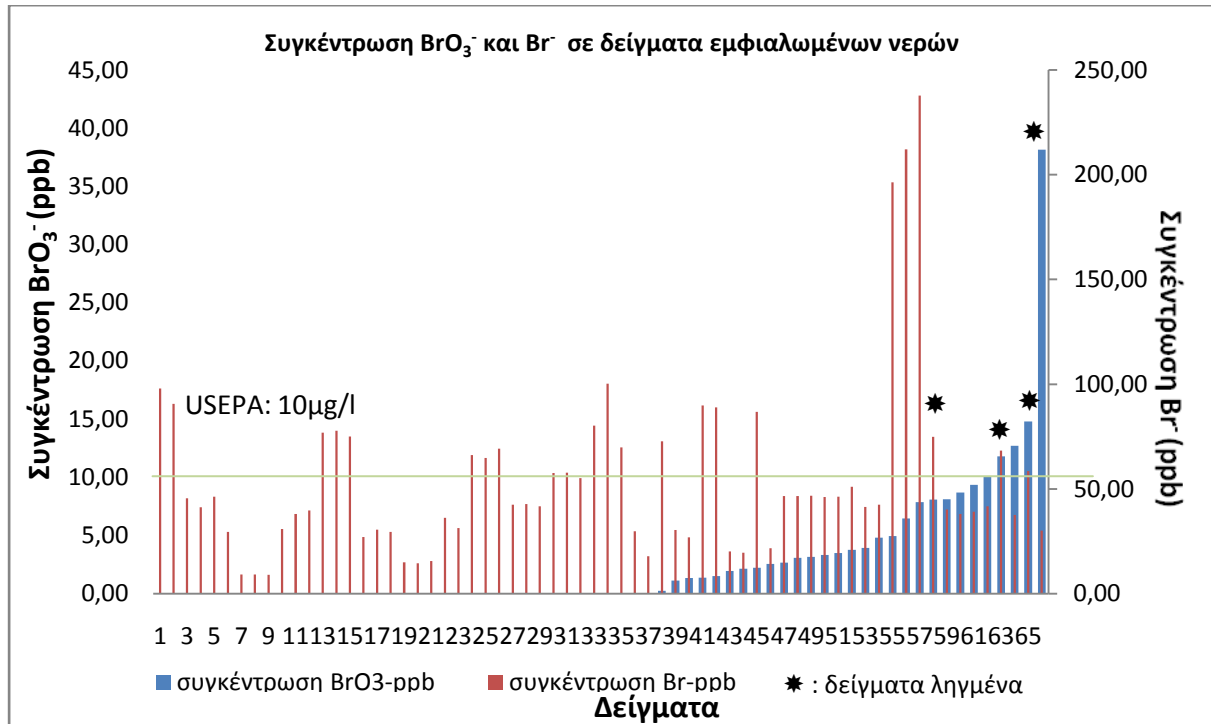
Όπως έγινε αντιληπτό στον παραπάνω πίνακα υπάρχουν εμφιαλωμένα νερά που κυκλοφορούν στο εμπόριο ενώ έχουν υψηλές συγκεντρώσεις βρωμικών. Η πρώτη πιθανή εξήγηση για τις υψηλές συγκεντρώσεις βρωμικών στηρίχτηκε στις αντίστοιχες συγκεντρώσεις βρωμιούχων που περιέχονταν στα δείγματα και στην πιθανή επεξεργασία των μπουκαλιών με όζον. Αυτό γιατί είναι γνωστός ο μηχανισμός δημιουργίας βρωμικών όταν τα βρωμιούχα αντιδράσουν με όζον (βλ. ενότητα 1.6). Θεωρήθηκε, λοιπόν, ότι **αυξημένα επίπεδα βρωμιούχων ιόντων οδηγούν αυτόματα και σε αυξημένα επίπεδα βρωμικών ιόντων στο δείγμα.** Η θεωρία αυτή απορρίφτηκε καθώς στην παρούσα εργασία αναλύθηκαν νερά όπου οι συγκεντρώσεις των βρωμιούχων ήταν χαμηλές αλλά τα επίπεδα βρωμικών ήταν υψηλά.

Το τελευταίο ενισχύθηκε από τις έρευνες των Gillogly et al, και τον Καναδικό Οργανισμό Επιθεώρησης Τροφίμων (Gillogly.et.al., 2001) , (Canadian-Food-Inspection-Agency, 2011). Συγκεκριμένα, ξεκινώντας τις έρευνες τους το 1996 μέχρι και σήμερα και εξετάζοντας δείγματα που έχουν επεξεργαστεί ή όχι με όζον, κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι **δεν είναι εφικτός ο συσχετισμός του επιπέδου των βρωμιούχων με το επίπεδο του όζοντος και των βρωμικών, καθώς στα δείγματα που δεν είχαν επεξεργαστεί με όζον βρέθηκαν τα υψηλότερα επίπεδα βρωμικών** και ταυτόχρονα μικρή πιθανότητα να βρεθεί υπολειμματικό όζον.

Όσον αφορά τα δείγματα της παρούσας διατριβής, δεν υπήρχαν πληροφορίες για την επεξεργασία των μπουκαλιών από όλες τις εταιρείες, καθώς δεν αναγράφονται τέτοιες πληροφορίες πάνω στις ετικέτες. Μέσω όμως ηλεκτρονικής έρευνας πραγματοποιείται η διαπίστωση ότι τα δείγματα 10, 22, 23, 27 έως 29, 47 έως 54, 59 έως 62 και 64 έχουν υποστεί επεξεργασία με όζον. Αντίστοιχα τα 13 έως 14, 35, 38, 58, 63, 65, 66 δεν έχουν υποστεί καμία χημική επεξεργασία. Τέλος τα δείγματα 3 έως 5, 10, 22, 23 και 27 έως 29

έχουν απολυμανθεί με ακτινοβολία UV. Για όλα τα υπόλοιπα δείγματα δεν υπάρχουν πληροφορίες.

Οι παραπάνω πληροφορίες επιβεβαιώνονται και από τα παρακάτω διαγράμματα καθώς οι συγκεντρώσεις των βρωμιούχων δεν ήταν δυνατόν να συσχετιστούν με τις συγκεντρώσεις των βρωμικών.



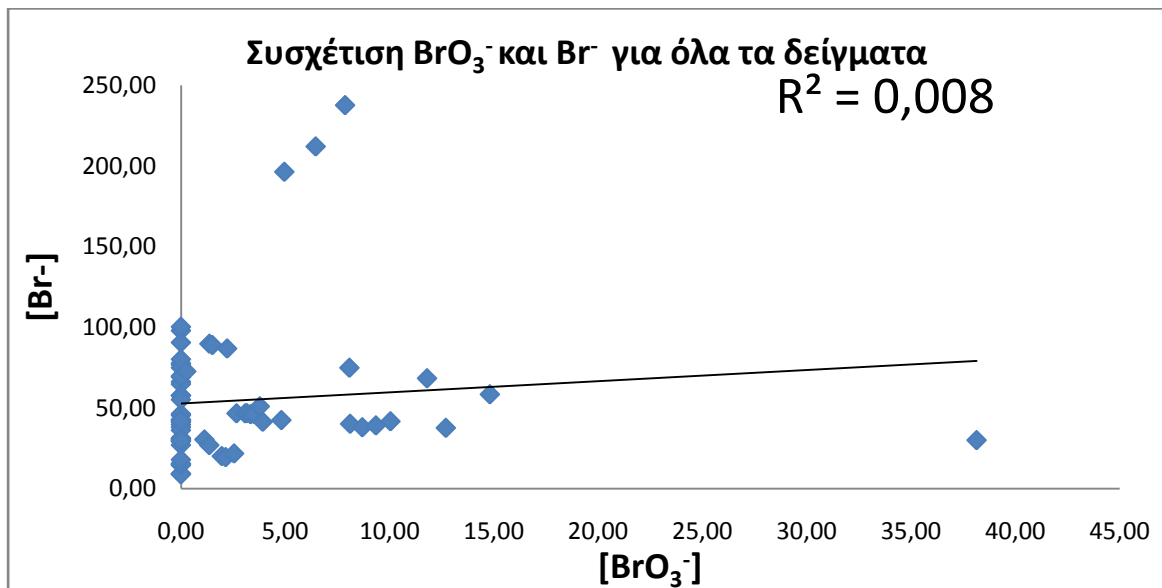
Σχήμα 20. Γράφημα συγκέντρωσης BrO_3^- και Br^- σε δείγματα εμφιαλωμένων νερών.

Στο παραπάνω γράφημα παρουσιάζεται η συγκέντρωση βρωμικών των δειγμάτων που αναλύθηκαν καθώς και η αντίστοιχη συγκέντρωση των βρωμιούχων ιόντων. Με μπλε χρώμα παρουσιάζεται η συγκέντρωση των βρωμικών τα οποία αποτελούν τον κύριο άξονα (αριστερά), ενώ με κόκκινο χρώμα παρουσιάζονται τα αντίστοιχα βρωμιούχα, των οποίων η συγκέντρωση αποτελεί τον δευτερεύον άξονα (δεξιά). Επίσης με αστερίσκο παρουσιάζονται δείγματα που είτε είχαν λήξει είτε βρισκόνταν κοντά στην ημερομηνία λήξης τους.

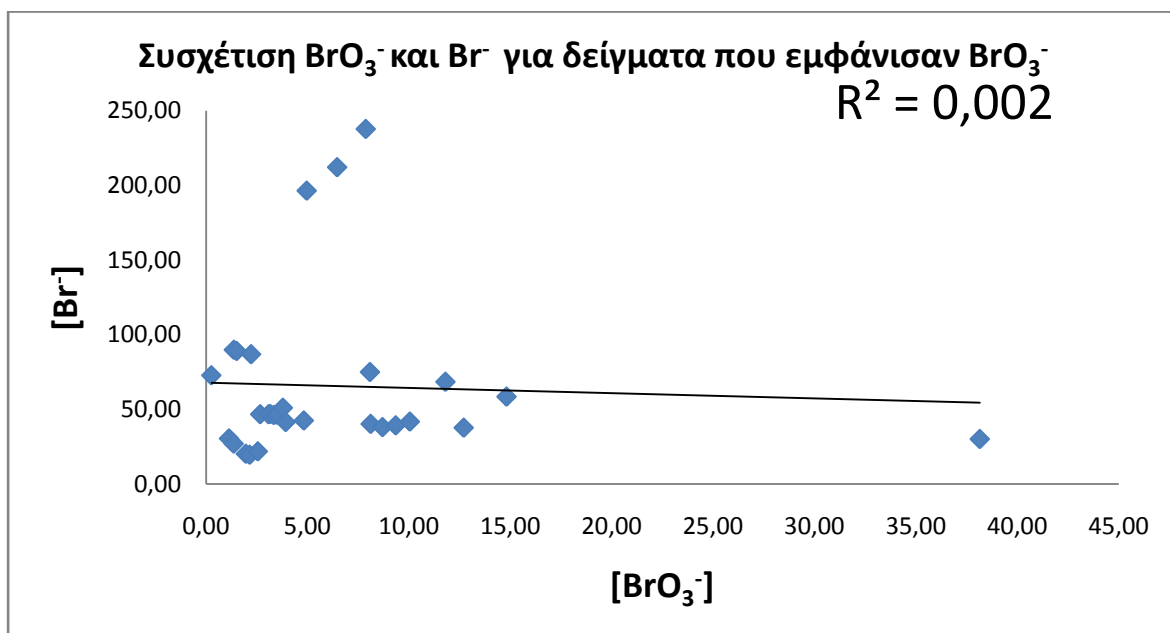
Τα δείγματα με αστερίσκο είχαν ήδη ανοιχτεί αρκετούς μήνες πριν την ανάλυσή τους και όπως γίνεται αντιληπτό από το γράφημα, έχουν αρκετά χαμηλά βρωμιούχα ενώ τα βρωμικά είναι πολύ υψηλά. Γίνεται, λοιπόν, φανερό ότι με το πέρασμα του χρόνου και το άνοιγμα του μπουκαλιού αρχίζει η αντίστροφη μέτρηση για την ποιότητα του νερού. Η παρατήρηση αυτή στηρίζεται στο γεγονός ότι πραγματοποιήθηκε ανάλυση στα νερά της ίδιας εταιρείας,

μόλις λίγα λεπτά από την αγορά τους και σε αυτά δε βρέθηκαν καθόλου βρωμικά, ενώ τα βρωμιούχα ήταν κοντά στα 75 ppb.

Ακόμη, γίνεται φανερό ότι αρκετά δείγματα βρίσκονται κοντά ή πάνω από τα ανώτατα επιτρεπτά όρια που έχουν θεσπιστεί από την USEPA. Θεωρώντας ότι υπάρχει περίπτωση η εμφάνιση των βρωμικών να εξαρτάται από τη συγκέντρωση των βρωμιούχων, πραγματοποιείται η δημιουργία γραφημάτων συσχέτισης των συγκεντρώσεων βρωμικών – βρωμιούχων.



Σχήμα 21. Διάγραμμα συσχέτισης συγκέντρωσης BrO_3^- και Br^- για όλα τα δείγματα.



Σχήμα 22. Διάγραμμα συσχέτισης συγκέντρωσης BrO_3^- και Br^- για τα δείγματα που εμφάνισαν βρωμικά.

Από τα παραπάνω γραφήματα είναι εφικτή η επιβεβαίωση της μη εξάρτησης της συγκέντρωσης των βρωμικών από τα βρωμιούχα. Δεν υπάρχει συσχέτιση μεταξύ των δύο καθότι δεν έχουν γραμμική τάση ($R^2=0.008$ και $R^2=0.002$). Επίσης, δείγματα με αυξημένα βρωμιούχα εμφάνισαν χαμηλά βρωμικά έως καθόλου, ενώ δείγματα με μειωμένα βρωμιούχα δεν εμφάνισαν βρωμικά. Αντίθετα δείγματα με μία μέση συγκέντρωση βρωμιούχων κοντά στα 50 ppb εμφάνισαν υψηλά βρωμικά σε συγκεντρώσεις μεγαλύτερες ακόμη και των 10 ppb.

Εδώ θα πρέπει να αναφερθεί ότι το όζον δεν αποτελεί τον μοναδικό τρόπο οξείδωσης του Br^- . Υπάρχουν επιπλέον παράγοντες που το οξειδώνουν και οδηγούν στη δημιουργία βρωμικών όπως τα υποχλωριώδη διαλύματα, το pH, η θερμοκρασία, η οργανική ύλη, η αμμωνία κ.ά (βλ. ενότητα 1.6).

Η ύπαρξη, λοιπόν, των βρωμικών στα εμφιαλωμένα νερά ποικίλει σε μεταβλητές, γεγονός που δυσκολεύει την πραγματοποίηση της μελέτης τους και την διεξαγωγή τελικών συμπερασμάτων. Λόγω, λοιπόν, των πολλών αυτών μεταβλητών χρειάζεται έρευνα ετών όπου θα μελετά τα νερά σε όλη τη διάρκεια της ζωής τους (αρχή αγοράς, λίγο πριν την λήξη, μετά τη λήξη τους και άνοιγμα μπουκαλιού) σε συνδυασμό με την ποιότητα του νερού για να καταγράψει το συσχετισμό όλων των παραπάνω.

4. Συμπεράσματα

Στο κεφάλαιο αυτό παρουσιάζεται μια γενικότερη ανάλυση των πειραματικών αποτελεσμάτων, μέσω της οποίας υλοποιούνται βασικές επιδιώξεις της εργασίας αυτής. Αυτές περιλαμβάνουν κυρίως την μελέτη της παρουσίας των οξυαλογόνων σε εμφιαλωμένα νερά, και τις πιθανές εξηγήσεις για την παρουσία τους. Τέλος αναφέρονται τα συμπεράσματα που προέκυψαν από την παρούσα διατριβή.

4.1. Συμπεράσματα που αφορούν την ανάπτυξη και βελτιστοποίηση της αναλυτικής μεθόδου

Στην παρούσα εργασία αναπτύχθηκε μία αναλυτική μέθοδος, η οποία επιτρέπει τον ποιοτικό και ποσοτικό προσδιορισμό των οξυαλογόνων (χλωρικά, υπερχλωρικά, βρωμικά). Αυτή η μέθοδος εφαρμόστηκε σε δείγματα εμφιαλωμένου νερού.

Τα βασικότερα επιτεύγματα και συμπεράσματα τα οποία προέκυψαν στην παρούσα εργασία είναι τα ακόλουθα:

1. Αναπτύχθηκε μία ιδιαίτερα ευαίσθητη και επιλεκτική μέθοδος για την ανάλυση των ενώσεων χλωρικών, υπερχλωρικών και βρωμικών ιόντων. Η μέθοδος αυτή βασίζεται στην χρήση συνδυασμού υγρής χρωματογραφίας αντίστροφης φάσης, ηλεκτροψεκασμού, διαδοχικής φασματομετρίας μαζών (HPLC-ESI-MS/MS). Το σύστημα ανίχνευσης βελτιστοποιήθηκε έτσι ώστε να είναι εφικτός ο ποιοτικός και ποσοτικός προσδιορισμός των ιόντων σε πολύ μικρές ποσότητες.
2. Η χρήση της φασματομετρίας μαζών έδωσε την δυνατότητα μετρήσεων με ακρίβεια, ευαισθησία, καθώς και χαμηλά όρια ανίχνευσης. Επίσης εξασφάλιζε την σιγουριά ότι οι κορυφές που προέκυπταν αντιστοιχούσαν στις υπό μελέτη ενώσεις και όχι σε κάποιες άλλες που απλώς παρουσιάζονταν στον ίδιο χρόνο έκλουσης.
3. Πολύ σημαντικό στάδιο για την εικόνα των υπό μελέτη ενώσεων, στάθηκε η μελέτη του φαινομένου παρεμπόδισης μήτρας. Καθότι το φαινόμενο αυτό ήταν σε ανεκτά επίπεδα, έγινε εφικτή η γρήγορη επεξεργασία των δειγμάτων και η άμεση ανάλυσή τους.
4. Προσδιορίστηκαν οι βέλτιστες τιμές, στις οποίες θα πρέπει να ρυθμίζονται οι διάφορες λειτουργικές παράμετροι των οργάνων.

5. Τα υψηλά όρια ποσοτικοποίησης οφείλονται στην απλή επεξεργασία των δειγμάτων. Δεν πραγματοποιήθηκαν αραιώσεις παρά μόνο φιλτράρισμα από Cartridge Ag/H, γεγονός που οδηγεί σε υψηλά όρια ποσοτικοποίησης, τα οποία όμως ήταν αρκετά χαμηλά για να προσδιορίσουν τα υπό μελέτη ιόντα.
6. Όσον αφορά τα δείγματα αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι δεν εμφάνισαν τόσο μεγάλες συγκεντρώσεις χλωρικών, γεγονός που σημαίνει ότι τα νερά δεν επεξεργάζονται τόσο με υποχλωριώδη οξέα. Εμφανίστηκαν αρκετά υπερχλωρικά, τα οποία όμως δε χρήζουν ανησυχίας καθότι απαντώνται σε αφθονία στη φύση. Τέλος, αρκετά δείγματα εμφάνισαν βρωμικά ιόντα, ενώ οι συγκεντρώσεις τους θα έπρεπε να είναι μηδαμινές.

4.2. Συμπεράσματα από σύγκριση των τριών αναλυτικών μεθόδων προσδιορισμού

Στο συγκεκριμένο κομμάτι παραθέτονται τα συμπεράσματα – σκέψεις που προκύπτουν από την σύγκριση των τριών μεθόδων που χρησιμοποιηθήκαν για την ανάλυση των δειγμάτων καθώς και από τα αποτελέσματα που προέκυψαν. Όσον αφορά τον ποσοτικό προσδιορισμό των ενώσεων στα δείγματα που προαναφέρθηκαν, τα κυριότερα συμπεράσματα που προκύπτουν είναι τα εξής:

1. Οι προς ανάλυση ενώσεις προσδιορίζονται σε επίπεδα της τάξης μεγέθους των $\mu\text{g/l}$ και στις τρεις μεθόδους που χρησιμοποιήθηκαν.
2. Αξίζει να σημειωθεί ότι στην μέθοδο της HPLC-ESI-MS/MS και στην μέθοδο της IC-CD τα δείγματα φιλτράρονται με Cartridge Ag/H για την απομάκρυνση των χλωριούχων ιόντων (πιθανή παρεμπόδιση), ενώ στην μέθοδο HPLC-ICP-MS τα δείγματα δεν υφίστανται καμία επεξεργασία πριν την ανάλυση.
3. Οι μέθοδοι HPLC-ICP-MS και HPLC-ESI-MS/MS εκλούουν τα αντίστοιχα βρωμικά ιόντα σε παρόμοιους χρόνους (περίπου 2.3 λεπτά) και το χρωματογράφημα διαρκεί 4 με 6 λεπτά, γεγονός που τις κάνει αρκετά ταχύτερες από την ιοντική χρωματογραφία (περίπου 23 λεπτά).
4. Η κύρια μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε επαληθεύτηκε από την ιοντική χρωματογραφία. Τα αποτελέσματα και στις δύο μεθόδους έδειξαν ικανοποιητική συμφωνία. Συνεπώς η μία μέθοδος ενισχύει την αξιοπιστία της άλλης, ενώ η κύρια μέθοδος HPLC-ESI-MS/MS αποδείχθηκε αξιόπιστη, γρήγορη και αποτελεσματική.
5. Η χρωματογραφική τεχνική που χρησιμοποιήθηκε στην HPLC-ESI-MS/MS με την στήλη Fortris, δεν έδωσε αποτελέσματα στο HPLC-ICP-MS λόγω συνέκλουσης βρωμιούχων και βρωμικών ιόντων, γεγονός που οδήγησε στην αλλαγή της χρωματογραφίας. Η νέα στήλη που χρησιμοποιήθηκε ήταν η στήλη ανιονανταλλαγής Hamilton PRP-100, με την οποία ο διαχωρισμός Br^- - BrO_3^- ήταν επιτυχής.
6. Στην μέθοδο HPLC-ESI-MS/MS και στην μέθοδο HPLC-ICP-MS δυστυχώς δεν αναλύθηκαν οι ίδιες παρτίδες δειγμάτων. Αυτό γιατί είχε περάσει αρκετός χρόνος από το άνοιγμα των μπουκαλιών και τα περισσότερα είχαν λήξει.

7. Λόγω της απλότητας και της ταχύτητας της μεθόδου του HPLC-ICP-MS αναλύθηκαν τρεις με τέσσερις παρτίδες από την κάθε εταιρεία εμφιάλωσης νερού, γεγονός που οδήγησε σε περισσότερο ολοκληρωμένα και πολύπλευρα συμπεράσματα για τις συγκεντρώσεις των BrO_3^- στα εμφιαλωμένα νερά.
8. Δεν υπήρχαν πληροφορίες για τυχόν επεξεργασία των μπουκαλιών με όζον από όλες τις εταιρείες, συνεπώς δεν είναι εφικτή η συσχέτιση συγκέντρωσης βρωμιούχων, βρωμικών και όζοντος.
9. Η συγκεκριμένη μελέτη δεν έχει σκοπό να αναλύσει εμφιαλωμένα νερά συγκεκριμένων εταιρειών, αλλά να αποκτήσει μία γενική εικόνα της ποιότητας των νερών αυτών που κυκλοφορούν στο εμπόριο.

5.ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Adam (1994) 'An investigation of the factors involved in the decomposition of sodium hypochlorite', in Ohio (ed.) Doctoral Dissertation, Oxford: Miami University.
2. Aieta et al., R.P.V..a.H.M. (1984) 'Determination of chlorine dioxide, chlorine, chlorite and chlorate in water', Journal of the American Water Works, pp. 64-70.
3. Aieta et al., B.J.D. (1986) 'A review of chlorine dioxide in drinking water treatment', Journal of the American Water Works Association, pp. 62-72.
4. Amy et al. (1997) 'Formation and control of brominated ozone by-products.', AWWA Research Foundation and American Water Works Association.
5. Amy et al. (1999) 'strategies to control bromate and bromide', AWWA research foundation and Am. Water Works Assoc.
6. ASCE/AWWA (1990) Water treatment plant design, 2nd edition, New York, NY: Mc Graw-Hill publ.
7. Atkins et al., S. (2009) Inorganic Chemistry, 4th edition, Oxford University Press.
8. ATSDR (2005) 'Draft Toxicological Profile for Perchlorates' US Department of Health and Human Services.
9. ATSDR (2008) 'Public Health Statement Perchlorates', in DEPARTMENT of HEALTH AND HUMAN SERVICES, P.H.S.A.f.T.S.a.D.R. Division of Toxicology and Environmental Medicine.
10. AWWA (2017) American Water Works Association, Sunday January, [Online], Available: <http://www.awwa.org/legislation-regulation/regulations/contaminants/perchlorate.aspx> [2017].
11. Bio/dynamics, I. (1987a) 'A subchronic (3-month) oral toxicity study in the dog via gavage administration with sodium chlorate', East Millstone, NJ (Report No. 86-3114 for Sodium Chlorate Task Force, Oklahoma City, OK).
12. Bio/dynamics, I. (1987c) 'A teratogenicity study in rats with sodium chlorate', East Millstone, NJ (Report No. 86-3117 for Sodium Chlorate Task Force, Oklahoma City, OK).
13. Boydard et al., M..&.S.F.P. (1992) Environmental Science Technology, pp. 1663-1665.
14. Canadian Centre for Occupational Health and Safety , Bromate,. (1999) (group 2B) International Agency for Research on Cancer: Summaries and Evaluations, [Online], Available: www.inchem.org/documents/iarc/vol73/73-17.html.
15. Buhler et al.,. (1984) 'Ozone decomposition in water studied by pulse radiolysis. 1. HO₂/O₂ and HO₃/O₃ as intermediates', Journal of Physical Chemistry, p. 2560.
16. Canadian-Food-Inspection-Agency (2011) 'Food Safety Action Plan, Report, Bromate in drinking water', targeted surveys chemistry 2010-2011, pp. ts-chem-10/11-06.

17. Capen et al., (1997) 'Mechanistic data and risk assessment of selected toxic end points of the thyroid gland', *Toxicol. Pathol.*, pp. 39-48.
18. climate-change(2017)climatechangepost,5january,[Online],Available: <http://www.climatechangepost.com/greece/desertification/> [2017].
19. Coates et al., A. (2004) 'Microbial perchlorate reduction: rocket-fuelled metabolism', *Nature Reviews Microbiology*, July, pp. 569–580.
20. Coin et al., N.R.A. (1987) 'Drinking Water Microbiology', *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology*, p. 356.
21. Cole et al., (1997) 'Electrospray Ionization Mass Spectrometry' New York: John Wiley & Sons.
22. Commission, EU. (2017) ec.europa.eu, Sunday January, [Online], Available: https://ec.europa.eu/food/safety/chemical_safety/contaminants/catalogue/perchlorate_en [January 2017].
23. Cordeiro et al (2011) 'Determination of Dissolved Bromate in Drinking Water by Ion Chromatography and Post Column Reaction: Interlaboratory Study', *Journal of AOAC International*, pp. 1592-1600.
24. Department of Health, S.o.N.Y. (2006) 'Bromate in Drinking Water', Information Fact Sheet.
25. Department of Natural Resources, L.C.P.W. (1996) Analytical Detection Limit Guidance & Laboratory Guide for Determining Method Detection Limits, 05696th edition.
26. DOH, S.O.N.Y.D.O.H. (2006) 'INFORMATION FACT SHEET BROMATE IN DRINKING WATER'.
27. DWE-7101 (1993) 'The formation of bromate during drinking water disinfection', Final Report to the Department of the Environment, April.
28. Elovitz et al (2000) 'Hydroxyl radical/ozone ratios during ozonation processes. II. The effect of temperature, pH, alkalinity, and DOM properties', *Ozone Sci. Eng.*, pp. 123-150.
29. EPA, C. (2007) California Environmental Protection Agency State Water Resources Control Board,[Online],Available: http://www.waterboards.ca.gov/drinking_water/certlic/drinkingwater/Perchlorate.shtml.
30. EPA, U. (2009) BASIC INFORMATION ABOUT DRINKING WATER DISINFECTION , 24 Feb, [Online], Available: <https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-09/documents/q3.pdf> [21 Feb 2017].
31. Forni et al., B.D..a.H.E.J.. (1982) 'Mechanism of the hydroxide ion initiated decomposition of ozone in aqueous solution', *Journal of Physical Chemistry*, p. 255.
32. Gillogly et al. (2001) 'Bromate formation and control during ozonation of low bromide waters', AWWA Research Foundation and American Water Works Association.
33. Glaser et al., F.D.L..M.S.A. (1981) *Environ. Sci. Technol.*, p. 1426.

34. Glaze et al., H.J.E..a.S.G. (1975) 'Analysis of new chlorinated organic compounds formed by chlorination of municipal wastewater', *Water Chlorination:Environmental Impact and Health Effects*, pp. 139-159.
35. Glaze et al., W.H. (1987) 'Drinking water treatment with ozone', *Environmental Science and Technology*, pp. 224-230.
36. Gordon et al., A.B. (1995) 'minimizing chlorate ion formation in drinking water when hypochlorite ion is the chlorinating agent', *American Water Work Assosiation*, p. 97.
37. Greenspan et al, F.S.. (1997) 'The role of fine-needle aspiration biopsy in the management of palpable thyroid nodules', *Am. J. Clin. Pathol.*, pp. 26-30.
38. Greenwood et al., N.N..A.E. (1997) *Chemistry of the Elements, Second Edition edition*, Leeds, UK: Elsevier.
39. Gunten et al., (1995) 'Bromate formation during ozonation of bromide-containing waters.', *Water Supply*, pp. 45-50.
40. Haag et.al., (1981) 'Technical note on the disappearance of chlorine in sea-water', *Water Research*, pp. 937-940.
41. Haas et al. (1990) 'Disinfection in pontius F.W. *Water Quality Treatment.*', McGraw-Hill Inc., pp. 877-932.
42. Health-Canada (2016) 'Bromate in Drinking Water', *Guidelines for Canadian Drinking Water Quality: Guideline Technical Document: Bromate*, 05 Feb, p. 72.
43. Hill et al., E.L.S..P.O.E..R.P.A..R.S.L..W.C.F. (1989) 'Thyroid follicular cell carcinogenesis', *Fundam. Appl. Toxicol*, pp. 629-697.
44. Hoff et al. (1986) 'Inactivation of Microbial Agents by chemical disinfectants.', *Water Engineering Research Laboratory*, p. 43s.
45. Huck et al. (1993) 'Water Treatment Philosophies and', In *Water Treatment Principles and Applications*, Canadian Water and Wastewater Association, Department of National Health anf.
46. Jacangelo et al., P.R. (1989) 'Ozonation: Assessing Its Role in the Formation and Control of Disinfection By products', *J. Am. Water Works Assoc*, pp. 74-84.
47. Janda et al., S. (2000) 'Vedlejsi produkty dezinfekce pitne vody', *chemicke-listy*, pp. 905-908.
48. Kawana et al. (1991) 'Toxicologican study of potassium bromate: 2. Hepatotoxiv effects of the potassium bromate and benzo[a]pyrene simultaneous administration in mice.', *Eisei Kagaku - Japanese Journal of Toxicology and Environmetal Health*, pp. 266-275.
49. Krasner et al (1991) 'Formation and control of brominated ozone by-products.', *American Water Works Association Annual Conference*, pp. 945-971.

50. Krasner et al., (1993) 'formation and control of bromate during ozonation of waters containing bromide', J.Am. Waters. Works Assoc., pp. 73-81.
51. Kumar et al, (2011) 'Health Risk Assessment for Bromate Traces in Ozonated Indian Bottled Water', Journal of Environmental Protection, July, pp. 571-580.
52. Kurokawa et al. (1985) 'Lack of promoting effect of sodium chlorate and potassium chlorate in two stage rat renal carcinogenesis', Journal of the American College of Toxicology, pp. 331-337.
53. Kurokawa et al. (1986a) 'Long-term in vivo carcinogenicity tests of potassium bromate, sodium hypochlorite and sodium chlorite conducted in Japan', Environmental Health Perspectives, pp. (69)221-236.
54. Kurokawa et al. (1986b) 'Dose-response studies on the carcinogenicity of potassium bromate in F344 rats after long-term oral administration', Journal of the National Cancer Institute, pp. 77:977-982.
55. Kurokawa et al. (1990) 'Toxicity and carcinogenicity of potassium bromate - a new renal carcinogen', Environmental Health Perspectives, pp. 309-335.
56. Kurokawa et al, Y..M.A.. (1990) Environmental Health Persp., pp. 309-335.
57. Kurowaka et al. (1987) 'Relationship between the duration of treatment and the incidence of renal cell tumors in male F344 rats administered potassium bromate', Japanese Journal of Cancer Research, pp. 78:358-364.
58. LAMOND LABORATORY., (2016) [Online], Available: <http://www.lamondlab.com/newwebsite/home.php> [Τετάρτη Σεπτέμβρης 2016].
59. Lawrence.et.al, J.. (1980) 'The Ozonation of Natural Waters: Product Identification.', Science and Engineering, pp. 55-64.
60. Masschelein et al., (1984) "'Experience with chlorine dioxide in Brussels: Generation of chlorine dioxide', Journal of the American Water Works Association, pp. 70-76.
61. Mattie et al., S.J..Z.J. (2006) 'Perchlorate Toxicity and Risk Assessment', in Mattie D., S.J..Z.J. Perchlorate, Environmental Occurrence, Interactions and Treatment, Springer US.
62. McCauley et al. (1995) 'The effects of subchronic chlorate exposure in Sprague-Dawley rats', Drug and Chemical Toxicology, pp. 185-199.
63. Nakamoto et al. (1997) Infrared and Raman spectra of inorganic and coordination compounds, Part A., 5th edition, Wiley.
64. Nakano et al. (1989) 'Renal changes induced by chronic oral administration of potassium bromate or ferric nitrilotriacetate in Wistar rats', Japanese Archives of Internal Medicine, pp. 41-47.
65. NAS (1980) 'Drinking water and health', National Academy of Sciences, National Academy Press.
66. NAS (1987) 'Drinking water and health', National Academy of Sciences, National Academy Press.
67. NRC (2005a) 'Health Implications of Perchlorate Ingestion,'.

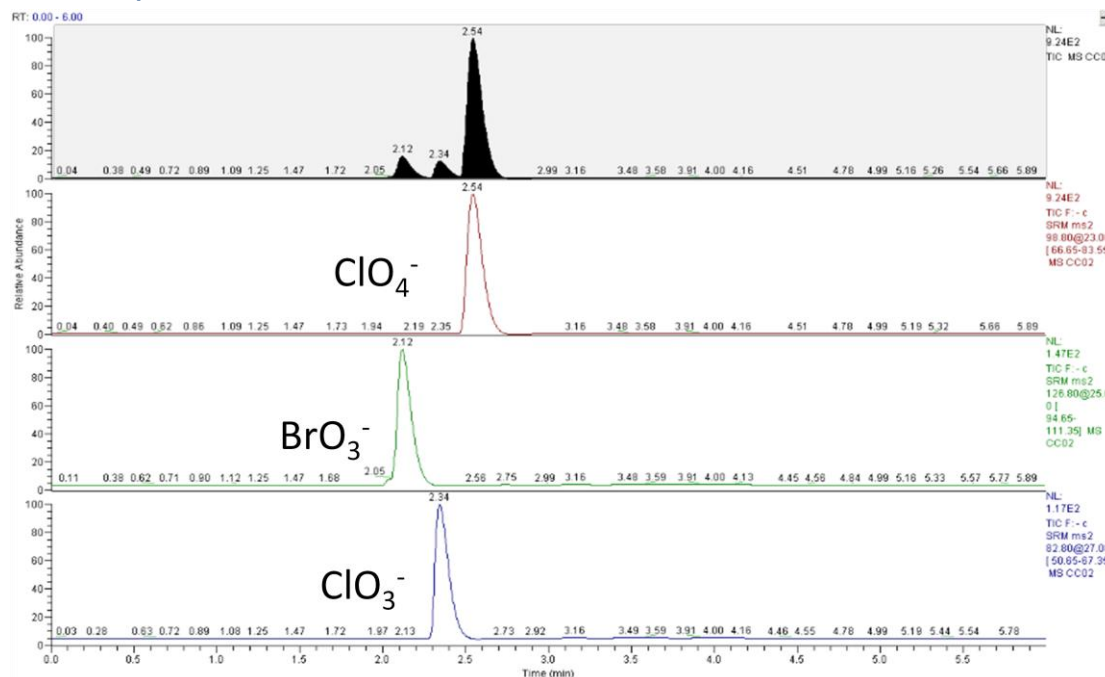
68. Praus et al., (2003) 'Drinking Water disinfection and formation of By-Products', pp. 95-102.
69. Praus et al. (2003) 'Drinking water disinfection and formation of By-Products', Rada hornicko-geologicka, pp. 95-102.
70. Quevauviller et al., T. (2006) Analytical Methods for Drinking Water: Advances in Sampling and Analysis, Wiley & Sons Ltd.
71. Quick et al., C.R.M.S. (1975) 'Deafness and renal failure due to potassium bromate poisoning', Archives of Otolaryngology, pp. 101:494-495.
72. Rao et al., H.B. (2010) 'Natural Chlorate in the Environment: Application of a New IC-ESI/MS/MS Method with a Cl18O3– Internal Standard', Environ. Sci. Technol, pp. 8429-8434.
73. Salik et al., R.M.J. (2004) 'Disinfection by-products (DBPs) in drinking water and predictive models for their occurrence: a review', Science of the Total Environment, pp. 21-46.
74. Scanlon et al., I.B.G..D.C. (1996) 'Regulation of growth hormone secretion', Horm. Res., pp. 149-154.
75. Scientific, F.o.W.D. (2004) GreenFacts-Facts on Health and the Environment, [Online], Available: www.greenfacts.org/en/water-disinfectants.
76. Scientific, T. (2016) www.dionex.com, 24 December, [Online], Available: <http://www.dionex.com/en-us/products/accessories/reagents-accessories/onguard/onguard-ii-ag-h/lp-73686.html> [2016].
77. Scott, R.P.W. (2016) ANALYTICAL SPECTROSCOPY, Τετάρτη Σεπτέμβρης, [Online], Available: <http://www.analyticalspectroscopy.net/>.
78. Shaw et al., M.J.P..W.S.A. (2000) 'Effects of UV irradiation on Organic Matter', Journal of American Water Works Association, pp. 157-167.
79. Sheahan et al., P.D.W.E. (1971) 'xperimental sodium chlorate poisoning in dogs', Research in Veterinary Science, pp. 387-389.
80. Sisler et al., M.-H. (n.d) 'Chromyl Chloride', Inorganic Synthesis, 1946, pp. 205-207.
81. Skoog et al., F.J.H.T.A.N. (2002) Αρχές Ενόργανης Ανάλυσης, Available: www.idex-hs.com [Τετάρτη Σεπτέμβρης 2016].
82. Song, et al. (1997) 'Bromate minimization during ozonation', J.Am.Water Works Association, pp. 69-78.
83. Song et al., W.M.A. (1997) 'Bromate Minimization During Oxidation', J. Am. Water Works Assoc, pp. 69-78.
84. Song et al (1996) 'Empirical modeling of bromate formation during ozonation', Water Res, pp. 1161-1168.
85. Quadrupole MAss Spectrometry, Q.M. (1996) Quadrupole MAss Spectrometry, 11 March, [Online], Available: <http://elchem.kaist.ac.kr/vt/chem-ed/ms/quadrupo.htm> [September 2016].

86. Stanford et al., P.S.G. (2011) 'Perchlorate, bromate and chlorate in hypochlorite solutions: guidelines for utilities', American water works association, pp. 71-83.
87. Stephanou et al., (2004) 'Introduction to Modern Mass Spectrometry. Environmental Analytical Chemistry Course'.
88. USEPA(2016)FederalRegister,[Online],Available:
<https://www.federalregister.gov/documents/2016/06/03/2016-12724/request-for-nominations-for-peer-reviewers-for-epas-draft-biologically-based-dose-response-bbdr> [January 2017].
89. W.S.D.H. (2004) 'Chlorination of Drinking Water-Washington State Department of Health', Washington State Department of Health, pp. pub. 331-253.
90. Webber et al., W.J.J. (1972) 'Physicochemical processes for water quality control', Wiley Interscience, p. 640.
91. Werdehoff et al., S.P.C. (1987) 'Chlorine dioxide effects on THMFP, TOXFP and the formation of Inorganic By-Products', J. Am. Water Works Association, pp. 107-113.
92. Westerhoff et al. (1999) 'Relationships between the structure of natural organic matter and its reactivity towards molecular ozone and hydroxyl radicals', Water Res., pp. 2265–2276.
93. White et al., (1992) 'the handbook of chlorination an alternative disinfectants' Van Nostrand Reinhold Publ, New York.
94. White et al. (1998) Handbook of Chlorination and Alternative Disinfectants, 4th edition, John Wiley & Sons, Hoboken.
95. WHO(2001)'WaterQuality:Guidelines,StandardsandHealth',pp.
http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/iwachap11.pdf.
96. WHO (2003) 'Chlorine in drinking-water'.
97. WHO (2005) 'Bromate in Drinking-water. Background document for development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality', World Health Organization.
98. WHO (2005) 'Chlorite and Chlorate in Drinking-water', in Organization, W.H. WHO Guidelines for Drinking-water Quality, 050886th edition.
99. WHO (2006).
100. WHO (2016) World Health Organization, May 2015, [Online], Available:
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs391/en/> [2017].
101. Wickramanayake et al., R.A.J.a.S.O.J. (1985) 'Effects of ozone and storage temperature on Giardia cysts', Journal of the American Water Works Association, pp. 74-77.
102. Wolfe et al., W.N.R..a.O.B.H.. (1984) 'Inorganic chloramines as drinking water disinfectants: A review', Journal of the American Water Works Association, pp. 74-88.
103. Wolff (1998) 'Perchlorate and the thyroid gland', Pharmacolog. Rev., pp. 89-105.

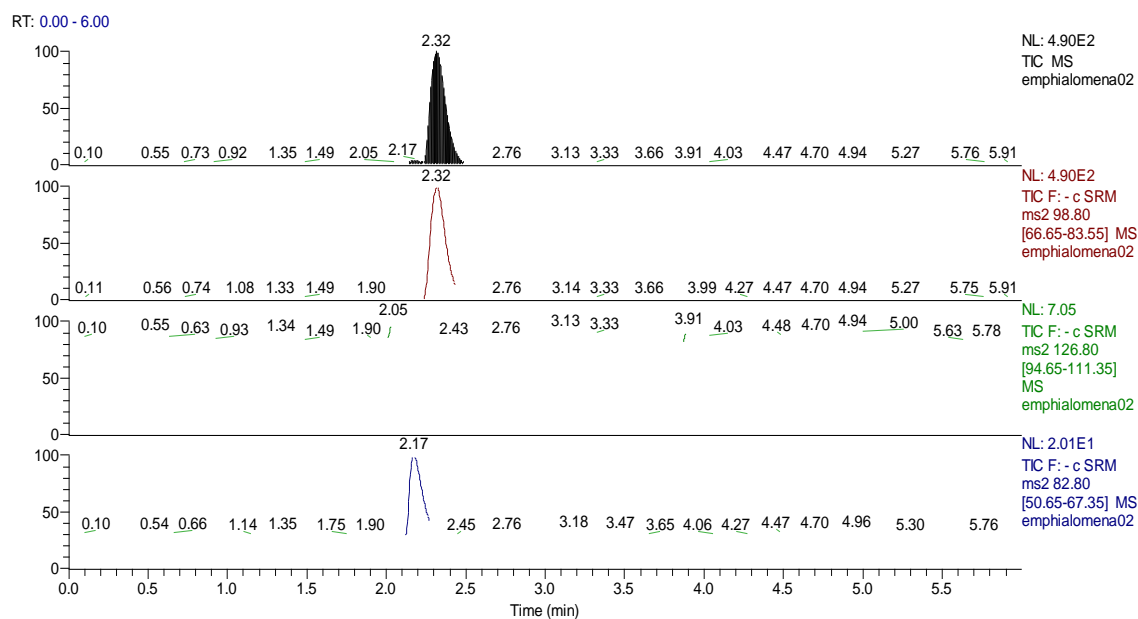
104. Διεύθυνση-Υγιεινής-Περιβάλλοντος (2009) 'Επισύμανση των εμφιαλωμένων νερών', Απ.Πρωτ.:ΔΥΓ2Γ/Γ.Π.87194, Αθήνα, 1-5.
105. Θ.Π. Χατζηιωάννου,Μ.Α.Κ.(1990)Ενόργανη Ανάλυση, Πρώτη edition, Αθήνα: ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ.
106. Καργάκη, Σ. (2006) Ανάπτυξη Μεθόδου Υγρής Χρωματογραφίας Σε Συνδυασμό με Διαδοχική Φασματομετρία Μαζών τον Προσδιορισμό των Αντιδιαβρωτικών Ουσιών Τύπου Βενζοτριαζολών σε Αστικά Λύματα κι Εμπορικά Προϊόντα, Ηράκλειο: ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ.
107. Υπουργείο-Υγείας (2006) 'ΟΔΗΓΟΣ ΥΓΙΕΙΝΗΣ ΓΙΑ ΤΙΣ ΕΠΙΧΕΙΡΗΣΕΙΣ ΕΜΦΙΑΛΩΣΗΣ ΝΕΡΟΥ'.
108. Υπουργείο-Υγείας-και-Πρόνοιας (2001).

6.ΠΑΡΑΡΤΗΜΑΤΑ

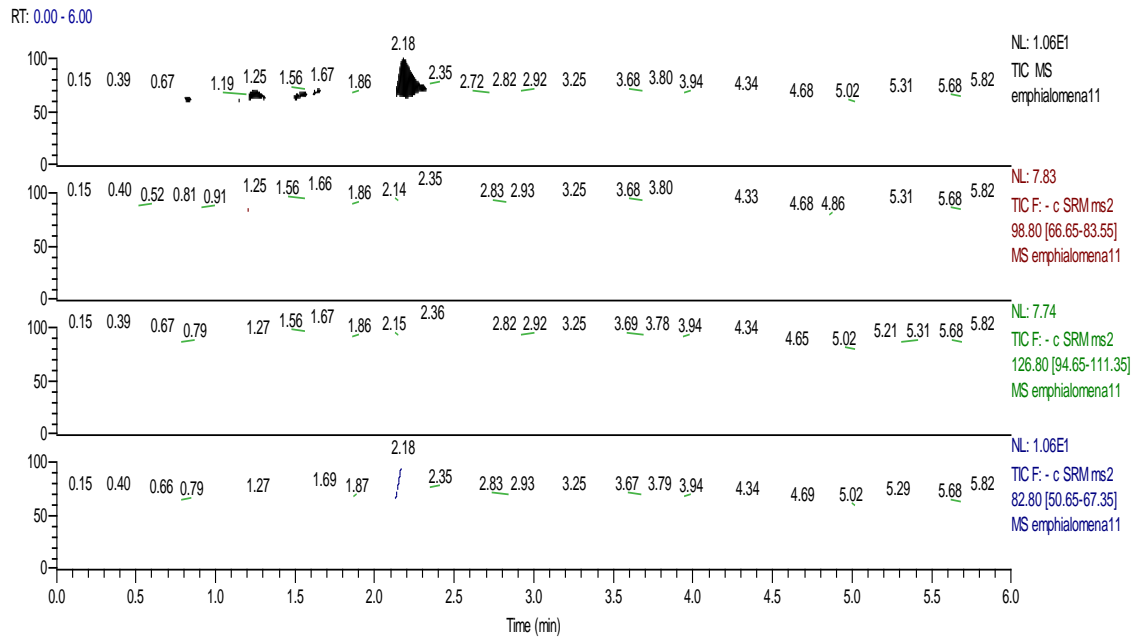
6.1.Παράρτημα χρωματογραφημάτων της μεθόδου HPLC-ESI-MS/MS



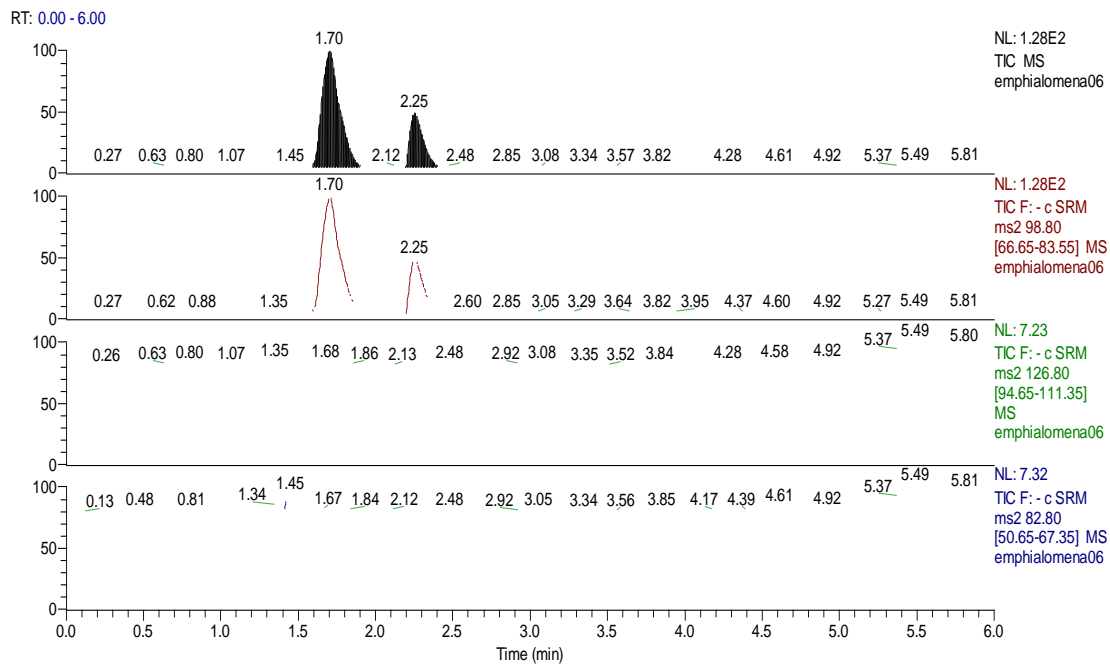
Σχήμα 23. Τυπικό χρωματογράφημα των τριών υπό μελέτη ιόντων με την τεχνική HPLC-ESI-MS/MS.



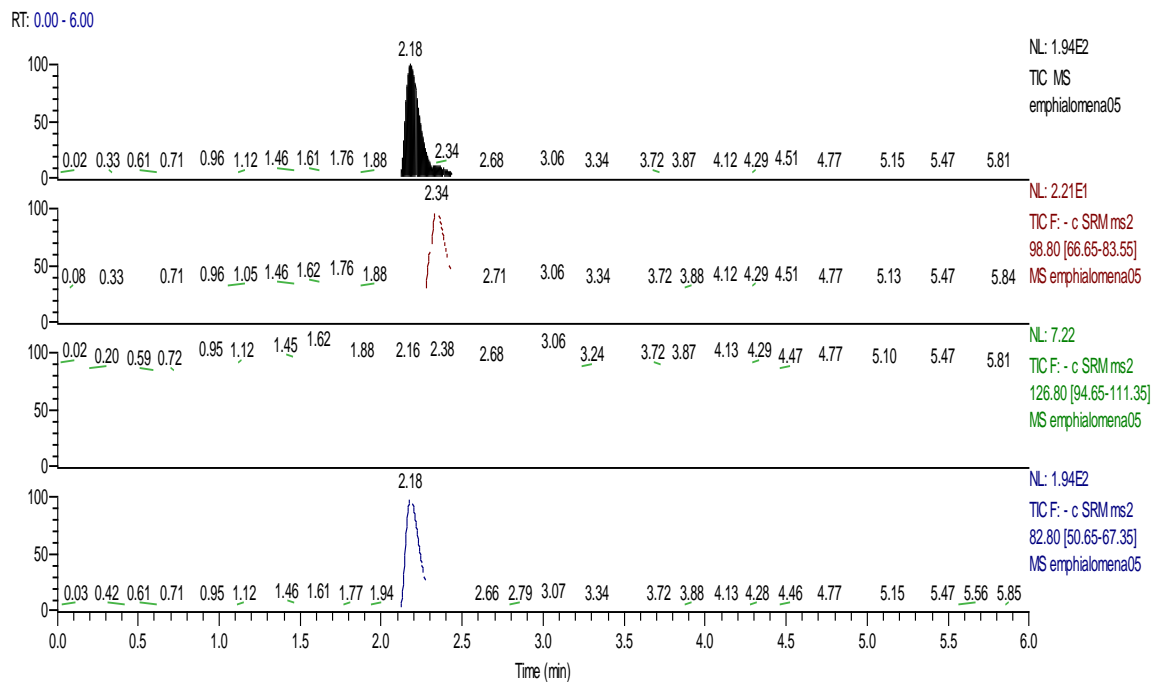
Σχήμα 24. Χρωματογράφημα δείγματος Δ1 με την τεχνική HPLC-ESI-MS/MS.



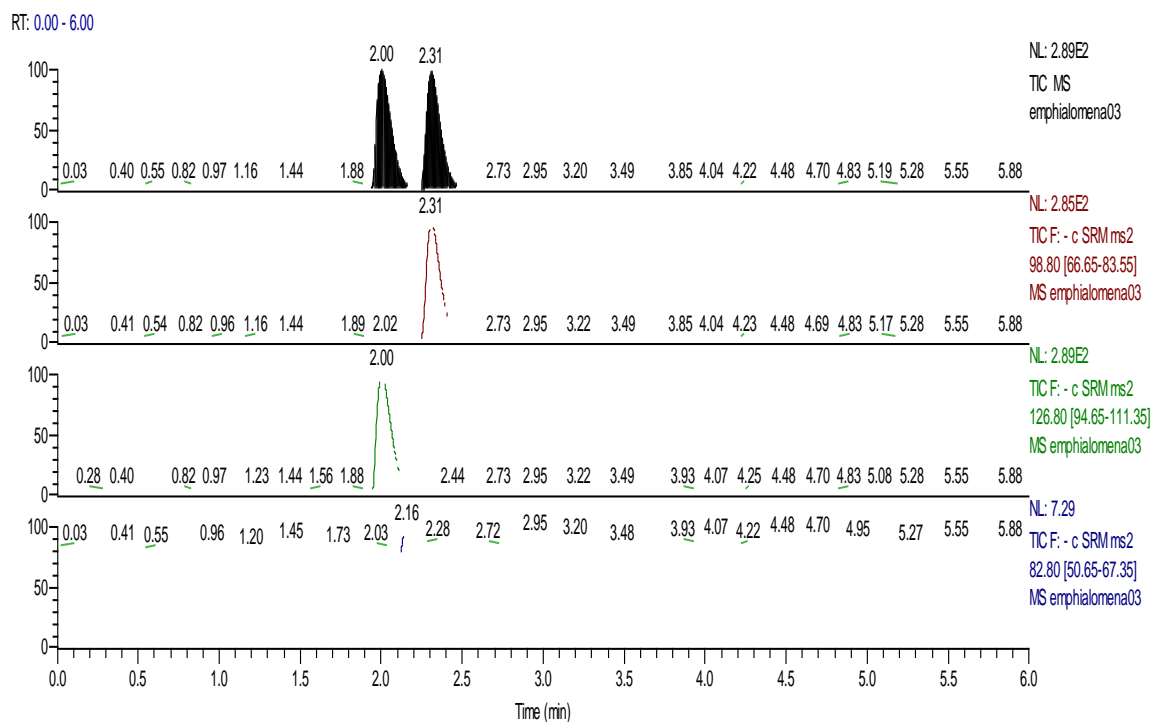
Σχήμα 25. Χρωματογράφημα δείγματος Δ2 με την τεχνική HPLC-ESI-MS/MS.



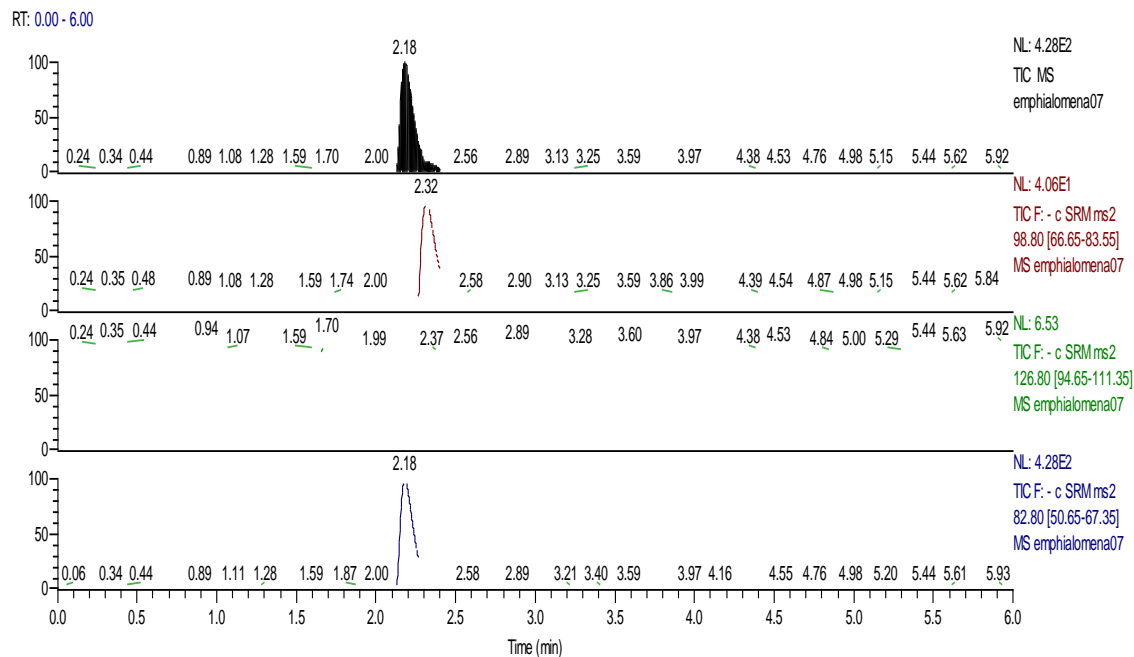
Σχήμα 26. Χρωματογράφημα δείγματος Δ3 με την τεχνική HPLC-ESI-MS/MS



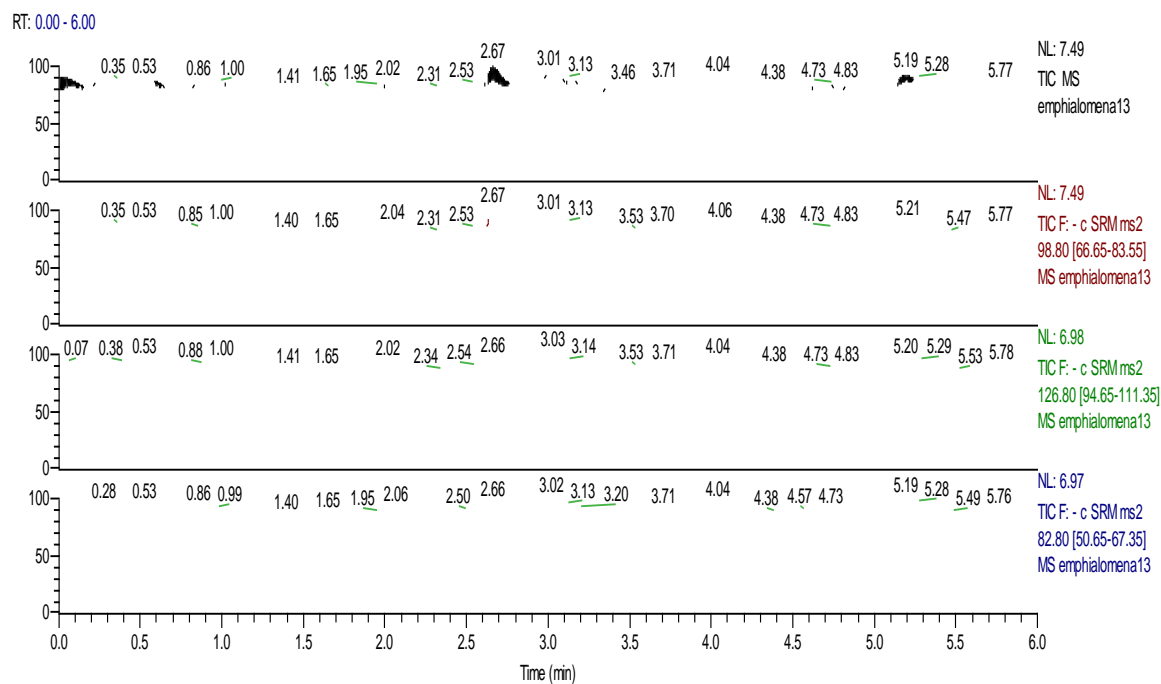
Σχήμα 27. Χρωματογράφημα δείγματος Δ4 με την τεχνική HPLC-ESI-MS/MS



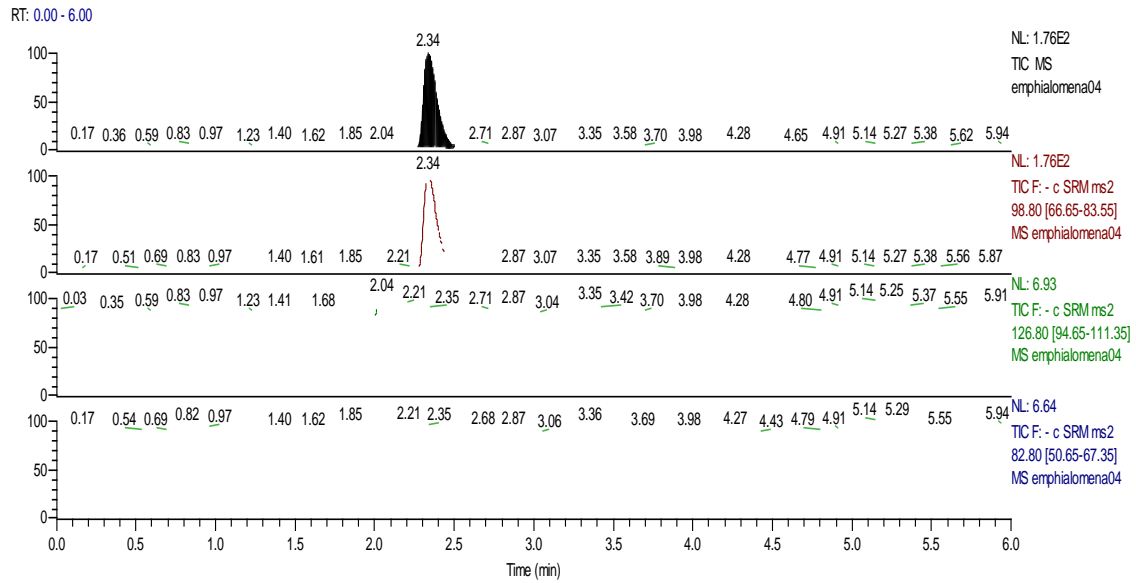
Σχήμα 28. Χρωματογράφημα δείγματος Δ5 με την τεχνική HPLC-ESI-MS/MS



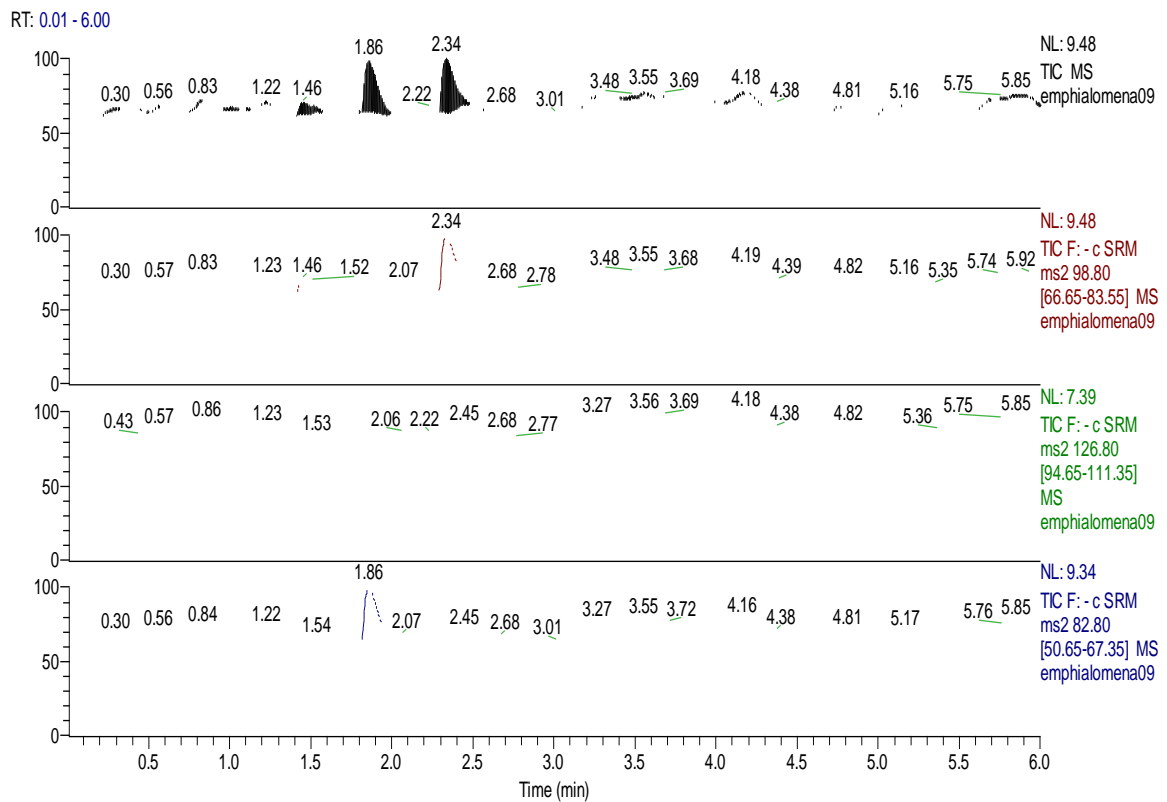
Σχήμα 29. Χρωματογράφημα δείγματος Δ6 με την τεχνική HPLC-ESI-MS/MS



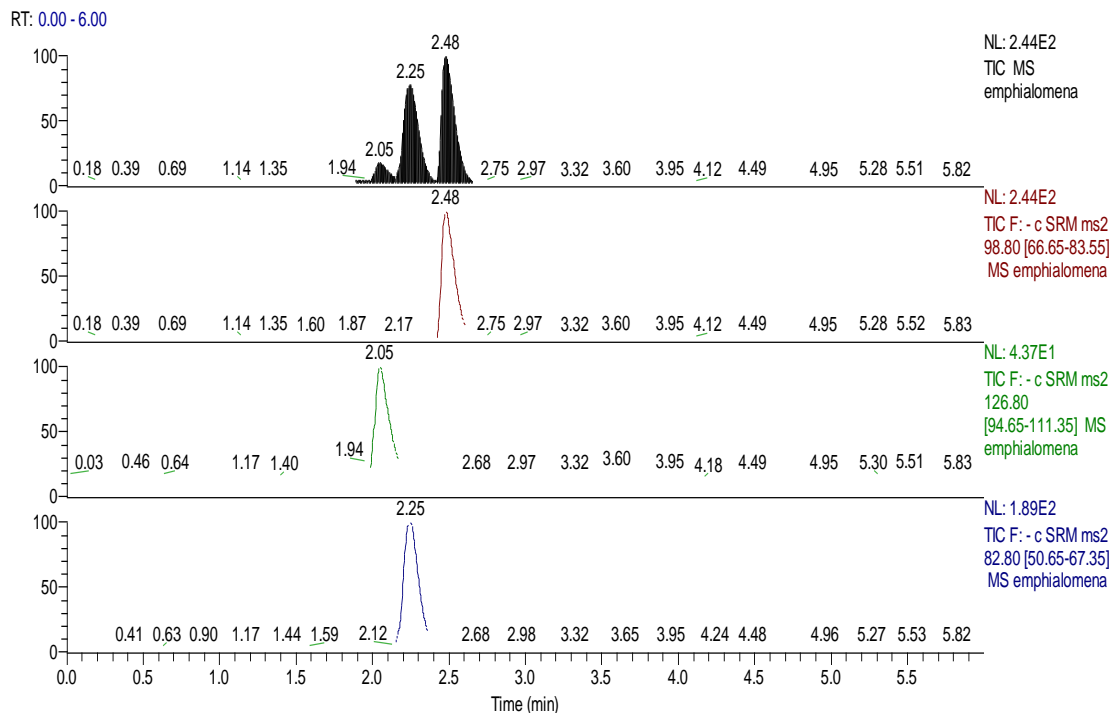
Σχήμα 30. Χρωματογράφημα δείγματος Δ7 με την τεχνική HPLC-ESI-MS/MS



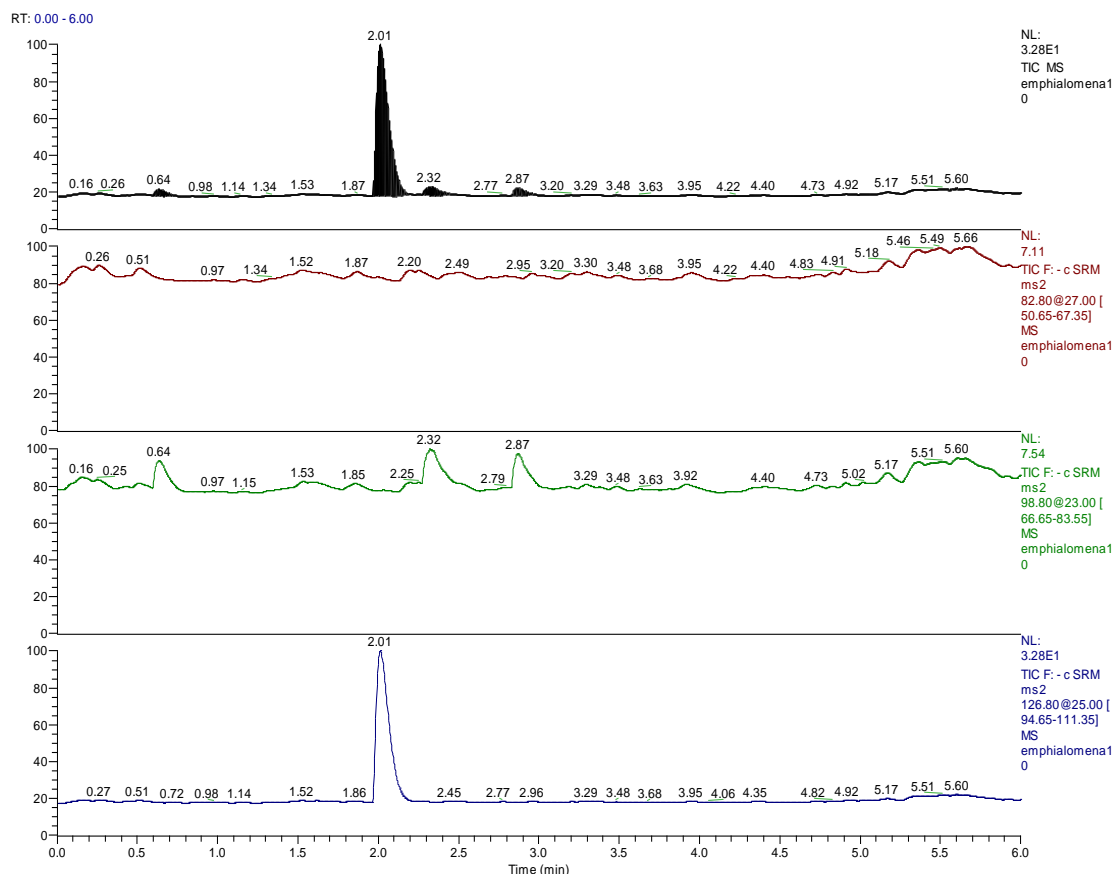
Σχήμα 31. Χρωματογράφημα δείγματος Δ8 με την τεχνική HPLC-ESI-MS/MS



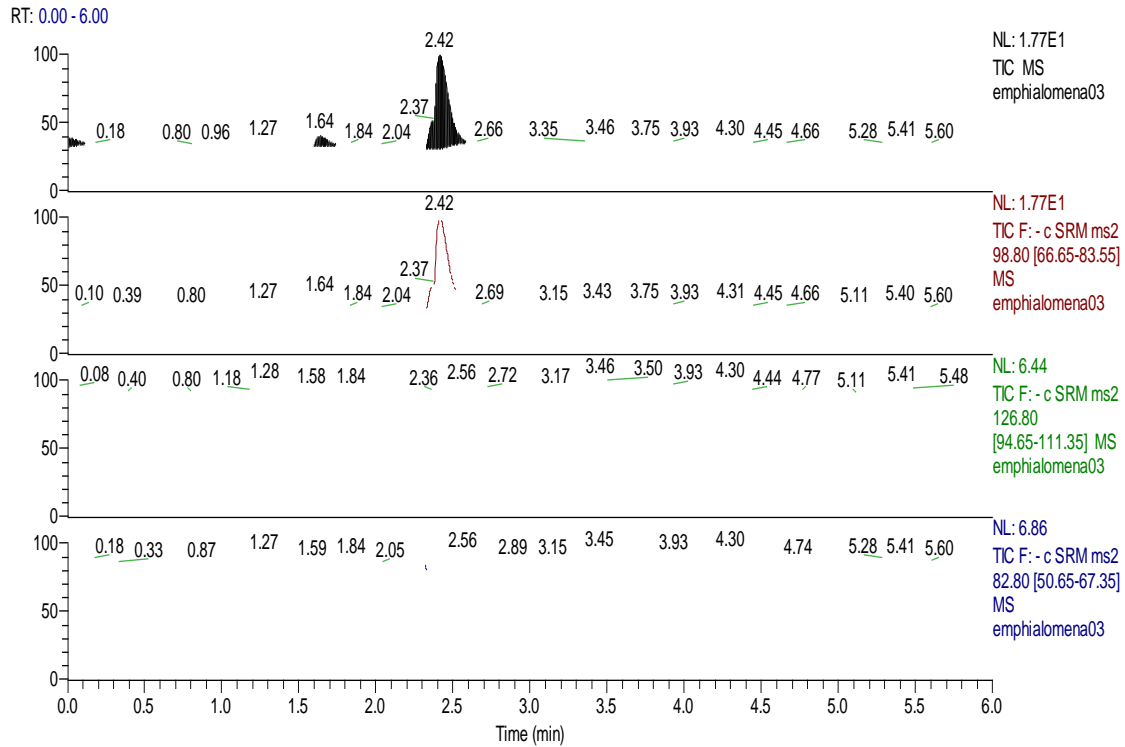
Σχήμα 32. Χρωματογράφημα δείγματος Δ9 με την τεχνική HPLC-ESI-MS/MS



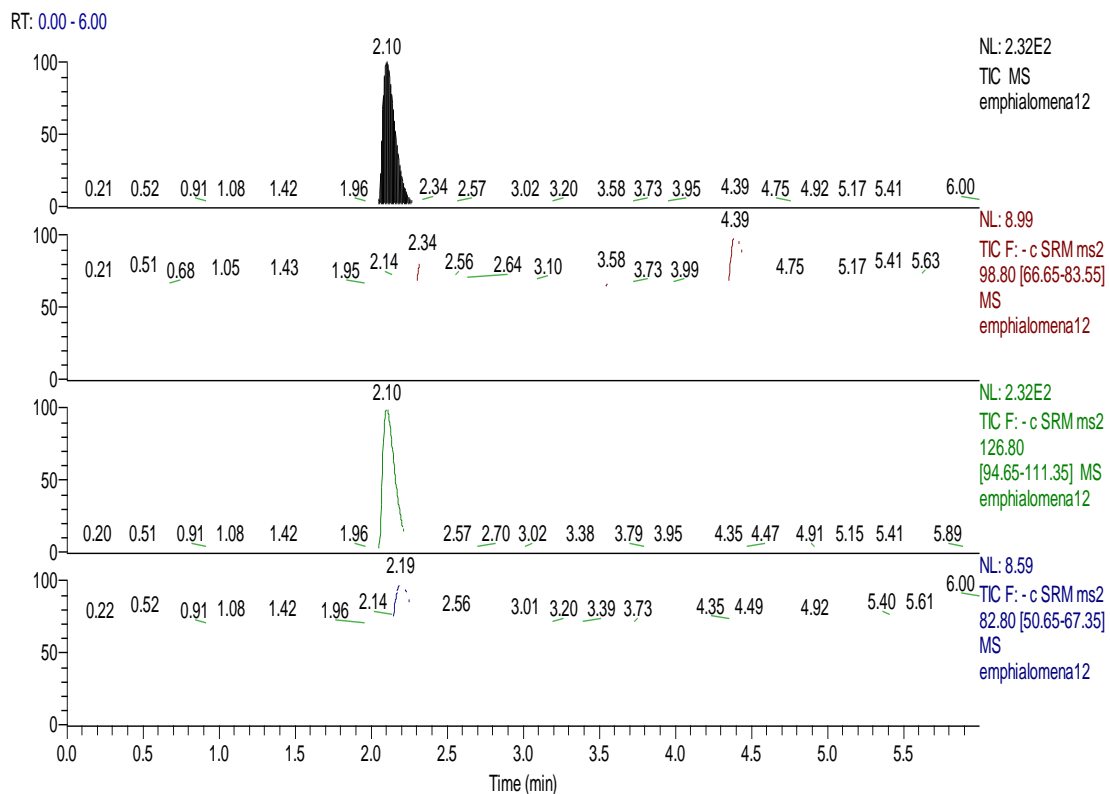
Σχήμα 33. Χρωματογράφημα δείγματος Δ10 με την τεχνική HPLC-ESI-MS/MS



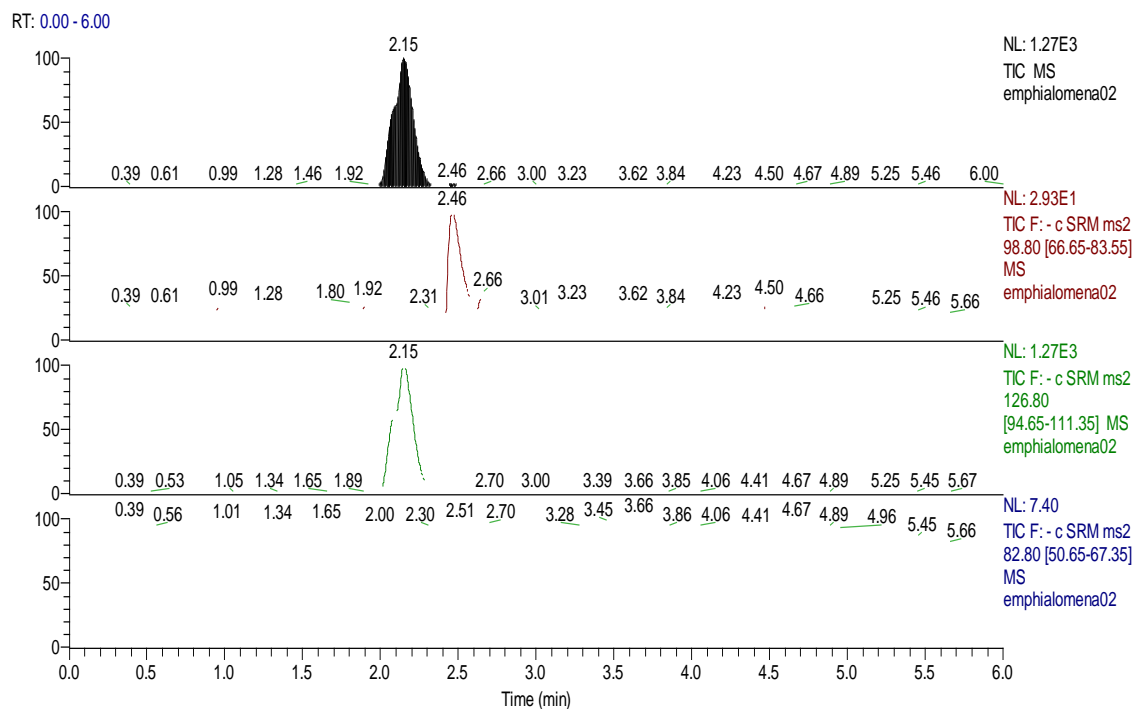
Σχήμα 34. Χρωματογράφημα δείγματος Δ11 με την τεχνική HPLC-ESI-MS/MS



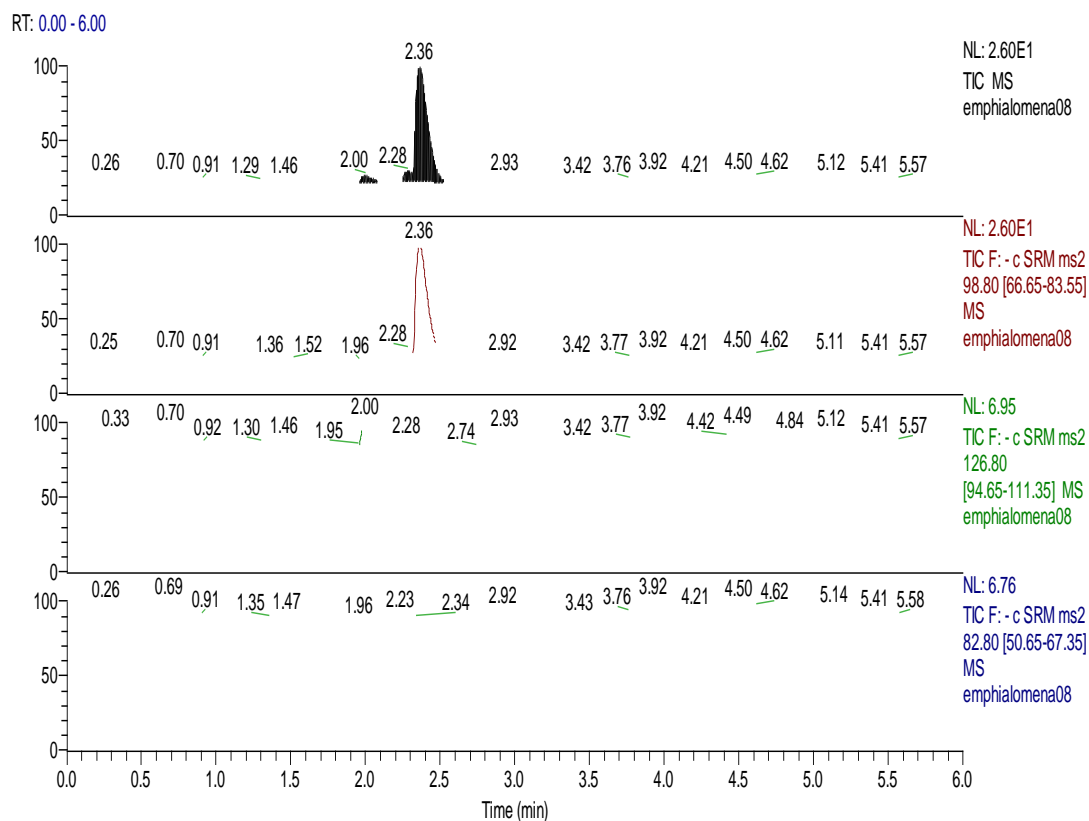
Σχήμα 35. Χρωματογράφημα δείγματος Δ12 με την τεχνική HPLC-ESI-MS/MS



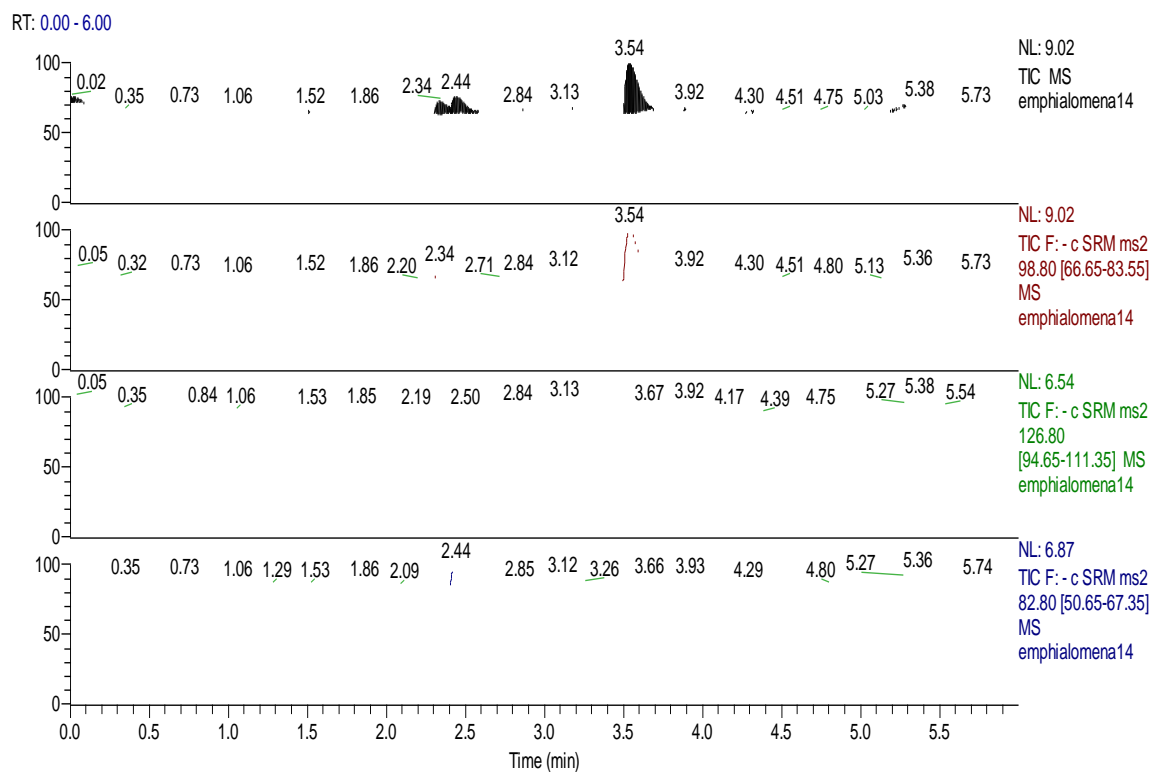
Σχήμα 36. Χρωματογράφημα δείγματος Δ13 με την τεχνική HPLC-ESI-MS/MS



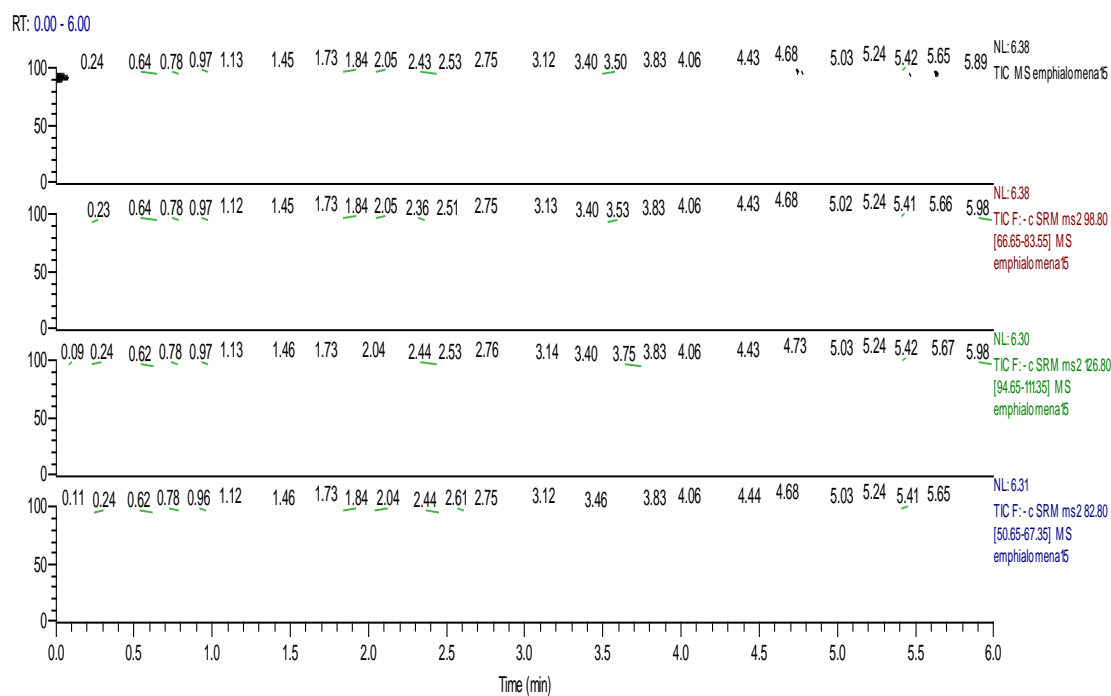
Σχήμα 37. Χρωματογράφημα δείγματος Δ14 με την τεχνική HPLC-ESI-MS/MS



Σχήμα 38. Χρωματογράφημα δείγματος Δ15 με την τεχνική HPLC-ESI-MS/MS

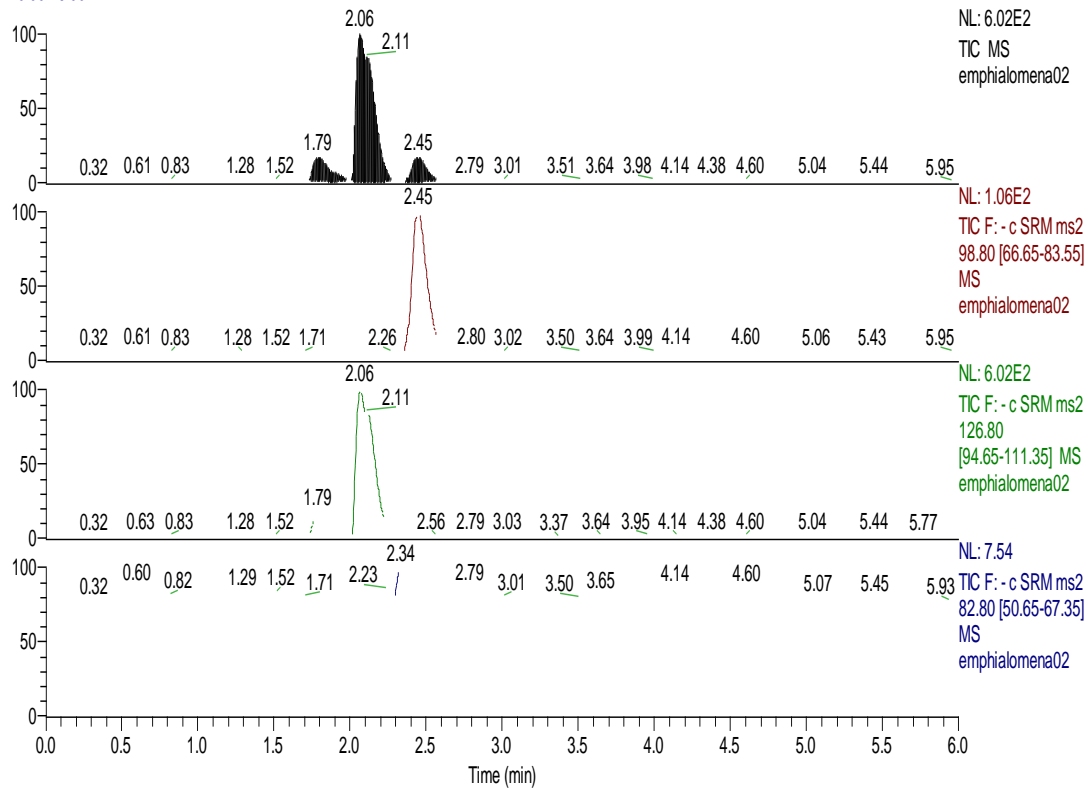


Σχήμα 39. Χρωματογράφημα δείγματος Δ16 με την τεχνική HPLC-ESI-MS/MS



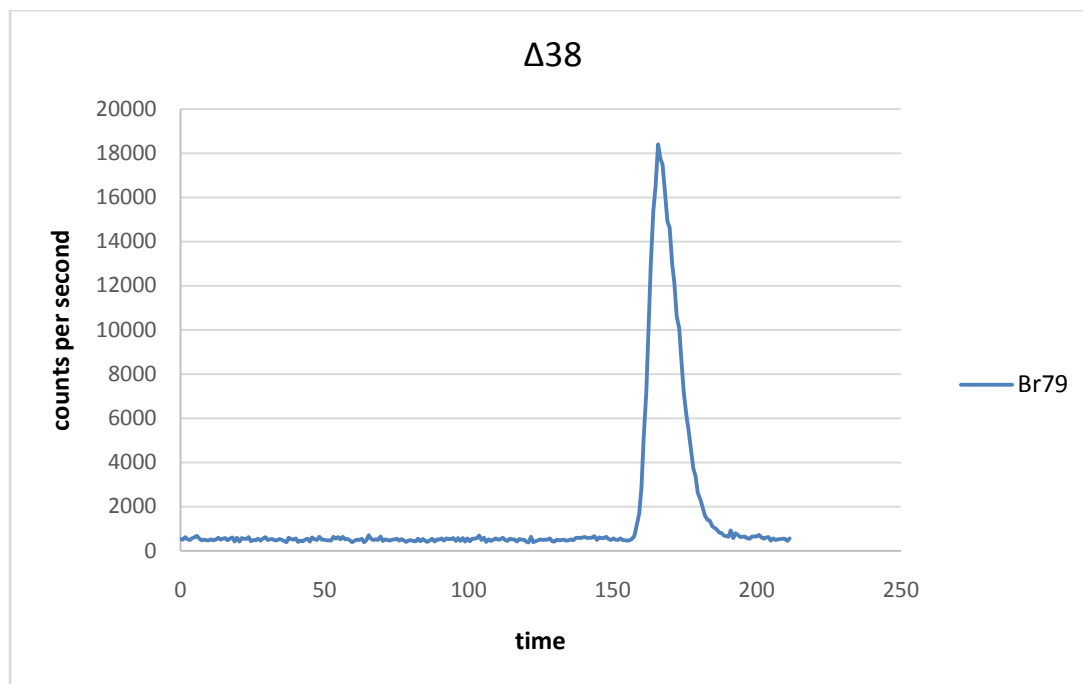
Σχήμα 40. Χρωματογράφημα δείγματος Δ17 με την τεχνική HPLC-ESI-MS/MS

RT: 0.00 - 6.00

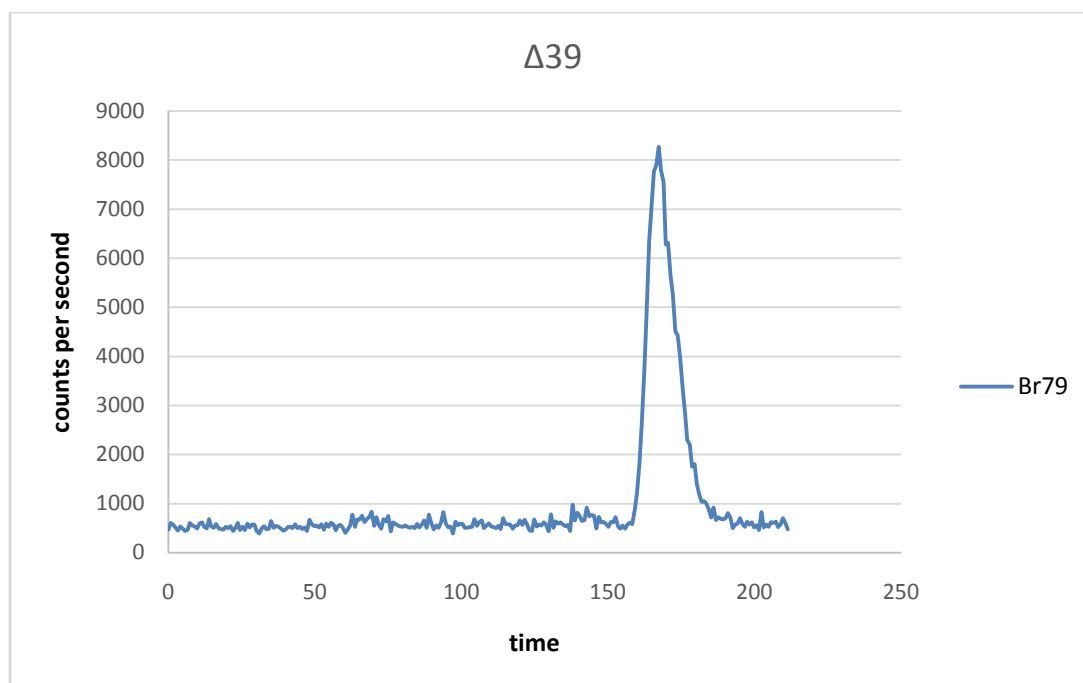


Σχήμα 41. Χρωματογράφημα δείγματος Δ18 με την τεχνική HPLC-ESI-MS/MS

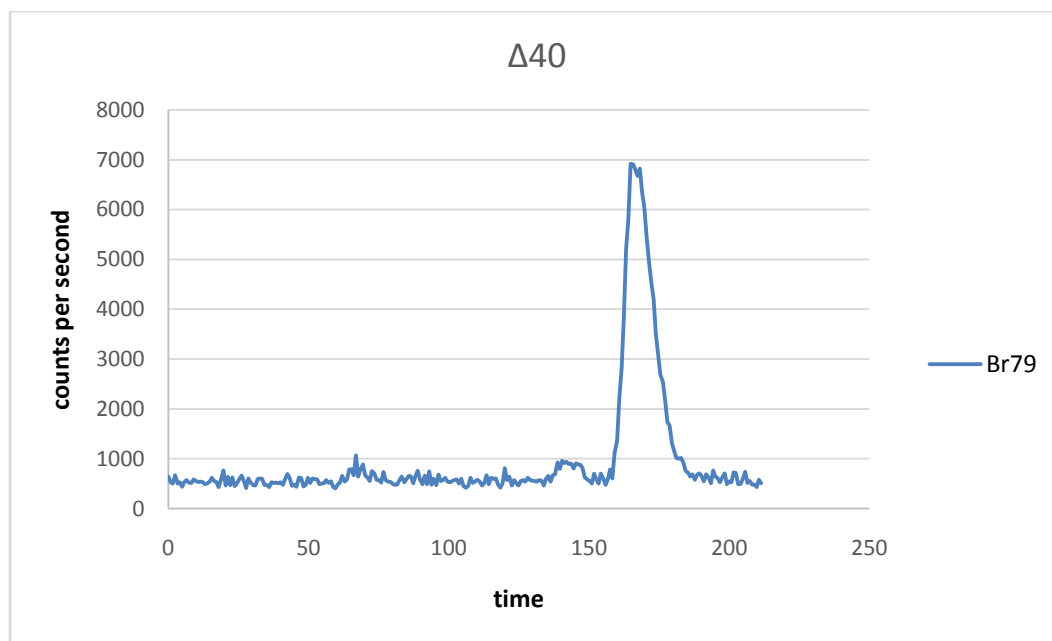
6.2. Παράρτημα χρωματογραφημάτων της μεθόδου HPLC-ICP-MS



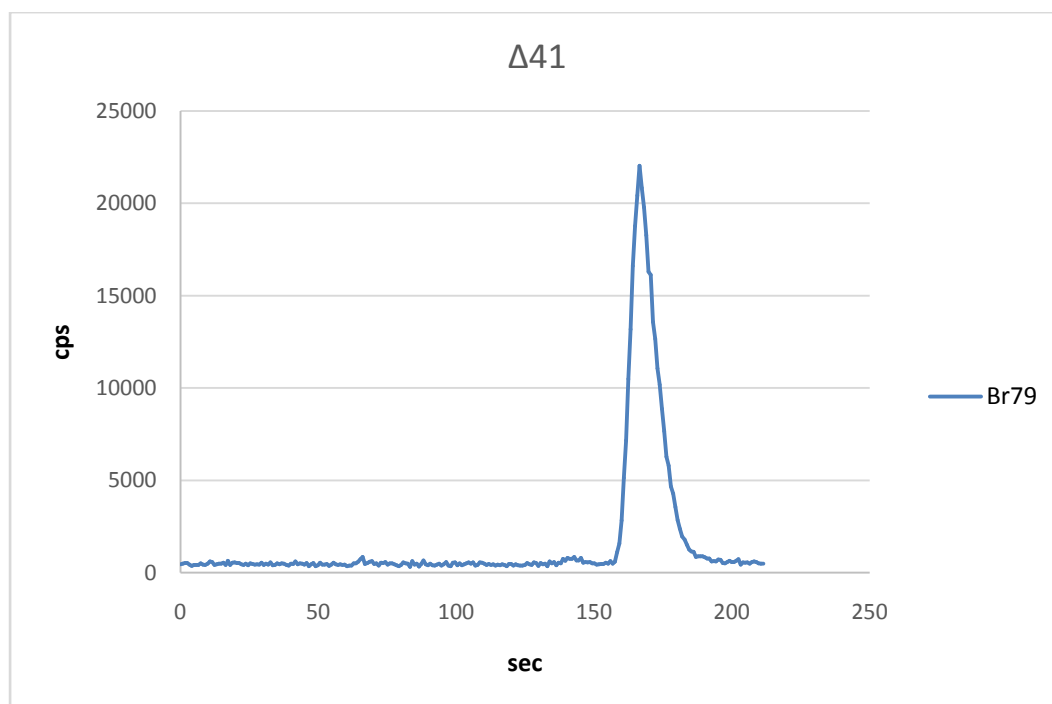
Σχήμα 42. Χρωματογράφημα δείγματος Δ38 με την τεχνική HPLC-ICP-MS



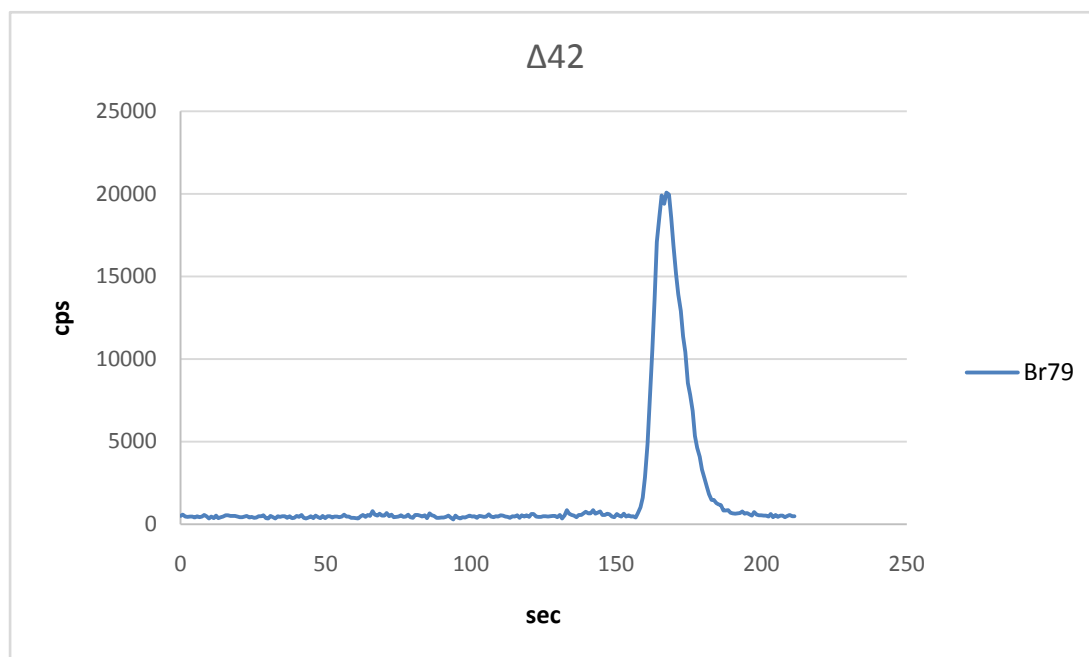
Σχήμα 43. Χρωματογράφημα δείγματος Δ39 με την τεχνική HPLC-ICP-MS



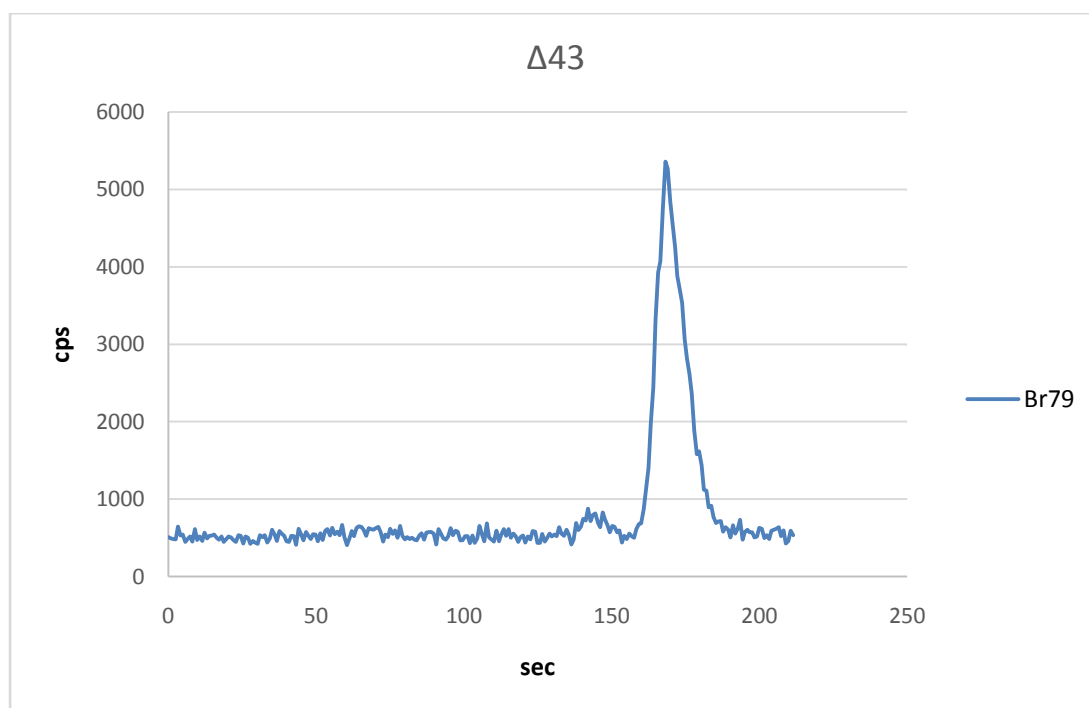
Σχήμα 44. Χρωματογράφημα δείγματος Δ40 με την τεχνική HPLC-ICP-MS



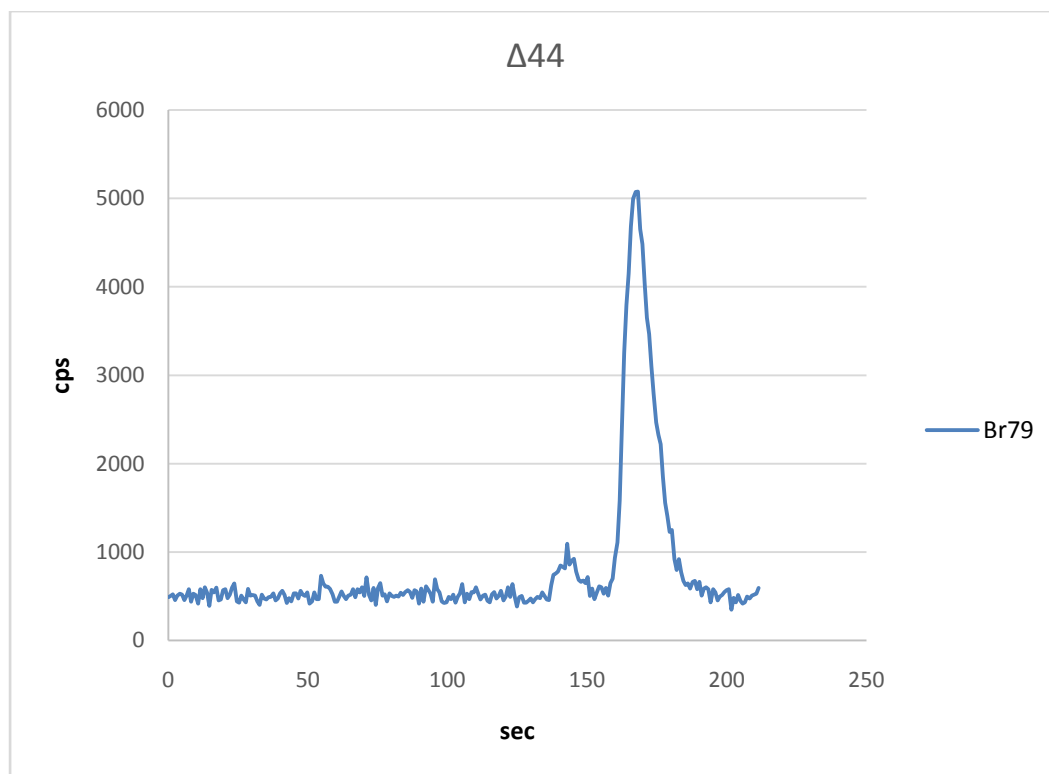
Σχήμα 45. Χρωματογράφημα δείγματος Δ41 με την τεχνική HPLC-ICP-MS



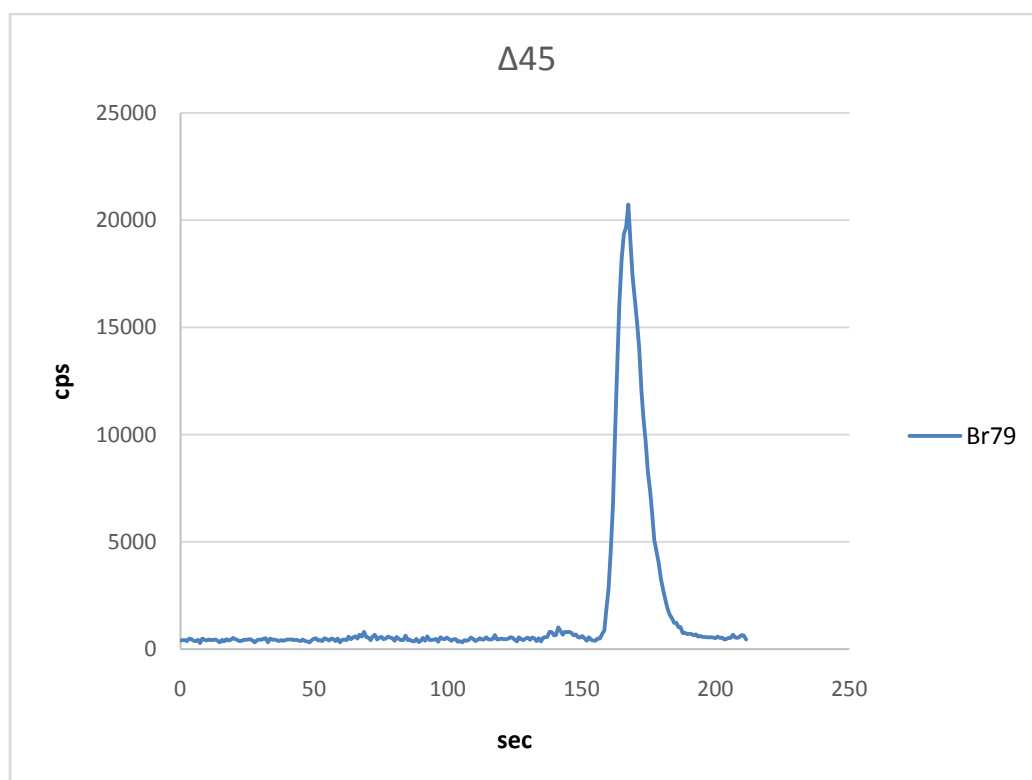
Σχήμα 46. Χρωματογράφημα δείγματος Δ42 με την τεχνική HPLC-ICP-MS



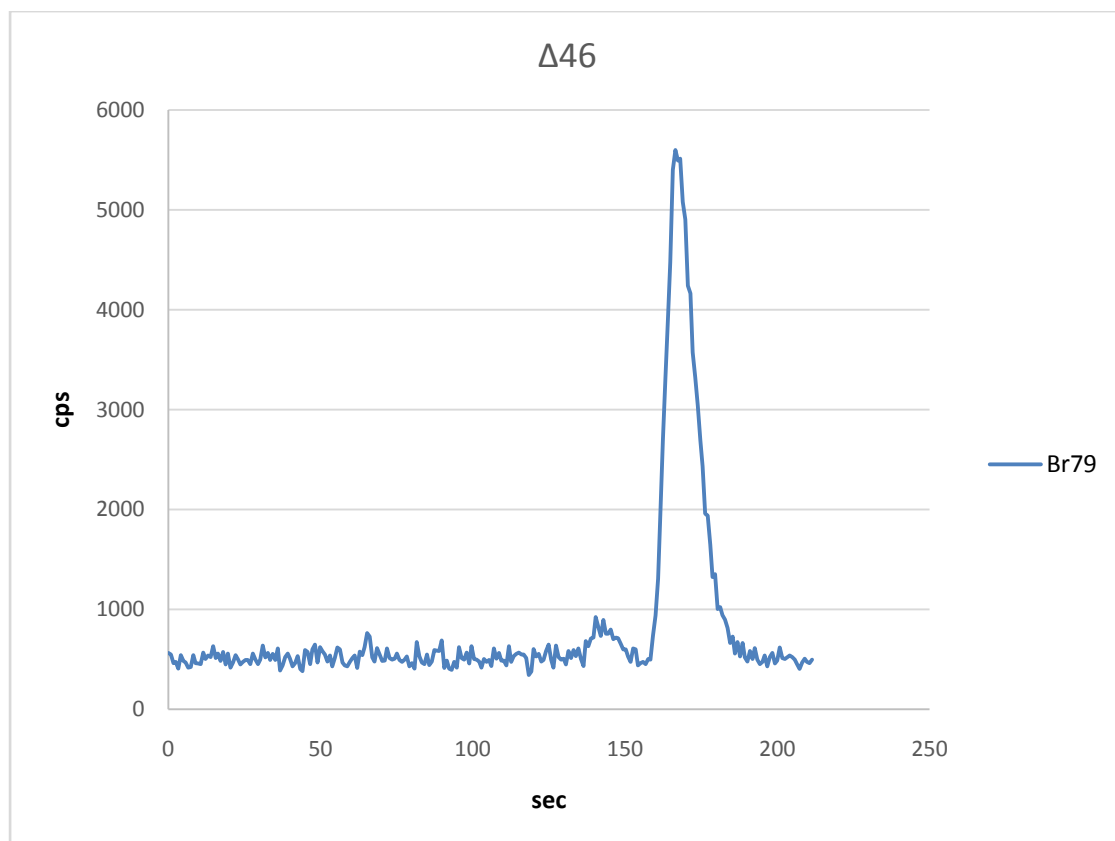
Σχήμα 47. Χρωματογράφημα δείγματος Δ43 με την τεχνική HPLC-ICP-MS



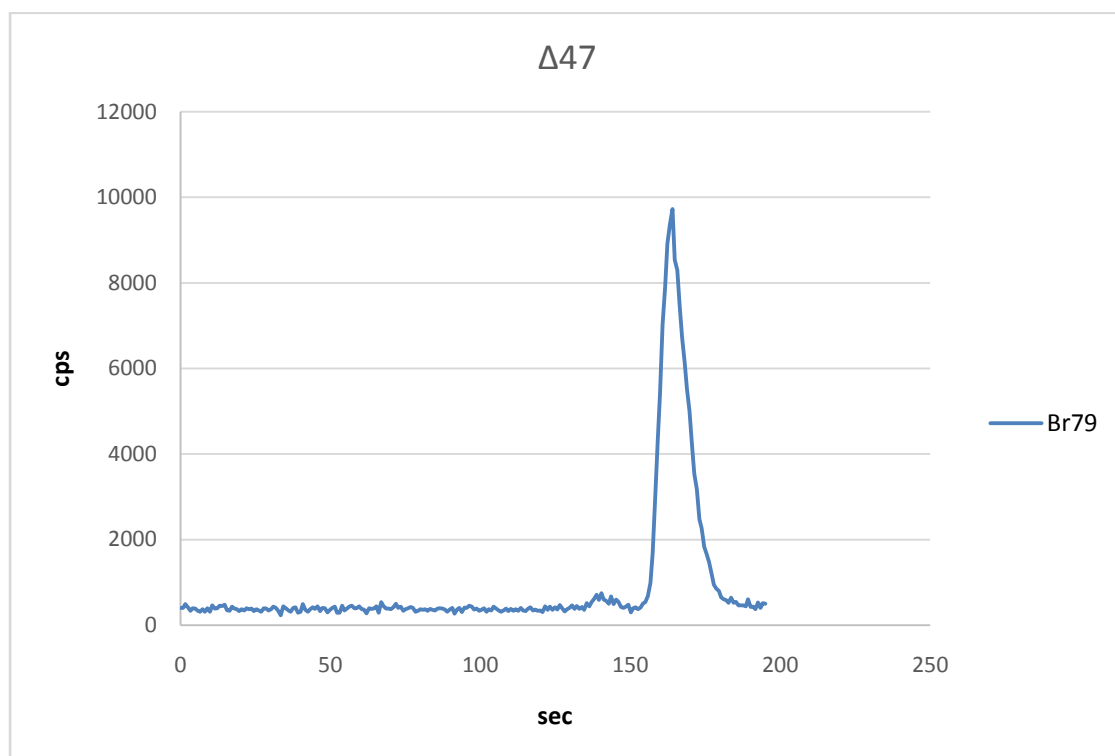
Σχήμα 48. Χρωματογράφημα δείγματος Δ44 με την τεχνική HPLC-ICP-MS



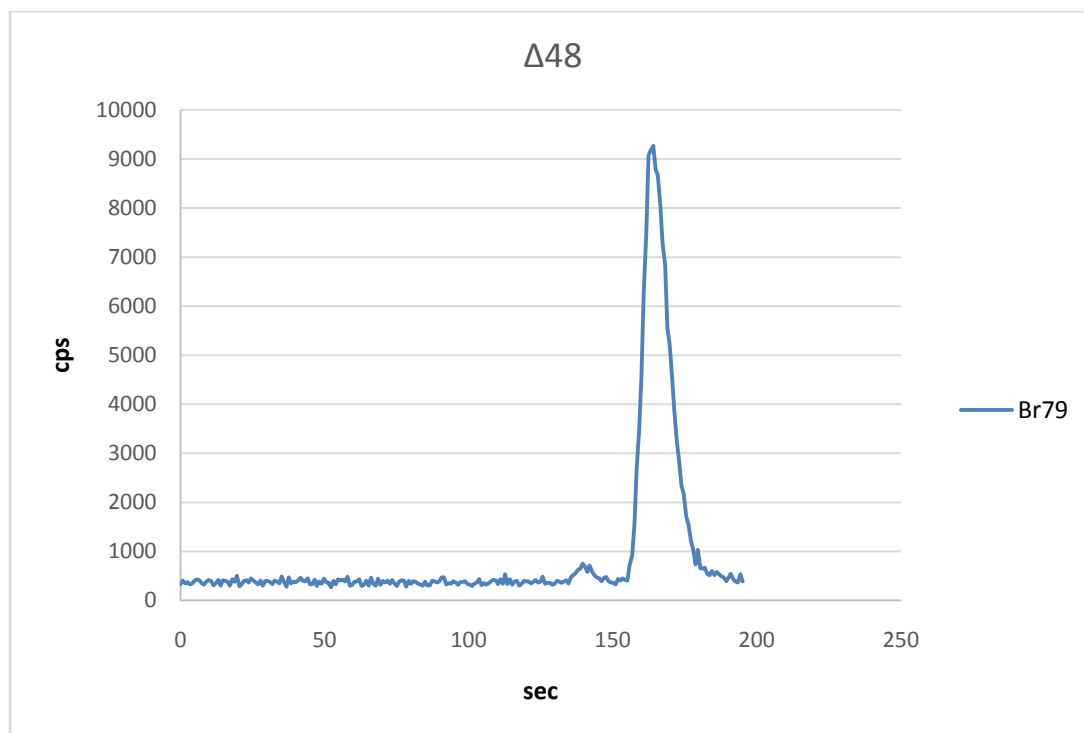
Σχήμα 49. Χρωματογράφημα δείγματος Δ45 με την τεχνική HPLC-ICP-MS



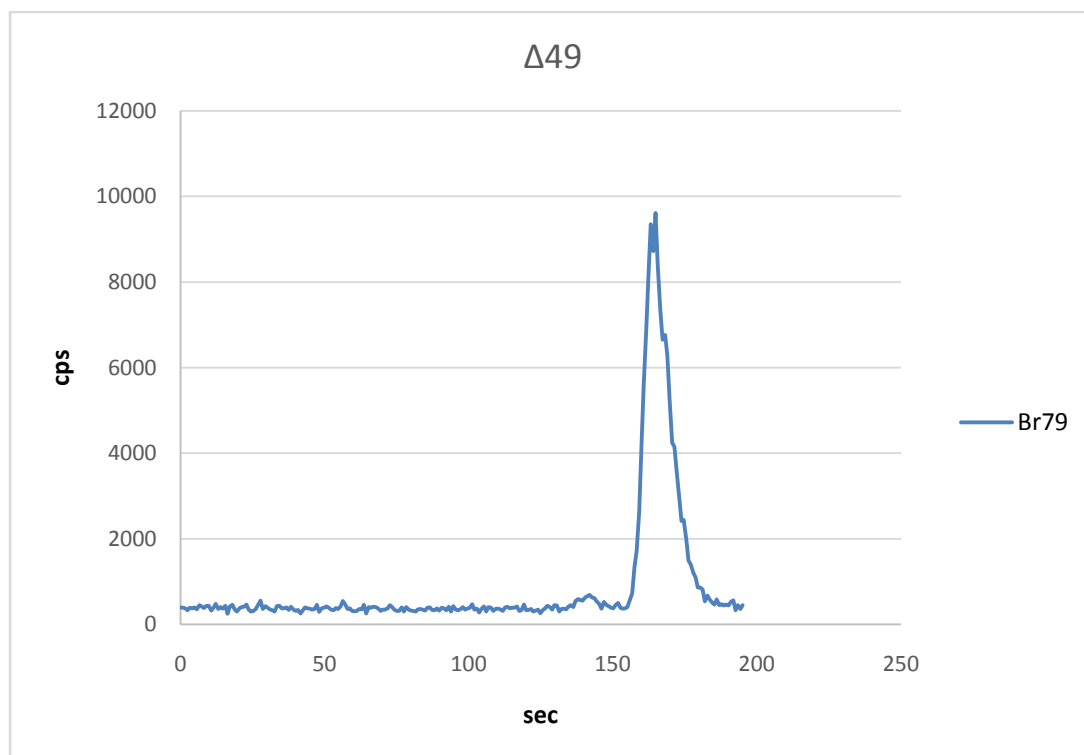
Σχήμα 50. Χρωματογράφημα δείγματος Δ46 με την τεχνική HPLC-ICP-MS



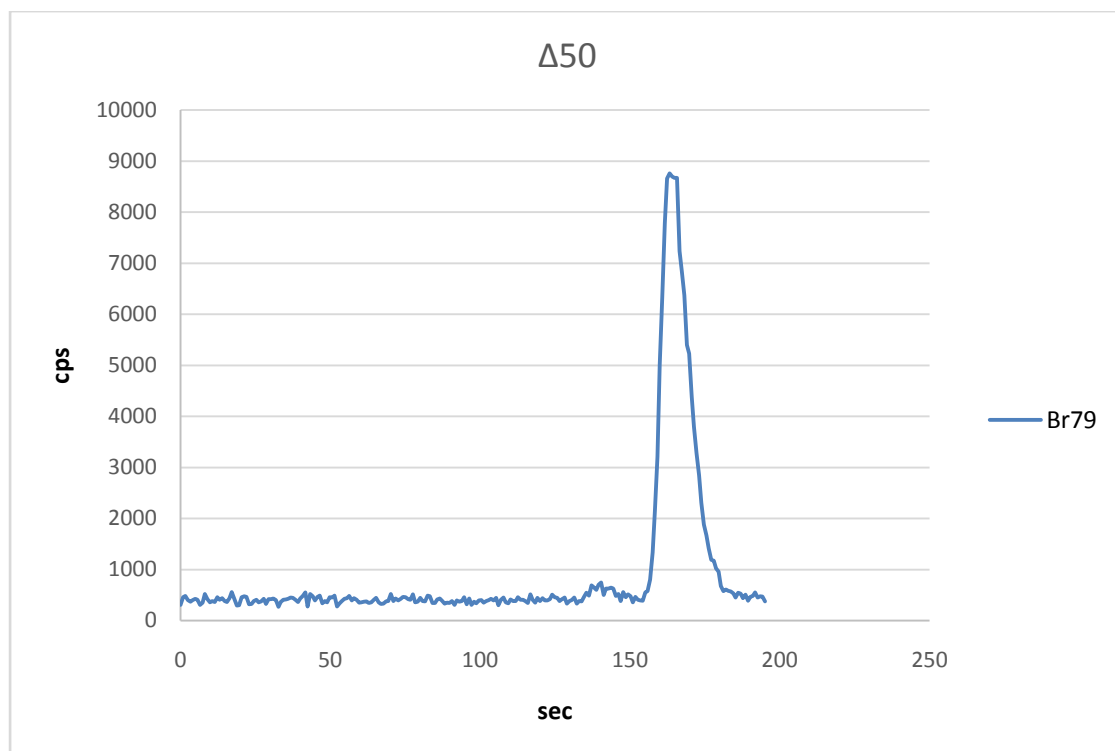
Σχήμα 51. Χρωματογράφημα δείγματος Δ47 με την τεχνική HPLC-ICP-MS



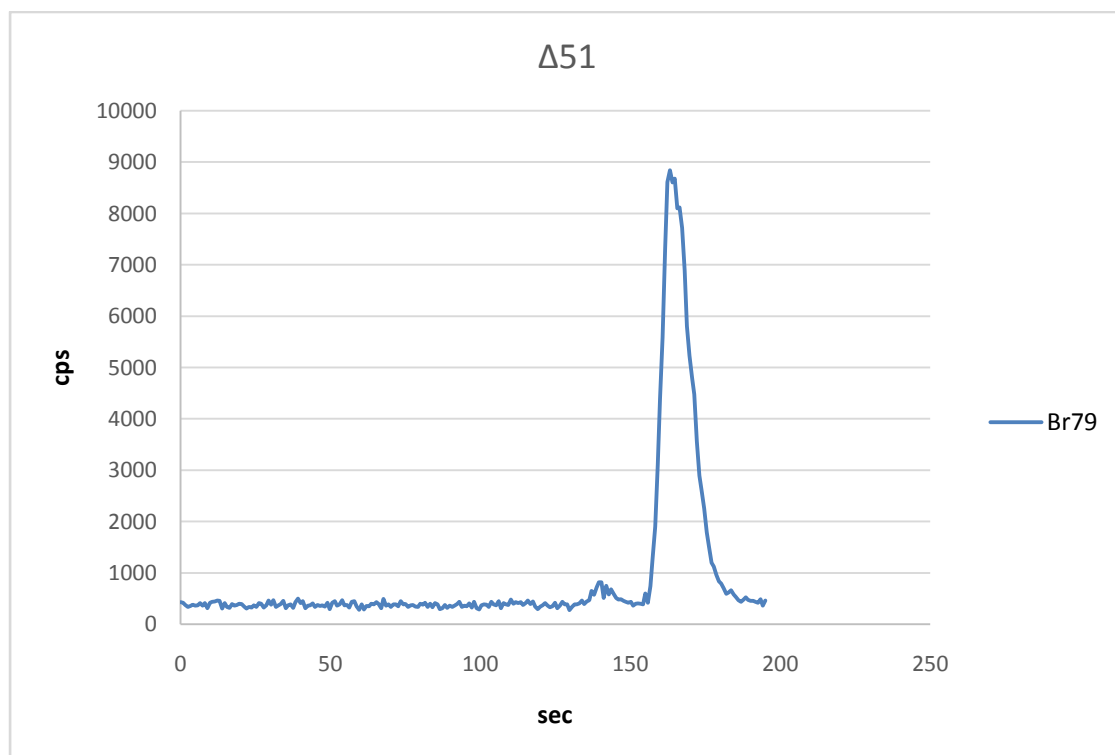
Σχήμα 52. Χρωματογράφημα δείγματος Δ48 με την τεχνική HPLC-ICP-MS



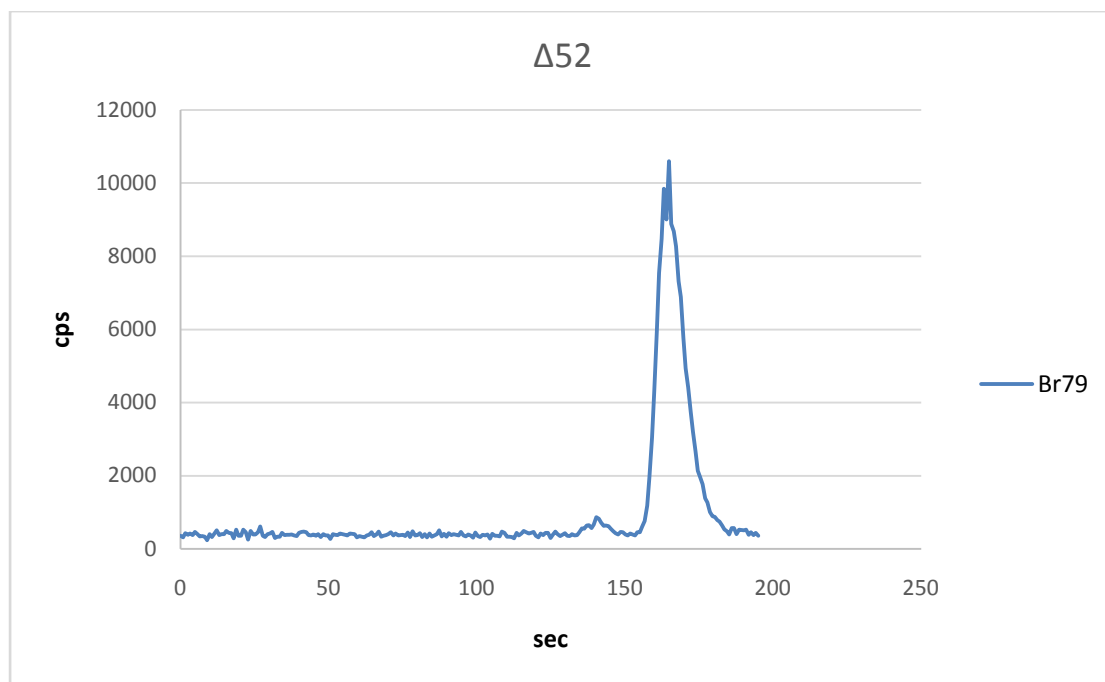
Σχήμα 53. Χρωματογράφημα δείγματος Δ49 με την τεχνική HPLC-ICP-MS



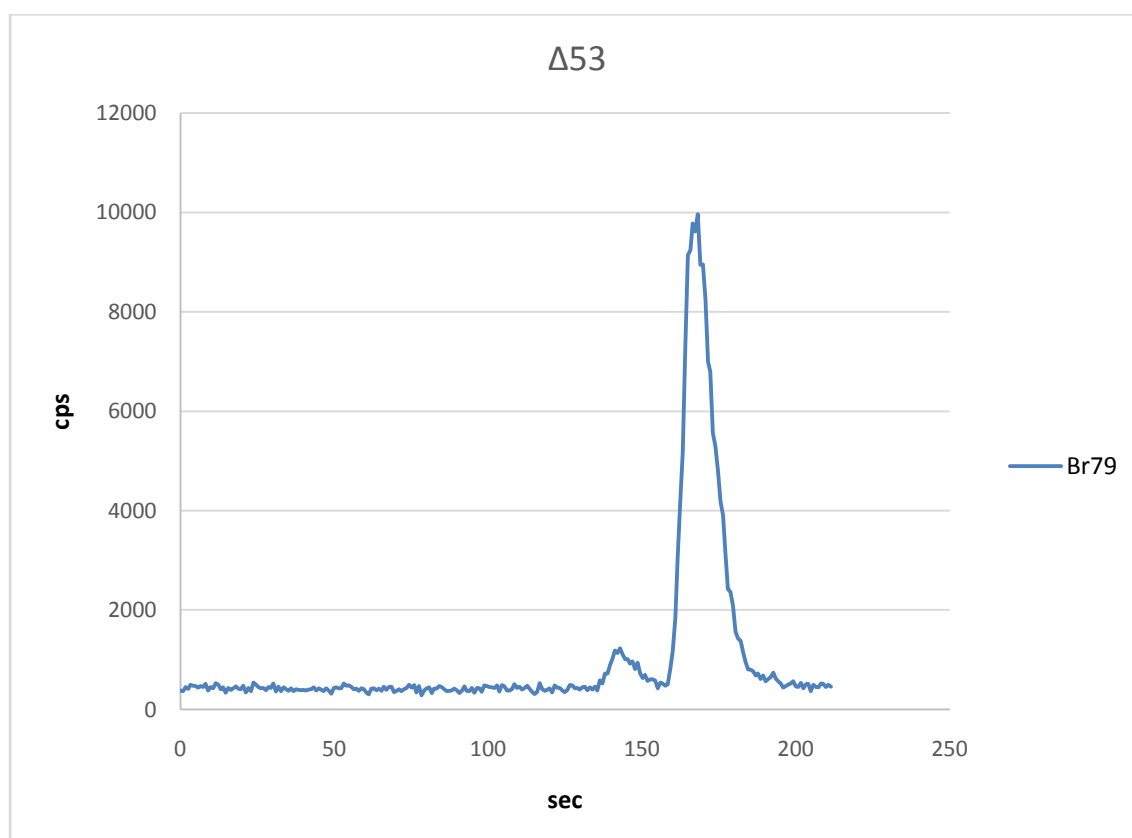
Σχήμα 54. Χρωματογράφημα δείγματος Δ50 με την τεχνική HPLC-ICP-MS



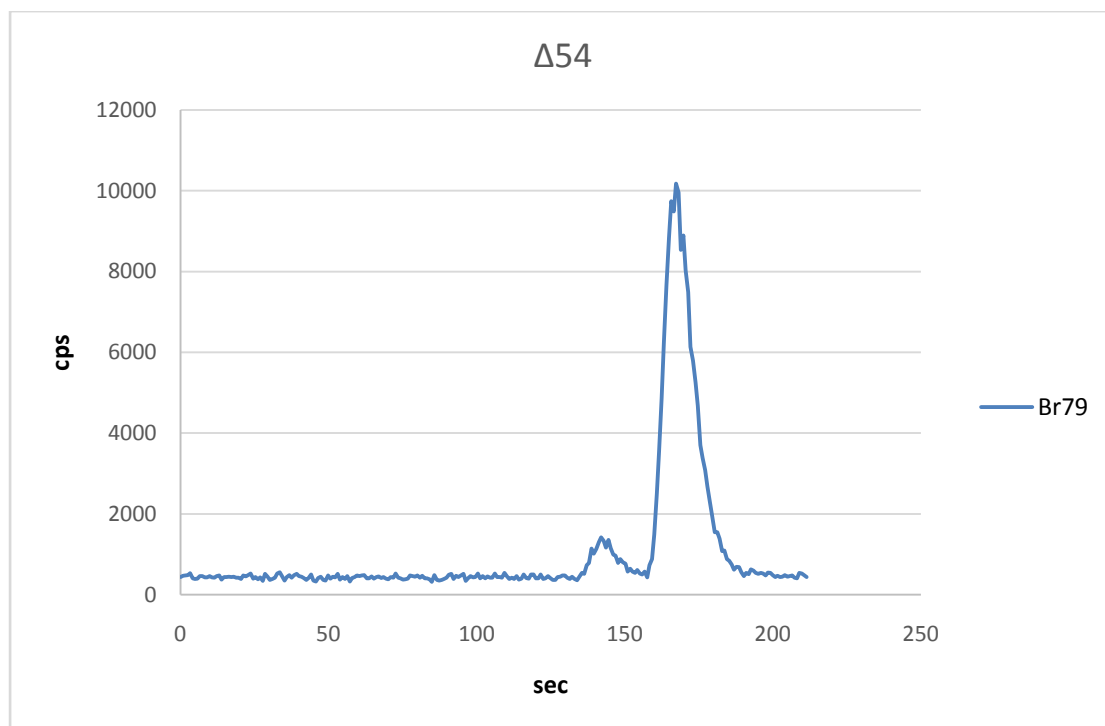
Σχήμα 55. Χρωματογράφημα δείγματος Δ51 με την τεχνική HPLC-ICP-MS



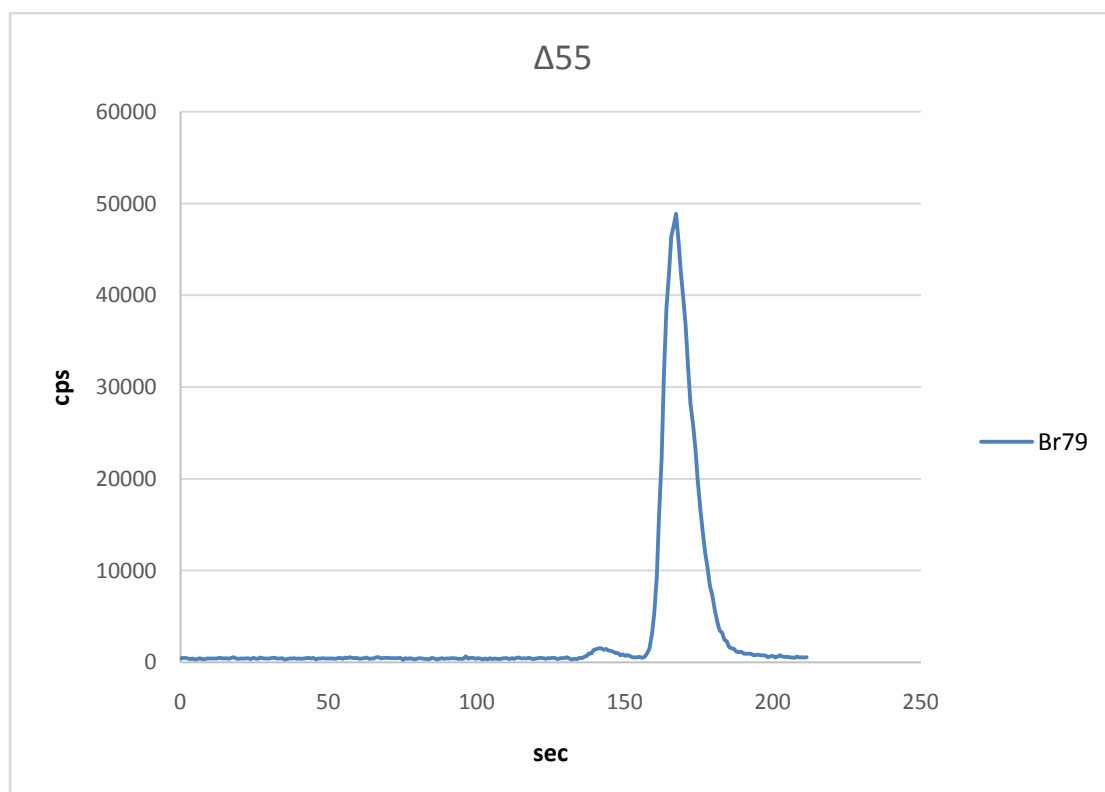
Σχήμα 56. Χρωματογράφημα δείγματος Δ52 με την τεχνική HPLC-ICP-MS



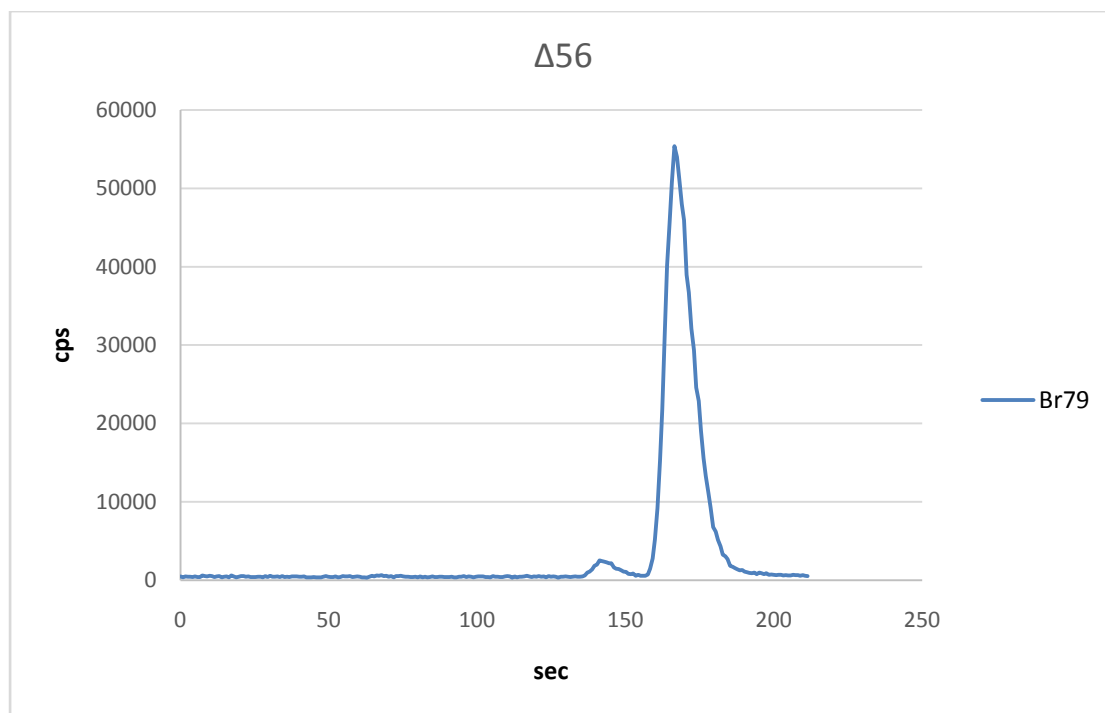
Σχήμα 57. Χρωματογράφημα δείγματος Δ53 με την τεχνική HPLC-ICP-MS



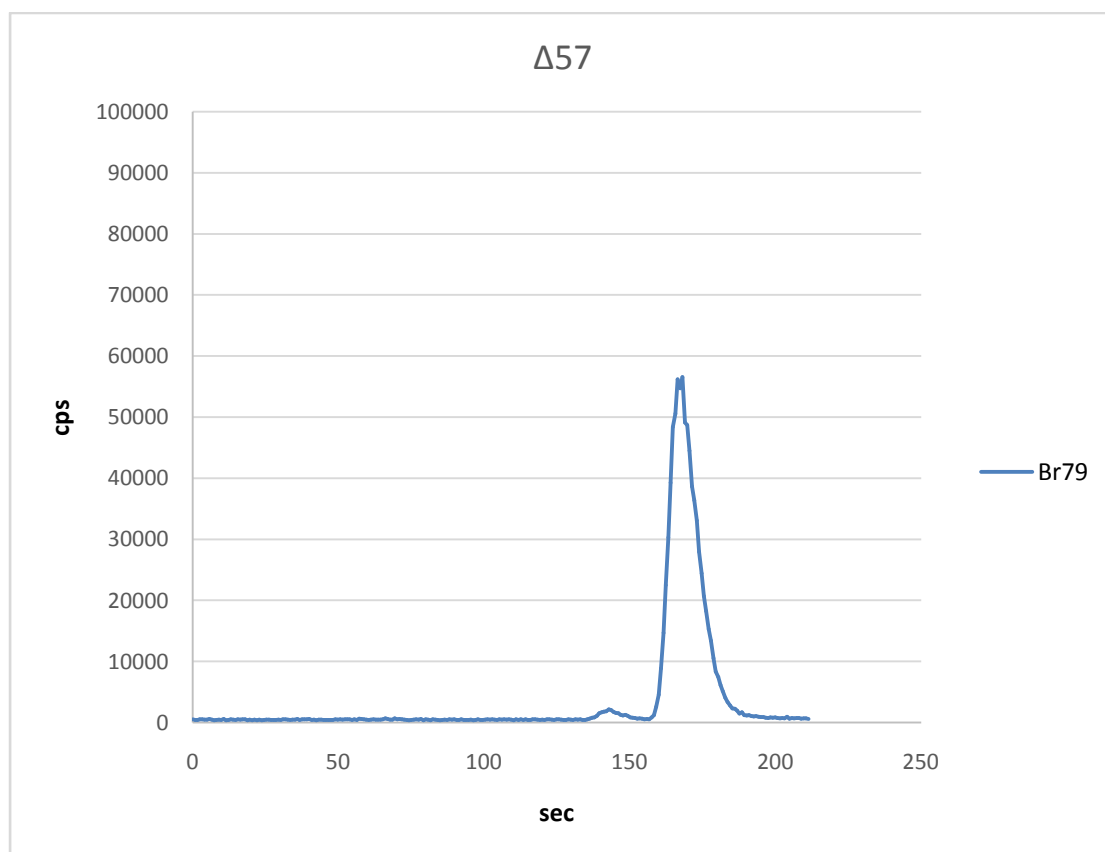
Σχήμα 58. Χρωματογράφημα δείγματος Δ54 με την τεχνική HPLC-ICP-MS



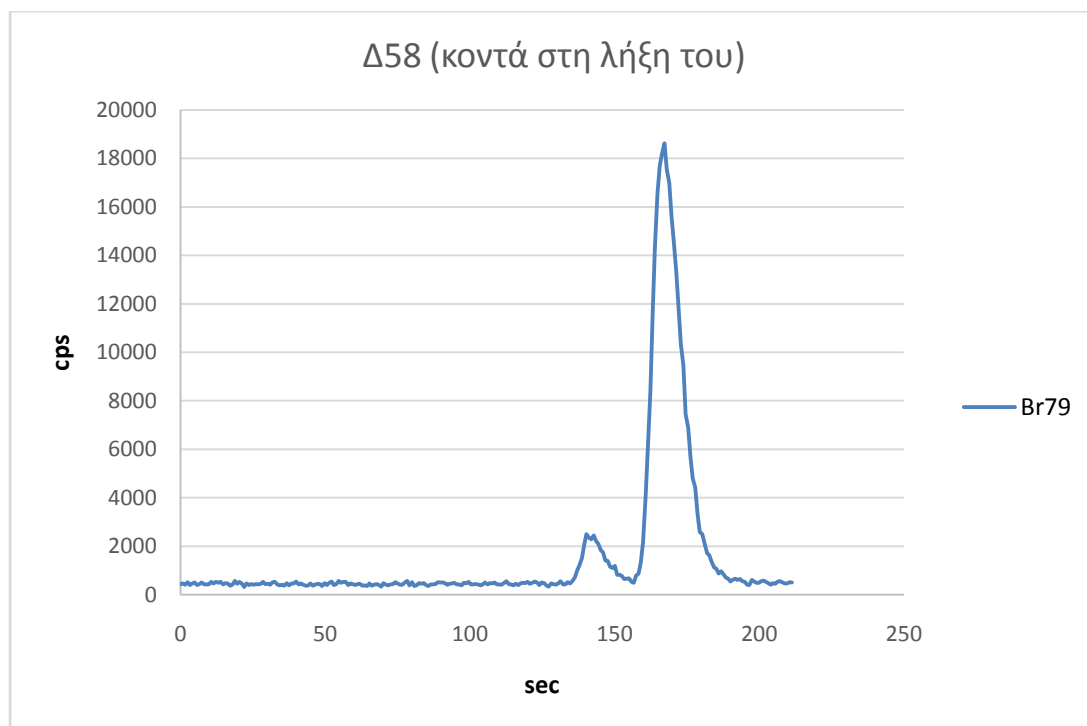
Σχήμα 59. Χρωματογράφημα δείγματος Δ55 με την τεχνική HPLC-ICP-MS



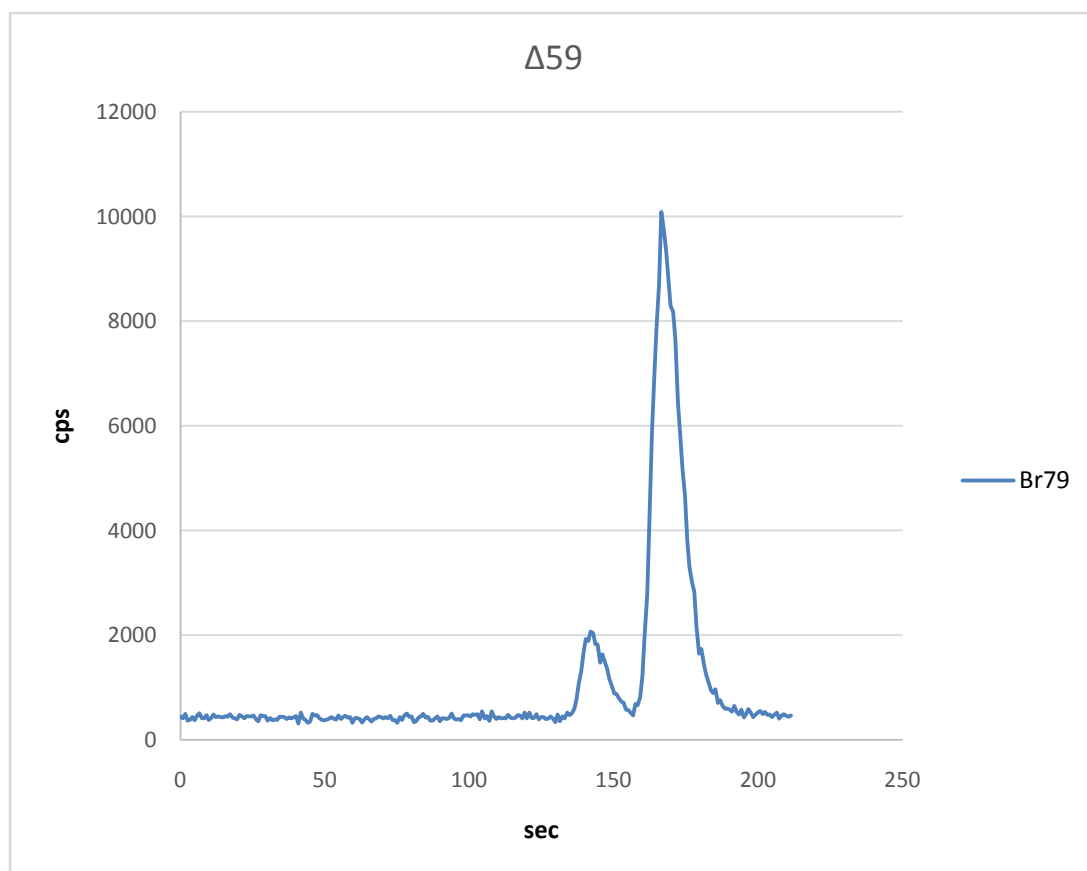
Σχήμα 60. Χρωματογράφημα δείγματος Δ56 με την τεχνική HPLC-ICP-MS



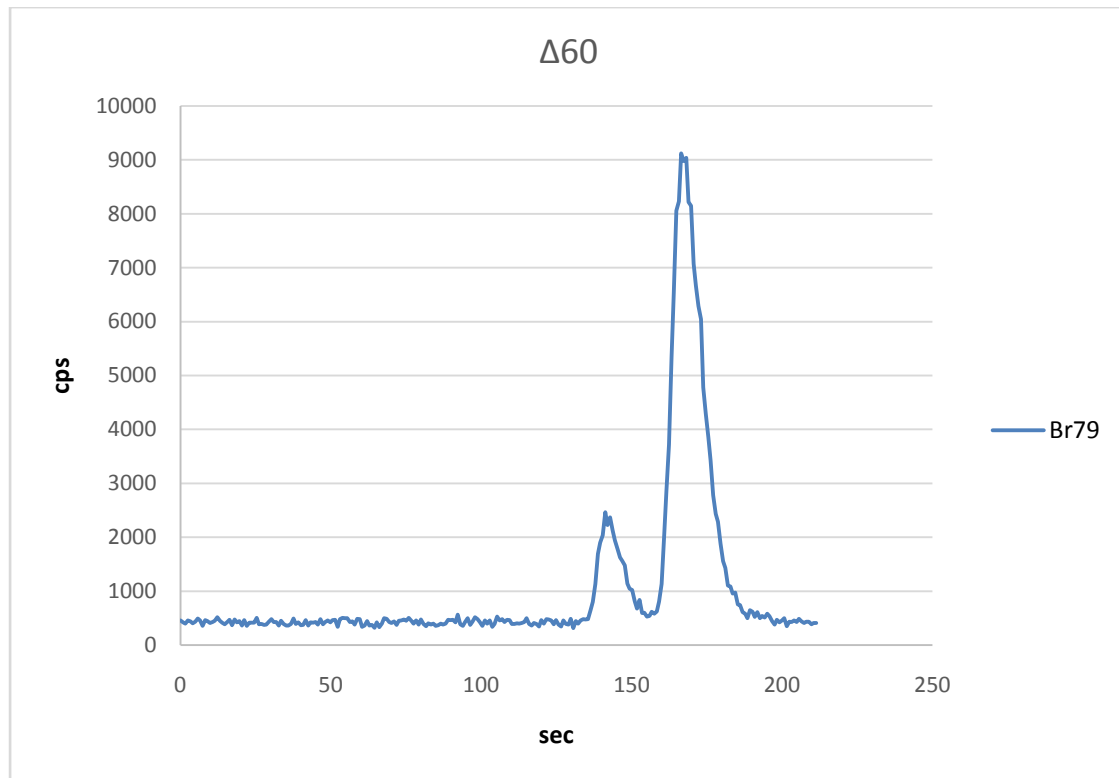
Σχήμα 61. Χρωματογράφημα δείγματος Δ57 με την τεχνική HPLC-ICP-MS



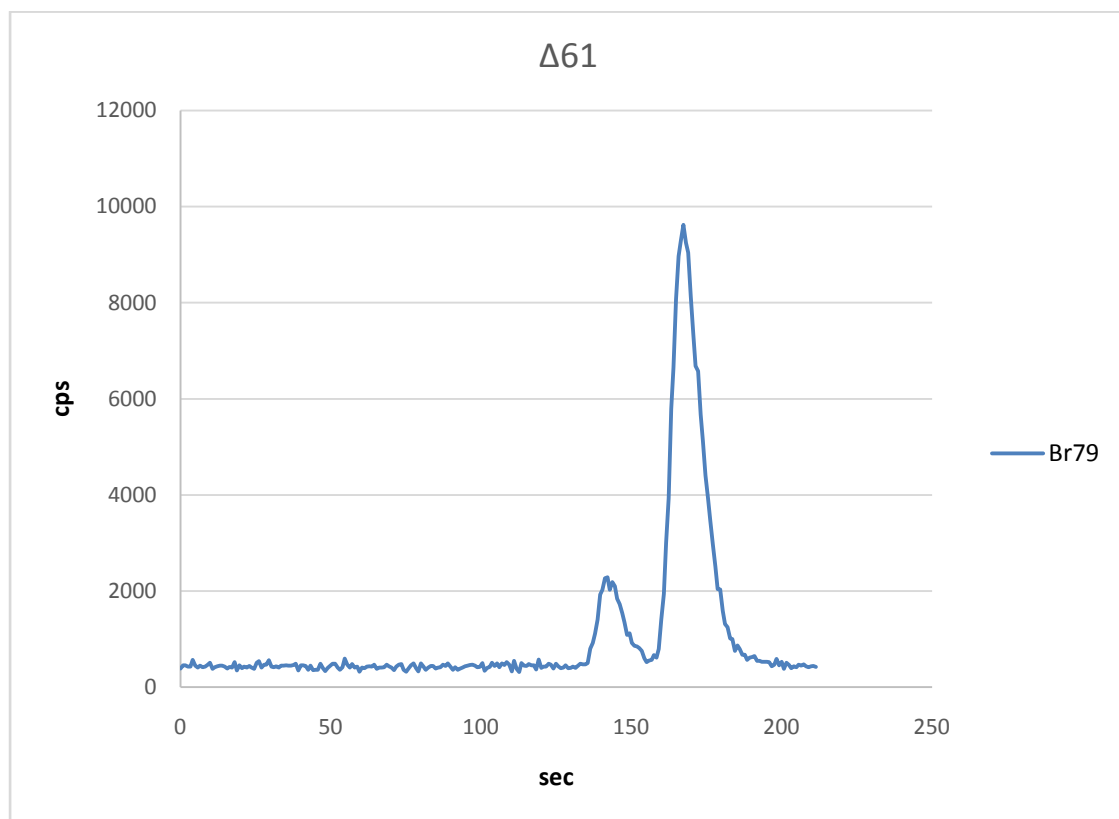
Σχήμα 62. Χρωματογράφημα δείγματος Δ58 με την τεχνική HPLC-ICP-MS



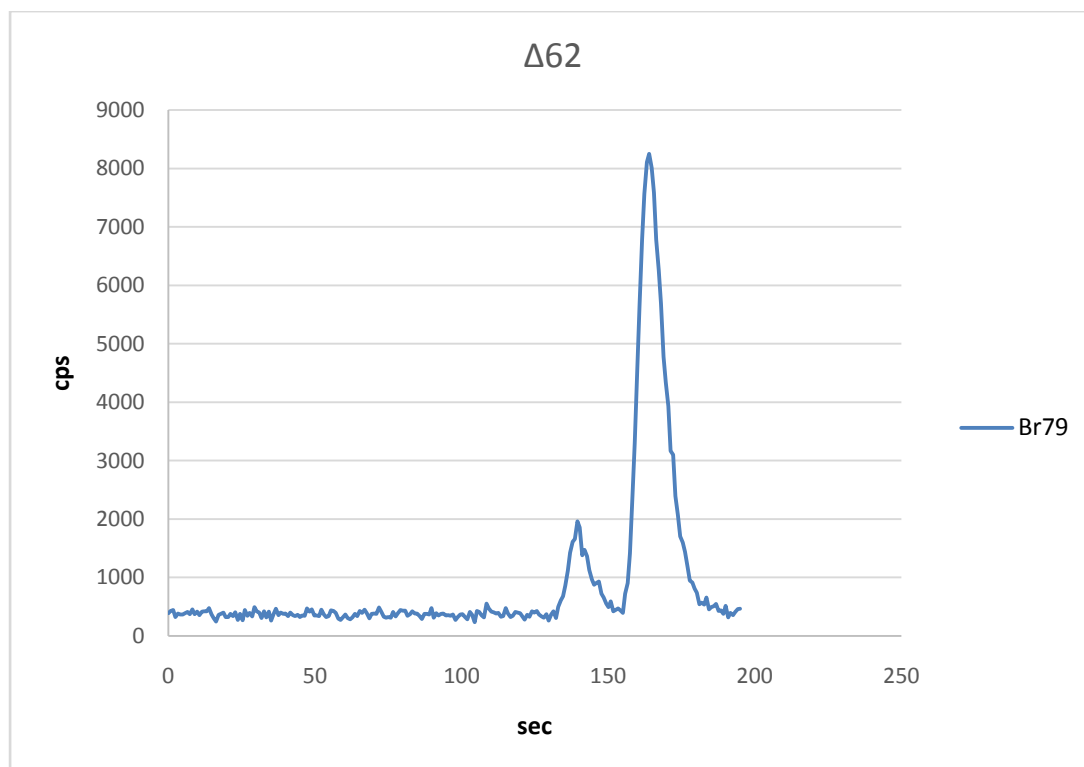
Σχήμα 63. Χρωματογράφημα δείγματος Δ59 με την τεχνική HPLC-ICP-MS



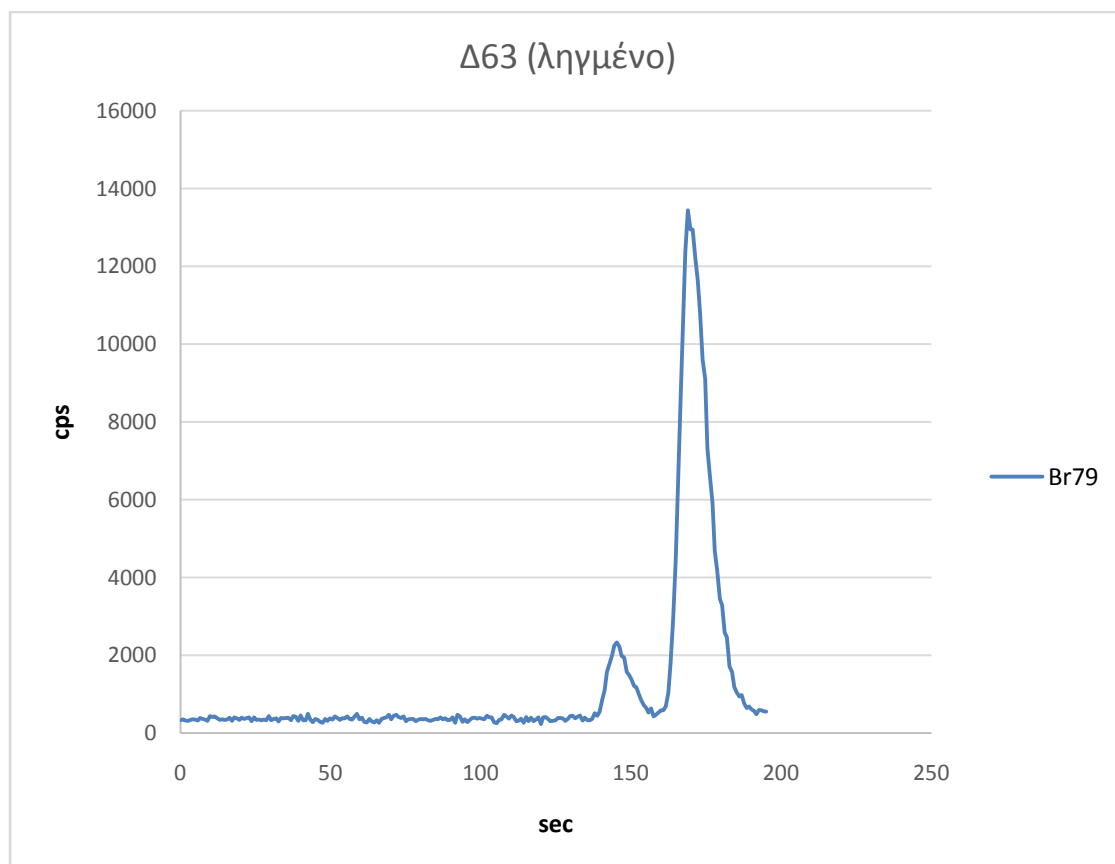
Σχήμα 64. Χρωματογράφημα δείγματος Δ60 με την τεχνική HPLC-ICP-MS



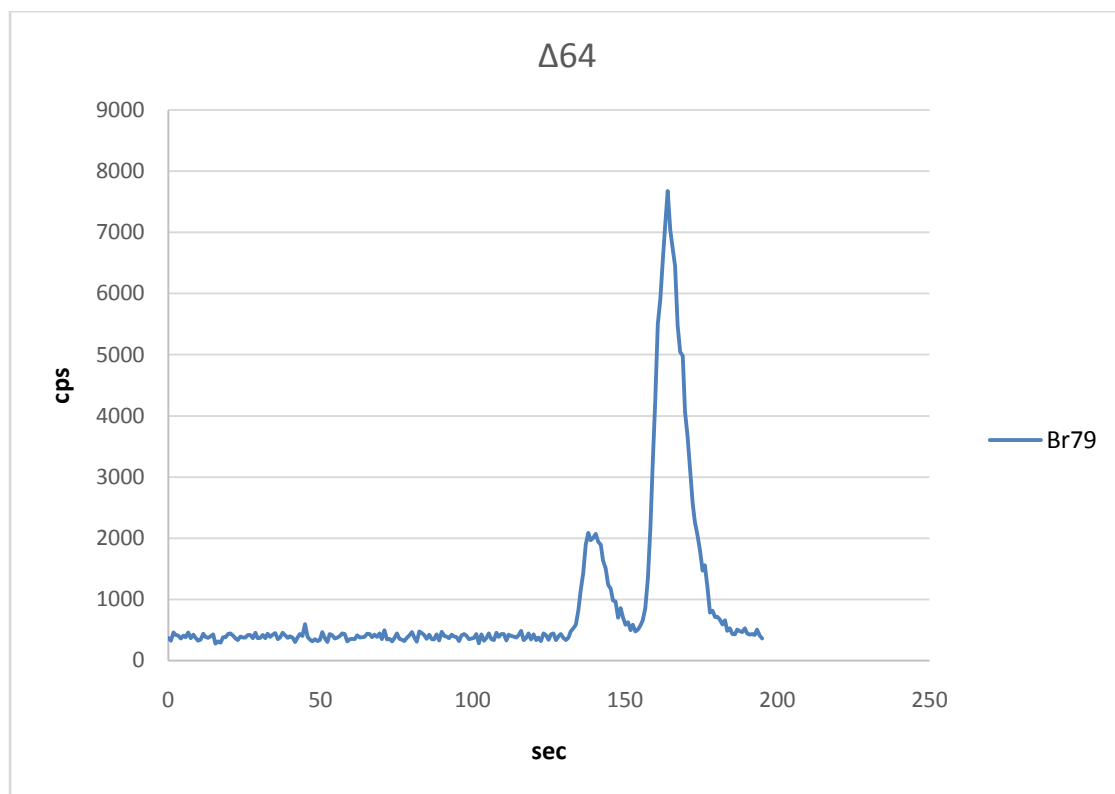
Σχήμα 65. Χρωματογράφημα δείγματος Δ61 με την τεχνική HPLC-ICP-MS



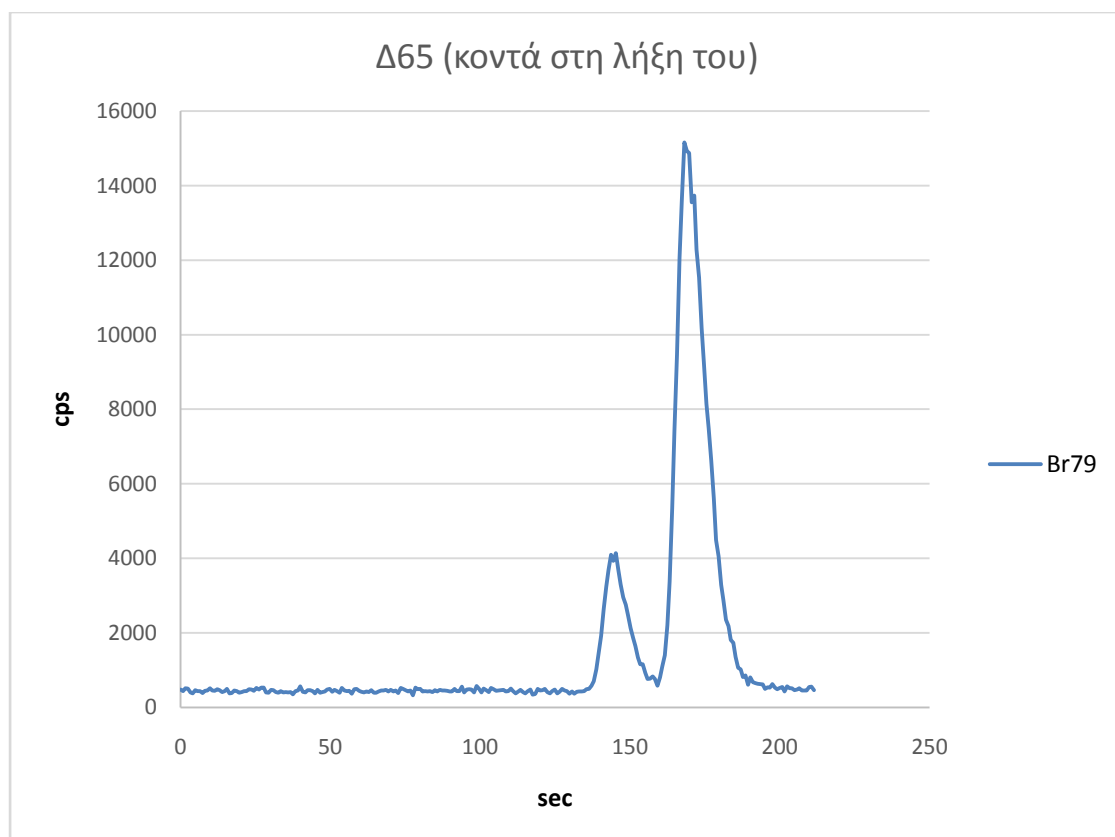
Σχήμα 66. Χρωματογράφημα δείγματος Δ62 με την τεχνική HPLC-ICP-MS



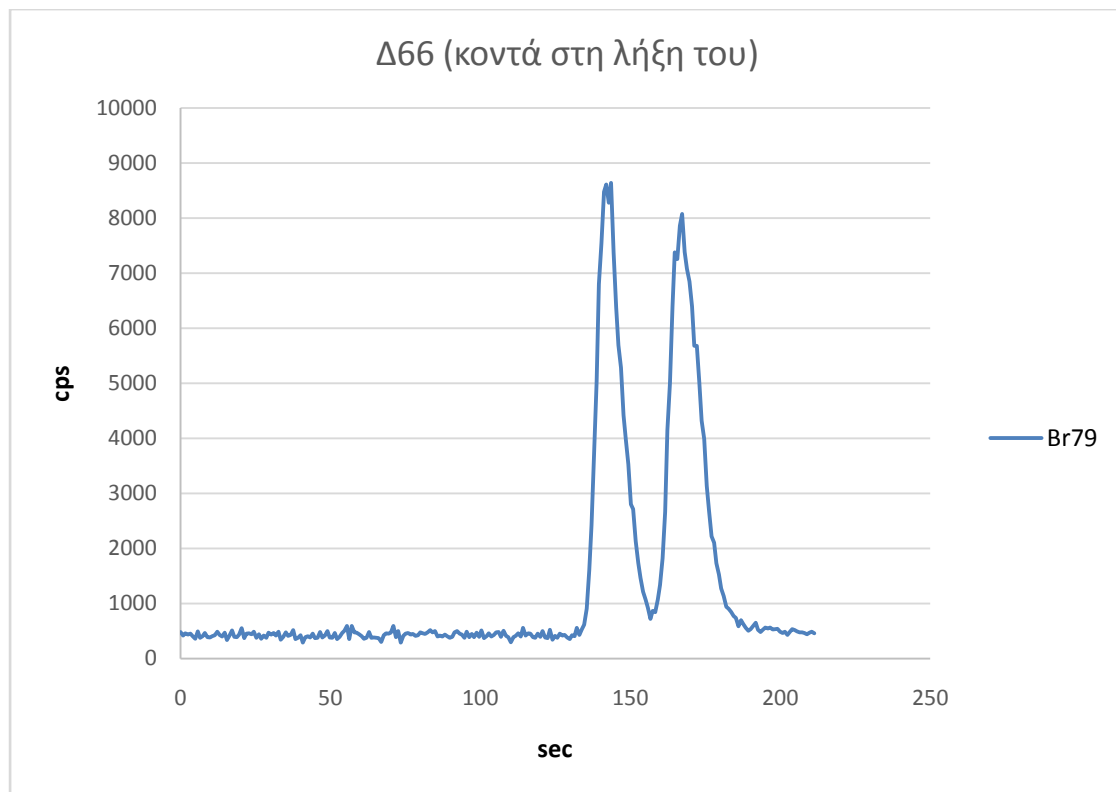
Σχήμα 67. Χρωματογράφημα δείγματος Δ63 με την τεχνική HPLC-ICP-MS



Σχήμα 68. Χρωματογράφημα δείγματος Δ64 με την τεχνική HPLC-ICP-MS



Σχήμα 69. Χρωματογράφημα δείγματος Δ65 με την τεχνική HPLC-ICP-MS



Σχήμα 70. Χρωματογράφημα δείγματος Δ66 με την τεχνική HPLC-ICP-MS