



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ ΚΑΙ ΠΡΟΝΟΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΪΑΤΡΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών
*«Προχωρημένη Αισθητική και Κοσμητολογία: Ανάπτυξη,
Ποιοτικός Έλεγχος και Ασφάλεια νέων καλλυντικών
προϊόντων»*

Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία
ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΕΧΝΙΚΗΣ ΜΙΚΡΟΕΚΧΥΛΙΣΗΣ ΣΕ ΣΤΕΡΕΗ ΦΑΣΗ (SPME) ΓΙΑ ΤΗΝ
ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΝΙΚΕΛΙΟΥ ΚΑΙ ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ ΜΕ ΥΓΡΗ
ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΥΨΗΛΗΣ ΑΠΟΔΟΣΗΣ (HPLC-DAD) ΣΕ ΚΑΛΛΥΝΤΙΚΑ
ΠΡΟΪΟΝΤΑ.

ΧΡΥΣΑΦΟΠΟΥΛΟΥ ΜΑΡΙΑΝΝΑ
AK212202

Παρουσιάστηκε για τη μερική εκπλήρωση των υποχρεώσεων για την απονομή του
Μεταπτυχιακού Τίτλου Σπουδών στο Τμήμα Βιοϊατρικών Επιστημών
του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής

Επιβλέπων: ΛΕΚΤΟΡΑΣ ΑΠΟΣΤΟΛΟΣ ΠΑΠΑΔΟΠΟΥΛΟΣ
ΑΘΗΝΑ, 2024



UNIVERSITY OF WEST ATTICA
SCHOOL OF HEALTH AND CARE SCIENCES
DEPARTMENT OF BIOMEDICAL SCIENCES

Master of Science in
*«Advanced Aesthetics and Cosmetic Science: Development,
Quality Control and Safety of new cosmetic products»*

Master Thesis

**DEVELOPMENT OF A SOLID PHASE MICROEXTRACTION (SPME) TECHNIQUE
FOR NICKEL ISOLATION AND QUALITY CONTROL BY HIGH PERFORMANCE
LIQUID CHROMATOGRAPHY (HPLC-DAD) IN COSMETIC PRODUCTS**

CHRYSAFOPOULOU MARIANNA

Registration Number: 212202

Presented for the partial fulfillment of the obligations for the award of the
Master's Degree in the Department of Biomedical Sciences

of the University of West Attica

Supervisor: Lecturer Apostolos Papadopoulos

Athens, 2024

Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών
«Προχωρημένη Αισθητική και Κοσμητολογία: Ανάπτυξη, Ποιοτικός
Έλεγχος και Ασφάλεια νέων καλλυντικών προϊόντων»

Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία

ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΕΧΝΙΚΗΣ ΜΙΚΡΟΕΚΧΥΛΙΣΗΣ ΣΕ ΣΤΕΡΕΗ ΦΑΣΗ (SPME) ΓΙΑ ΤΗΝ
ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΝΙΚΕΛΙΟΥ ΚΑΙ ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ ΜΕ ΥΓΡΗ
ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΥΨΗΛΗΣ ΑΠΟΔΟΣΗΣ (HPLC-DAD) ΣΕ ΚΑΛΛΥΝΤΙΚΑ
ΠΡΟΪΟΝΤΑ.

Η μεταπτυχιακή διπλωματική εργασία εξετάσθηκε επιτυχώς από την κάτωθι εξεταστική επιτροπή:

A/A	ΟΝΟΜΑ ΕΠΩΝΥΜΟ	ΒΑΘΜΙΑΔ/ ΙΔΙΟΤΗΤΑ	ΨΗΦΙΑΚΗ ΥΠΟΓΡΑΦΗ
1	ΒΑΡΒΑΡΕΣΟΥ ΑΘΑΝΑΣΙΑ	ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ/ ΦΑΡΜΑΚΟΠΟΙΟΣ	
2	ΠΑΠΑΓΕΩΡΓΙΟΥ ΣΠΥΡΙΔΩΝ	ΕΠΚ. ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΧΗΜΙΚΟΣ	
3	ΠΑΠΑΔΟΠΟΥΛΟΣ ΑΠΟΣΤΟΛΟΣ	ΛΕΚΤΟΡΑΣ ΧΗΜΙΚΟΣ	

ΔΗΛΩΣΗ ΣΥΓΓΡΑΦΕΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Η κάτωθι υπογεγραμμένη ΧΡΥΣΑΦΟΠΟΥΛΟΥ ΜΑΡΙΑΝΝΑ του ΣΤΑΥΡΟΥ, με αριθμό μητρώου 212202 φοιτήτρια του Προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών «Προχωρημένη Αισθητική και Κοσμητολογία: Ανάπτυξη, Ποιοτικός Έλεγχος και Ασφάλεια νέων καλλυντικών προϊόντων» του Τμήματος Βιοϊατρικών Επιστημών της Σχολής Επιστημών Υγείας και Πρόνοιας του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής, δηλώνω ότι:

«Είμαι συγγραφέας αυτής της μεταπτυχιακής εργασίας και ότι κάθε βοήθεια την οποία είχα για την προετοιμασία της, είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται στην εργασία. Επίσης, οι όποιες πηγές από τις οποίες έκανα χρήση δεδομένων, ιδεών ή λέξεων, είτε ακριβώς είτε παραφρασμένες, αναφέρονται στο σύνολό τους, με πλήρη αναφορά στους συγγραφείς, τον εκδοτικό οίκο ή το περιοδικό, συμπεριλαμβανομένων και των πηγών που ενδεχομένως χρησιμοποιήθηκαν από το διαδίκτυο. Επίσης, βεβαιώνω ότι αυτή η εργασία έχει συγγραφεί από μένα αποκλειστικά και αποτελεί προϊόν πνευματικής ιδιοκτησίας τόσο δικής μου, όσο και του Ιδρύματος.

Παράβαση της ανωτέρω ακαδημαϊκής μου ευθύνης αποτελεί ουσιώδη λόγο για την ανάκληση του πτυχίου μου».

Ψηφιακή Υπογραφή Επιβλέποντα,

Η Δηλούσα,



**Πνευματική ιδιοκτησία © 2024 Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής Όλα τα δικαιώματα
διατηρούνται**

Copyright © 2024 University of West Attica All rights reserved

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να εκφράσω την ειλικρινή μου ευγνωμοσύνη, όσον αφορά τον αξιότιμο καθηγητή κ. Παπαδόπουλο για την ανεκτίμητη στήριξη, εμπιστοσύνη και την καθοδήγηση που μου παρείχε καθ'όλη την διάρκεια εκπόνησης της πτυχιακής μου εργασίας, καθώς συνέβαλε στην ενθάρρυνση της ακαδημαϊκή μου ανάπτυξης αποτελώντας ακράδαντη πηγή έμπνευσης.

Δεν θα μπορούσα να παραβλέψω την πολύτιμη συνεισφορά του Τομέα Αισθητικής & Κοσμητολογίας το οποίο παρείχε την κατάλληλη υποστήριξη με τους αναγκαίους για την συγκεκριμένη έρευνα, πόρους καθώς επίσης το τμήμα Βιοϊατρικών Επιστημών, και το Ερευνητικό Εργαστήριο Χημείας, Βιοχημείας, Κοσμητολογίας (ChemBiochemCosm). Συνάμα, η εμπιστοσύνη και η αυτονομία που μου παρείχε στην χρήση του μηχανήματος HPLC-DAD αλλά και του εργαστηρίου, γεγονότα άρρηκτα συνδεδεμένα με την εκτέλεση του πειράματος. Στο σημείο αυτό, να ευχαριστήσω θερμά την κα. Τράπαλη για την πολύτιμη βοήθεια της στον τρόπο χειρισμού του οργάνου HPLC-DAD, η οποία μεταλαμπάδευσε τις γνώσεις και την εμπειρία της με μεθοδευμένο τρόπο, που συνέβαλε στην εξοικείωση μου με το μηχάνημα.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω όλους τους ενδιαφερόμενους συναδέλφους, φίλους και οικογένειά μου που με στήριξαν και μοιράστηκαν την πνευματική μου περιπέτεια κατά την εκπόνηση της διπλωματικής εργασίας μου.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΟ CV

ΧΡΥΣΑΦΟΠΟΥΛΟΥ ΜΑΡΙΑΝΝΑ

Μεταπτυχιακός Τίτλος Σπουδών «Προχωρημένη Αισθητική και Κοσμητολογία: Ανάπτυξη, Ποιοτικός Έλεγχος και Ασφάλεια νέων καλλυντικών προϊόντων»

Τίτλος:

ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΕΧΝΙΚΗΣ ΜΙΚΡΟΕΚΧΥΛΙΣΗΣ ΣΕ ΣΤΕΡΕΗ ΦΑΣΗ (SPME) ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΝΙΚΕΛΙΟΥ ΚΑΙ ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ ΜΕ ΥΓΡΗ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΥΨΗΛΗΣ ΑΠΟΔΟΣΗΣ (HPLC-UV-VIS) ΣΕ ΚΑΛΛΥΝΤΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ.

Επιστημονικό Πεδίο: Προχωρημένη Αισθητική και Κοσμητολογία

Βιογραφικά Στοιχεία: Χημικός

Προσωπικά Στοιχεία: Ελεύθερη

Εκπαίδευση: Πτυχίο Χημείας του Πανεπιστημίου ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ (2020)

Εκπλήρωσε τις απαιτήσεις για το Μεταπτυχιακό Τίτλο Σπουδών «Προχωρημένη Αισθητική και Κοσμητολογία: Ανάπτυξη, Ποιοτικός Έλεγχος και Ασφάλεια νέων καλλυντικών προϊόντων» στο Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής, Σχολή Επιστημών Υγείας και Πρόνοιας, Τμήμα Βιοϊατρικών Επιστημών, το Μάρτιο, 2024.

ΕΓΚΡΙΣΗ ΕΠΙΒΛΕΠΟΝΤΟΣ: ΠΑΠΑΔΟΠΟΥΛΟΣ ΑΠΟΣΤΟΛΟΣ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η παρούσα διατριβή παρουσιάζει την ανάπτυξη μιας νέας εναλλακτικής μεθόδου για τον προσδιορισμό του νικελίου σε καλλυντικά προϊόντα, με στόχο την αντιμετώπιση των ανησυχιών σχετικά με την ασφάλεια των καταναλωτών συγκεκριμένα για τα Βαρέα μέταλλα και την ποιότητα των προϊόντων. Χρησιμοποιώντας μικροεκχύλιση στερεάς φάσης (SPME) σε συνδυασμό με υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC) εξοπλισμένη με ανίχνευση DAD, η μελέτη αποσκοπεί στην καθιέρωση μιας αξιόπιστης και φιλικής προς το περιβάλλον προσέγγισης για την αξιολόγηση των συγκεντρώσεων νικελίου σε ίχνη στα καλλυντικά. Η πειραματική πορεία της, αναδεικνύει την αποτελεσματικότητα της τεχνικής SPME-HPLC-DAD προσφέροντας ταχεία ανάλυση, βελτιωμένη προετοιμασία του δείγματος και αυξημένη ευαισθησία. Αυτή η καινοτόμος μεθοδολογία παρέχει προοπτικές για την αναβάθμιση των προτύπων ελέγχου ποιότητας στον κλάδο των καλλυντικών, συμβάλλοντας στην ασφάλεια των προϊόντων και τη συμμόρφωση με τις κανονιστικές διατάξεις.

ABSTRACT

This thesis presents the development of a novel alternative method for the determination of nickel in cosmetic products, with the aim of addressing consumer safety concerns specifically for Heavy Metals and product quality. Using solid phase microextraction (SPME) coupled with high performance liquid chromatography (HPLC) equipped with DAD detection, the study aims to establish a reliable and environmentally friendly approach for the assessment of nickel concentrations in cosmetic products. The study aims to establish a reliable and environmentally friendly approach for the evaluation of nickel concentrations in The experimental work demonstrates the effectiveness of the SPME-HPLC-DAD technique, offering rapid analysis, improved sample preparation and increased sensitivity. This innovative methodology provides potential for upgrading quality control standards in the cosmetics industry, contributing to product safety and regulatory compliance.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ	vi
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΟ CV	vii
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	viii
ABSTRACT.....	ix
ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ	1
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ	3
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ.....	6
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ.....	6
ABBREVIATIONS	7
ΣΚΟΠΟΣ.....	10
ΕΙΣΑΓΩΓΗ	11
ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	13
ΕΝΟΤΗΤΑ 1.	14
1.1 Εισαγωγή των μεθόδων προκατεργασίας δειγμάτων.....	14
1.2. Τεχνικές προκατεργασίας δειγμάτων απουσία διαλυτών (solvent-free preparation techniques)	15
1.3 Gas phase extraction	15
1.5 Μέθοδος εκχύλισης με προσροφητικό υλικό (Sorbent Extraction Method).....	18
1.7 Μικροεκχύλιση Στερεής Φάσης (Solid Phase Microextraction)[SPME].....	19
1.8 Εφαρμογές της SPME.....	24
1.9 Κατηγορίες μικροεκχυστικών ινών SPME.....	27
1.10 Συνδυασμός ινών (fibers) με Αναλυτικά Όργανα.....	29
1.11 Βασικές Αρχές της SPME.....	30
1.12 Θεωρία της SPME	36
1.13 Αρχή Λειτουργίας της SPME	38
2.Βαρέα Μέταλλα	40
2.1 Τοξικότητα Βαρέων Μετάλλων	41
2.2 Βαρέα Μέταλλα στα Καλλυντικά	42
2.3 Απορρόφηση Βαρέων μετάλλων στο δέρμα	45
2.4 Ni: Nickel (Νικέλιο)	47

2.5. Έρευνες που έχουν διεξαχθεί για τον προσδιορισμό Βαρέων Μετάλλων στα καλλυντικά προϊόντα.....	49
2.5 SPME-HPLC ως εναλλακτική μέθοδος για τον προσδιορισμό Νικελίου (Ni) σε καλλυντικά προϊόντα.....	51
3. Υποκαταστάτες (ligands).....	52
3.1 Σύμπλοκα ένταξης (συναρμογής).....	53
3.1.2 Γεωμετρία των συμπλόκων.....	54
3.1.3 Ηλεκτρικό φορτίο και συμβολισμός των συμπλόκων.....	55
3.1.4 Κατηγορίες Υποκαταστατών	56
3.1.5 Ηλεκτρονιακές επιδράσεις των υποκαταστατών επί του κεντρικού ατόμου των συμπλόκων.	56
3.3 Διθειοκαρβαμιδικό πυρρολιδινικό αμμώνιο [APDC]	58
3.4 [Ni(PDC) ₂]	59
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	62
4 ΚΕΦΑΛΑΙΟ: ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	63
4.1.1 Αντιδραστήρια.....	63
4.1.2 Σκεύη εργαστηρίου	64
4.1.3 Όργανα.....	65
4.2 ΠΟΡΕΙΑ ΕΡΓΑΣΙΑΣ	65
4.2 ΜΕΘΟΔΟΙ.....	65
4.2.1 Παρασκευή πρότυπου-reference συμπλόκου Ni(PDC) ₂	65
4.2.2 Σχηματισμός συμπλόκου Ni(PDC) ₂ με μικροεκχύλιση SPME.....	69
4.2.3 Προσρόφηση ίνας SPME (sorption)	74
Οδηγίες Χρήσης της ίνας.....	75
Α)Ενεργοποίηση ίνας SPME.....	75
Προσρόφηση του συμπλόκου στην ίνα SPME (<i>adsorption</i>)	76
4.2.3 Εκρόφηση ίνας SPME (<i>desorption</i>).....	76
4.2.4 Παρασκευή Καλλυντικού Δείγματος.....	77
Μέθοδος Παρασκευής	78
4.2.5 Υγρή πέψη (με θερμότητα) του καλλυντικού δείγματος	80
5. Ανάλυση	83
5.1 Σημείο Τήξης του συμπλόκου αναφοράς.	83
5.2 Φασματοσκοπία Απορρόφησης Υπεριώδους Ορατού (UV-Vis).....	84
5.3 Φασματοσκοπία Υπερύθρου FT-IR.....	87

5.4 Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Απόδοσης (HPLC-DAD).....	93
5.4.1 Χρωματογραφικές Στήλες	94
5.4.2 Σχηματισμός πρότυπης καμπύλης.....	100
6. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΜΕΤΡΗΣΕΩΝ.....	101
7. ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΚΑΙ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	119
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	121

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1: Σχηματική ταξινόμηση των μεθόδων προετοιμασίας δειγμάτων απουσία διαλυτών.	15
Εικόνα 2: Χημικές δομές ορισμένων εμπορικών πολυμερών ως επικαλύψεις ινών SPME.....	29
Εικόνα 3: Σύστημα έγχυσης έξι (6) θυρών για την SPME-HPLC.....	30
Εικόνα 4: Διαμορφώσεις της SPME [51].....	32
Εικόνα 5: Αρχική συσκευή SPME που βασίζεται σε σύριγγα της σειράς Hamilton 7000[52]	33
Εικόνα 6: Απλή συσκευή SPME με την χρήση επικαλυμμένης ίνας.....	34
Εικόνα 7: Σχεδιασμός πρώτης εμπορικής συσκευής SPME της Supelco[52].....	34
Εικόνα 8: Τρόποι λειτουργίας SPME: (α) Άμεση εκχύλιση (direct extraction), (b) Headspace SPME, (c) SPME με προστασία μεμβράνης (membrane-protected SPME) [52].....	36
Εικόνα 9: Μικροεκχύλιση SPME. Vf: όγκος της επικαλυμμένης ίνας, Kfs: συντελεστής κατανομής ίνας/δείγματος, Vs: όγκος δείγματος, Co: Αρχική συγκέντρωση αναλύτη στο δείγμα.[52].....	38
Εικόνα 10: Πορεία διαδικασίας SPME (παράδειγμα Direct Immersion (DI)).....	39
Εικόνα 11: Χαρακτηριστικά μιας SPME ίνας (SPME fiber, PDMS-100)	40
Εικόνα 12: Ταξινόμηση τοξικότητας μετάλλων.	42
Εικόνα 13: Διάφορες ανεπιθύμητες ενέργειες που ασκούνται από την έκθεση σε Βαρέα Μέταλλα από καλλυντικά[88]	44
Εικόνα 14: Ο κανονισμός αριθ. 1223/2009 του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου σχετικά με την παρουσία μετάλλων και των μετάλλων και των ενώσεών τους στα καλλυντικά [80](Ag, silver; Al, aluminium; As, arsenic; Au, gold; Cd, cadmium; Co, cobalt; Cr, Chromium; Cu, copper; Hg, mercury; Ni, Nickel; Sb, antimony; Se, selenium; Pb, lead; Tl, thallium; Zr, Zirconium).	46

Εικόνα 15: Σχηματική αναπαράσταση της συσσώρευσης μετάλλων στο δέρμα και την απορρόφηση τους από το δέρμα. Al:αλουμίνιο, As:αρσενικό, Cd: Κάδμιο, Cr:χρώμιο, Hg:υδράργυρος, Ni:Νικέλιο, Pb:μόλυβδος.[84]	47
Εικόνα 16: Οκταεδρικό σύμπλοκο, οι συμμετέχοντες υποκατατάτες και το κεντρικό άτομο	54
Εικόνα 17: Συνήθεις γεωμετρικές διατάξεις των συμπλόκων.	55
Εικόνα 18: Μονοδοντικός υποκαταστάτης (αμμωνία), διδοντικός υποκαταστάτης (en), εξαδοντικός υποκαταστάτης (EDTA)	56
Εικόνα 19: Χημική ένωση APDC.....	59
Εικόνα 20: (αριστερά)Σχηματική αναπαράσταση reflux διάταξης (δεξιά) Διάταξη reflux στο εργαστήριο.	66
Εικόνα 21: (αριστερά) Σχηματική απεικόνιση διάταξης διήθησης υπό κενό, (δεξιά) εργαστηριακή διάταξη διήθησης υπό κενό.....	67
Εικόνα 22: Σύμπλοκο Ni(PDC) ₂ με MeOH.....	68
Εικόνα 23: Τελική μορφή διαλυτοποίησης συμπλόκου Ni(PDC) ₂ με προσθήκη DMSO	69
Εικόνα 24: SPME LC probe 45μm C18-Silica , Metal Alloy 22Ga, 5pk (red)	75
Εικόνα 25: Φιαλίδια και ίνα SPME στο εργαστήριο.....	76
Εικόνα 26 Συσκευή Σημείου Τήξης Εργαστηρίου.....	83
Εικόνα 27: Φασματοφωτόμετρο UV-VIS JASCO V-630.....	84
Εικόνα 28: Φάσμα UV Ni(NO ₃) ₂ · 6H ₂ O (1000ppm) σε H ₂ O.....	85
Εικόνα 29: Φάσμα UV APDC (1% w/v) σε ACN	85
Εικόνα 30: Φάσμα UV πρότυπου συμπλόκου Ni(PDC) ₂ (10 ppm) σε ACN	86
Εικόνα 31: Φάσμα UV συμπλόκου Ni(PDC) ₂ με χρήση ίνας SPME σε ACN.....	86
Εικόνα 32: Φασματοφωτόμετρο FTIR-8300.....	88
Εικόνα 33: (αριστερά) ιγδίο από αχάτη όπου λειοτριβούνται τα υλικά, (δεξιά) ειδική συσκευή συμπίεσης (μήτρα)	89
Εικόνα 34: Ειδική υποδοχή πιεσμένου δισκίου (holder).....	90
Εικόνα 35: Πρέσα	90
Εικόνα 36: Φάσματα FTIR APDC (ροζ-πάνω) και Ni(PDC) ₂ (μαύρο-κάτω)	91
Εικόνα 37: Διάταξη Χρωματογράφου HPLC ULTIMATE 3000.....	93
Εικόνα 38: Χρωματογράφημα με στήλη Phenomenex Luna 5μm NH ₂ 100 Å, 250x4,6mm (ασταθές baseline).....	95

Εικόνα 39: Χρωματογράφημα [ACN/H ₂ O/ CH ₃ COONH ₄ / APDC]	96
Εικόνα 40: Χρωματογράφημα υποκαταστάτη APDC	97
Εικόνα 41: Χρωματογράφημα συμπλόκου αναφοράς Ni(PDC) ₂	97
Εικόνα 42: Φάσμα απορρόφησης UV του συμπλόκου αναφοράς Ni(PDC) ₂ από τον DAD.....	98
Εικόνα 43: Φάσμα απορρόφησης UV μεγεθυμένο στην περιοχή απορρόφησης του συμπλόκου Ni(PDC) ₂	98
Εικόνα 44: Χρωματογράφημα συμπλόκου Ni(PDC) ₂ με την μέθοδο SPME	99
Εικόνα 45: Φάσμα απορρόφησης UV του συμπλόκου Ni(PDC) ₂	99
Εικόνα 46: Μεγεθυμένο φάσμα απορρόφησης περιοχής του συμπλόκου Ni(PDC) ₂	100
Εικόνα 47: Χρωματογράφημα Ni(PDC) ₂ ,C= 3ppm.....	102
Εικόνα 48: Φάσμα Απορρόφησης Ni(PDC) ₂ , C = 3 ppm.....	103
Εικόνα 49: Χρωματογράφημα συμπλόκου Ni(PDC) ₂ , C= 10 ppm	103
Εικόνα 50: Φάσμα απορρόφησης του συμπλόκου Ni(PDC) ₂ , C = 10 ppm.....	104
Εικόνα 51: Χρωματογράφημα συμπλόκου Ni(PDC) ₂ , C = 20 ppm	104
Εικόνα 52: Φάσμα Απορρόφησης Ni(PDC) ₂ C = 20 ppm	105
Εικόνα 53: Μεγεθυμένη περιοχή απορρόφησης του συμπλόκου Ni(PDC) ₂	105
Εικόνα 54: Χρωματογράφημα συμπλόκου Ni(PDC) ₂ ,C = 40ppm.....	106
Εικόνα 55: Φάσμα απορρόφησης συμπλόκου Ni(PDC) ₂ C= 40 ppm	106
Εικόνα 56: Μεγεθυμένη περιοχή απορρόφησης του συμπλόκου Ni(PDC) ₂	107
Εικόνα 57: Υπολογισμός αποτελεσματικότητας της στήλης	110
Εικόνα 58: Χρωματογραφική απεικόνιση της παραμέτρου της ασυμμετρίας των κορυφών.....	110
Εικόνα 59: Χρωματογραφική απεικόνιση του παράγοντα tailing	110
Εικόνα 60: Καμπύλη παλινδρόμησης	111
Εικόνα 61: Χρωματογράφημα του Ni(PDC) ₂ στο καλλυντικό δείγμα μετά από SPME.....	114
Εικόνα 62: Φάσμα Απορρόφησης UV του Ni(PDC) ₂ στο καλλυντικό δείγμα	114
Εικόνα 63: Φάσμα απορρόφησης του συμπλόκου Ni(PDC) ₂ στο καλλυντικό δείγμα	115
Εικόνα 64: Χρωματογράφημα blank (καλλυντικό δείγματος απουσία Ni ²⁺).....	116
Εικόνα 65: Φάσμα απορρόφησης UV blank του καλλυντικού δείγματος απουσία Ni ²⁺	117
Εικόνα 66: Χρωματογράφημα καλλυντικού δείγματος blank με αυξημένη ευαισθησία.....	117

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1: Πρωτόκολλα που χρησιμοποιούνται στις διάφορες τεχνικές προετοιμασίας δειγμάτων: εκχύλιση υγρού-υγρού (LLE), εκχύλιση στερεάς φάσης (SPE) και μικροεκχύλιση στερεάς φάσης (SPME).....	23
Πίνακας 2 Εμπορικές διαθέσιμες ίνες για SPME και η πιο συχνά προτεινόμενη εφαρμογή τους.	29
Πίνακας 3: Πρώτες ύλες πειραματικού σταδίου.....	63
Πίνακας 4: Σύνθεση συμπλόκου Ni(PDC) ₂ με διαφορετικές συγκεντρώσεις Ni ²⁺ και αναλογίες.	72
Πίνακας 5: Σύνθεση καλλυντικού δείγματος % w/w.....	77
Πίνακας 6: Σύνοψη απορροφήσεων του APDC και Ni(PDC) ₂	87
Πίνακας 7. : Δονήσεις τάσης χαρακτηριστικών ομάδων των APDC και Ni(PDC) ₂	92
Πίνακας 8: Συνθήκες Χρωματογραφημάτων	93
Πίνακας 9: Αποτελέσματα χρωματογραφημάτων για 3ppm,10ppm,20ppm,40ppm Ni(PDC) ₂ . 102	
Πίνακας 11: Αποτελέσματα μετρήσεων από το υπολογιστικό φύλλο του excel.....	111
Πίνακας 12: Επιμέρους μετρήσεις του Ni(PDC) ₂ στο καλλυντικό δείγμα και ρόφηση/εκρόφηση στην ίνα SPME	113

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

Σχήμα 1: Υποκαταστάτες με τα ελεύθερα ζεύγη ηλεκτρονίων (α) Αμμωνία, (β) Νερό, (γ) Μονοξειδίο του άνθρακα, (δ) ιόν χλωρίου	52
Σχήμα 2: Σχηματισμός Συμπλόκων κατά Lewis.....	53

Σχήμα 3: Σχηματισμός ομοιοπολικού δεσμού.....	53
Σχήμα 4 Αναπαράσταση μοριακών τροχιακών HOMO και LUMO	57
Σχήμα 5: Μεταπήδηση ενός ηλεκτρονίου από το τροχιακό HOMO στο LUMO.	58
Σχήμα 6: Επίπεδη τετραγωνική η συμμετρία του συμπλόκου Ni(PDC) ₂	60
Σχήμα 7: Ενεργειακό διάγραμμα HOMO-LUMO του PDC και του Ni(PDC) ₂	61

ABBREVIATIONS

SPME	Solid-Phase Microextraction Method
HPLC	High-Performance Liquid Chromatography
Uv-Vis	Ultraviolet-Visible spectroscopy
GC-MS	Gas Chromatography-Mass Spectrometry
LC-MS	Liquid chromatography -Mass Spectroscopy
SPE	Solid -Phase Extraction
SFE	Supercritical-Fluid Extraction
LLE	Liquid-Liquid Extraction
ICP-OES	Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectrometer
FAAS	Flame Atomic Absorption Spectroscopy
PDMS	Polydimethylsiloxane
DI-SPME	Direct-Immersion Solid- Phase Microextraction
HS-SPME	Headspace Solid -Phase Microextraction
VOCs	Volatile Organic Compound

sc-CO₂	Supercritical Carbon Dioxide
INCI	International Nomenclature of Cosmetic Ingredients
PA	Polyamide
DVB	DivinylBenzane
CAR	Carboxen
PEG	Polyethanol Glycol
MW	Molecular Weight
FDA	Food&Drug Administration
CIR	Cosmetic Ingredient Review
EE	European Union
Σ.Τ	Σημείο Τήξης
M.O	Μέσος Όρος
λ	Μήκος κύματος
%w/w	Weight-percent Concentration
%w/v	Weight per Volume concentration
pH	potential Hydrogen
APDC	Ammonium Pyrrolidinedithiocarbamate
DTC	Dithiocarbamate
Ni(PDC)₂	nickel bis(pyrrolidinodithiocarbamate)
HOMO	Highest Occupied Molecular Orbital
LUMO	Lowest Unoccupied Molecular Orbital
FTIR	Fourier-Transformed Infrared Spectroscopy
RT	Room Temperature
IR	Infrared Spectroscopy
DAD	Diode Array Detector
DMSO	Dimethyl Sulfoxide

DMF	N,N Dimethylmethanamide
ppm	Parts per million
L	Ligand
LOD	Limit of Detection
LOQ	Limit of Quantitation
RP-18	Reversed-Phase column
IARC	International Agency for Research on Cancer
DLLME	Dispersive Liquid-Liquid Microextraction
MPQ	N-Methyl-Alpha-Phenyl- Glycine
MMD	Methoxymethyldiphenylamine

ΣΚΟΠΟΣ

Ο σκοπός αυτής της εργασίας είναι η ανάπτυξη μιας νέας μεθόδου προσδιορισμού του νικελίου σε καλλυντικά προϊόντα. Η μέθοδος συνίσταται στην προκατεργασία του δείγματος με χρήση μικροεκχύλιση σε στέρεη φάση και στην συνέχεια ποσοτικός προσδιορισμός του νικελίου με υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης. Το σκεπτικό της ανάπτυξη της νέας μεθόδου είναι να διερευνηθεί τρόπος διεργασίας ακίνδυνης, οικονομικής και φιλικής προς το περιβάλλον, σε μικροποσότητες νικελίου περιεχόμενου σε καλλυντικοτεχνική μορφή. Η διεργασία της μικροεκχύλισης παρέχει αυτή την δυνατότητα όπως αποδεικνύεται και στο πειραματικό μέρος αυτής της εργασίας. Επίσης ο ποσοτικός προσδιορισμός του αναλύτη με υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης, μπορεί να είναι εναλλακτική αναλυτική μέθοδος προς την αναλυτική τεχνική της ατομική φασματοσκοπίας με την οποία παραδοσιακά προσδιορίζονται όλα τα Βαρέα και Ελαφριά μέταλλα.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η αυξανόμενη ζήτηση για καλλυντικά προϊόντα τα τελευταία χρόνια έχει οδηγήσει στην ανάγκη για αυστηρά μέτρα ποιοτικού ελέγχου ώστε να διασφαλιστεί η ασφάλεια των καταναλωτών και η αποτελεσματικότητα των προϊόντων. Μεταξύ των διαφόρων παραγόντων που επηρεάζουν την ποιότητα των καλλυντικών, η παρουσία βαρέων μετάλλων, όπως το νικέλιο, έχει προσελκύσει ιδιαίτερη προσοχή λόγω των πιθανών κινδύνων για την υγεία μετά από παρατεταμένη έκθεση. Το νικέλιο, ένα κοινό αλλεργιογόνο, μπορεί να προκαλέσει αλλεργικές αντιδράσεις και δερματίτιδα, καθιστώντας τον ακριβή ποσοτικό προσδιορισμό του επιβεβλημένο στα καλλυντικά σκευάσματα. Η παρούσα διατριβή επικεντρώνεται στην ανάπτυξη μιας καινοτόμας αναλυτικής τεχνικής στον χώρο των καλλυντικών, που χρησιμοποιεί μικροεκχύλιση στερεάς φάσης (SPME) σε συνδυασμό με υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC) εξοπλισμένη με ανίχνευση DAD, για την απομόνωση και τον ποσοτικό προσδιορισμό του νικελίου σε καλλυντικά προϊόντα.

Η εφαρμογή της SPME προσφέρει πολλά πλεονεκτήματα στην ανάλυση πολύπλοκων μητρών όπως τα καλλυντικά. Εξαλείφοντας την ανάγκη για εκτεταμένα στάδια προετοιμασίας του δείγματος και ελαχιστοποιώντας τη χρήση διαλυτών, η SPME επιτρέπει την ταχεία και αποτελεσματική εκχύλιση των αναλυτών, μειώνοντας παράλληλα τις περιβαλλοντικές επιπτώσεις. Η σύζευξη της SPME με HPLC-DAD ενισχύει περαιτέρω την ευαισθησία και την εκλεκτικότητα της ανάλυσης, επιτρέποντας τον ακριβή ποσοτικό προσδιορισμό των επιπέδων νικελίου σε ίχνη στα καλλυντικά σκευάσματα. Αυτός ο συνδυασμός τεχνικών παρουσιάζει μια πολλά υποσχόμενη προσέγγιση για τον συνήθη έλεγχο ποιότητας και τη συμμόρφωση με τις κανονιστικές διατάξεις στη βιομηχανία καλλυντικών.

Η ανάπτυξη της μεθόδου SPME-HPLC-DAD περιλαμβάνει διάφορα βασικά βήματα, συμπεριλαμβανομένης της βελτιστοποίησης των παραμέτρων εκχύλισης, της επικύρωσης της αναλυτικής απόδοσης και της εφαρμογής σε πραγματικά δείγματα καλλυντικών. Μέσω της βελτιστοποίησης των παραμέτρων SPME, όπως η επίστρωση των ινών, ο χρόνος εκχύλισης και

οι συνθήκες προσρόφησης-εκρόφησης, η μέθοδος αποσκοπεί στην επίτευξη της μέγιστης απόδοσης εκχύλισης και ευαισθησίας για τον ποσοτικό προσδιορισμό του νικελίου. Μελέτες επικύρωσης που περιλαμβάνουν παραμέτρους όπως η γραμμικότητα, η ακρίβεια, και η πιστότητα διασφαλίζουν την αξιοπιστία και την αναπαραγωγιμότητα της αναπτυχθείσας μεθόδου, θέτοντας τις βάσεις για τη συνήθη εφαρμογή της σε εργαστήρια ποιοτικού ελέγχου.

Συνοψίζοντας, η παρούσα διατριβή προσπαθεί να προτείνει μια εναλλακτική για αξιόπιστες και αποτελεσματικές αναλυτικές μεθόδους για τον προσδιορισμό βαρέων μετάλλων, ιδίως νικελίου, σε καλλυντικά προϊόντα. Αξιοποιώντας τις συνεργιστικές δυνατότητες των SPME και HPLC-DAD, η παρούσα μελέτη στοχεύει να συμβάλει στην πρόοδο των αναλυτικών τεχνικών στη βιομηχανία καλλυντικών, προωθώντας την εμπιστοσύνη και την ασφάλεια των καταναλωτών στα καλλυντικά σκευάσματα.

ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΕΝΟΤΗΤΑ 1.

1.1 Εισαγωγή των μεθόδων προκατεργασίας δειγμάτων.

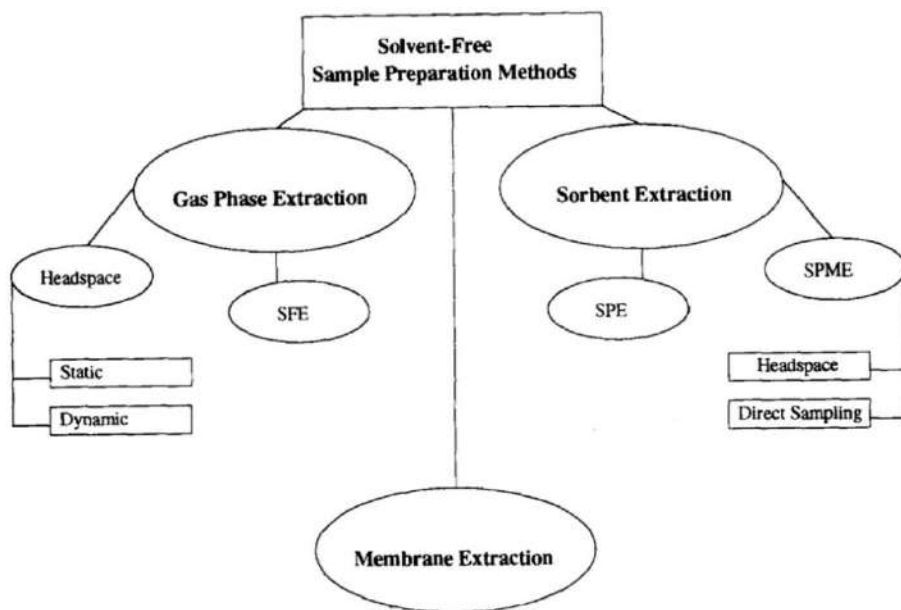
Τις τελευταίες δεκαετίες έχουν σημειωθεί σημαντικές πρόοδοι στον κλάδο της ανάλυσης οργανικών συστατικών, λόγω εξέλιξης της ενόργανης ανάλυσης. Ωστόσο, υπάρχει μια καθυστέρηση στην ανάπτυξη νέων μεθόδων προκατεργασίας δειγμάτων (sampling preparation). Νέες τεχνικές προκατεργασίας δειγμάτων ήταν αναγκαίες να αναπτυχθούν με γνώμονα την ταχύτητα της διεργασίας, την ποσοτικοποίηση της μεθόδου και την προστασία του περιβάλλοντος από χημικά απόβλητα.

Σύγχρονα-συνδυαστικά αναλυτικά όργανα όπως ο αέριος χρωματογράφος-φασματοόμετρο μάζας (GC-MS: Gas Chromatography-Mass Spectrometry) έχουν την δυνατότητα διαχωρισμού και ποσοτικοποίησης πολύπλοκων αναλυτών και αυτόματα την στατιστική ερμηνεία των αποτελεσμάτων. Παρ'όλες τις αναβαθμίσεις στις τεχνικές διαχωρισμού-ποσοτικού προσδιορισμού, πολλές από τις δειγματοληψίες συνεχίζουν να προκατεργάζονται με κλασσικές τεχνικές, όπως η εκχύλιση με Soxhlet.[1] Ωστόσο, γνωρίζουμε πως οι κλασσικές μέθοδοι εκχύλισης απαιτούν πολλές φορές αρκετά στάδια με αποτέλεσμα να έχουμε μεγαλύτερες απώλειες αναλυτών. Επίσης οι προκατεργασίες μπορεί να είναι χρονοβόρες, χρησιμοποιώντας πολλές φορές εύφλεκτους οργανικούς διαλύτες, τοξικοί ακόμη και καρκινογόνοι για τον άνθρωπο και το περιβάλλον. Συνεπώς, η απομάκρυνσή τους αποτελεί πρόβλημα. Αυτό το πρόβλημα έχει εν μέρει επιλυθεί με την ανακύκλωση και επαναχρησιμοποίηση αυτών των διαλυτών. Εντούτοις, η διεργασία της ανακύκλωσης συνεχίζει να προκαλεί ρύπανση του περιβάλλοντος, του κινδύνου ανάφλεξης του διαλύτη και να αυξάνει το κόστος της διεργασίας.[2]

Κατά συνέπεια, τα μειονεκτήματα των κλασσικών μεθόδων εκχύλισης και ειδικότερα η υπερβολική ποσότητα των οργανικών διαλυτών, ώθησαν στην ανάπτυξη νέων εκχυλιστικών μεθόδων, των οποίων κύρια χαρακτηριστικά θα αποτελούσαν αφενός η ταχύτητα της διαδικασίας και αφετέρου, η μείωση του όγκου των χρησιμοποιούμενων διαλυτών.[3]

1.2. Τεχνικές προκατεργασίας δειγμάτων απουσία διαλυτών (solvent-free preparation techniques)

Η αρχή λειτουργίας οποιασδήποτε μεθόδου είναι η κατανομή των αναλυτών μεταξύ της μήτρας του δείγματος και της φάσης εκχύλισης. Τεχνικές προκατεργασίας δειγμάτων που απαιτούν λίγο ή καθόλου οργανικό διαλύτη, εφαρμόζονται εδώ και αρκετό καιρό. Οι τεχνικές αυτές ταξινομούνται σύμφωνα και με το σχήμα 1, σε τρεις κατηγορίες ανάλογα με το μέσο εκχύλισης: **gas-phase extractions, membrane extractions, sorbent extractions.**



Εικόνα 1. Σχηματική ταξινόμηση των μεθόδων προετοιμασίας δειγμάτων απουσία διαλυτών.

1.3 Gas phase extraction

Οι μέθοδοι εκχύλισης αέριας φάσης διαδραματίζουν καθοριστικό ρόλο στην ανάλυση πτητικών ενώσεων, παρέχοντας διάφορες τεχνικές προσαρμοσμένες σε διαφορετικές αναλυτικές ανάγκες. Μεταξύ αυτών των μεθόδων είναι η στατική δειγματοληψία headspace, η δυναμική εκχύλιση headspace και η εκχύλιση με υπερκρίσιμο ρευστό (SFE), η καθεμία με τα μοναδικά χαρακτηριστικά και πλεονεκτήματά της.

Η στατική δειγματοληψία headspace και η δυναμική εκχύλιση headspace περιλαμβάνουν την κατανομή των αναλυτών στην αέρια φάση πάνω από το δείγμα. Η μέθοδος αυτή είναι ιδιαίτερα χρήσιμη για την ανάλυση πτητικών ενώσεων λόγω της απλότητας και της συμβατότητάς της με τα περισσότερα αναλυτικά όργανα, όπως οι αέριοι χρωματογράφοι. Μια ερευνητική εργασία του Pawliszyn et al. "Trends in Analytical Chemistry" (1995)" αναφέρεται στην στατική δειγματοληψία headspace που είναι ευρέως χρησιμοποιούμενη τεχνική προκατεργασίας δειγμάτων χωρίς διαλύτες, κατάλληλη για επιτόπια ανάλυση και για την ανάλυση πτητικών οργανικών ενώσεων (VOCs) σε διάφορες μήτρες.[4]

Ωστόσο, οι στατικές τεχνικές headspace δεν έχουν χαμηλή ευαισθησία και δεν μπορούν να επιτύχουν ποσοτική εκχύλιση, εκτός από τα πολύ πτητικά αέρια, όπως αναφέρεται σε ερευνητική εργασία από τους Prosen και Zupančič-Kralj σχετικά με την μικροεκχύλιση στερεάς φάσης.[5] Από την άλλη πλευρά, η δυναμική εκχύλιση headspace, όπως αναφέρεται από τους Snow et al.(2000), χαρακτηρίζεται από ποσοτική απομόνωση των πτητικών οργανικών ενώσεων μέσω πολλαπλών διεργασιών, καθιστώντας την κατάλληλη για ένα ευρύτερο φάσμα εφαρμογών.[6]

Η εκχύλιση με υπερκρίσιμα ρευστά (SFE), όπως αναφέρεται σε ερευνητική εργασία από τους Ibanez et al. (1999), έχει αναδειχθεί ως μια πράσινη εναλλακτική διεργασία εκχύλισης.[7] Στην SFE εφαρμόζονται ήπιες συνθήκες κατά την εκχύλιση με υπερκρίσιμο διοξείδιο του άνθρακα (sc- CO₂), όπως χαμηλή θερμοκρασία και πίεση, καθιστώντας την κατάλληλη για την εκχύλιση θερμοευαίσθητων συστατικών. Η χρήση του sc-CO₂ ως ρευστό εκχύλισης μειώνει σημαντικά τη χρήση οργανικών διαλυτών, ταξινομώντας αυτήν την διεργασία εκχύλισης στις τεχνικές φιλικές προς το περιβάλλον. Παρόλα αυτά, οι επιδράσεις της μήτρας μπορεί να παρεμποδίσουν την ποσοτική εκχύλιση όλων των συστατικών-στόχων, όπως επεσήμανε ο Burford το 1999.[8]

Επίσης, υπάρχει ενδιαφέρον για τη διερεύνηση εναλλακτικών ρευστών καθώς και για την προσθήκη οργανικών διαλυτών (cosolvents) στο sc-CO₂, έτσι ώστε να καθίσταται δυνατή η εκχύλιση και πολικών ενώσεων. Οι Chester et al. (1996) ανέφεραν μια μέθοδο για τη μείωση των προσμίξεων σε καθαρό CO₂, γεγονός που αντανάκλα τις συνεχιζόμενες προσπάθειες βελτίωσης των τεχνικών SFE για ποικίλες αναλυτικές ανάγκες.[9]

Συμπερασματικά, οι μέθοδοι εκχύλισης σε αέρια φάση προσφέρουν ευέλικτες προσεγγίσεις για την ανάλυση πτητικών ενώσεων, με κάθε τεχνική να παρουσιάζει τα πλεονεκτήματα και τις προκλήσεις της. Από την εύκολη διεργασία της στατικής δειγματοληψίας headspace έως τις ποσοτικές δυνατότητες της δυναμικής εκχύλισης headspace και τη φιλική προς το περιβάλλον φύση της SFE, οι μέθοδοι αυτές συνεχίζουν να εξελίσσονται ώστε να ανταποκρίνονται στις απαιτήσεις της σύγχρονης αναλυτικής χημείας.

1.4 Εκχύλιση Μεμβράνης

Η μέθοδος εκχύλισης με μεμβράνη, είναι μια τεχνική που περιλαμβάνει τη χρήση πολυμερούς μεμβράνης για την εκχύλιση αναλυτών από δείγματα και προσφέρει αρκετά πλεονεκτήματα για την προκατεργασία των δειγμάτων. Όπως περιγράφεται από τους Prosen και Zupančič-Kralj [10], η μέθοδος αυτή χαρακτηρίζεται από υψηλούς συντελεστές κατανομής και αποτελεσματικό καθαρισμό. Η διαδικασία περιλαμβάνει δύο ταυτόχρονες διεργασίες, την εκχύλιση των αναλυτών από τη μήτρα του δείγματος από το υλικό της μεμβράνης και την εκχύλιση των αναλυτών από τη μεμβράνη από μια φάση απομόνωσης όπως αναλύεται από τον Jönsson, J. Å. [11]

Ένα σημαντικό πλεονέκτημα της εκχύλισης με μεμβράνη είναι η ικανότητά της κατά την διαδικασία προκατεργασίας του δείγματος, να επιτρέπει με εκλεκτικότητα την διάχυση των αναλυτών μέσω της μεμβράνης. Αυτή η εκλεκτική εκχύλιση όχι μόνο προστατεύει τη στήλη διαχωρισμού από ενώσεις υψηλής μοριακής μάζας, παρόμοια με τη μέθοδο headspace, αλλά προσφέρει επίσης το πλεονέκτημα της συγκέντρωσης του προσροφητικού υλικού, όπως αναφέρουν.[12] [13]

Η εκχύλιση με μεμβράνη περιορίζεται συνήθως στην ανάλυση πτητικών ενώσεων. Ωστόσο, έχει εφαρμοστεί με επιτυχία στην ανάλυση ημιπτητικών ενώσεων με τη χρήση αερίου εκχύλισης υψηλής πίεσης, όπως αναφέρουν οι Yang και Pawliszyn στη μελέτη τους. Παρά τα πλεονεκτήματά της, η εκχύλιση με μεμβράνη παρουσιάζει επίσης, μειονεκτήματα όπως η αργή απόκριση της μεμβράνης στις μεταβολές της συγκέντρωσης. Αυτός ο περιορισμός εμποδίζει την

εφαρμογή της εκχύλισης με μεμβράνες σε διαδοχικές αναλύσεις δειγμάτων, όπως διερευνήθηκε.[13]

Με εξαίρεση των προκλήσεων, η εκχύλιση με μεμβράνες υπόσχεται να αποτελέσει μια σημαντική τεχνική προκατεργασίας δειγμάτων στο μέλλον. Αν και η χρήση της μπορεί να μην είναι τόσο διαδεδομένη, ο αυξανόμενος αριθμός εφαρμογών και η συνεχής ανάπτυξη της τεχνικής υποδηλώνουν ότι η εκχύλιση με μεμβράνες θα διαδραματίσει σημαντικό ρόλο στην αναλυτική χημεία τα επόμενα χρόνια.

1.5 Μέθοδος εκχύλισης με προσροφητικό υλικό (Sorbent Extraction Method)

Οι εκχυλίσεις με προσροφητικό υλικό είναι η **εκχύλιση στερεάς φάσης (SPE)** και η **μικροεκχύλιση στερεάς φάσης (SPME)**.

1.6 Εκχύλιση Στερεάς Φάσης (Solid Phase Extraction Method) [SPE]

Η ιδέα της χρήσης ενός προσροφητικού υλικού για την εκχύλιση οργανικών ενώσεων σε ίχνη από ένα υδατικό δείγμα αναπτύχθηκε τη δεκαετία του 1980 , και η εφαρμογή της έχει διερευνηθεί εκτενώς.[14] Τα προσροφητικά υλικά χρησιμοποιούνται σήμερα για την εκχύλιση οργανικών ενώσεων από διάφορες μήτρες, συμπεριλαμβανομένου του νερού, του αέρα, ακόμη και του εδάφους. Ένα προσροφητικό υλικό με ισχυρή συγγένεια προς τις οργανικές ενώσεις θα προσροφήσει τις ενώσεις αυτές από ένα πολύ αραιό υδατικό ή αέριο δείγμα. Πολλά προσροφητικά υλικά έχουν εξειδίκευση στην εκχύλιση διαφορετικών ομάδων οργανικών ενώσεων με διάφορους βαθμούς εκλεκτικότητας.[15]

Μια ευρέως χρησιμοποιούμενη τεχνική προσροφητικού υλικού είναι η εκχύλιση στερεάς φάσης (SPE). Το πρώτο βήμα της SPE είναι η μεταφορά μιας υγρής μήτρας μέσω ενός πλαστικού φυσιγγίου (σωλήνα) ή μιας επίπεδης μεμβράνης (δίσκου) που περιέχει προσροφητικό υλικό διασκορπισμένο σε σωματιδιακό φορέα για την εκχύλιση των αναλυτών με ενώσεις που

συνυπάρχουν και μπορεί να παρεμποδίσουν την ανάλυση.[16] Συνήθως, χρησιμοποιείται πρώτα ένας διαλύτης για την απομάκρυνση των παρεμβολών και στη συνέχεια επιλέγεται ένας δεύτερος διαλύτης για την έκπλυση των αναλυτών-στόχων. Η SPE έχει ορισμένα πλεονεκτήματα σε σύγκριση με την κλασική εκχύλιση με διαλύτη. Η SPE είναι απλή, φθηνή και απαιτείται σχετικά μικρή ποσότητα διαλύτη. Το κύριο πλεονέκτημα της SPE είναι η χαμηλή κατανάλωση διαλυτών υψηλής καθαρότητας, ελατώνοντας αφενός το κόστος της ανάλυσης και αφετέρου την ανάγκη απόρριψης διαλυτών σε σύγκριση με τις προαναφερθείσες μεθόδους.[17] Ωστόσο, η αλληλεπίδραση μεταξύ της μήτρας του δείγματος και των αναλυτών οδηγεί συχνά σε χαμηλή ανάκτηση και τα στερεά και ελαιώδη συστατικά της μήτρας του δείγματος μπορεί να φράξουν τα φασίγια SPE ή να φράξουν τους πόρους του προσροφητικού υλικού προκαλώντας την υπερφόρτωσή του. Τα προσροφητικά υλικά επιβαρύνονται από υψηλές συγκεντρώσεις μεταφοράς ουσιών και η διακύμανση αυτών των υλικών από ανάλυση σε ανάλυση οδηγεί σε κακή αναπαραγωγιμότητα. Η τεχνική SPE περιορίζεται σε ημιπτητικές ενώσεις με θερμοκρασίες βρασμού σημαντικά υψηλότερες από τη θερμοκρασία του διαλύτη εκρόφησης.

Ο περιορισμός της SPE μπορεί να παρακαμφθεί με τη διασπορά μιας ελάχιστης ποσότητας προσροφητικού υλικού (εκχυλιστική φάση) σε μια λεπτή ράβδο από τηγμένο διοξείδιο του πυριτίου ή άλλο κατάλληλο υλικό. Προγενέστερες χρήσεις μικρών ποσοτήτων της υγρής φάσης σε τεχνικές μικροεκχύλισης είχαν βελτιωμένη απόδοση σε σχέση με χρήση μεγαλύτερων όγκων εκχυλιστικού μέσου. Παρόλο που δεν επιτυγχάνεται ποσοτική εκχύλιση των αναλυτών-στόχων από τη μήτρα του δείγματος, η εκλεκτικότητα της τεχνικής επιτρέπει την άμεση ανάλυση των εκχυλισμένων μειγμάτων υψηλής ευαισθησίας. [18][19] Η δυσκολία χειρισμού μικρών όγκων διαλυτών αποτελεί σημαντικό περιορισμό αυτής της τεχνικής. Η χρήση προσροφητικού υλικού σταθερά συνδεδεμένου στην ίνα, παρακάμπτει αυτόν τον περιορισμό και επιτρέπει την επαναχρησιμοποίηση της ίδιας εκχυλιστικής φάσης. Αυτή η ονομάζεται **μικροεκχύλιση στερεάς φάσης (SPME)**. [20][21]

1.7 Μικροεκχύλιση Στερεάς Φάσης (Solid Phase Microextraction)[SPME]

Η SPME αναπτύχθηκε από την ανάγκη για ταχεία δειγματοληψία και την ταχεία διαδικασία προκατεργασίας στο εργαστήριο. Κατά την ερευνητική εργασία των Arthur et al., επιτεύχθηκε ταχεία προκατεργασία των δειγμάτων και στην συνέχεια του ποιοτικού ελέγχου με σύγχρονα αναλυτικά όργανα. Στα πλεονέκτημα της μεθόδου της SPME είναι η ταχύτητα της μεθόδου, η ελάχιστη απαιτούμενη κατανάλωση οργανικών διαλυτών, καθώς επίσης η εξοικονόμησης μεγάλων ποσοτήτων του δείγματος και η ποσοτικοποίηση της μεθόδου με υψηλά ποσοστά ανάκτησης του αναλύτη. Η χαμηλή απαιτούμενη ποσότητα οργανικών διαλυτών και δείγματος έχει ως αποτέλεσμα την προστασία του περιβάλλοντος, της υγείας του ανθρώπου και το χαμηλό κόστος της ανάλυσης.[22]

1.7.1 Ιστορική Αναδρομή της SPME

Η μικροεκχύλιση στερεάς φάσης (SPME) αναπτύχθηκε από τον Dr. Janusz Pawliszyn τη δεκαετία του 1990. Ο Pawliszyn, καθηγητής στο Πανεπιστήμιο του Waterloo στον Καναδά, ανέπτυξε την SPME ως τεχνική προκατεργασίας δειγμάτων για την απλούστευση της εκχύλισης και της ανάλυσης πτητικών και ημιπτητικών οργανικών ενώσεων. [22]

Η μέθοδος της SPME αναφέρθηκε για πρώτη φορά από τους Arthur και Pawliszyn το 1990 και είναι πλέον ευρέως αποδεκτή, με συνεχώς αυξανόμενο αριθμό νέων δημοσιεύσεων.[22] Στις πρώτες χρήσεις της SPME, ίνες πυριτίας, οι οποίες ήταν μη επικαλυμμένες ή επικαλυμμένες με υγρό ή στερεό πολυμερές, εμβαπτιζόταν στο υδατικό δείγμα που περιείχε τους αναλυτές-στόχους και εκροφήθηκαν (απελευθερώθηκαν) σε έναν εγχυτήρα GC. Σύμφωνα με αυτήν την τεχνική, ήταν αναγκαίο να γίνει ταχεία εισαγωγή και μετακίνηση της ίνας στον εγχυτήρα για να αποφευχθούν απώλειες του προσροφημένου αναλύτη στην ίνα. Ωστόσο, οι απώλειες σε αναλύτη λόγω πτητικότητας του ήταν αναπόφευκτες. Στη συνέχεια, ο συνδυασμός της επικαλυμμένης ίνας σε μια μικροσύριγγα επιτάχυνε την ανάπτυξη της τεχνικής SPME και την ελαχιστοποίηση των απωλειών σε αναλύτη, με αποτέλεσμα τις πρώτες συσκευές SPME. [23]

Στην SPME, μια ίνα πυριτίου επικαλύπτεται με μια στατική φάση. Η ίνα εκτίθεται σε υδατικό ή αέριο δείγμα μέχρι να επιτευχθεί ισορροπία μεταξύ του αναλύτη στο δείγμα και στην ίνα. Μετά την εκχύλιση, οι ίνες μεταφέρονται, με τη βοήθεια της συσκευής χειρισμού που μοιάζει με

σύριγγα, στο αναλυτικό όργανο για το διαχωρισμό και τον ποσοτικό προσδιορισμό των αναλυτών. Τα πρώτα πειράματα έγιναν με τη χρήση οπτικών ινών από τηγμένο διοξειδίο του πυριτίου ή και επικαλυμμένες με πολυιμιδίο.[24]

Θα πρέπει να σημειωθεί ότι η SPME ονομάστηκε αρχικά έτσι από το πρώτο πείραμα με χρήση συσκευής SPME, το οποίο αφορούσε την εκχύλιση σε στερεές, ίνες πυριτίου οι οποίες είχαν κατεργαστεί προηγουμένως κατάλληλα με τήξη. Στη συνέχεια, η ονομασία διατηρήθηκε ως αναφορά στην εμφάνιση της φάσης εκχύλισης, παρόλο που αναγνωρίζεται ότι η φάση εκχύλισης δεν είναι πάντα τεχνικά στερεή.

1.7.2 SPME ως πράσινη μέθοδος

Η μέθοδος της μικροεκχύλισης στερεάς φάσης (SPME) θεωρείται πράσινη λόγω αρκετών χαρακτηριστικών φιλικών προς το περιβάλλον και αναφέρονται στην συνέχεια:

- **Μείωση της χρήσης διαλυτών:** Η SPME εξαλείφει ή μειώνει σημαντικά την ανάγκη για οργανικούς διαλύτες που χρησιμοποιούνται συνήθως στις κλασσικές μεθόδους εκχύλισης. Χρησιμοποιώντας μια επικαλυμμένη ίνα για την εκχύλιση αναλυτών απευθείας από τη μήτρα του δείγματος, η SPME καταργεί την ανάγκη για μεγάλες ποσότητες διαλυτών, μειώνοντας έτσι τα απόβλητα διαλυτών και ελαχιστοποιώντας τη ρύπανση του περιβάλλοντος.
- **Ενεργειακή απόδοση:** Η SPME είναι μια γρήγορη και αποτελεσματική τεχνική εκχύλισης που απαιτεί ελάχιστη κατανάλωση ενέργειας σε σύγκριση με τις παραδοσιακές μεθόδους εκχύλισης. Η διαδικασία εκχύλισης διαρκεί συνήθως μόνο λίγα λεπτά και μπορεί να πραγματοποιηθεί σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, μειώνοντας την κατανάλωση ενέργειας που συνδέεται με τις διαδικασίες θέρμανσης και ψύξης. Ως εκ τούτου θεωρείται και οικονομική μέθοδος
- **Ελάχιστος χειρισμός δείγματος:** Η SPME απλοποιεί τη διαδικασία προκατεργασίας του δείγματος συνδυάζοντας την εκχύλιση και την εισαγωγή του δείγματος στο

αναλυτικό όργανο για τον ποιοτικό έλεγχο σε ένα μόνο βήμα. Αυτό ελαχιστοποιεί την ανάγκη για πολλαπλά βήματα χειρισμού του δείγματος και μειώνει τον κίνδυνο μόλυνσης ή απώλειας του δείγματος, οδηγώντας σε λιγότερη παραγωγή αποβλήτων.

- **Δυνατότητα επαναχρησιμοποίησης:** Οι ίνες SPME μπορούν να επαναχρησιμοποιηθούν πολλές φορές μετά από κατάλληλο καθαρισμό (αναγέννηση) και προετοιμασία, μειώνοντας την κατανάλωση υλικών μίας χρήσης και τη δημιουργία αποβλήτων που σχετίζονται με τις κλασσικές εκχυλίσεις
- **Ευελιξία:** Η SPME είναι μια ευέλικτη τεχνική που μπορεί να εφαρμοστεί σε ένα ευρύ φάσμα μητρών δειγμάτων, συμπεριλαμβανομένου του αέρα, του νερού, του εδάφους και των βιολογικών υγρών. Η ευελιξία της επιτρέπει την ανάλυση διαφόρων αναλυτών χωρίς την ανάγκη πολλαπλών μεθόδων εκχύλισης, μειώνοντας περαιτέρω την κατανάλωση πόρων και τη δημιουργία αποβλήτων.

Συνολικά, ο συνδυασμός της μειωμένης χρήσης διαλυτών, της μη τοξικότητας και μη ευφλεξιμότητας, της ενεργειακής απόδοσης, του ελάχιστου χειρισμού δειγμάτων, της δυνατότητας επαναχρησιμοποίησης και της ευελιξίας καθιστά την SPME μια πράσινη και βιώσιμη μέθοδο για την προκατεργασία δειγμάτων στην αναλυτική χημεία. [25]

1.7.3 Πλεονεκτήματα της μεθόδου SPME.

Ενώ οι κλασσικές μέθοδοι εκχύλισης, όπως η εκχύλιση Soxhlet και η εκχύλιση υγρού-υγρού (LLE) ,[26] έχουν χρησιμοποιηθεί ευρέως, παρουσιάζουν σημαντικά μειονεκτήματα, όπως χρονοβόρες διαδικασίες, διαδικασίες έντασης εργασίας και χρήση τοξικών, εύφλεκτων διαλυτών. [27]

Αυτοί οι περιορισμοί οδήγησαν στην ανάπτυξη εναλλακτικών τεχνικών προκατεργασίας δειγμάτων, συμπεριλαμβανομένης της εκχύλισης στερεάς φάσης (SPE). Η SPE, που αναπτύχθηκε τη δεκαετία του 1980, είναι μια βελτιωμένη φυσικοχημική διεργασία απομόνωσης και καθαρισμού ενώσεων σε σύγκριση με τις παραδοσιακές μεθόδους. Η SPE χρησιμοποιεί ένα προσροφητικό υλικό για την εκχύλιση ιχνών οργανικών ενώσεων από υδατικά δείγματα,

προσφέροντας πλεονεκτήματα όπως ο μειωμένος χρόνος επεξεργασίας και η χρήση διαλυτών σε σύγκριση με την LLE.[28] Ωστόσο, η SPE απαιτεί πολλαπλά στάδια, οδηγώντας σε κινδύνους μόλυνσης και απώλειας ευαισθησίας.[29]

Αντίθετα, η μικροεκχύλιση στερεάς φάσης (SPME) αναδεικνύεται ως μια ιδιαίτερα πλεονεκτική τεχνική προκατεργασίας δειγμάτων.[28] Σε αντίθεση με την LLE, η οποία απαιτεί σημαντικούς όγκους δείγματος και κατανάλωση διαλυτών, η SPME λειτουργεί αποτελεσματικά με ελάχιστους όγκους δείγματος, συνήθως στην περιοχή των μικρολίτρων, καθιστώντας την ιδανική για δείγματα με περιορισμένο όγκο ή συγκέντρωση. Επιπλέον, η SPME απλοποιεί τη διαδικασία εκχύλισης συνδυάζοντας την εκχύλιση και την εισαγωγή δείγματος στο αναλυτικό όργανο (GC, HPLC) σε ένα μόνο βήμα, ελαχιστοποιώντας τον κίνδυνο μόλυνσης και ανθρώπινου λάθους. Οι γρήγοροι χρόνοι εκχύλισης, που συχνά ολοκληρώνονται μέσα σε λίγα λεπτά, επιτρέπουν την ανάλυση υψηλής απόδοσης πολλαπλών δειγμάτων, ενισχύοντας την παραγωγικότητα και την αποδοτικότητα του εργαστηρίου.[30] Επιπλέον, η SPME προσφέρει ευελιξία, με τη δυνατότητα εξαγωγής αναλυτών από διάφορες μήτρες δειγμάτων, συμπεριλαμβανομένων υγρών, στερεών και αερίων, καθιστώντας την κατάλληλη για ένα ευρύ φάσμα αναλυτικών εφαρμογών. Τέλος, η SPME περιλαμβάνει το στάδιο προσρόφησης του δείγματος με τη συσσώρευση αναλυτών στην επίστρωση της ίνας κατά την εκχύλιση, οδηγώντας σε αυξημένη ευαισθησία και όρια ανίχνευσης σε σύγκριση με τις κλασσικές μεθόδους. [22]

Αυτά τα πλεονεκτήματα καθιστούν την SPME ως τη μέθοδο επιλογής για την προκατεργασία δειγμάτων, προσφέροντας απaráμιλλη αποτελεσματικότητα, οικονομική αποδοτικότητα και περιβαλλοντική βιωσιμότητα στην έρευνα της αναλυτικής χημείας.

Πίνακας 1: Πρωτόκολλα που χρησιμοποιούνται στις διάφορες τεχνικές προετοιμασίας δειγμάτων: εκχύλιση υγρού-υγρού (LLE), εκχύλιση στερεάς φάσης (SPE) και μικροεκχύλιση στερεάς φάσης (SPME)

<i>LLE</i>	<i>SPE</i>	<i>SPME</i>
<i>Προσθήκη</i>	<i>οργανικών</i>	<i>Προετοιμασία φυσιγγίων ή Έκθεση της ίνας SPME στο</i>

<i>διαλυτών στο δείγμα</i>	<i>μεμβρανών</i>	<i>δείγμα</i>
<i>Ανάδευση σε διαχωριστική χοάνη</i>	<i>Έκλυση δείγματος</i>	<i>Έγχυση των αναλυτών στο αναλυτικό όργανο</i>
<i>Διαχωρισμός της υδατικής και της οργανικής φάσης</i>	<i>Έκλυση με διαλύτη για την απομάκρυνση των παρεμβολών και την εκρόφιση του αναλύτη</i>	
<i>Απομάκρυνση της οργανικής φάσης</i>	<i>Εξάτμιση/ συγκέντρωση της οργανικής φάσης</i>	
<i>Εξάτμιση/ συγκέντρωση της οργανικής φάσης</i>	<i>Έγχυση στο αναλυτικό όργανο</i>	
<i>Έγχυση στο αναλυτικό όργανο</i>		

1.8 Εφαρμογές της SPME

- **Περιβαλλοντικές εφαρμογές της SPME (Environmental analysis by SPME)**

Η δειγματοληψία αέρα με χρήση SPME μπορεί να γίνει είτε επί τόπου είτε σε εργαστηριακές συνθήκες. Τα δείγματα μπορούν να συλλεχθούν σε περιέκτες ή συσκευών SPME. [31][32] Στην ανάλυση δειγμάτων νερού έχουν χρησιμοποιηθεί αποτελεσματικά οι τεχνικές DI, HS και SPME σε σωλήνες. Επιπλέον, έχουν εισαχθεί καινοτόμα υλικά επικάλυψης για τη βελτίωση του προσδιορισμού ρύπων σε περιβαλλοντικά δείγματα νερού, που συχνά συμπληρώνονται από τη χρήση υπερήχων ή μικροκυμάτων κατά την ανάλυση.[33][34]

Για δείγματα εδάφους και ιζημάτων, οι μέθοδοι εκχύλισης HS-SPME και DI-SPME χρησιμοποιούνται συχνά. Η εκχύλιση απαιτεί συνήθως πρόσθετη βοήθεια, όπως υπερήχους, μικροκύματα, θερμότητα ή ψύξη της επίστρωσης, για να εξασφαλιστεί η αποτελεσματική εκχύλιση από αυτές τις πολύπλοκες μήτρες.[35][36][37]

- **Εφαρμογές στην ανάλυση φαρμάκων με χρήση SPME(Drug Analysis by SPME)**

Για σκοπούς που σχετίζονται με τα φάρμακα, η SPME αρχικά εφαρμόστηκε στο πεδίο της εγκληματολογικής ανάλυσης φαρμάκων λόγω της μη πολικής και πτητικής φύσης των εγκληματολογικών φαρμάκων, καθιστώντας τα συμβατά με εφαρμογές συνδυαστικής μεθόδου SPME-GC που χρησιμοποιούν ίνες επικαλυμμένες με PDMS. Ωστόσο, οι εξελίξεις στις επιστρώσεις στερεών προσροφητικών, υλικών ιδίως εκείνες που βασίζονται στο διβινυλοβενζόλιο (DVB), έχουν διευρύνει το πεδίο των αναλυόμενων φαρμάκων. Η εξέλιξη αυτή διευκόλυνε την ανάλυση ενός ευρύτερου φάσματος φαρμάκων, συμπεριλαμβανομένων ημιπτητικών ουσιών όπως η κοκαΐνη και οι βενζοδιαζεπίνες. [38] Η εφαρμογή της SPME σε μη πτητικές ενώσεις εμφανίστηκε αργότερα, πιθανώς λόγω των περιορισμών που σχετίζονται με τις διαθέσιμες φάσεις εκχύλισης και την πολύπλοκη προκατεργασία που απαιτείται για αυτά τα φάρμακα. Παρόλα αυτά, οι προκλήσεις αυτές αντιμετωπίστηκαν σε μεγάλο βαθμό μέσω βελτιώσεων στις φάσεις εκχύλισης που είναι προσαρμοσμένες για μη πτητικές ενώσεις και της ενσωμάτωσης της SPME με τεχνικές LC-MS. Η ενσωμάτωση αυτή έχει διευρύνει τις εφαρμογές της SPME ώστε να περιλαμβάνει την εκχύλιση διαγνωστικών αντιδραστηρίων και βιολογικών ενώσεων. Επίσης, έχει διευκολύνει την ανάλυση μη πτητικών φαρμακευτικών ενώσεων. [38]

- **Εφαρμογές στην ανάλυση τροφίμων και αρωμάτων με χρήση SPME (Food and Fragrance Analysis by SPME)**

Η αυξανόμενη απαίτηση των καταναλωτών τόσο για ασφάλεια όσο και για διατροφική ποιότητα, παράλληλα με τον αυξημένο ανταγωνισμό στην αγορά, υπογραμμίζει τον κομβικό ρόλο της ανάλυσης τροφίμων. Οι ερευνητικές προσπάθειες στην ανάλυση τροφίμων στοχεύουν κυρίως σε πτυχές όπως το διατροφικό περιεχόμενο, η φρεσκάδα των τροφίμων, η παρουσία πρόσθετων ή επιβλαβών ουσιών, οι μεταβολές κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας και οι επιπτώσεις της επεξεργασίας ή της αποθήκευσης στην υφή και τη μικροβιολογική ασφάλεια. Ένα κρίσιμο σημείο που επηρεάζει την αντίληψη των καταναλωτών είναι το άρωμα των τροφίμων, το οποίο περιλαμβάνει κυρίως πτητικές και ημιπτητικές ενώσεις. Το άρωμα χρησιμεύει συχνά ως δείκτης φρεσκάδας και παρέχει πληροφορίες για το ιστορικό της επεξεργασίας και της αποθήκευσης, καθιστώντας το σημείο έναρξης για πολυάριθμες χημικές και αισθητηριακές έρευνες. Δεδομένης της περίπλοκης φύσης των μητρών τροφίμων, απαιτούνται αρκετά στάδια προκατεργασίας πριν από την χρωματογραφική

ανάλυση με GC, LC ή άλλων αναλυτικών οργάνων. Τα τελευταία χρόνια, η SPME έχει αναδειχθεί ως πολύτιμο εργαλείο στις μελέτες τροφίμων, με ανταπόκριση στις νομοθετικές απαιτήσεις για χαμηλά όρια ανίχνευσης και ποσοτικού προσδιορισμού, καθώς και τη διασφάλιση της ακρίβειας της μεθόδου. [39][40]

- **Εφαρμογές στην ανάλυση καλλυντικών και βαρέων μετάλλων με την χρήση SPME (Cosmetics & Heavy metals Analysis by SPME)**

Η SPME αντιπροσωπεύει μια νέα προσέγγιση στην προκατεργασία δειγμάτων, προσφέροντας σαφή πλεονεκτήματα σε σχέση με τις κλασσικές μεθόδους εκχύλισης που βασίζονται σε διφασικά συστήματα νερού/οργανικών διαλυτών, ιδίως την εξάλειψη της ανάγκης για οργανικούς διαλύτες κατά την εκχύλιση και την ανάκτηση οργανικών ενώσεων. Στην κοσμετολογία, η SPME χρησιμεύει ως προπαρασκευαστική τεχνική για την απομόνωση οργανικών ενώσεων, συμπεριλαμβανομένων των συντηρητικών (όπως τα parabens), βαρέων μετάλλων, φίλτρων UV και χρωστικών ουσιών, από πολύπλοκες μήτρες. Η επακόλουθη ποιοτική και ποσοτική ανάλυση μπορεί να διεξαχθεί με τη χρήση ενόργανων μεθόδων όπως HPLC-UV και LC-MS. [41]

Συγκεκριμένα τα περιεχόμενα βαρέα μέταλλα που ενδέχεται να υπάρχουν στα καλλυντικά είτε ως πρόσθετες ενώσεις ή ως ανεπιθύμητες προσμίξεις μπορούν να εκχυλιστούν με την SPME. Σε μια ερευνητική εργασία των Algadami et al. παρουσίασαν μια εξαιρετικά ευαίσθητη μέθοδο για την ανίχνευση αρσενικού, καδμίου, βισμούθιου, μολύβδου και τιτανίου σε λευκαντικές κρέμες. Η μέθοδος αυτή περιλαμβάνει αρχικά την υγρή πέψη του δείγματος με τη χρήση οξέων, με συσκευή μικροκυμάτων. Στην συνέχεια, το χωνευμένο δείγμα κατεργάστηκε με διαλύτη και εκλούστηκε μέσω μικροστήλης πληρωμένης με νανοσωλήνες άνθρακα ως στατική φάση με πολλαπλές επικαλύψεις για προσρόφηση μεταλλοιδόντων. Η έκλυση των προσροφημένων μεταλλοιδόντων πραγματοποιήθηκε με διάλυμα νιτρικού οξέος ως κινητή φάση και ακολούθησε ποιοτικός έλεγχος με ICP-OES. Η μελέτη διερευνά επίσης βασικές παραμέτρους της μεθόδου, όπως η μεταβολή του pH, ο ρυθμός ροής και οι συνθήκες έκλυσης. [42]

Ομοίως, οι Emrahizaadech et al. παρουσίασαν μια τροποποιημένη μέθοδο εκχύλισης στερεάς φάσης για τον ποσοτικό προσδιορισμό του μολύβδου και του καδμίου σε κραγιόν και σκιές

ματιών. Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιεί νανοσωματίδια επιτεταρτοξειδίου του σιδήρου (Fe_3O_4) τα οποία έχουν μαγνητικές ιδιότητες, για να δεσμεύουν με εκλεκτικότητα ιόντα μολύβδου και καδμίου μετά από υγρή πέψη του δείγματος με ισχυρά οξέα. Στη συνέχεια, διενεργήθηκε ποσοτικός προσδιορισμός με τη χρήση FAAS. [43]

1.9 Κατηγορίες μικροεκχυλιστικών ινών SPME

Οι ίνες μικροεκχύλισης στερεάς φάσης (SPME) είναι σημαντικά υλικά στην τεχνική SPME, καθώς χρησιμεύουν ως άμεσο μέσο μεταξύ της μήτρας του δείγματος και του αναλυτικού οργάνου. Οι ίνες αυτές είναι αποφασιστικής σημασίας στην εκχύλιση των αναλυτών από διάφορες μήτρες δειγμάτων για την επακόλουθη ανάλυση με τεχνικές όπως η αέρια χρωματογραφία (GC) ή η υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC). [44]

Οι ίνες SPME αποτελούνται από ένα υπόστρωμα τηγμένου πυριτίου (fused- silica core) πάνω στο οποίο επικαλύπτεται ένα λεπτό στρώμα προσροφητικού υλικού. Η επιλογή της επίστρωσης του προσροφητικού υλικού είναι ουσιαστική, καθώς καθορίζει την εκλεκτικότητα, την ευαισθησία και τη συμβατότητα της ίνας με διαφορετικούς τύπους αναλυτών και μητρών δειγμάτων. Τα συνήθη εμπορικά υλικά προσροφητικού που χρησιμοποιούνται στις ίνες SPME περιλαμβάνουν, μεταξύ άλλων, το πολυ(διμεθυλοσιλοξάνιο) (PDMS), το πολυακρυλικό οξύ (PA), το διβινυλοβενζόλιο (DVB), το καρβοξένιο (CAR) και την πολυ(αιθυλενογλυκόλη) (PEG).[45]

Οι ίνες αυτές μπορούν να ταξινομηθούν σε δύο κύριους τύπους με βάση τον μηχανισμό προσρόφησης: προσροφητικές ίνες τύπου φιλμ (absorption) και προσροφητικές ίνες τύπου σωματιδίων (adsorption). Οι ίνες προσροφητικού τύπου φιλμ περιλαμβάνουν εκείνες που είναι επικαλυμμένες με πολυδιμεθυλοσιλοξάνιο (PDMS), πολυακρυλικό οξύ (PA), και πολυαιθυλενογλυκόλη (PEG). Οι ίνες προσροφητικού τύπου σωματιδίων περιέχουν πορώδη σωματίδια όπως το διβινυλοβενζόλιο (DVB), το Carboxen® προσροφητικό (CAR), ή συνδυασμός και των δύο. Συνήθως, χρησιμοποιείται PDMS ως συνδετικό υλικό.

Συνήθως η προσρόφιση σε ένα σωματίδιο είναι ισχυρότερη και ο μηχανισμός εκχύλισης αποτελεσματικότερος, καθιστώντας τις ίνες σωματιδίων καταλληλότερες για μεθόδους ανάλυσης ιχνών σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις.[Πίνακας 2][46][47]

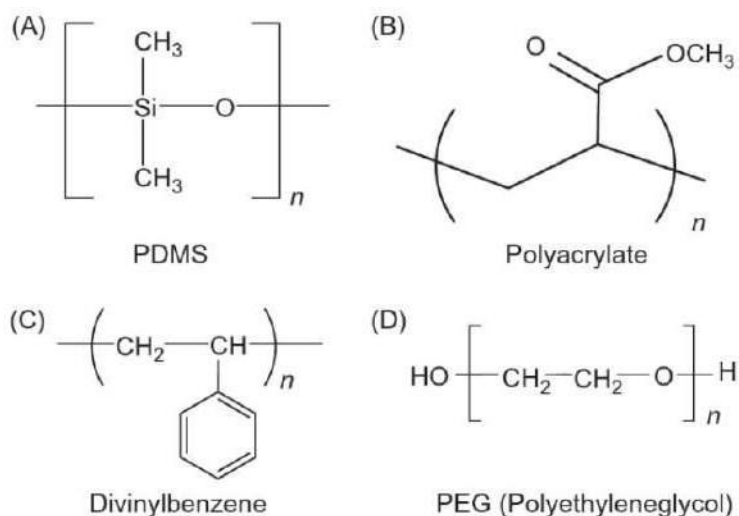
Η επιλογή της κατάλληλης επίστρωσης ινών SPME είναι αποφασιστικής σημασίας για την επίτευξη των επιθυμητών αποτελεσμάτων ανάλυσης.[23] [48][49] Υπάρχουν τέσσερα βασικά κριτήρια που χρησιμοποιούνται συνήθως για την επιλογή της κατάλληλης επίστρωσης ινών για μια συγκεκριμένη εφαρμογή. Αυτά είναι τα εξής :

- a. το μοριακό βάρος (MW) και το μέγεθος των αναλυτών,
- b. η πολικότητα των αναλυτών,
- c. τα επίπεδα και το εύρος συγκέντρωσης των αναλυτών
- d. η πολυπλοκότητα του δείγματος.

Στον παρακάτω πίνακα έχουν παρατεθεί στοιχεία για την επιλογή της κατάλληλης ίνας SPME προς τους διάφορους αναλυτές ανάλογα με το μοριακό βάρος (MW), την πτητικότητα και την πολικότητά τους. Οι ίνες PDMS, για παράδειγμα, χρησιμοποιούνται συνήθως για την εκχύλιση μη πολικών και ημιπτητικών ενώσεων λόγω της υψηλής θερμικής σταθερότητάς τους και της συμβατότητάς τους με τα συστήματα GC. Οι ίνες PA προτιμώνται για πολικούς αναλυτές, ενώ οι ίνες μικτής φάσης, όπως PDMS/DVB ή CAR/PDMS, προσφέρουν αυξημένη εκλεκτικότητα και αποτελεσματικότητα εκχύλισης για ένα ευρύτερο φάσμα αναλυτών.[50]

Πίνακας 2. Εμπορικές διαθέσιμες ίνες για SPME και η πιο συχνά προτεινόμενη εφαρμογή τους.

Extraction mechanism	Sorbent	Coating thickness	Recommended application	
			Molecular Weight	Target analytes
Absorption	PDMS	7 μm	125-600	Non-polar, high molecular weight compounds
		30 μm	80-500	Non-polar, semi-volatiles compounds
		100 μm	60-275	Volatile compounds
	PA	85 μm	80-300	Polar, semivolatile compounds
Adsorption	PEG	60 μm	40-275	Alcohols and polar compounds
	DVB-PDMS	65 μm*	50-300	Volatiles, amines and nitro-aromatic compounds
	CAR-PDMS	75 μm	30-225	Gases and low molecular weight compounds
		85 μm		
		95 μm		
	DVB/CAR/PDMS	50 μm/30 μm	40-275	Volatile and semivolatile



Εικόνα 2: Χημικές δομές ορισμένων εμπορικών πολυμερών ως επικαλύψεις ινών SPME

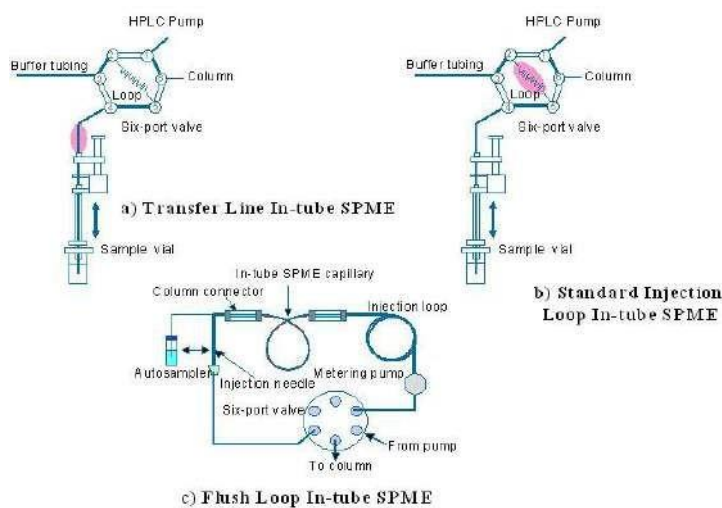
1.10 Συνδυασμός ινών (fibers) με Αναλυτικά Όργανα

Η ίνα SPME μπορεί να συνδυαστεί και να τοποθετηθεί προσωρινά σε διάφορα αναλυτικά όργανα λόγω της φύσης του μικροσκοπικού μεγέθους της ή του σωλήνα της χωρίς την παράλληλη χρήση διαλυτών. Οι προσροφημένοι στην ίνα αναλύτες εκροφούνται από αυτήν και μπορούν να προσδιοριστούν στο αναλυτικό όργανο με αξιοπιστία αποδίδοντας ακριβή αποτελέσματα ανάλυσης. Ωστόσο υπάρχουν αναλύτες δειγμάτων που δεν μπορούν να εκχυλισθούν με την ίνα SPME. Επιπλέον, η ευαισθησία του προσδιορισμού που επιτυγχάνεται

μέσω της SPME είναι ιδιαίτερα υψηλή. Επί του παρόντος, η GC, η HPLC και άλλα αναλυτικά όργανα έχουν συνδεθεί επιτυχώς με τεχνικές SPME. Ιδιαίτερα, οι συνδυαστικές ενόργανες τεχνικές ανάλυσης όπως GC/MS και HPLC/MS παρέχουν πολύ αξιόπιστα αποτελέσματα.

Πιο συγκεκριμένα, το GC είναι το περισσότερο χρησιμοποιούμενο αναλυτικό όργανο για σύζευξη με SPME. Δεδομένου ότι η φάση εκχύλισης είναι μη πτητική, η εκρόφιση πραγματοποιείται για πτητικούς αναλύτες με την ταυτόχρονη εισαγωγή τους στον αέριο χρωματογράφο (GC).

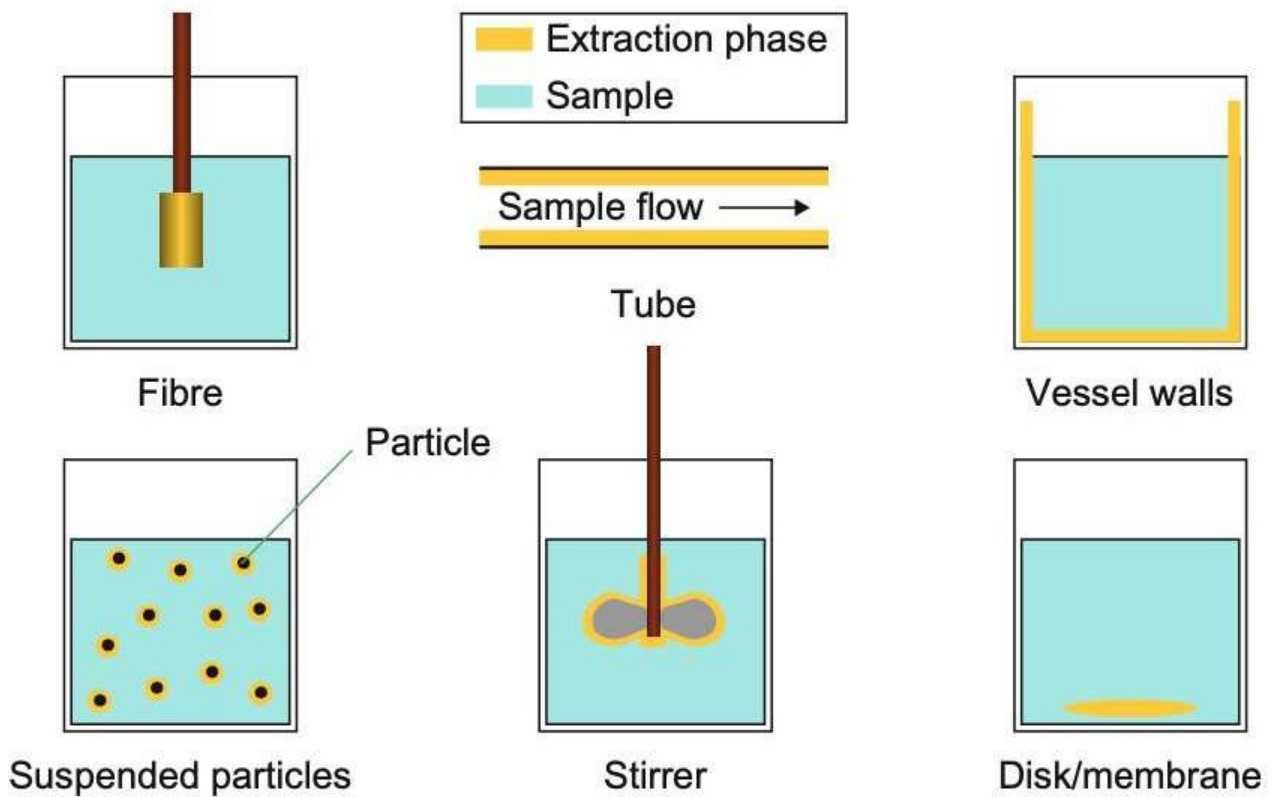
Για την ανάλυση μη πτητικών και θερμικά ασταθών ενώσεων, η HPLC ενδείκνυται ως η καταλληλότερη ενόργανη τεχνική ανάλυσης. Τυπικά, η διάταξη σύζευξης SPME/HPLC περιλαμβάνει μια εξειδικευμένη θύρα εκρόφισης του αναλύτη και μια βαλβίδα έγχυσης έξι (6) θυρών. Στη λειτουργία "φόρτωσης", η βαλβίδα έγχυσης επιτρέπει την εισαγωγή της ίνας στο θάλαμο εκρόφισης σε ατμοσφαιρική πίεση. Στη συνέχεια, η βαλβίδα μεταβαίνει σε λειτουργία "έγχυσης" για τη μεταφορά των εκροφημένων αναλυτών στη χρωματογραφική στήλη για διαχωρισμό και ποσοτικό προσδιορισμό όπως φαίνεται στην εικόνα 3. [48]



Εικόνα 3: Σύστημα έγχυσης έξι (6) θυρών για την SPME-HPLC.

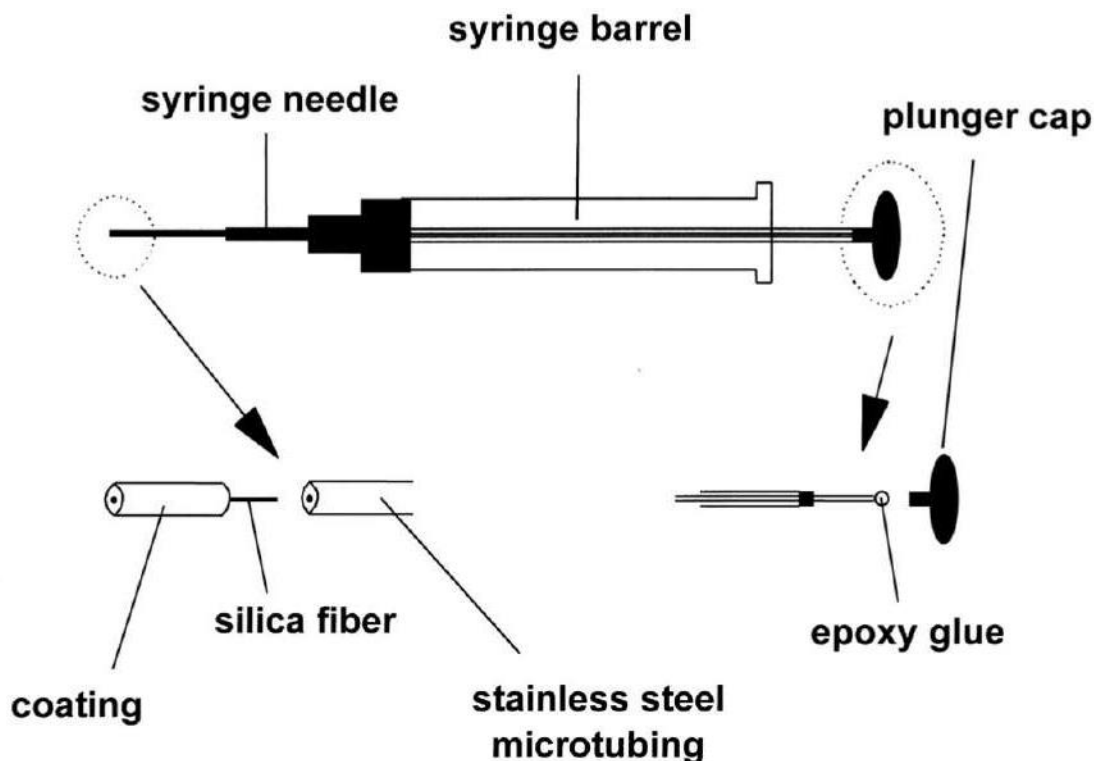
1.11 Βασικές Αρχές της SPME

Η SPME αναπτύχθηκε για να καλύψει την ανάγκη ταχείας προκατεργασίας δειγμάτων στο εργαστήριο όσο και την απευθείας εισαγωγή του αναλύτη στο αναλυτικό όργανο. Σε αυτή την τεχνική, μια ελάχιστη ποσότητα εκχυλιστικής φάσης του δείγματος διασπείρεται στο περιβάλλον της ίνας της SPME η οποία λειτουργεί ως στατική φάση ή φάση εκχύλισης. Μετά από καθορισμένο χρονικό διάστημα επιτυγχάνεται ισορροπία κατανομής μεταξύ της μήτρας του δείγματος και της ίνας. Εναλλακτικά, η SPME μπορεί να χρησιμοποιηθεί και για μικρότερους χρόνους εκχύλισης πριν ακόμη επιτευχθεί η ισορροπία μεταξύ των δύο φάσεων, με την ποσότητα του εκχυλιζόμενου αναλύτη να συσχετίζεται με το χρόνο μεταφοράς και την διάρκεια της ανάδευσης της μήτρας του δείγματος (convection/agitation). Με αυτόν τον τρόπο μπορεί να επιτευχθεί σταδιακή επίστρωση επί της ίνας από αναλύτη σε αναλύτη της μήτρας του δείγματος. Ο ποσοτικός προσδιορισμός μπορεί στη συνέχεια να βασιστεί στη χρονική συσσώρευση των αναλυτών στην επίστρωση της ίνας. [48] Στην εικόνα 4. απεικονίζονται διάφορες εφαρμογές της SPME, οι οποίες περιλαμβάνουν κυρίως διεργασίες εκχύλισης ανοικτής κλίνης (open-bed extraction), όπως επικαλυμμένες ίνες, δοχεία, δίσκους μηχανισμού ανάδευσης και διατάξεις εντός σωλήνα. Ορισμένες συσκευές SPME λειτουργούν με τέτοιο τρόπο ώστε να αντιμετωπίζονται διάφορες δυσκολίες κατά την ανάδευση του δείγματος. Επίσης μια άλλη παράμετρος που πρέπει να ληφθεί υπόψη είναι η ευκολία εισαγωγής του δείγματος στο αναλυτικό όργανο. Παρά την εξέλιξη των τεχνικών SPME, η μέθοδος των ινών παραμένει η πλέον εύχρηστη και γι' αυτό χρησιμοποιείται περισσότερο.[3]. Αξίζει να σημειωθεί ότι η SPME πήρε αρχικά το όνομά της από την πρώτη της εφαρμογή όπου χρησιμοποιήθηκαν, στερεές ίνες από τηγμένη πυριτία. Στη συνέχεια, η ονομασία διατηρήθηκε ως αναφορά στην εμφάνιση της φάσης εκχύλισης σε σχέση με μια υγρή ή αέρια φάση που περιέχει τον αναλύτη. Επίσης στην SPME η φάση εκχύλισης δεν είναι πάντα στερεή από τεχνικούς λόγους. [48][51]



Εικόνα 4: Διαμορφώσεις της SPME [51]

Η ανάπτυξη της τεχνικής επιταχύνθηκε ραγδαία με την εφαρμογή επικαλυμμένων ινών ενσωματωμένων σε μικροσύριγγα (fiber). Έτσι κατασκευάστηκε η πρώτη συσκευή SPME. Στην Εικόνα 5. παρουσιάζεται ένα παράδειγμα συσκευής SPME που βασίζεται στη μικροσύριγγα της σειράς HamiltonE 7000. [20]

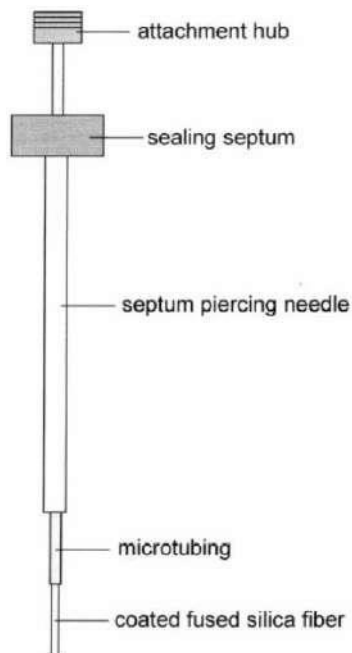


Εικόνα 5: Αρχική συσκευή SPME που βασίζεται σε σύριγγα της σειράς Hamilton 7000[52]

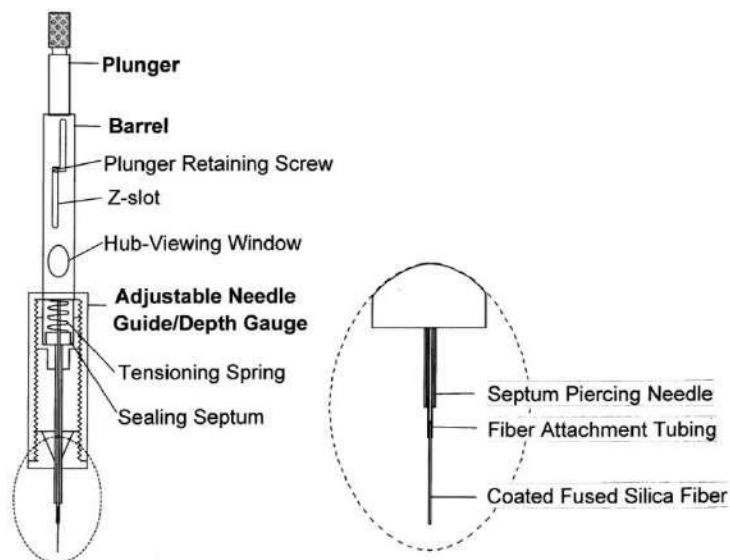
Σε αυτή τη διάταξη, η μεταλλική ράβδος (metal rod) που λειτουργεί ως έμβολο σε μια μικροσύριγγα αντικαθίσταται από μικροσωλήνες από ανοξείδωτο χάλυβα (stainless steel microtubing), με εσωτερική διάμετρο (inside diameter, I.D) ελαφρώς μεγαλύτερη από την εξωτερική διάμετρο (outside diameter, O.D) της ράβδου από τηγμένο πυρίτιο (fused-silica rod). Συνήθως, αφαιρούνται τα αρχικά 5 mm επίστρωσης από μια ίνα μήκους 1,5 cm η οποία στη συνέχεια εισάγεται στον μικροσωλήνα. Για τη μόνιμη στερέωση της ίνας χρησιμοποιείται εποξειδική κόλλα υψηλής θερμοκρασίας. Η έγχυση του δείγματος μιμείται την τυπική έγχυση με σύριγγα, όπου η κίνηση του εμβόλου επιτρέπει την έκθεση της ίνας κατά την εξαγωγή και την εκρόφιση.

Οι πλέον εμπορικές συσκευές SPME καταργούν την ανάγκη για σύριγγες υψηλού κόστους όπως οι σύριγγες της σειράς HamiltonE 7000. Όπως απεικονίζεται στην εικόνα 6, μια λειτουργική συσκευή μπορεί να κατασκευαστεί από ένα μικρό τμήμα μικροσωλήνα από ανοξείδωτο χάλυβα για τη τοποθέτηση της ίνας, ένα δεύτερο τμήμα μεγαλύτερου σωλήνα που χρησιμεύει ως "βελόνα" και ένα διάφραγμα για τη στεγανοποίηση της σύνδεσης μεταξύ του μικροσωλήνα και

της "βελόνας". Αυτός ο σχεδιασμός χρησιμεύει σαν βασική μονάδα μιας εμπορικής συσκευής SPME όπως απεικονίζεται στην εικόνα 7 [53]



Εικόνα 6: Απλή συσκευή SPME με την χρήση επικαλυμμένης ίνας.



Εικόνα 7: Σχεδιασμός πρώτης εμπορικής συσκευής SPME της Supelco[52]

Η SPME προσφέρει τρεις τρόπους λειτουργίας.

Αυτοί αναφέρονται ως:

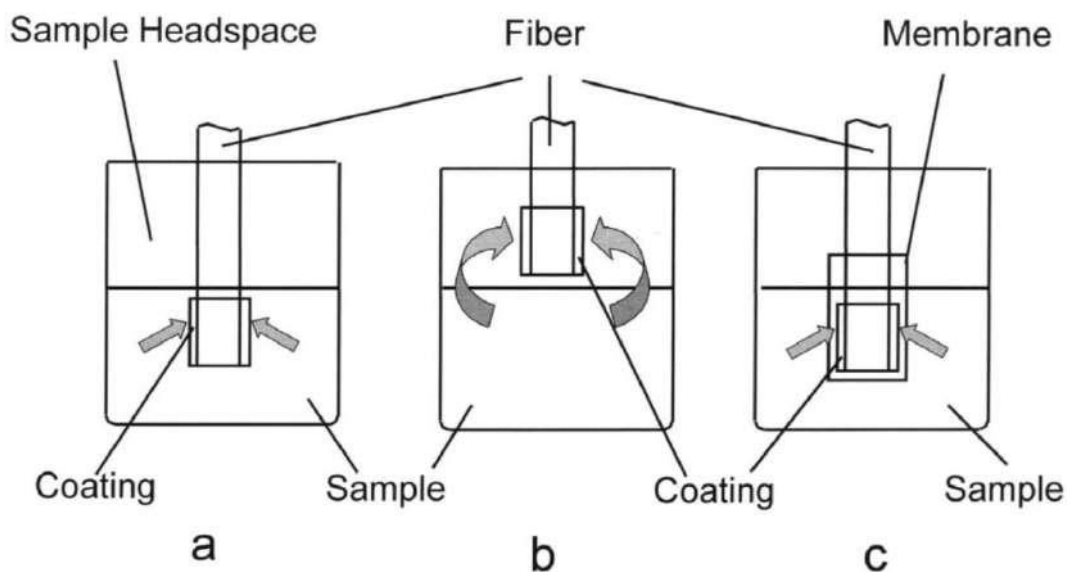
1. **Διαμόρφωση άμεσης εκχύλισης, [direct extraction- DI]**
2. **Headspace SPME**
3. **Μια διάταξη SPME προστασίας της μεμβράνης, [membrane- protected SPME]**

Στην **εικόνα 8** παρουσιάζονται οι αναφερόμενες λειτουργίες. Στη λειτουργία άμεσης εκχύλισης (**εικόνα 8α**), η επικαλυμμένη ίνα βυθίζεται απευθείας στο δείγμα, εκχυλίζοντας τους αναλυτές απευθείας από τη μήτρα του δείγματος στη φάση εκχύλισης. Η ανάδευση είναι απαραίτητη για την επιτάχυνση της εκχύλισης, διευκολύνοντας τη μεταφορά του αναλύτη από την μάζα του διαλύματος στην ίνα.[54] Ενώ μεταφορά της αέριας φάσης και οι υψηλοί συντελεστές διάχυσης αρκούν για την ταχεία εξισορρόπηση σε αέρια δείγματα, για υδατικές μήτρες απαιτούνται έντονες τεχνικές ανάδευσης. Αυτές μπορεί να είναι η εξαναγκασμένη ροή, η ταχεία κίνηση της ίνας ή του φιαλιδίου, η μηχανική ανάδευση σε μαγνητικό αναδευτήρα ή επεξεργασία με ακουστικά κύματα. Σε υγρά δείγματα, η ανάδευση μετριάζει το φαινόμενο της κλίσης της συγκέντρωσης του αναλύτη στην περιοχή της ίνας.[55]

Στη λειτουργία headspace (**εικόνα 8β**), η δειγματοληψία πραγματοποιείται από υπερκείμενη αέρια φάση της μήτρας. Κατά συνέπεια, οι αναλύτες πρέπει να παρουσιάζουν σχετική πτητικότητα για να μεταφερθούν από την μήτρα στην επίστρωση της ίνας. Η δειγματοληψία headspace προστατεύει την επικάλυψη της ίνας από φθορά από ενεργές μήτρες, όπως αυτές με ακραία επίπεδα pH ή μήτρες που περιέχουν μεγάλα μόρια όπως πρωτεΐνες και χουμικά οξέα, τα οποία μπορούν να προσβάλλουν και να αδρανοποιήσουν την επικάλυψη της ίνας. Επιπλέον, η δειγματοληψία headspace ενδείκνυται για την ανάλυση στερεών μητρών [56]

Η επιλογή του τρόπου δειγματοληψίας επηρεάζει σημαντικά την κινητική της εκχύλισης. Στη δειγματοληψία headspace, οι αναλύτες εκχυλίζονται έμμεσα από τη μήτρα όπως απεικονίζεται στην **εικόνα 8β**. Ως εκ τούτου, τα πτητικά συστατικά, τα οποία είναι περισσότερο συγκεντρωμένα στο headspace, εκχυλίζονται ταχύτερα από τα λιγότερο πτητικά συστατικά.[57]

Η **εικόνα 8c** απεικονίζει την αρχή της έμμεσης εκχύλισης SPME που πραγματοποιείται μέσω μιας μεμβράνης. Η λειτουργία του διαφράγματος της μεμβράνης είναι η προστασία της ίνας από φθορές όπως στην ανάλυση μολυσμένων δειγμάτων με διάφορες προσμίξεις. Ωστόσο, η προστασία της μεμβράνης αποδεικνύεται επωφελής όταν προσδιορίζονται αναλύτες υψηλών πτητικότητας. [58] Επιπλέον, μια μεμβράνη κατασκευασμένη από κατάλληλο υλικό μπορεί να λειτουργήσει εκλεκτικά στη διαδικασία εκχύλισης. Παρά τα πλεονεκτήματά της, η κινητική της εκχύλισης με μεμβράνη είναι σημαντικά πιο αργή σε σύγκριση με την άμεση εκχύλιση, καθώς οι αναλύτες πρέπει να διαχυθούν μέσω της μεμβράνης προτού διαχυθούν στην επίστρωση της ίνας. Ωστόσο, η χρήση λεπτών μεμβρανών και η αύξηση της θερμοκρασίας μπορούν να επιταχύνουν τη διαδικασία εκχύλισης. [59]



Εικόνα 8 Τρόποι λειτουργίας SPME: (α) Άμεση εκχύλιση (*direct extraction*), (b) *Headspace SPME*, (c) SPME με προστασία μεμβράνης (*membrane-protected SPME*) [52]

1.12 Θεωρία της SPME

Η κατανόηση της θεωρίας της SPME προσφέρει πολύτιμες γνώσεις και καθοδηγεί τους αναλυτές στην ανάπτυξη νέων μεθόδων. Επισημαίνει τις βασικές παραμέτρους για τον έλεγχο και τη βελτιστοποίηση της, κατευθύνοντας με αυτόν τον τρόπο την έρευνα προς τη σωστή κατεύθυνση.

Η θεωρία της SPME έχει διασαφηνιστεί εκτενώς από την ερευνητική ομάδα του Pawliszyn. [60], [61] Η SPME βρίσκει εφαρμογή τόσο σε υδατικά όσο και σε αέρια δείγματα, όπου οι αναλύτες κατανέμονται μεταξύ της μήτρας του δείγματος και της στατικής φάσης. Παραδοσιακά, η SPME περιλαμβάνει τη χρήση επικαλυμμένων ινών. Κατά την επαφή με το δείγμα, οι αναλύτες μεταφέρονται σταδιακά στην επίστρωση της ίνας και η εκχύλιση θεωρείται ποσοτική όταν επιτευχθεί ισορροπία μεταξύ της μήτρας και της επίστρωσης. Η συνθήκη ισορροπίας περιγράφεται από την Εξίσωση 1:

$$n = \frac{(K_{fs} V_f V_s C_0)}{(K_{fs} V_f + V_s)} \quad (1)$$

- n : Ποσότητα που εκχυλίζεται στην επίστρωση
- K_{fs} : Συντελεστής κατανομής μεταξύ της επίστρωσης της ίνας και της μήτρας του δείγματος,
- V_f : Όγκος στην επίστρωση της ίνας
- V_s : Όγκος του δείγματος
- C_0 η αρχική συγκέντρωση του αναλύτη στο δείγμα

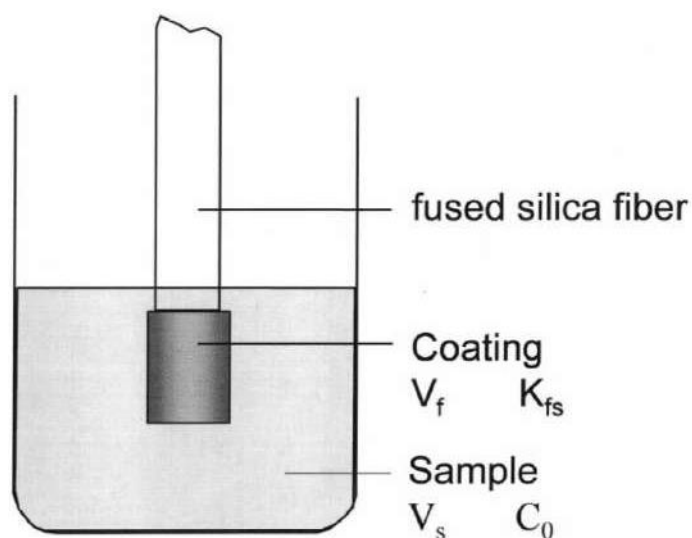
Η εξίσωση (1) εκφράζει την άμεση συσχέτιση μεταξύ της συγκέντρωσης του αναλύτη στο δείγμα και της ποσότητας που εκχυλίζεται στην επίστρωση της ίνας-αποτελώντας τη βάση για τον ποσοτικό προσδιορισμό του αναλύτη.

Επιπλέον, όταν ο όγκος του δείγματος είναι μεγάλος, η εξίσωση (1) μπορεί να απλοποιηθεί ως εξής στην εξίσωση (2):

$$n = K_{fs} V_f V_s C_0 \quad (2)$$

Εδώ, η εκχυλιζόμενη ποσότητα αναλύτη παραμένει ανεπηρέαστη από τον όγκο του δείγματος. Κατά συνέπεια, δεν υπάρχει ανάγκη να συγκεντρωθεί ένα συγκεκριμένο μέγεθος δείγματος πριν από την ανάλυση, αντίθετα η ίνα μπορεί να εκτεθεί απευθείας στον αέρα του περιβάλλοντος. Η ποσότητα του εξαγόμενου αναλύτη αντιστοιχεί άμεσα στη συγκέντρωσή του στη μήτρα, ανεξάρτητα από τον όγκο του δείγματος. Η εξάλειψη του σταδίου της δειγματοληψίας επιταχύνει ολόκληρη τη διαδικασία ανάλυσης και αποτρέπει τα σφάλματα που σχετίζονται με τις

απώλειες αναλυτών λόγω αποσύνθεσης ή προσρόφησης στα τοιχώματα του περιέκτη δειγματοληψίας. Αυτό το πλεονέκτημα της SPME θα μπορούσε να αξιοποιηθεί περαιτέρω με την ανάπτυξη φορητών συσκευών σε εμπορική κλίμακα.[52]



Εικόνα 9: Μικροεκχύλιση SPME . V_f : όγκος της επικαλυμμένης ίνας, K_{fs} : συντελεστής κατανομής ίνας/δείγματος, V_s : όγκος δείγματος, C_0 : αρχική συγκέντρωση αναλύτη στο δείγμα.[52]

1.13 Αρχή Λειτουργίας της SPME

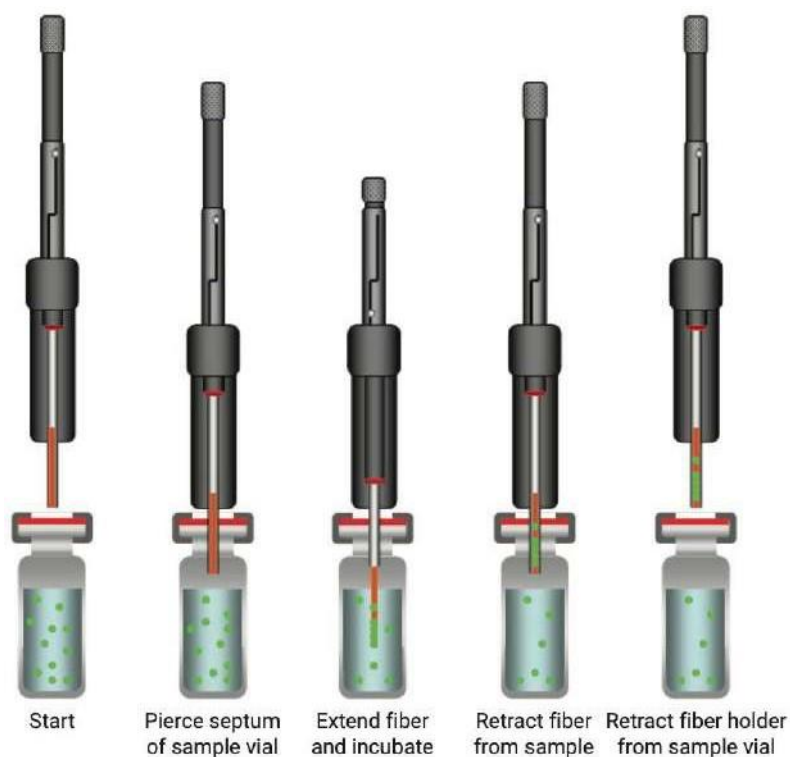
Η ανάλυση SPME αποτελείται από 2 διαδικασίες:

1. Κατανομή των αναλυτών μεταξύ της ίνας και του δείγματος (Προσρόφηση)

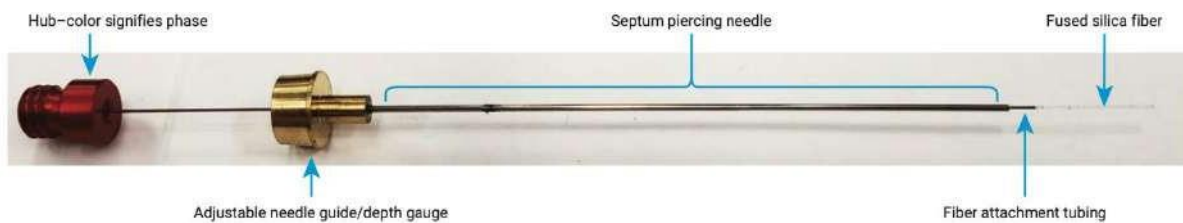
Η διαδικασία αυτή συνίσταται στην εισαγωγή της συσκευής SPME στη μήτρα του δείγματος και στην έκθεση της ίνας στο δείγμα. Οι αναλύτες-στόχοι προσροφώνται με εξαναγκασμένη διάχυση από το δείγμα στην ίνα. Αφού επιτευχθεί η κατάσταση ισορροπίας, η ίνα μεταφέρεται στον εσωτερικό χώρο της βελόνας με έλξη του εμβόλου της ίνας και απομακρύνεται από το δοχείο δείγματος.

2. Εκρόφηση

Όταν η ίνα αφαιρεθεί από τη μήτρα του δείγματος, εισάγεται απευθείας στο αναλυτικό όργανο για εκρόφηση. Κατά τη διάρκεια της εκρόφησης, οι αναλύτες απελευθερώνονται από την ίνα και μεταφέρονται στο αναλυτικό όργανο (Εικόνα 9), για ανάλυση. Οι εκροφημένοι αναλύτες προσδιορίζονται με αέρια χρωματογραφία (GC), υγρή χρωματογραφία (LC) και με ανιχνευτή φασματομετρίας μάζας (MS) ανάλογα με τη φύση των αναλυτών και τις απαιτήσεις της ανάλυσης.



Εικόνα 10: Πορεία διαδικασίας SPME (παράδειγμα *Direct Immersion (DI)*)



Εικόνα 11: Χαρακτηριστικά μιας SPME ίνας (SPME fiber, PDMS-100)

2.Βαρέα Μέταλλα

Τα βαρέα μέταλλα χαρακτηρίζονται από την πυκνότητά τους, η οποία συνήθως υπερβαίνει τα 5 g/cm³. [62] Η κλιμάκωση της εκβιομηχάνισης και οι σύγχρονες γεωργικές πρακτικές έχουν επιδεινώσει τη μόλυνση του περιβάλλοντος από βαρέα μέταλλα. [63] Τα μέταλλα αυτά μπορούν να παραμείνουν στο περιβάλλον για μεγάλο χρονικό διάστημα και να παρουσιάσουν βιοσυσσώρευση, μεταφερόμενα στους οργανισμούς κατά μήκος της τροφικής αλυσίδας. [64] Ενώ ορισμένα βαρέα μέταλλα όπως ο ψευδάργυρος (Zn), το μαγγάνιο (Mn), ο χαλκός (Cu), το κοβάλτιο (Co) και το νικέλιο (Ni) σε χαμηλές συγκεντρώσεις είναι απαραίτητα για τους οργανισμούς, σε αυξημένα επίπεδα μπορούν να προκαλέσουν τοξικότητα. Αντίθετα, τα ιδιαίτερα επικίνδυνα βαρέα μέταλλα όπως ο υδράργυρος (Hg), το χρώμιο (Cr), το κάδμιο (Cd), ο μόλυβδος (Pb), ο κασσίτερος (Sn) και το αρσενικό (As), ενέχουν σημαντικούς κινδύνους για την υγεία του ανθρώπου ακόμη και σε ελάχιστη έκθεση [65]. Η υπέρβαση των επιτρεπόμενων ορίων συγκεντρώσεων των βαρέων μετάλλων μπορεί να οδηγήσει σε προβλήματα υγείας που επηρεάζουν διάφορα λειτουργικά όργανα του ανθρώπου όπως το γαστρεντερικό, το αιμοποιητικό, το νεφρικό και το νευρικό σύστημα. [66][67][68] Επιπλέον, η τοξικότητα των βαρέων μετάλλων καθορίζεται κυρίως από τη χημική τους μορφή και όχι μόνο από τη συνολική τους ποσότητα. [69] Για παράδειγμα, το As(III) είναι εξαιρετικά τοξικό, ενώ η arsine choline και η arsine betaine είναι μη τοξικές. [70]

2.1 Τοξικότητα Βαρέων Μετάλλων

Τις τελευταίες δεκαετίες η ανησυχία για την παγκόσμια υγεία η οποία σχετίζεται με την συνεχόμενη και αυξανόμενη ρύπανση του περιβάλλοντος έχει αμβλυνθεί, ως αποτέλεσμα της εκθετικής αύξησης της βιομηχανικής λειτουργίας, των γεωργικών, τεχνολογικών και οικιακών εφαρμογών. Η έννοια της τοξικότητας ενός υλικού έγκειται στην ποσότητα στην οποία εκτίθεται ένα άτομο. Η ορυκτολογική σύσταση του μητρικού πετρώματος διαμορφώνεται από το περιβάλλον με αποτέλεσμα τον άμεσο επηρεασμό των χημικών διαδικασιών και επομένως των συγκεντρώσεων που προσδιορίζουν την τοξικότητα.[71]

Στην περίπτωση των βαρέων μετάλλων η τοξικότητα αποδίδεται σε διάφορους παράγοντες:

- Γεωχημική συμπεριφορά
- Φυσιολογία μετάλλου
- Χημική εξειδίκευση με μορφή μορίων ή ιόντων, καθότι μεταφέρονται σε διαφορετικές φάσεις. Η κατανομή των μετάλλων υπάγεται και σε διαφορετική χρήση οδού για τους οργανισμούς.
- Η παρουσία ενός ή περισσότερων τοξικών ουσιών που οδηγεί σε πρόσθετη τοξικότητα στη περίπτωση συνέργειας ή ανταγωνισμού.
- Οι διάφορες περιβαλλοντικές συνθήκες, κυρίως αβιοτικοί παράγοντες οι οποίοι επηρεάζουν την ευαισθησία των οργανισμών στις διάφορες τοξικές ουσίες και επιδρούν στην μορφή και στον τρόπο σύμπλεξης αυτών[72]

Η τοξικότητα ενός μετάλλου είναι ανεξάρτητη από το βιοχημικό του ρόλο, πιο συγκεκριμένα αν είναι απαραίτητο ή όχι. Η τοξικότητα και η βιοδιαθεσιμότητα των μετάλλων είναι δύο παράγοντες οι οποίοι έχουν περιβαλλοντική σημασία όσο αφορά την πρόσληψη των μετάλλων από τους οργανισμούς. Η ταξινόμηση αυτή των στοιχείων αναφέρεται ως: [73]

- Μη επικίνδυνα
- Τοξικά
- Δυσδιάλυτα-Σπάνια
- Πολύ τοξικά-Διαθέσιμα

Σύμφωνα με τους Nieboer και Richardson (1980), ως παράγοντας ταξινόμησης των μετάλλων είναι και η παρουσία των ιόντων των στοιχείων, τα οποία χαρακτηρίζονται ως πολύ τοξικά, ενδιάμεσης και χαμηλής τοξικότητας.[74]

A. πολύ τοξικά	: Au ⁺ , Ag ⁺ , Tl ⁺ , Cu ⁺ , Pd ⁺² , Pt ⁺² , Hg ⁺² , Pb ⁺⁴ , Bi ⁺³
B. ενδιάμεσης τοξικότητας	: Cd ⁺² , Pb ⁺² , Sn ⁺² , Cu ⁺² , Co ⁺² , Fe ⁺² , Ni ⁺² , Cr ⁺² , Ti ⁺² , Zn ⁺² , V ⁺² , Sb, As, Sn ⁺⁴ , Fe ⁺³ , Mn ⁺² , Ga ⁺³
Γ. χαμηλής τοξικότητας	: Ba ⁺² , Sr ⁺² , Mg ⁺² , Sc ⁺³ , σπάνιες γαίες

Εικόνα 12: Ταξινόμηση τοξικότητας μετάλλων.

2.2 Βαρέα Μέταλλα στα Καλλυντικά

Στα καλλυντικά παρατηρείται τον τελευταίο καιρό μία αξιοσημείωτη αύξηση της κατανάλωσης τους, ιδίως των φυσικών σκευασμάτων. Τα καλλυντικά προϊόντα περιλαμβάνουν μια ευρεία γκάμα ειδών, όπως προϊόντα περιποίησης προσώπου και σώματος, όπως κρέμες, λοσιόν, αποσμητικά και σαπούνια, καθώς και έγχρωμα καλλυντικά, όπως κραγιόν, μάσκαρα, σκιές ματιών και βερνίκια νυχιών, μαζί με προϊόντα περιποίησης μαλλιών, όπως σαμπουάν, βαφές μαλλιών, σπρέι και τζελ. Μεταξύ αυτών, τα φυσικά προϊόντα (χέννα, διάφορα καλλυντικά που περιέχουν φυτικά εκχυλίσματα και μέταλλα) καθώς και τα παρασκευάσματα που περιέχουν νανοσωματίδια (ιδίως φίλτρα UV) μπορούν να διακριθούν ως ελκυστικές κατηγορίες. [75], [76][77], [78] [79]

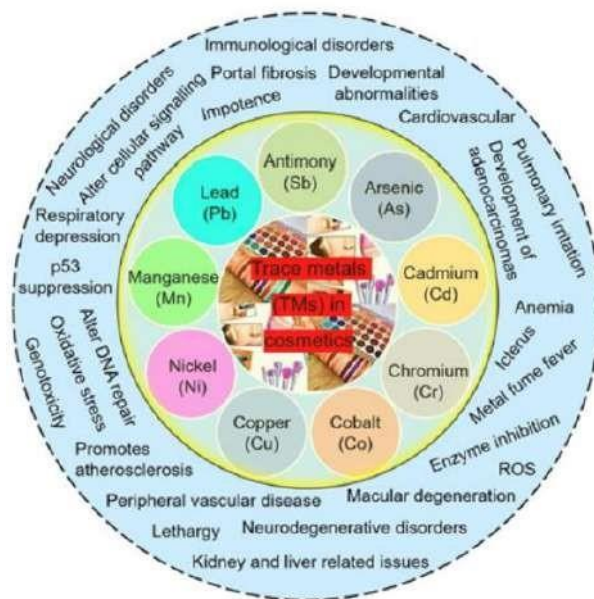
Σύμφωνα με την Ευρωπαϊκή Νομοθεσία των καλλυντικών προϊόντων (ΕΚ 1223/2009) ως «καλλυντικό προϊόν» νοείται κάθε ουσία ή μείγμα που προορίζεται να έλθει σε επαφή με εξωτερικά μέρη του ανθρώπινου σώματος (επιδερμίδα, τριχωτά μέρη του σώματος και της κεφαλής, νύχια, χείλη και εξωτερικά γεννητικά όργανα) ή με τα δόντια και τους βλεννογόνους της στοματικής κοιλότητας, με αποκλειστικό ή κύριο σκοπό τον καθαρισμό τους, τον

αρωματισμό τους, τη μεταβολή της εμφάνισής τους, την προστασία τους, τη διατήρησή τους σε καλή κατάσταση ή τη διόρθωση των σωματικών οσμών.[80]

Εξ ορισμού, όλα τα καλλυντικά που κυκλοφορούν στην αγορά και χρησιμοποιούνται από τους καταναλωτές πρέπει να είναι απολύτως ασφαλή και η τελική ευθύνη για τη διασφάλιση της ασφάλειας αυτών των παρασκευασμάτων ανήκει στους κατασκευαστές, τους διανομείς και τους εισαγωγείς.[81]

Τα καλλυντικά και τα προϊόντα προσωπικής φροντίδας είναι πανταχού παρόντα, με περισσότερες από 12.500 χημικές ουσίες να έχουν αναγνωριστεί από τον FDA (Food & Drug Administration) και να χρησιμοποιούνται ως συστατικά των καλλυντικών.[82][83] Αυτές οι χημικές ουσίες ταξινομούνται σε ένα ευρύ φάσμα ενώσεων όπως η κατηγορία των καρκινογόνων ουσιών, των φυτοφαρμάκων, των τοξινών για την αναπαραγωγή, των ενδοκρινικών διαταρακτών, των πλαστικοποιητών, των απολιπαντικών και των επιφανειοδραστικών ουσιών. Παρά το τεράστιο αυτό φάσμα, μόνο το 20% περίπου αυτών των χημικών ουσιών θεωρείται ασφαλές από τον Έλεγχο Καλλυντικών Συστατικών (CIR) στις ΗΠΑ, ενώ μόλις 11 από αυτές έχουν απαγορευτεί. Αντίθετα, περισσότερες από 1300 χημικές ουσίες έχουν απαγορευτεί ή είναι περιορισμένα στην χρήση τους στην Ευρώπη σύμφωνα με την νομοθεσία (ΕΚ 1223/2009) στην ΕΕ.[84] Βαρέα μέταλλα όπως ο μόλυβδος, ο υδράργυρος, το κάδμιο, το αρσενικό, το νικέλιο, ακόμη και το αργίλιο (που κατατάσσεται στα ελαφρά μέταλλα), ανιχνεύονται συχνά σε διάφορα καλλυντικά, συμπεριλαμβανομένων των έγχρωμων καλλυντικών, των προϊόντων περιποίησης προσώπου και σώματος, των καλλυντικών για τα μαλλιά και των φυτικών καλλυντικών.[85] Αυτά τα μέταλλα μπορεί να περιέχονται στις πρώτες ύλες είτε είναι φυσικές είτε συνθετικές υποβαθμίζοντας την καθαρότητα τους. Σε αυτή την περίπτωση ο ποιοτικός έλεγχος για προσδιορισμό των βαρέων μετάλλων είναι επιβεβλημένος. Άλλη αιτία είναι οι χαλαροί κανονισμοί των κρατών μελών της ΕΕ οι οποίοι όμως εναρμονίστηκαν στην ευρωπαϊκή νομοθεσία και η οποία έχει θέσει αυστηρές προδιαγραφές για τα βαρέα μέταλλα στα καλλυντικά. Είναι εύλογο σε αυτό το σημείο να αναφερθεί ότι βαρέα μέταλλα όπως ο υδράργυρος, ο ψευδάργυρος το τρισθενές χρώμιο επιτρέπεται να χρησιμοποιηθούν στα καλλυντικά με όριο συγκέντρωσης. Το οξείδιο του ψευδαργύρου χρησιμοποιείται ως αντηλιακό φίλτρο με όριο συγκέντρωσης τα 25.000 ppm και τα άλατα του

φαινυλδραργύρου ως συντηρητικό με όριο συγκέντρωσης τα 65ppm. Ωστόσο, ένα καλλυντικό στο οποίο έχει προστεθεί σκόπιμα ως συντηρητικό συστατικό άλας του φαινυλδραργύρου και τυχαία υπάρχει πρόσμιξη υδραργύρου σε κάποια πρώτη ύλη της σύνθεσης του καλλυντικού, αυτό θα είχε ως αποτέλεσμα την υπέρβαση του προβλεπόμενου από την νομοθεσία ορίου συγκέντρωσης (>65ppm) και το προϊόν θα ήταν μη συμμορφούμενο λόγω της αυξημένης συγκέντρωσης του υδραργύρου.[86][87]



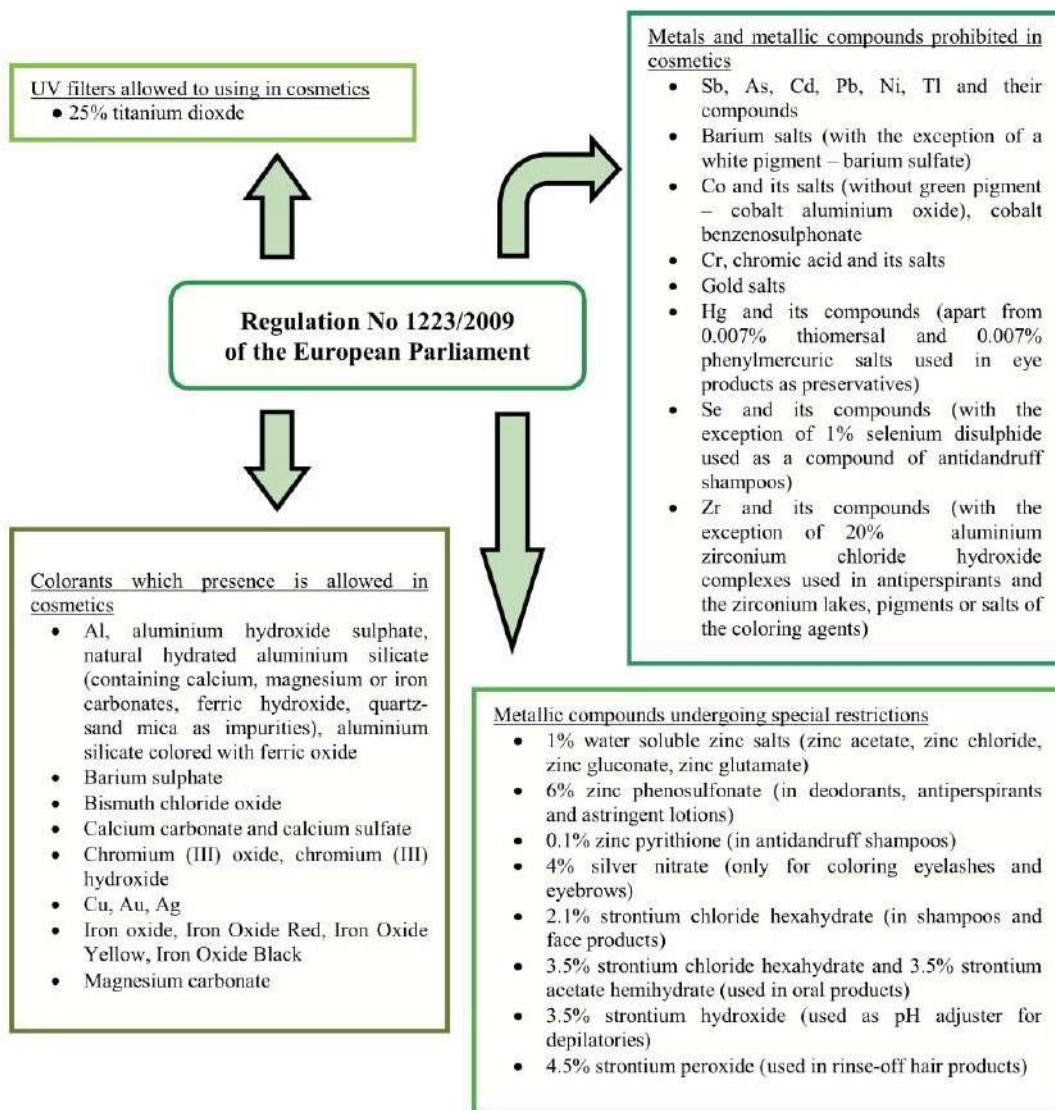
Εικόνα 13: Διάφορες ανεπιθύμητες ενέργειες που ασκούνται από την έκθεση σε Βαρέα Μέταλλα από καλλυντικά[88]

Σύμφωνα με τον κανονισμό αριθ. 1223/2009 που θεσπίστηκε από το Ευρωπαϊκό Κοινοβούλιο και το Συμβούλιο, η παρουσία ορισμένων μετάλλων στα καλλυντικά προϊόντα, τα οποία είναι γνωστό ότι ενέχουν σημαντικούς κινδύνους για την υγεία του ανθρώπου, όπως το κάδμιο (Cd), ο μόλυβδος (Pb), το αρσενικό (As), το νικέλιο (Ni) και ο υδράργυρος (Hg), απαγορεύεται αυστηρά σε όλες τις χώρες της ΕΕ, με περιορισμένες εξαιρέσεις για ορισμένες ενώσεις υδραργύρου [OJEU, 2009]. Ο ψευδάργυρος (Zn), ο άργυρος (Ag) και το στρόντιο (Sr), μεταξύ άλλων, επιτρέπονται υπό συγκεκριμένους περιορισμούς. Ο κανονισμός επιτρέπει της χρήση συμπλόκων υδροξειδίου του γλωριούχου αργιλίου του ζirkονίου (aluminium zirconium chloride hydroxide) (AlxZr(OH)yClz) και συμπλόκων της γλυκίνης υδροξειδίου του γλωριούχου

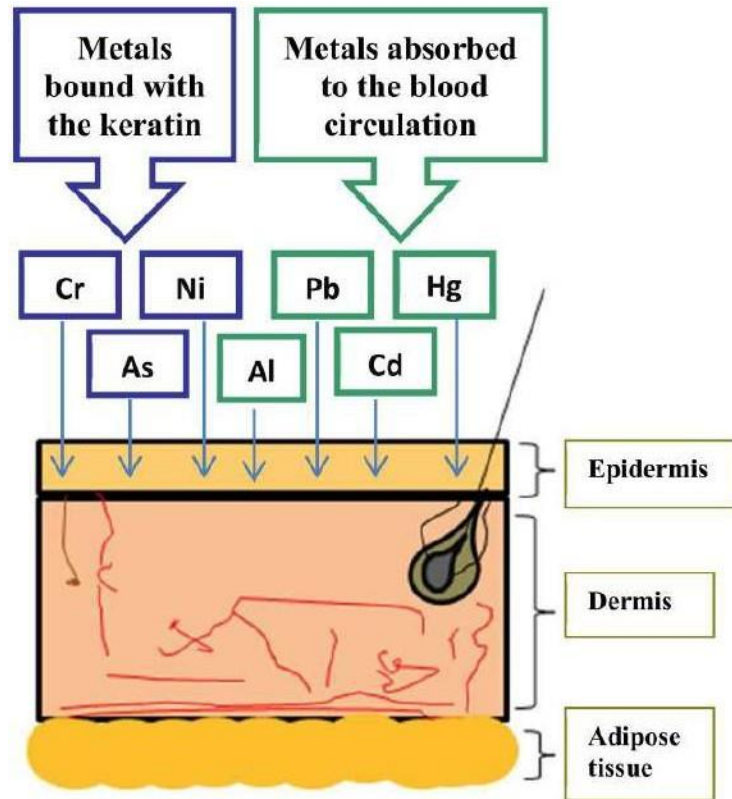
αργιλίου του ζirkονίου (aluminium zirconium chloride hydroxide glycine complexes) σε αντιδρωτικά σε συγκέντρωση 20% ως άνυδρο υδροξείδιο του χλωριούχου αργιλίου του ζirkονίου (as anhydrous aluminium zirconium chloride hydroxide). Ωστόσο, τα αντιδρωτικά που περιέχουν αυτά τα σύμπλοκα αργιλίου δεν πρέπει να εφαρμόζονται σε ερεθισμένο ή τραυματισμένο δέρμα. Επιπλέον, το αργίλιο και ορισμένες από τις ενώσεις του επιτρέπεται να χρησιμοποιούνται ως χρωστικές στα καλλυντικά.[80] Αξίζει να σημειωθεί ότι, σύμφωνα με το άρθρο 17 του κανονισμού (ΕΚ) αριθ. 1223/2009 της ΕΕ, ίχνη απαγορευμένων ουσιών συμπεριλαμβανομένων τοξικών μετάλλων, μπορούν να υπάρχουν στα τελικά καλλυντικά προϊόντα με σκοπούμενη χρήση, όπως αναφέρθηκε στην περίπτωση αλάτων του υδραργύρου ως συντηρητικό και το οξειδίου του ψευδαργύρου ως φυσικό αντηλιακό φίλτρο υπό την προϋπόθεση ότι τα προϊόντα αυτά θεωρούνται ασφαλή για την ανθρώπινη υγεία.

2.3 Απορρόφηση Βαρέων μετάλλων στο δέρμα.

Τα μέταλλα που βρίσκονται στα καλλυντικά έχουν τη δυνατότητα να συσσωρεύονται στο δέρμα και μέσω διαδερμικής απορρόφησης να εισέρχονται στους ιστούς του δέρματος ή και σε βαθύτερα στρώματα με αποτέλεσμα να καταλήγουν στο κυκλοφορικό σύστημα. Μια άλλη οδός απορρόφησης των βαρέων μετάλλων στον οργανισμό μετά από χρήση καλλυντικών προϊόντων, είναι η βλεννογόνος όπως το στόμα η μύτη, τα μάτια και το τριχωτό της κεφαλής. (βλ. Εικόνα 15). Ορισμένα στοιχεία όπως το νικέλιο (Ni), το κοβάλτιο (Co) και το χρώμιο (Cr) συσσωρεύονται στην εξωτερική στιβάδα του δέρματος, γνωστή ως κεράτινη στιβάδα, οδηγώντας δυνητικά σε αλλεργική δερματίτιδα εξ επαφής. [89] Αντίθετα, στοιχεία όπως ο υδράργυρος (Hg), ο μόλυβδος (Pb), το κάδμιο (Cd) και το αργίλιο (Al) διεισδύουν σε βαθύτερα στρώματα του δέρματος, φτάνουν στα αιμοφόρα αγγεία και στη συνέχεια μεταφέρονται σε διάφορα όργανα όπου συσσωρεύονται και προκαλούν τοξικές επιδράσεις.[90][91] Αυξημένες συγκεντρώσεις μολύβδου, καδμίου, υδραργύρου και αργιλίου στο αίμα, στα ούρα ή στα εσωτερικά όργανα έχουν παρατηρηθεί σε άτομα χρήστες που εκτίθενται αποκλειστικά σε μολυσμένα με αυτά τα βαρέα μέταλλα καλλυντικά προϊόντα.[92][91][93][94] Ενώ η απορρόφηση των μετάλλων αυτών από το δέρμα καθυστερεί λόγω του διαδερμικού φραγμού σε άλλες οδούς όπως η κατάποση ή η εισπνοή, η απορρόφηση, πραγματοποιείται με ταχείς ρυθμούς .



Εικόνα 14 Ο κανονισμός αριθ. 1223/2009 του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου σχετικά με την παρουσία μετάλλων και των ενώσεων τους στα καλλυντικά
 [80](Ag,silver;Al,aluminium;As,arsenic;Au,gold;Cd,cadmium;Co,cobalt;Cr,Chromium;Cu,copper;Hg,mercury;Ni,Nickel;Sb,antimony;Sb,selenium;Pb,lead;Tl,thallium;Zr,Zirconium).



Εικόνα 15 Σχηματική αναπαράσταση της συσσώρευσης μετάλλων στο δέρμα και την απορρόφηση τους από το δέρμα. Al: αλουμίνιο, As: αρσενικό, Cd: Κάδμιο, Cr: χρώμιο, Hg: υδράργυρος, Ni: Νικέλιο, Pb: μόλυβδος. [84]

2.4 Ni: Nickel (Νικέλιο)

Το νικέλιο είναι μία από τις προσμίξεις που αναπόφευκτα βρίσκονται σε αρκετά φυσικά συστατικά που χρησιμοποιούνται σε καλλυντικά προϊόντα. Τα περισσότερα από τα άλατα που περιέχουν νικέλιο έχουν πράσινο χρώμα, εξ ου και η πιθανή χρήση του ως χρωστική ουσία. Ωστόσο, το νικέλιο θεωρείται αλλεργιογόνο που μπορεί να προκαλέσει δερματική ευαισθητοποίηση, αλλεργίες και δερματίτιδα [95] με άμεση και παρατεταμένη έκθεση για μεγάλο χρονικό διάστημα. Χρήστες έχουν διαγνωστεί με αλλεργία στο Ni λόγω της παρουσίας του σε τοπικά καλλυντικά προϊόντα. [96] Στην βιβλιογραφία υπάρχουν αναφορές για πρόκληση αλλεργικής δερματίτιδα εξ' επαφής από το Ni που μπορεί να περιέχεται ως πρόσμιξη σε δερμοκαλλυντικά όπως μολύβια ματιών, μάσκαρα, σκιές ματιών. [97] Η αλλεργία από το νικέλιο προσβάλλει περίπου το 13-18% των γυναικών και το 3-6% των ανδρών. [98] Στις Ηνωμένες Πολιτείες περίπου 1,1 εκατομμύρια παιδιά έχουν ευαισθησία στο νικέλιο. [99] Λόγω των διαφορών στην έκθεση, οι γυναίκες επηρεάζονται περισσότερο από την αλλεργία στο νικέλιο

από ό,τι οι άνδρες και αυτό θεωρείται ότι είναι αποτέλεσμα της μεγαλύτερης επαφής με αντικείμενα που περιέχουν νικέλιο, όπως συνδετήρες ρούχων, σκουλαρίκια, ρολόγια, παιχνίδια, τζιν, φτηνά κοσμήματα, τρυπήματα, κοσμήματα ενδυμασίας, σαμπουάν και απορρυπαντικά, χρωστικές ουσίες.[100] Παρά τη δυνητική χρήση των καλλυντικών για την περιποίηση του δέρματος, το Ni που περιέχεται ως πρόσμιξη σε δερμοκαλλυντικά μπορεί να οδηγήσει σε οξειδωτικό στρες και ως εκ τούτου να προκαλέσει την πρόωρη τη γήρανση του δέρματος.[101] Αυτό μπορεί να οφείλεται στην υπερέκφραση των κολλαγενασών στο δέρμα που οδηγεί εκφύλιση του δερματικού φραγμού και στην επακόλουθη απώλεια της ελαστικότητας.[102] Επιπλέον, οι εργαζόμενοι στις βιομηχανίες παραγωγής και επεξεργασίας νικελίου είναι εκτεθειμένοι σε αυτό μέσω εισπνοής και δερματικής επαφής, δημιουργώντας πρόσθετους κινδύνους για την υγεία.

Πέρα από τις δερματολογικές επιπτώσεις του, η επίδραση του νικελίου επιδρά και στην υγεία του αναπνευστικού συστήματος, όπου πιθανολογείται ότι έχει άμεση σχέση με τον καρκίνο του πνεύμονα και τον καρκίνο της μύτης.[103] Ο IARC έχει ταξινομήσει το Ni ως δυνητικά καρκινογόνο για τον άνθρωπο (Ομάδα 2B) και τις ενώσεις του ως καρκινογόνες (Ομάδα 1). [104] Η τοξικότητά του περιλαμβάνει επίσης μια σειρά ανεπιθύμητων ενεργειών, συμπεριλαμβανομένων των πονοκεφάλων, γαστρεντερικών διαταραχών, ίνωσης των πνευμόνων και καρδιαγγειακών παθήσεων[105][106] [107]. Σε πολλά κράτη εκτός ΕΕ έχει θεσπιστεί ως ανώτατο όριο συγκέντρωσης νικελίου τα 5ppm για ορισμένα οικιακά προϊόντα και απορρυπαντικά, αντίστοιχα. Βάση των επιστημονικών δημοσιεύσεων, τα περισσότερα καλλυντικά προϊόντα που κυκλοφορούν στην αγορά, περιέχουν λιγότερο από 1ppm Ni [108][109][110] Το επιτρεπτό όριο συγκέντρωσης νικελίου στην Αίγυπτο συγκεκριμένα είναι 0,20 ppm σύμφωνα με [111] για καλλυντικά προϊόντα όπως είναι οι οδοντόκρεμες. Το νικέλιο και ορισμένα άλατά του απαγορεύονται σε οποιοδήποτε καλλυντικό προϊόν εντός της ΕΕ.[80] Σε αυτά περιλαμβάνονται το μονοξείδιο του νικελίου NiO, το τετρακαρβονικό νικέλιο Ni(CO)₄, το θειούχο νικέλιο NiSO₄, το υδροξείδιο του νικελίου Ni(OH)₂, το ανθρακικό νικέλιο Ni(CO)₃ και το θειικό νικέλιο NiS.

Η αναφορά των επιπτώσεων στην ανθρώπινη υγεία μετά από χρήση δερμοκαλλυντικών μολυσμένα με νικέλιο, είναι η αφορμή για περαιτέρω διερεύνηση του με ποιοτικό έλεγχο έτσι

ώστε να κυκλοφορούν στην αγορά συμμορφούμενα καλλυντικά σύμφωνα με τον ευρωπαϊκό κανονισμό.

2.5. Έρευνες που έχουν διεξαχθεί για τον προσδιορισμό Βαρέων Μετάλλων στα καλλυντικά προϊόντα.

Τις τελευταίες δύο δεκαετίες, στην επιστημονική βιβλιογραφία παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση ερευνητικών άρθρων που ασχολούνται με την ανάλυση καλλυντικών προϊόντων. Οι R., Zhixiong Zhong, Gongke Li και Foster Mesko έχουν διερευνήσει σε επιστημονικές μελέτες διεξοδικά διάφορες αναλυτικές τεχνικές που εφαρμόζονται σε ένα ευρύ φάσμα καλλυντικών ενώσεων, συμπεριλαμβανομένων συντηρητικών, αντιοξειδωτικών, αρωμάτων, φθαλικών ενώσεων και βαρέων μετάλλων. [112]

Συγκεκριμένα, για τον προσδιορισμό βαρέων μετάλλων σε καλλυντικά προϊόντα έχουν αναπτυχθεί και διεξαχθεί μέθοδοι όπως η μέθοδος μικροεκχύλισης υγρού-υγρού (**liquid-liquid microextraction**)(LLME).

Η μικροεκχύλιση υγρού-υγρού (LLME) είναι μια τεχνική προετοιμασίας δειγμάτων που χρησιμοποιείται ευρέως στην αναλυτική χημεία για την εκχύλιση αναλύτων-στόχων από πολύπλοκες μήτρες. Η μέθοδος αυτή περιλαμβάνει συνήθως τον διαχωρισμό των αναλύτων μεταξύ δύο μη μιγνυόμενων υγρών φάσεων: ενός μη μιγνυόμενου με το νερό οργανικού διαλύτη και ενός υδατικού διαλύματος που περιέχει το δείγμα. Ο οργανικός διαλύτης (extractant solvent), εκχυλίζει επιλεκτικά τους αναλύτες στόχους από την υδατική φάση με βάση τους συντελεστές κατανομής τους (partition coefficients). Μετά την εκχύλιση, η οργανική φάση που περιέχει τους αναλύτες διαχωρίζεται απομονώνεται και στην συνέχεια πραγματοποιείται ποιοτικός έλεγχος με αναλυτικές τεχνικές όπως η αέρια χρωματογραφία (GC), η υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC) ή η φασματοσκοπία ατομικής απορρόφησης (AAS). Μελέτες που έχουν γίνει στα καλλυντικά αναφέρουν εφαρμογή της DLLME για την ανίχνευση βισμούθιου (Bi) σε διάφορα δείγματα, συμπεριλαμβανομένων των τριχοβαφών. Η διαδικασία περιλαμβάνει την πέψη του δείγματος με νιτρικό και υπερχλωρικό οξύ, και στην συνέχεια εκχύλιση των ιόντων Bi(III) με χρήση κρυσταλλικού ιώδους, αιθανόλης ως διαλύτη διασποράς και χλωροφορμίου ως διαλύτη εκχύλισης. Μετά τη φυγοκέντρωση, η χλωροφορμιακή φάση που περιείχε τα συμπλοκοποιημένα ιόντα, ελήφθη ως δείγμα για τον προσδιορισμό της

συγκέντρωσης βισμούθιου με τη χρήση ατομικής φασματομετρίας απορρόφησης σε φλόγα (FAAS). [113]

Στην συνέχεια, διεξήχθησαν δύο μελέτες χρησιμοποιώντας DLLME για την διερεύνηση της συγκέντρωσης ιόντων καδμίου και νικελίου σε διάφορα καλλυντικά προϊόντα.[114] [115] Στην πρώτη μελέτη αναλύθηκαν δείγματα καλλυντικών όπως κραγιόν, ενυδατικές κρέμες, λοσιόν και προϊόντα μακιγιάζ. Μετά την διεργασία χώνευσης το υπόλειμμα κατεργάστηκε με μεθανόλη και γλωφοφόρμιο ως διαλύτες διασποράς και εκχύλισης, αντίστοιχα, μαζί με methyl-5-[(Z)-pyridin-4-yl-diazenylquinolin-8-ol (MPQ) ως χηλικό αντιδραστήριο (chelating reagent). Ταυτόχρονα ρυθμίστηκε το pH στο 8, με χρήση $\text{NH}_3/\text{NH}_4\text{Cl}$. Σε δεύτερη μελέτη που ακολούθησε, προσδιορίστηκε η συγκέντρωση νικελίου σε κραγιόν, lip gloss, κρέμες χεριών και αφρούς ξυρίσματος. Η μεθοδολογία ήταν ανάλογη με την προηγούμενη προσέγγισή τους, αλλά με τη χρήση του χηλικού παράγοντα 5-[(Z)-isoxazol-3-yl-diazenyl]-2-methyl-quinolin-8-ol (MMD) αντί του MPQ. Και οι δύο μελέτες περιλάμβαναν πέψη του δείγματος με νιτρικό οξύ (HNO_3) και υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2), ενώ ο προσδιορισμός των ιόντων μετάλλων πραγματοποιήθηκε με φασματομετρία ατομικής απορρόφησης σε φλόγα (FAAS).

Οι Fattahi et al. χρησιμοποίησαν την τεχνική DLLME για την ανάλυση της περιεκτικότητας σε μόλυβδο (Pb) σε κραγιόν και τριχοβαφές. Η διεργασία περιλάμβανε όξινη χώνευση των δειγμάτων με τη χρήση μικροκυμάτων (microwave-assisted acid digestion), και στην συνέχεια χηλίωση των ιόντων μολύβδου με διαιθυλδιθειοφωσφορικό οξύ (diethyldithiophosphoric acid) (DDTP). Χρησιμοποιήθηκε διαλύτης εκχύλισης 1-ενδεκανόλη και διαλύτης διασποράς ακετόνη, επιτυγχάνοντας την εκχύλιση του μολύβδου υπό μορφή αιωρούμενων σταγονιδίων στο υδατικό διάλυμα. Τα σταγονίδια αυτά στερεοποιήθηκαν κατά την ψύξη και στη συνέχεια υποβλήθηκαν σε ποσοτικό προσδιορισμό του μολύβδου (Pb) με τη μέθοδο ατομικής απορρόφησης σε φούρνο γραφίτη (GFAAS).[116]

Άλλη εναλλακτική τεχνική για τον προσδιορισμό των βαρέων μετάλλων σε καλλυντικά προϊόντα, βασίζεται σε μία έρευνα στην οποία χρησιμοποιείται εκχύλιση στερεάς φάσης (SPE) με νανοσωλήνες άνθρακα επικαλυμμένες με επιτεταρτοξείδιο του σιδήρου (Fe_3O_4) που έχει μαγνητικές ιδιότητες. Οι Algadami et al. εφάρμοσαν την μέθοδο για την ανίχνευση αρσενικού

(As), καδμίου (Cd), βισμούθιου (Bi), μολύβδου (Pb) και τιτανίου (Ti) σε λευκαντικές κρέμες. Η διεργασία αυτή περιλαμβάνει αρχικά την πέψη των δειγμάτων με τη χρήση οξέος, σε φούρνο μικροκυμάτων. Στην συνέχεια το χωνεμένο υπόλειμμα εκλούεται με διαλύτη έκλουσης σε μια μικροστήλη. Η μικροστήλη, η οποία αποτελείται από νανοσωλήνες άνθρακα στερεάς φάσης με πολλαπλές επικαλύψεις (Fe_3O_4), δεσμεύει επιλεκτικά μεταλλικά ιόντα, με αποτέλεσμα τον εμπλουτισμό του δείγματος. Στη συνέχεια, τα προσροφημένα από την στατική φάση ιόντα εκλούνται με χρήση νιτρικού οξέος και η ανάλυση πραγματοποιείται με οπτικής φασματομετρίας εκπομπής επαγωγικά συζευγμένου πλάσματος (ICP-OES). [42][117]

Μέθοδοι όπως η SPE και SPME αφενός έχουν διευρυνθεί ερευνητικά στον προσδιορισμό βαρέων μετάλλων, αφετέρου εκλείπουν στα καλλυντικά προϊόντα με εξαίρεση την έρευνα των Ayoub, A. et al. Οι έρευνες αυτές έχουν εστιαστεί σε τομείς που αφορούν υγρά απόβλητα, φυσικά ύδατα, εδάφη και τρόφιμα. [118][119][120][121][122]

Όπως προαναφέρθηκε, έρευνες για τον προσδιορισμό των βαρέων μετάλλων με SPME και SPE δεν έχουν πραγματοποιηθεί στα καλλυντικά προϊόντα παρά μόνο σε μελέτες για τον προσδιορισμό parabens και συντηρητικών με μεθόδους προσδιορισμού SPME-HPLC, SPE-HPLC, SPE-FAAS[123][124][125][126]

2.5 SPME-HPLC ως εναλλακτική μέθοδος για τον προσδιορισμό Νικελίου (Ni) σε καλλυντικά προϊόντα.

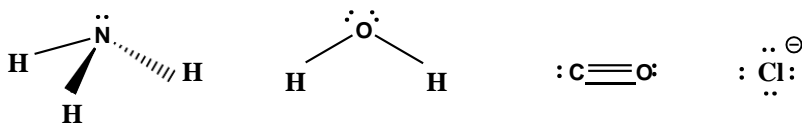
Ο προσδιορισμός των βαρέων μετάλλων στα καλλυντικά προϊόντα είναι υψίστης σημασίας λόγω των δυνητικών κινδύνων για την υγεία κατά την έκθεση του ανθρώπου. Ενώ έχουν χρησιμοποιηθεί διάφορες αναλυτικές τεχνικές για το σκοπό αυτό, στην διεθνή βιβλιογραφία δεν υπάρχουν αναφορές εφαρμογής της μικροεκχύλισης στερεάς φάσης (SPME) σε συνδυασμό με υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC) Αυτό αποτελεί ένα κίνητρο για την διερεύνηση μιας νέας μεθόδου προσδιορισμού των βαρέων μετάλλων στα καλλυντικά.

Η SPME προσφέρει αρκετά πλεονεκτήματα που την καθιστούν μια πολλά υποσχόμενη τεχνική για την ανάλυση βαρέων μετάλλων στα καλλυντικά. Είναι μια μέθοδος με χρήση ελάχιστων ποσοτήτων διαλυτών, γρήγορη και οικονομικά αποδοτική, η οποία επιτρέπει την εκχύλιση αναλύτων από πολύπλοκες μήτρες με υψηλή ευαισθησία και εκλεκτικότητα. Με τη χρήση της SPME, η διαδικασία προκατεργασίας του δείγματος μπορεί να απλοποιηθεί, μειώνοντας έτσι τον χρόνο ανάλυσης και ελαχιστοποιώντας τον κίνδυνο περιβαλλοντικής μόλυνσης.

Η σύζευξη της SPME με την HPLC θα μπορούσε περαιτέρω να ενισχύσει τις αναλυτικές δυνατότητες που εφαρμόζονται σήμερα, επιτρέποντας τον διαχωρισμό και τον ποσοτικό προσδιορισμό των βαρέων μετάλλων στα καλλυντικά.

3. Υποκαταστάτες (ligands)

Ένα μεταλλοίον σε ένα διάλυμα δεν υφίσταται ποτέ μεμονωμένο (γυμνό), αλλά σε συνδυασμό με τα μόρια διαλύτη ή άλλα συνυπάρχοντα στο διάλυμα μόρια ή ιόντα, δημιουργεί σύμπλοκες ενώσεις. Τα μόρια του διαλύτη ή άλλων ιόντων ή και ουδέτερων μορίων χαρακτηρίζονται ως υποκαταστάτες (ligands-:L). Οι σύμπλοκες ενώσεις αποτελούνται από ένα κεντρικό άτομο ή ιόν μετάλλου, συχνά ένα μέταλλο μετάπτωσης, και μία ομάδα ιόντων ή ουδέτερων μορίων που το περιβάλλουν. Ένα ουδέτερο μόριο ή ιόν για να λειτουργήσει ως υποκαταστάτης πρέπει να διαθέτει ένα τουλάχιστον δεσμικό ζεύγος ηλεκτρονίων.[127].



Σχήμα 1: Υποκαταστάτες με τα ελεύθερα ζεύγη ηλεκτρονίων (α) Αμμωνία, (β) Νερό, (γ) Μονοξείδιο του άνθρακα, (δ) ιόν χλωρίου

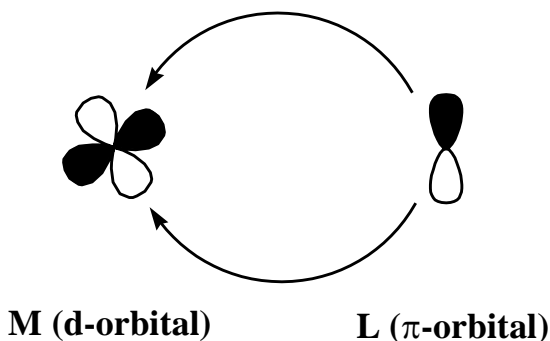
Ιστορικά, ο όρος ligand προέρχεται από τη λατινική λέξη ligare (που σημαίνει δεσμεύω) και χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά από τον Alfred Stock το 1916 σε σχέση με τη χημεία του πυριτίου.

Οι υποκαταστάτες δρουν ως βάσεις κατά Lewis (δότες ζεύγους ηλεκτρονίων) και το κεντρικό άτομο δρα ως οξύ κατά Lewis (δέκτης ζεύγους ηλεκτρονίων) (Σχήμα...2.).



Σχήμα 2: Σχηματισμός Συμπλόκων κατά Lewis

Ο υποκαταστάτης (:L) προσφέρει ένα δεσμικό ζεύγος ηλεκτρονίων σε ένα d-τροχιακό του κεντρικού ατόμου (M^{n+}) (Σχήμα 3.) και ο δεσμός που σχηματίζεται ονομάζεται δοτικός ομοιοπολικός δεσμός ή ομοιοπολικός δεσμός σύνταξης. [128]

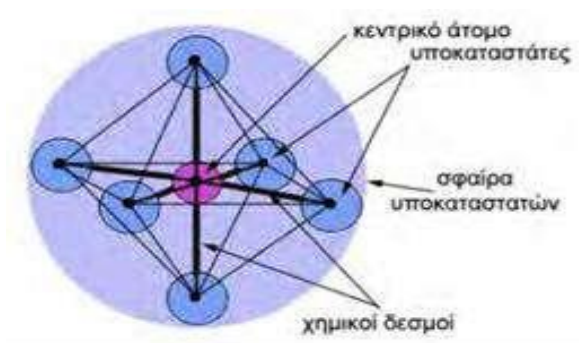


Σχήμα 3: Σχηματισμός ομοιοπολικού δεσμού

3.1 Σύμπλοκα ένταξης (συναρμογής)

Σε ένα σύμπλοκο ένταξης, ένα κεντρικό άτομο ή ιόν μετάλλου εντάσσεται από ένα ή περισσότερους υποκαταστάτες σχηματίζοντας δεσμούς ένταξης με το κεντρικό άτομο. Άτομα στους υποκαταστάτες που ενώνονται απευθείας με το κεντρικό άτομο ή ιόν είναι άτομα δότες. Ο αριθμός των υποκαταστατών ονομάζεται αριθμός ένταξης.[129]

Η πρώτη σύμπλοκη ένωση συντέθηκε το 1798 από τον Τάσερτ (M. Tassaert) κατά τη διοχέτευση αέριας αμμωνίας (NH_3) μέσα από ένα διάλυμα χλωριούχου κοβαλτίου (CoCl_3).



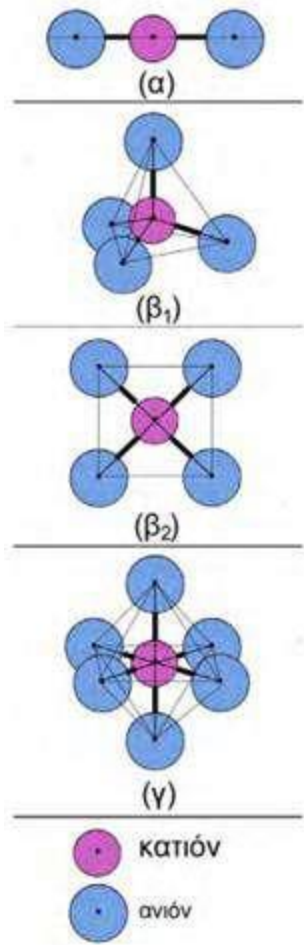
Εικόνα 16 Οκταεδρικό σύμπλοκο, οι συμμετέχοντες υποκαταστάτες και το κεντρικό άτομο

3.1.2 Γεωμετρία των συμπλόκων.

Η τιμή του αριθμού μοριακής σύνταξης καθορίζει (Εικόνα 17), τη γεωμετρία του συμπλόκου.

Έτσι, όταν:

- $n=2$ το σύμπλοκο χαρακτηρίζεται από γραμμική διάταξη (Εικόνα 17.α).
- $n=4$ το σύμπλοκο παρουσιάζει τετραεδρική (Εικόνα 17.β₁) είτε επίπεδη τετραγωνική διάταξη (Εικόνα 17.β₂).
- $n = 6$ το σύμπλοκο χαρακτηρίζεται από οκταεδρική διάταξη (Εικόνα 17.γ)



Εικόνα 17: Συνήθειες γεωμετρικές διατάξεις των συμπλόκων.

3.1.3 Ηλεκτρικό φορτίο και συμβολισμός των συμπλόκων.

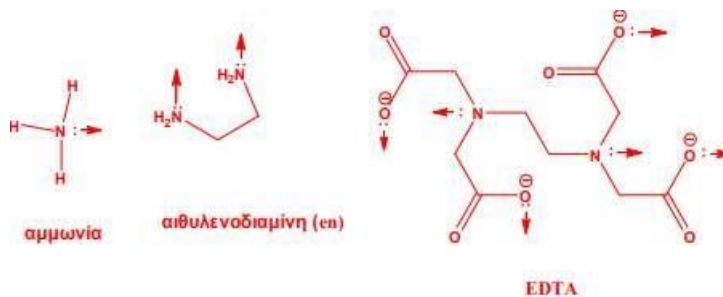
Το ηλεκτρικό φορτίο ενός συμπλόκου είναι ίσο προς το αλγεβρικό άθροισμα των φορτίων του κεντρικού ατόμου και των υποκαταστατών. Έτσι, το σύμπλοκο τελικά μπορεί να φέρει θετικό ηλεκτρικό φορτίο (κατιόν), αρνητικό φορτίο (ανιόν) ή να είναι ηλεκτρικά ουδέτερο. Για το συμβολισμό του, το σύμπλοκο (κατιοντικό, ανιοντικό ή ουδέτερο) τοποθετείται μέσα σε αγκύλες, ενώ πάνω και δεξιά – με τη μορφή εκθέτη – αναγράφεται (όταν δεν είναι 0) η τιμή φορτίου του.

Παραδείγματα:

- $\text{Ag}^+ + 2\text{NH}_3 \rightarrow [\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$ (κατιοντικό σύμπλοκο)
- $\text{Fe}^{2+} + 6\text{CN}^- \rightarrow [\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ (ανιοντικό σύμπλοκο)
- $\text{Pt}^{2+} + 2\text{NH}_3 + 2\text{Cl}^- \rightarrow [\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{Cl})_2]$ (ουδέτερο σύμπλοκο)

3.1.4 Κατηγορίες Υποκαταστατών

Όπως ήδη αναφέρθηκε, οι υποκαταστάτες μπορεί να είναι ανιόντα ατόμων, ουδέτερα ή και φορτισμένα μόρια. Μπορούν να χαρακτηριστούν περαιτέρω ως μονοδοντικοί, διδοντικοί, τριδοντικοί ή πολυδοτικοί υποκαταστάτες κ.λπ. Όταν ένας υποκαταστάτης συνδέεται με το κεντρικό άτομο του μετάλλου, καταλαμβάνει μία θέση σύνταξης και τότε εκφράζεται ως μονοδοντικός ή μονοσχιδής. Όταν όμως καταλαμβάνει περισσότερες από μία θέσεις σύνταξης, ονομάζεται πολυδοντικός ή πολυσχιδής.[131]

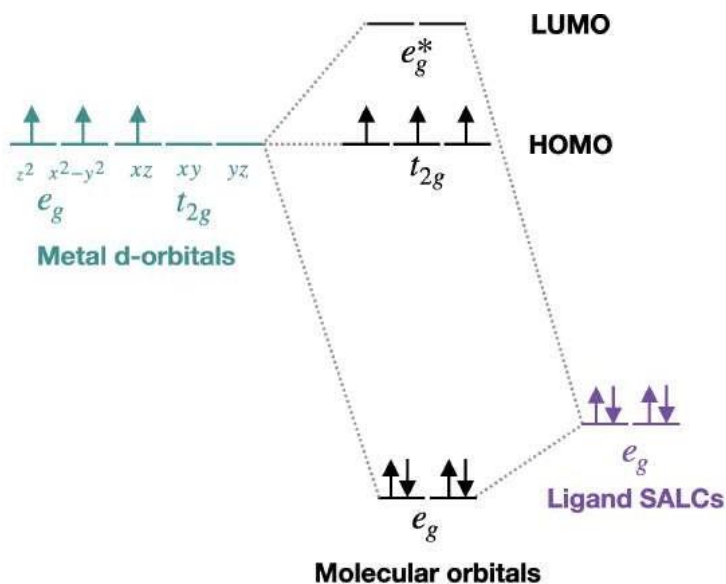


Εικόνα 18 Μονοδοντικός υποκαταστάτης (αμμωνία), διδοντικός υποκαταστάτης (en), εξαδοντικός υποκαταστάτης (EDTA)

3.1.5 Ηλεκτρονιακές επιδράσεις των υποκαταστατών επί του κεντρικού ατόμου των συμπλόκων.

Σύμφωνα με την θεωρία των μοριακών τροχιακών (**MO-Theory**), ένας οργανικός υποκαταστάτης αποτελείται από μοριακά τροχιακά (MO orbitals). Τα ζεύγη ηλεκτρονίων των δεσμών μεταξύ των ατόμων που συνδέονται μεταξύ τους καθώς και μη δεσμικά ηλεκτρόνια, είναι κατανεμημένα σε σ -τροχιακά, π -τροχιακά και n -τροχιακά ενώ υπάρχουν και π^* , σ^* αντιδεσμικά τροχιακά.

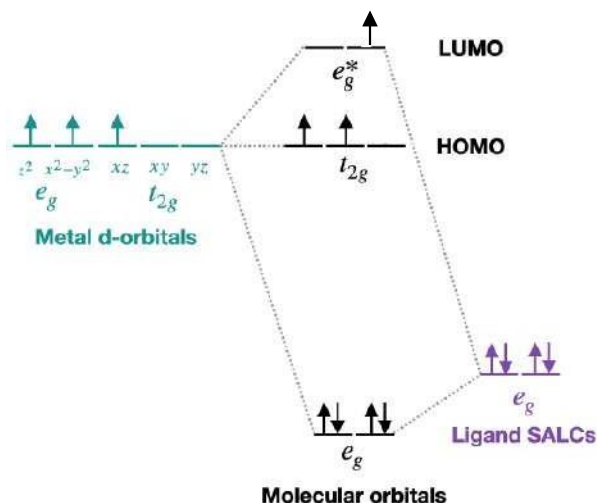
Η θεωρία του πεδίου των υποκαταστατών (**Ligand-Field Theory**) εξηγεί τις ηλεκτρονικές αλληλεπιδράσεις των μοριακών τροχιακών των υποκαταστατών με τα d τροχιακά των μετάλλων μετάπτωσης και τον σχηματισμό των σύμπλοκων ενώσεων. Όταν οι ελεύθεροι υποκαταστάτες πλησιάσουν στην κατεύθυνση των αξόνων των d-τροχιακών [dx^2 , $d(x^2-y^2)$, dxz , dxz , dyz] ενός μεταλλοϊόντος, τα κατειλημμένα με ζεύγη ηλεκτρονίων σ-MO ή π-MO των υποκαταστατών εξασκούν ηλεκτροστατικές δυνάμεις επί των d τροχιακών. Το αποτέλεσμα είναι τα d τροχιακά να εκφυλισθούν σε τρία ισοενεργειακά μοριακά τροχιακά (t_{2g}) με τα d τροχιακά και σε δύο υψηλότερης ενέργειας μοριακά τροχιακά (e_g^*). Από αυτήν την αλληλεπικάλυψη των d τροχιακών με τα σ-MO ή π-MO των υποκαταστατών, σχηματίζονται επίσης δύο χαμηλότερης ενέργειας μοριακά τροχιακά (e_g). Η πλήρωση των ηλεκτρονίων στα MO πραγματοποιείται σύμφωνα με την αρχή του Pauli από το χαμηλότερης ενέργειας τροχιακό. Το υψηλότερο κατειλημμένο με ηλεκτρόνια μοριακό τροχιακό ονομάζεται **HOMO** και το χαμηλότερο μη κατειλημμένο μοριακό τροχιακό ονομάζεται **LUMO** (Σχήμα 4).



Σχήμα 4: Αναπαράσταση μοριακών τροχιακών HOMO και LUMO

Όταν μια σύμπλοκη ένωση αλληλοεπιδράσει με ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία, απορροφά ενέργεια μήκους κύματος $h\nu$ και ίση με την διαφορά ενέργειας μεταξύ LUMO-HOMO, τότε παρατηρείται μεταπήδηση ενός ηλεκτρονίου από το HOMO στο LUMO (**Σχήμα 5**). Αυτή η διέγερση και στην συνέχεια αποδιέγερση του ηλεκτρονίου καταγράφεται με ένα UV-φάσμα ως ταινία απορρόφησης. Ωστόσο, σε ένα σύμπλοκο μπορούν συμβούν περισσότερες διεγέρσεις

ηλεκτρονίων από το HOMO σε άλλα αντιδεσμικά τροχιακά (π^* , σ^*) και συνεπώς να παρατηρούνται περισσότερες απορροφήσεις. [130]



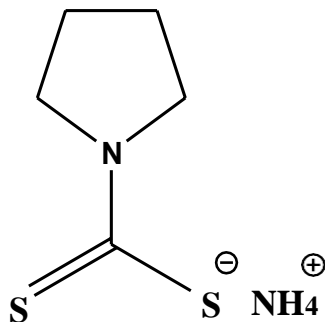
Σχήμα 5: Μεταπήδηση ενός ηλεκτρονίου από το τροχιακό HOMO στο LUMO.

3.3 Διθειοκαρβαμιδικό πυρρολιδινικό αμμώνιο [APDC]

Το διθειοκαρβαμιδικό πυρρολιδινικό αμμώνιο (APDC) [$C_5H_9NS_2 \cdot NH_3$] (Ammonium pyrrolidinedithiocarbamate), χρησιμοποιείται ευρέως στην αναλυτική χημεία ως υποκαταστάτης, χρησιμεύοντας κυρίως ως χηλικός παράγοντας για την εκχύλιση και την δέσμευση ιόντων μετάλλων από πολύπλοκες μήτρες.[132] Ανήκει στην κατηγορία των διθειοκαρβαμιδικών ενώσεων (DTC), οι οποίες είναι οι πιο συχνά χρησιμοποιούμενοι χηλικοί παράγοντες, δεδομένου ότι αντιδρούν με πολλά βαρέα μέταλλα σχηματίζοντας χηλικές ενώσεις. Αυτές απορροφούν έντονα στην περιοχή του υπεριώδους (UV).[133] Η διθειοκαρβαμιδική ομάδα ($-S_2CNR_2$), έχει μεγάλη εφαρμογή τα τελευταία χρόνια λόγω της ικανότητας της να συμπλέκεται ισχυρά ως δίδοντικός υποκαταστάτης με τα μέταλλα μετάπτωσης. [134][135]

Το APDC, σχηματίζει θερμοδυναμικά σταθερά σύμπλοκα με τα ιόντα των μετάλλων μετάπτωσης.[136] . Έχει ευρεία εφαρμογή σε τεχνικές όπως η εκχύλιση υγρού-υγρού (LLE) και η εκχύλιση στερεάς φάσης (SPE) [137][138] και ανήκει στους ευρέως χρησιμοποιούμενους

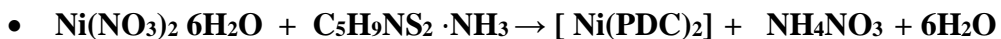
υποκαταστάτες στον προσδιορισμό και ανίχνευσης μετάλλων, σε περιβαλλοντικές μελέτες και στην αναλυτική χημεία.[139][119]



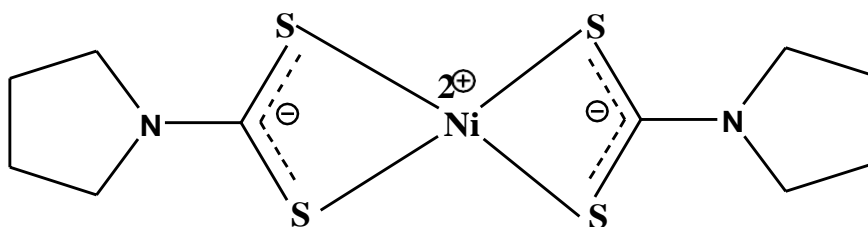
Εικόνα 19: Χημική ένωση APDC

3.4 [Ni(PDC)₂]

Το σύμπλοκο [Ni(PDC)₂] στην συγκεκριμένη πειραματική εργασία χαρακτηρίζεται από ηλεκτρική ουδετερότητα. Η αντίδραση συμπλοκοποίησης πραγματοποιείται με την επίδραση εξαένυδρου νιτρικού νικελίου (II) [Ni(NO₃)₂ · 6H₂O] και πυρρολιδινικό διθειοκαρβαμιδικό αμμώνιο με αποτέλεσμα τον σχηματισμό του δις(πυρρολιδινοδιθειοκαρβαμιδικό)νικελίου [Ni(PDC)₂], νιτρικού αμμωνίου (NH₄NO₃) και νερό.



Σύμφωνα με την αντίδραση, το ιόν του νικελίου, (Ni²⁺) προσβάλλεται από δύο υποκαταστάτες PDC (Σχήμα 6) και το σχηματιζόμενο σύμπλοκο χαρακτηρίζεται από επίπεδη τετραγωνική γεωμετρία.

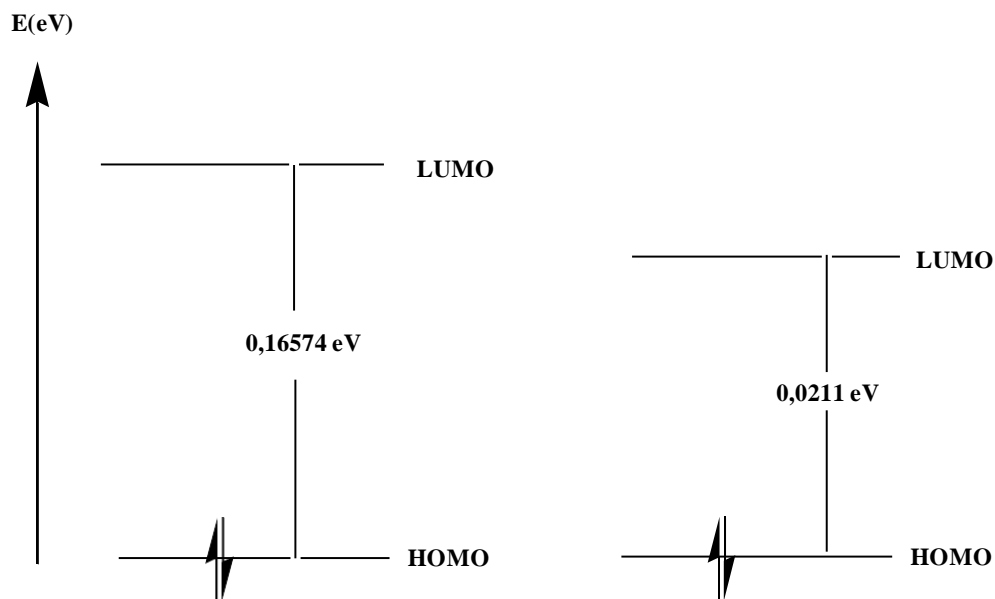


Σχήμα 6: Επίπεδη τετραγωνική η συμμετρία του συμπλόκου $Ni(PDC)_2$.

Η πυρηνόφιλη προσβολή του ιόντος του νικελίου πραγματοποιείται από τις τέσσερις (4) θειομάδες των διθειοκαρβαμιδικών ομάδων Η τιμή του αριθμού μοριακής σύνταξης καθορίζει (όπως προαναφέρθηκε στην **ενότητα 3.1.2**) και την γεωμετρία του συμπλόκου.[129] Το σύμπλοκο φέρει δύο εσωτερικά αρνητικά φορτία των διθειοκαρβαμιδικών ομάδων τα οποία είναι απεντοπισμένα στα δύο άτομα του θείου της δομής S-C-S. Επιπλέον το ιόν του νικελίου έχει δύο (2) θετικά φορτία. Τα εσωτερικά φορτία του συμπλόκου δημιουργούν δομή εσωτερικού άλατος με αποτέλεσμα αφενός μεν η διαλυτότητα του συμπλόκου να είναι χαμηλή σε απρωτικούς, και πρωτικούς διαλύτες αφετέρου το σημείο τήξης (αποσύνθεση) του να κυμαίνεται στους 243 °C.

Προκειμένου να επεξηγηθούν οι ηλεκτρονιακές διεγέρσεις του $Ni(PDC)_2$ κατά την απορρόφηση UV-ακτινοβολίας, χρησιμοποιείται το μοντέλο των μοριακών τροχιακών (MO) και το μοντέλο του πεδίου των υποκαταστατών όπως ήδη αναφέρθηκε .

Ο υποκαταστάτης L (PDC) σύμφωνα με το μοντέλο των MO, περιέχει ένα δοτικό ζεύγος ηλεκτρονίων σε π-MO τροχιακό στη θέση HOMO και εντοπίζεται στην ομάδα C-S. Η διαφορά ενέργειας HOMO-LUMO ($\pi \rightarrow \pi^*$) του PDC είναι 0,16574 eV. Όταν το PDC σχηματίσει το σύμπλοκο $Ni(PDC)_2$, το π-ζεύγος των ηλεκτρονίων του PDC εντοπίζεται στο Ni και στην ομάδα C-S και η ενεργειακή διαφορά HOMO-LUMO ($\pi \rightarrow \pi^*$) είναι 0,0211 eV. Το αποτέλεσμα είναι η UV απορρόφηση του υποκαταστάτη να είναι στα 354 nm και του $Ni(PDC)_2$ και 387 nm ($\pi \rightarrow \pi^*$). Στο σύμπλοκο υπάρχει και επιπλέον UV απορρόφηση στα 325 nm ($n \rightarrow \pi^*$).[140]



Σχήμα 7: Ενεργειακό διάγραμμα HOMO-LUMO του PDC και του Ni(PDC)₂

Ο σχηματισμός του Ni(PDC)₂ έχει μελετηθεί εκτενώς στον τομέα της χημείας των ενώσεων συναρμογής και της αναλυτικής χημείας. Χρησιμοποιείται συχνά σε διάφορες αναλυτικές τεχνικές για τον προσδιορισμό ιόντων νικελίου σε διάλυμα. Επιπλέον, τα σύμπλοκα Ni(PDC)₂ έχουν χρησιμοποιηθεί σε εργασίες που σχετίζονται με την περιβαλλοντική έρευνα και την ανάπτυξη αναλυτικών μεθόδων για την ανάλυση βαρέων μετάλλων [141] Πιο συγκεκριμένα, μια επιστημονική δημοσίευση αφορά τη χρήση SPE για την ανάλυση των βαρέων μετάλλων Pb(II), Ba(II), Mn(II), Cr(III), Ni(II), Cu(II), Hg(II), Zn(II), Fe(III) και Co(II) μετά το σχηματισμό χηλικών ενώσεων με το (PDC). Τα σύμπλοκα χρωματογραφήθηκαν και ανιχνεύθηκαν στην συνέχεια με HPLC-UV. [133] Σε μία άλλη έρευνα, πραγματοποιήθηκε εκχύλιση με APDC και 2,6-διμέθυλο-4-επτανόνη για τον προσδιορισμό 10 μετάλλων (V, Cr, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, MO, Cd, Pb) σε υγρά απόβλητα και φυσικά νερά. Ο προσδιορισμός γίνεται με ταυτόχρονη εκχύλιση με διαλύτη και στην συνέχεια με αναλυτική μέθοδο της φασματοσκοπίας ατομικής απορρόφησης σε φλόγα (FAAS).[142]

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

4 ΚΕΦΑΛΑΙΟ: ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

4.1 Αντιδραστήρια-Σκεύη-Όργανα Εργαστηρίου

4.1.1 Αντιδραστήρια

Στον Πίνακα 3. είναι αναρτημένες οι πρώτες ύλες που χρησιμοποιήθηκαν για την παρασκευή των συμπλόκων.

Πίνακας 3: Πρώτες ύλες πειραματικού σταδίου

ΠΡΩΤΕΣ ΥΛΕΣ (ΕΜΠΟΡΙΚΑ ΟΝΟΜΑΤΑ)	ΠΡΩΤΕΣ ΥΛΕΣ (INCI ΟΝΟΜΑΤΑ)	ΟΙΚΟΣ
ΑΠΙΟΝΙΣΜΕΝΟ ΝΕΡΟ	Aqua	
H ₂ O (HPLC)	Aqua for HPLC	Chem Lab NV
ACN (HPLC)	Acetonitrile for HPLC	Chemsolute
Ni(NO ₃) ₂ · 6H ₂ O	Nickel Nitrate Hexahydrate	Sigma Aldrich Co.
APDC	Ammonium pyrrolidine dithiocarbamate	Sigma Aldrich co.
HCL 37%w/w	Hydrogen Chloride	Panreac Quimica Sau
CH ₃ COOH (παγόμορφο)	Acetic acid	Carlo Erba Reagents
CH ₃ COONH ₄	Ammonium acetate	Sigma Aldrich Co.
HNO ₃ 65%w/w	Nitric acid	
MeOH	Methanol	Fisher Chemical
DMSO	Dimethyl Sulfoxide	
DMF	N,N-Dimethymethanamide	
CaCl ₂	Calcium Chloride	
NaCL	Natrium Chloride	
KBr	Potassium Bromide	Fluka
H ₂ O ₂ 30%w/w	Hydrogen Peroxide	

4.1.2 Σκεύη εργαστηρίου

Για την παρασκευή των συμπλόκων χρησιμοποιήθηκαν τα εξής εργαστηριακά σκεύη:

1. Ποτήρια ζέσεως 400mL, 100mL, 50mL
2. Ογκομετρικές φιάλες 100mL, 50mL, 25mL, 10mL, 5mL
3. Κωνικές φιάλες 100mL, 50mL
4. Χωνί γυάλινο
5. Γυάλινη ράβδος ανάδευσης
6. Ογκομετρικός κύλινδρος 100mL, 500ml
7. Συσκευή διήθησης με κύπελλο φίλτρου 300ml, πυρήνα άμμου 40 χιλιοστών και σφιγκτήρα και φιάλη κενού 1000mL η οποία, στο πλαϊνό τοίχωμα, φέρει υποδοχή για τη σύνδεση σωλήνα κενού
8. Σπάτουλα εργαστηρίου διπλή
9. Ιγδίο πορσελάνης με ύπερο
10. Μηχανικές πιπέτες μεταβλητού όγκου 100-1000μL , 10-100μL
11. Πιπέτες Pasteur πλαστικές
12. Αριθμημένα σιφόνια των 5mL, 10mL και σιφόνια πληρώσεως των 5mL, 10mL
13. Υδροβολέας
14. Γυάλινα φιαλίδια (vial) 4mL με βιδωτό πάμα
15. Πτυχωτός ηθμός
16. Πεχαμετρικά χαρτάκια (pH 0-14 MACHEREY-NAGEL)
17. Πεχαμετρικό χαρτί ταινία 1-14pH 5m
18. Ύαλοι ωρολογίου
19. Ξηραντικός σωλήνας με χλωριούχο ασβέστιο
20. Ξηραντήρας γυάλινος με υποδοχή για κενό
21. Μαγνητάκια ανάδευσης
22. Κυψελίδες γυάλινες Hellma
23. Φιάλες παροχής κινητής φάσης 500mL
24. Γυάλινη σύριγγα Hamilton για εισαγωγή δείγματος στην HPLC (Model 705 LT 50 μL)
25. Ηθμοί μίας χρήσης (Filtering Flash with NS 45/10, 1000mL)

26. Ηθμός (Whatman 0,45 μm), Filter circles διαμέτρου 150mm

4.1.3 Όργανα

Τα εργαστηριακά όργανα που χρησιμοποιήθηκαν είναι:

1. Ηλεκτρονικός ζυγός ακριβείας της εταιρείας KERN
2. Φασματοφωτόμετρο UV JASCO V-630
3. FTIR-8300 SHIMADZU Spectrophotometer
4. Σημείο τήξης Griffin
5. HPLC-UV-Vis (Ultimate 3000)
6. Συσκευή Υπερήχων Elma Sonic S 60
7. Υδραργυρικό Θερμόμετρο (0-260°C)
8. Εστία θέρμανσης με μαγνητικό αναδευτήρα IKA WERKE
9. Fibers (SPME LC probe 45μm C18-Silica , Metal Alloy 22Ga, 5pk (red))
10. Πεχάμετρο Milwaukee
11. Vortex Velp Scientifica
12. Αντλία ελαίου για κενού Sartorius AG
13. Στήλη Luna 5μm C18(2) 100
14. Phenomenex Luna 5μM C18(2) 100 Å, LC column 150x4.6mm

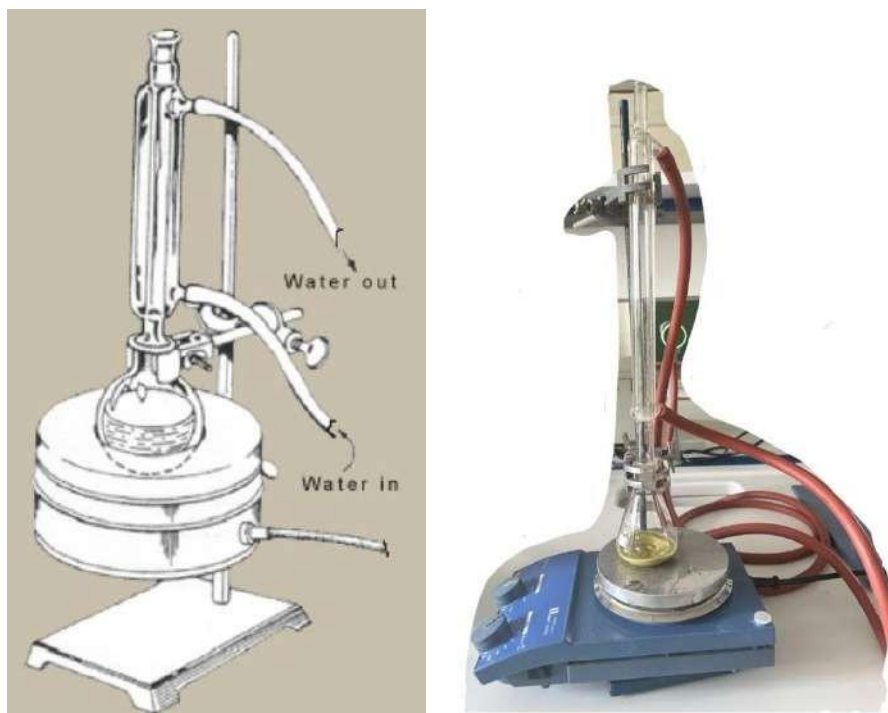
4.2 ΠΟΡΕΙΑ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

4.2 ΜΕΘΟΔΟΙ

Παρακάτω θα περιγράψουμε όλες τις διαδικασίες που έλαβαν χώρα για την σύνθεση του πρότυπου συμπλόκου Ni(PDC)₂, την σύνθεση συμπλόκων Ni(PDC)₂ διάφορων συγκεντρώσεων καλλυντικού δείγματος και στην συνέχεια την διαδικασία υγρής πέψης που πραγματοποιήθηκε στο καλλυντικό δείγμα για την απομόνωση και ποσοτικό προσδιορισμό του Ni²⁺.

4.2.1 Παρασκευή πρότυπου-reference συμπλόκου Ni(PDC)₂

Σε μία ύαλο ωρολογίου ζυγίστηκαν σε αναλυτικό ζυγό ακριβείας, 0,5 mmol APDC ($0,5 \text{ mmol} \times 164,3 = 82.15 \text{ mg}$) και 0,25 mmol $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ($0,25 \text{ mmol} \times 290.81 = 72.7 \text{ mg}$). Σε μία κωνική φιάλη 100 mL με εσμίρισμα, μεταφέρθηκε πρώτα το $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ και προστέθηκε σε αυτή 5 mL MeOH. Υπό συνεχή ανάδευση στον μαγνητικό αναδευτήρα προστέθηκε ο υποκαταστάσης APDC όπου καταβυθίστηκε απευθείας στερεό υπόλειμμα με πράσινο χρώμα που υποδεικνύει το σχηματισμό του συμπλόκου. Η διαδικασία πραγματοποιήθηκε με βρασμό με επαναροή (reflux) για 3 ώρες υπό συνεχή ανάδευση και θέρμανση. Στην συνέχεια αφήνεται για μισή ώρα σε θερμοκρασία δωματίου (RT) και ακολουθεί ψύξη σε παγόλουτρο έτσι ώστε να καταβυθιστούν οι κρύσταλλοι. Το υπερκείμενο διάλυμα διηθείται σε υπό κενό (εικόνα 21), ώστε να λάβουμε το επιθυμητό στερεό υπόλειμμα στον χάρτινο ηθμό και στην συνέχεια το στερεό εκπλύθηκε με MeOH.[140]



Εικόνα 20: (αριστερά) Σχηματική αναπαράσταση reflux διάταξης (δεξιά) Διάταξη reflux στο εργαστήριο.



Εικόνα 21:(αριστερά) Σχηματική απεικόνιση διάταξης διήθησης υπό κενό, (δεξιά) εργαστηριακή διάταξη διήθησης υπόκενό.

Στην συνέχεια ο χάρτινος ηθμός τοποθετήθηκε σε ξηραντήρα με ξηραντικό (CaCl_2) υπό κενό. Το σύμπλοκο (στερεό πράσινα υπόλειμμα) ζυγίστηκε στον αναλυτικό ζυγό και το βάρος ήταν 45,5 mg (0,13 mmol).

Η απόδοση της αντίδρασης βάσει της στοιχειομετρίας ανέρχεται :



$$\% \text{ Απόδοση} = (\text{Πειραματικό} / \text{Θεωρητικό}) \text{ βάρος} \times 100 = (45,50\text{mg} / 87,5\text{mg}) \times 100 = 52,0 \%$$

Το στερεό υπόλειμμα στην συνέχεια ταυτοποιήθηκε με προσδιορισμό του σημείου τήξης, UV, IR και HPLC που θα αναλυθούν στο κεφάλαιο 5. Το ταυτοποιημένο σύμπλοκο $\text{Ni}(\text{PDC})_2$ χαρακτηρίζεται ως ουσία αναφοράς, και θα χρησιμεύσει ως συγκριτική ουσία με το σύμπλοκο $\text{Ni}(\text{PDC})_2$ από την σύνθεση του με την διαδικασία της μικροεκχύλισης SPME.



Εικόνα 22: Σύμπλοκο $Ni(PDC)_2$ με $MeOH$

Δοκιμασίες Διαλυτότητας του συμπλόκου αναφοράς.

Το σύμπλοκο $Ni(PDC)_2$, είναι σταθερό στον αέρα, μη υγροσκοπικό, μερικώς διαλυτό σε αιθανόλη (EtOH), μεθανόλη (MeOH) και σε ακετονιτρίλιο (ACN), και σχεδόν διαλυτό σε DMSO και DMF. [140]

Πραγματοποιήθηκαν διάφορες δοκιμές και συνδυασμοί για την διαλυτοποίηση του συμπλόκου και την μέγιστη διαλυτότητα την είχε σε DMSO. Ωστόσο, το διάλυμα που προκύπτει έχει ένα ελαφρύ θόλωμα.



Εικόνα 23: Τελική μορφή διαλυτοποίησης συμπλόκου $Ni(PDC)_2$ με προσθήκη $DMSO$

4.2.2 Σχηματισμός συμπλόκου $Ni(PDC)_2$ με μικροεκχύλιση SPME

Τα βήματα για τον σχηματισμό του συμπλόκου $Ni(PDC)_2$ είναι τα εξής:

1. Παρασκευή πρότυπου διαλύματος Ni^{2+} συγκέντρωσης 100 ppm

Το $Ni(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ είναι στερεό σε μορφή βεραμάν (green-blue) απόχρωσης μικροκρυστάλλων.

Για την παρασκευή του πρότυπου διαλύματος γίνεται πρώτα ο υπολογισμός της ποσότητας του Ni^{2+} :

Στα 290,8g/mol άλατος $Ni(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$	περιέχονται	58,7 Ni^{2+} g/mol
Στα x g/mol άλατος	περιέχονται	100mg ή 0,1 g Ni^{2+}

$$x = 0,495g \text{ άλατος}$$

όπου με αραίωση με H_2O στα 1000mL $\rightarrow C=100$ ppm Ni^{2+}

Ποσότητα $m = 0,495\text{g Ni(NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Ni^{2+} $M_r = 58,7\text{g/mol}$) ζυγίστηκαν στον αναλυτικό ζυγό ακριβείας και στην συνέχεια πραγματοποιήθηκε αραίωση με H_2O σε μία ογκομετρική φιάλη των 1000 mL . Το διάλυμα έχει συγκέντρωση Ni^{2+} $C = 100\text{ppm}$.

Το διάλυμα αποτελεί το διάλυμα αναφοράς για τις διαφορετικές συγκεντρώσεις Ni^{2+} για τον σχηματισμό συμπλόκων νικελίου διαφορετικών ppm.

2. Σχηματισμός συμπλόκου Ni(PDC)_2 διάφορων συγκεντρώσεων Ni^{2+}

Κατά την διάρκεια της πειραματικής πορείας, σχηματίστηκαν σύμπλοκα διαφορετικών συγκεντρώσεων Ni^{2+} , ύστερα από τον σχηματισμό νέων διαλυμάτων Ni^{2+} με διαφορετικές κάθε φορά συγκεντρώσεις σύμφωνα με τον νόμο της αραίωσης, τα οποία ακολουθούν το ίδια διαδικασία προκατεργασίας.

Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί ο σχηματισμός συμπλόκου Ni(PDC)_2 με συγκέντρωση $C_{\text{Ni}^{2+}} = 10\text{ppm}$.

Σύμφωνα με τον νόμο της αραίωσης,

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

$$100\text{ppm} \cdot x = 10\text{ppm} \cdot 100\text{mL}$$

$$x = 10\text{mL}$$

όπου C_1 : συγκέντρωση του πρότυπου διαλύματος Ni^{2+} ($C = 100\text{ppm}$),

C_2 : συγκέντρωση διαλύματος Ni^{2+} ($C = 10\text{ppm}$),

V_1 = όγκος που πρέπει να προστεθεί από το πρότυπο διάλυμα για τον σχηματισμό της $C_{\text{Ni}^{2+}} = 10\text{ppm}$,

V_2 = ο όγκος της ογκομετρικής φιάλης.

Με ένα σιφόνιο πλήρωσης 10 mL , λήφθηκαν 10 mL από το πρότυπο διάλυμα Ni^{2+} ($C_{\text{Ni}^{2+}} = 100\text{ ppm}$) και μεταγγίθηκαν σε μία ογκομετρική φιάλη των 100 mL . Στην συνέχεια

πραγματοποιήθηκε αραίωση με H₂O μέχρι πληρώσεως στον μνηίσκο της φιάλης. Το πρότυπο διάλυμα Ni²⁺ έχει τελική συγκέντρωση C_{Ni²⁺} = 10 ppm.

Στην συνέχεια, παρασκευάστηκε διάλυμα του υποκαταστάτη APDC 1% w/v σε μία ογκομετρική φιάλη των 100 mL Το APDC είναι σε στερεά μορφή λευκής σκόνης (powder). Το μίγμα αναδεύεται στον μαγνητικό αναδευτήρα για να διευκολυνθεί η διάλυση του υποκαταστάτη επειδή δεν είναι αρκετά ευδιάλυτος στο H₂O

Ένα ακόμα διάλυμα που παρασκευάστηκε για την υλοποίηση της σύνθεσης του συμπλόκου Ni(PDC)₂, είναι το ρυθμιστικό διάλυμα 1% w/w CH₃COONH₄ για την ρύθμιση του pH. Ζυγίστηκαν 0,104 g και έγινε στην συνέχεια αραίωση στα 10mL H₂O σε μία ογκομετρική φιάλη των 10 mL.

Ως μέσο οξύνισης, χρησιμοποιήθηκαν διαφορετικά οξέα για την ρύθμιση του pH κατά την πορεία της πειραματικής εργασίας. Το πρώτο ήταν το HCl 0,1N και το δεύτερο το HNO₃ 5% w/v.

Τέλος παρασκευάστηκε ένα υδατικό διάλυμα χλωριούχου νατρίου (NaCl) 10%w/v, όπου προστέθηκαν 1g NaCl σε ογκομετρική φιάλη των 10 mL, η λειτουργία του οποίου είναι να αυξηθεί η ιοντική ισχύς του διαλύματος. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την ελάττωση της διαλυτότητας του συμπλόκου στο υδατικό περιβάλλον με σκοπό την ποσοτική προσρόφηση του στην λιπόφιλη ίνα της SPME

Καθώς λοιπόν έχουν παρασκευαστεί όλα τα απαραίτητα υδατικά διαλύματα για την σύνθεση του συμπλόκου με την διαδικασία της μικροεκχύλισης, τα στάδια της σύνθεσης συμπλόκου Ni(PDC)₂ συγκέντρωσης 10 ppm είναι τα εξής:

- Με μία πιπέτα, αναρροφάται 1mL υδατικού διαλύματος Ni²⁺ C = 100ppm και στην συνέχεια, μεταφέρεται στο φιαλίδιο χωρητικότητας 4 mL όπου εκεί θα πραγματοποιηθεί η διαδικασία της συμπλοκοποίησης και μικροεκχύλισης.

- Με την πιπέτα των 1000μL αναρροφώνται 500μL ρυθμιστικού διαλύματος $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ και μεταφέρεται στο ίδιο φιαλίδιο με το Ni^{2+} . Το pH του μίγματος είναι pH:5-6.
- Στην συνέχεια, προστίθεται HCl ποσότητας (10-20)μL με την βοήθεια πιπέτας Eppendorf για την ρύθμισή του pH=2,5 , όπου στο σημείο αυτό σύμφωνα με την βιβλιογραφία είναι το κατάλληλο περιβάλλον για τον ποσοτικό σχηματισμό του συμπλόκου.[133]
- Στην συνέχεια προστίθεται στάγδην με την βοήθεια πιπέτας, ποσότητα -200 μL του υδατικού διαλύματος υποκαταστάτη APDC, υπό συνεχή ανάδευση, στο φιαλίδιο στον μαγνητικό αναδευτήρα για 10 λεπτά. Παρατηρείται ένα θόλωμα κατά την προσθήκη του APDC και πιθανή δημιουργία ιζήματος.
- Τέλος, λόγω της προσθήκης του υποκαταστάτη APDC, το pH απορρυθμίστηκε και έγινε βασικότερο, οπότε για να διασφαλιστεί το όξινο περιβάλλον με pH: 2,5, επαναλήφθηκε η προσθήκη λίγων σταγόνων του υδροχλωρικού οξέος HCl. Η ρύθμιση του pH παρακολουθείται με πεχαμετρικό χαρτί.

Παρατηρήσεις:

Κατά την διάρκεια της πορείας του πειράματος πραγματοποιήθηκαν τροποποιήσεις. Στο σημείο ρύθμισης pH=2,5, το υδροχλωρικό οξύ HCl αντικαταστάθηκε με υδατικό διάλυμα HNO_3 5%w/v. Σημειώνεται ότι ο απαιτούμενος όγκος HNO_3 για την ρύθμιση του pH ήταν πολύ λιγότερος σε σχέση με αυτό του HCL.

Όλες οι προσθήκες γίνονται υπό συνεχή ανάδευση για 30 λεπτά στον μαγνητικό αναδευτήρα (stirrer) έτσι ώστε να επιτευχθεί η συμπλοκοποίηση ποσοτικά.

Με το ίδιο μοτίβο σχηματίστηκαν σύμπλοκα $\text{Ni}(\text{PDC})_2$ για διαφορετικές συγκεντρώσεις όπως απεικονίζονται πιο συνοπτικά στον **πίνακα 4**.

Πίνακας 4: Σύνθεση συμπλόκου $\text{Ni}(\text{PDC})_2$ με διαφορετικές συγκεντρώσεις Ni^{2+} και αναλογίες.

Vials $C_{Ni^{2+}}$	$Ni(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$	CH_3COONH_4	HCl	HNO_3	APDC	NaCl	παρατηρήσεις
100ppm	1mL	500μL	30μL	-	2mL	500μL	Σχηματισμός έντονο κίτρινωπού ιζήματος-καθόλου διαυγές
50ppm	1mL	500μL	30μL	-	1mL	500μL	>>
30ppm	1mL	500μL	30μL	-	600μL	500μL	>>
20ppm	1mL	500μL	30μL	-	400μL	500μL	>>
10ppm	1mL	500μL	30μL	-	200μL	500μL	Θόλωμα με ελάχιστη δημιουργία ιζήματος
8ppm	1mL	500μL	30μL	-	160μL	500μL	>>
5ppm	1mL	500μL	30μL	-	100μL	500μL	>>
3ppm	1mL	500μL	30μL	-	60μL	500μL	>>
1ppm	1mL	500μL	30μL	-	20μL	500μL	Ελάχιστα θολό -ελάχιστη ποσότητα APDC για ικανό ποσοτικό προσδιορισμό
100ppm	1mL	500μL	-	10μL	2mL	500μL	Σχηματισμός έντονο κίτρινωπού ιζήματος-καθόλου διαυγές
70ppm	1mL	500μL	-	10μL	1,4mL	500μL	>>

50ppm	1mL	500μL	-	10μL	1mL	500μL	>>
40ppm	1mL	500μL	-	10μL	800μL	500μL	>>
30ppm	1mL	500μL	-	10μL	600μL	500μL	>>
20ppm	1mL	500μL	-	10μL	400μL	500μL	>>
10ppm	1mL	500μL	-	10μL	200μL	500μL	Θόλωμα
5ppm	1mL	500μL	-	10μL	100μL	500μL	Θόλωμα

Παρατηρήσεις:

Δοκιμάστηκαν διάφορες συγκεντρώσεις Ni^{2+} από 100 ppm έως 1ppm, όπως φαίνεται στον πίνακα. Στις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις, δηλαδή άνω των 10ppm, αναμένονταν να δημιουργηθούν αντίστοιχα υψηλές συγκεντρώσεις στον σχηματισμό συμπλόκου που θα ανακτώνταν πάνω στην ίνα, έτσι ώστε να γίνει ο ποσοτικός προσδιορισμός. Αυτό δεν ήταν εφικτό υπό αυτές τις συνθήκες καθώς υπήρξε έντονος σχηματισμός ιζήματος κατά την διάρκεια της σύνθεσης του συμπλόκου. Οπότε δοκιμάστηκαν οι χαμηλότερες συγκεντρώσεις. Το επιθυμητό αποτέλεσμα συμπλοκοποίησης ήταν ο σχηματισμός του συμπλόκου με την ρύθμιση του pH με προσθήκη HNO_3 5 %w /v. Αυτό συμβαίνει διότι το HCl σχηματίζει σύμπλοκο με το ελεύθερο Ni^{2+} σε $NiCl_4^{2-}$ και εις βάρος του σχηματισμού του $Ni(PDC)_2$. Συνεπώς, προτιμάται η εκχύλιση παρουσία HNO_3 αντί HCl.[143]

Ο ιδανικότερος συνδυασμός ήταν η διαδικασία όπου, προστέθηκε στο vial 1ml από τα 10 ppm Ni^{2+} , 500μL CH_3COONH_4 , 10μL HNO_3 , 200μL APDC, 500μL NaCl , καθώς αποτελούσε και τον συνδυασμό δημιουργίας λιγότερου ιζήματος.

4.2.3 Προσρόφηση ίνας SPME (sorption)



***Εικόνα 24** SPME LC probe 45 μ m C18-Silica , Metal Alloy 22Ga, 5pk (red)*

Οδηγίες Χρήσης της ίνας

A)Ενεργοποίηση ίνας SPME

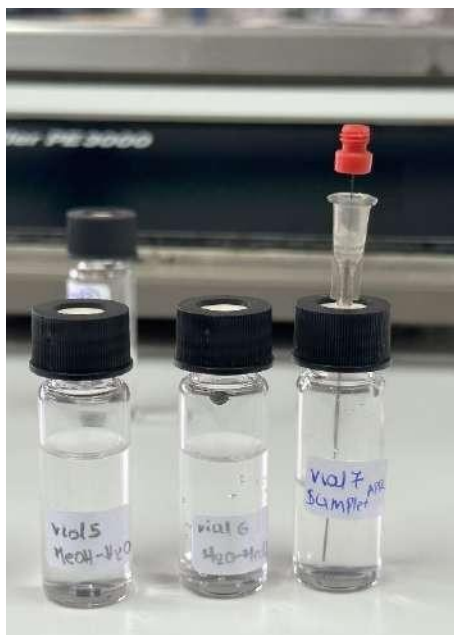
Για να γίνει προσρόφηση του συμπλόκου στην ίνα SPME , προηγείται η διαδικασία της ενεργοποίησης της.

Για να επιτευχθεί η διαδικασία, σε κάθε ίνα που χρησιμοποιείται ακολουθούνται τα εξής βήματα:

- Σε ένα φιαλίδιο το οποίο περιέχει MeOH/H₂O (10% v/v) (distilled water) πραγματοποιήθηκε εισαγωγή της ίνας πάνω στο πάμα του φιαλιδίου από την ειδική εσοχή που διαθέτει και διατηρείται στο διάλυμα αυτό 15 λεπτά υπό συνεχή ανάδευση.
- Στην συνέχεια η ίνα εισάγεται σε ένα άλλο φιαλίδιο, το οποίο περιέχει διάλυμα H₂O/MeOH (10%v/v) και διατηρείται στο διάλυμα αυτό 15 λεπτά υπό συνεχή ανάδευση. Έτσι, ολοκληρώνεται η διαδικασία της ενεργοποίησης της ίνας.

Προσρόφηση του συμπλόκου στην ίνα SPME (*adsorption*)

Η προσρόφηση επιτυγχάνεται με την εισαγωγή της ίνας στο φιαλίδιο που περιέχει το σύμπλοκο, και αναδεύεται για 30 λεπτά συνεχώς. Όταν περάσει το χρονικό διάστημα, η ίνα είναι έτοιμη να ακολουθήσει την διαδικασία της εκρόφησης.



Εικόνα 25: φιαλίδια και ίνα SPME στο εργαστήριο

4.2.3 Εκρόφηση ίνας SPME (*desorption*)

Η διαδικασία εκρόφησης του συμπλόκου από την ίνα είναι ίδια σε κάθε περίπτωση και ανεξάρτητη από την κάθε συγκέντρωση του Ni^{2+} στο διάλυμα. Εφόσον η ίνα έχει φορτωθεί με την διαδικασία της προσρόφησης υπό συνεχή ανάδευση για μισή ώρα περίπου, στην συνέχεια σε ένα νέο φιαλίδιο προσθέτουμε 1 mL ACN με την μηχανική πιπέτα και τοποθετούμε στον μαγνητικό αναδευτήρα. Αφαιρείται η ίνα προσεκτικά από το φιαλίδιο του συμπλόκου και εμβαπτίζεται στο φιαλίδιο με το ACN υπό συνεχή ανάδευση. Μετά από μία ώρα, αφού έχει εκροφηθεί το σύμπλοκο από την ίνα στο διάλυμα του ACN λαμβάνεται το φάσμα UV. Τέλος, εφόσον έχουν ληφθεί τα επιθυμητά φάσματα, αφαιρείται η ίνα SPME από το φιαλίδιο και με την διαδικασία συμπίκνωσης υπό κενό επιτυγχάνεται ελάττωση του όγκου του του διαλύματος του

συμπλόκου με το ACN στα 60-80 μL . Αυτή η συμπύκνωση έχει ως σκοπό την εμφάνιση εντονότερων κορυφών στα χρωματογραφήματα της HPLC μετέπειτα.

4.2.4 Παρασκευή Καλλυντικού Δείγματος

Στο πείραμα αυτό ως καλλυντικό δείγμα χρησιμοποιήθηκε μια αποφολιδωτική κρέμα η οποία παρασκευάστηκε στο εργαστήριο της κοσμητολογίας του τομέα Αισθητικής Κοσμητολογίας, Για την Παρασκευή της θα χρειαστούν:

Όργανα και συσκευές για την παρασκευή καλλυντικού

- Εργαστηριακός ζυγός
- Ηλεκτρικός αναδευτήρας
- Ατμόλουτρο
- Πλάκα θέρμανσης
- Πεχάμετρο
- Γουδί και γουδοχέρι
- Ποτήρια ζέσεως, μεταλλικές σπάτουλες, γυάλινες ράβδοι, ύαλοι ρολογιού, θερμόμετρα 0-100°C

Πίνακας 5: Σύνθεση καλλυντικού δείγματος %w/w

Stearic Acid	3,80
XALIFIN-15	4,50
SABOWAX FL65	4,50
Cetyl alcohol	1,20
Octyldodecanol	2,00
Paraffinum liquidum	3,00
Octyl palmitate	2,50
PHENOCHEM	0,60

Bisabolol	0,20
GERMALL 115	0,30
CARBOPOL 940	0,25
Allantoin	0,20
Propylene glycol	3,00
Triethanolamine 99%	1,20
Aloe vera gel	3,00
Polyethylene granules	5,00
Perfume	0,25
Aqua	64,50
Total:	100,00

Μέθοδος Παρασκευής

Παρασκευή της λιπαρής φάσης

Στο γουδί ζυγίζονται τα συστατικά :

- Stearic acid
- XALIFIN – 15
- SABOWAX FL65
- Cetyl alcohol
- Octyldodecanol
- Paraffinum liquidum
- Octyl palmitate
- PHENOCHEM

Θερμαίνονται στο ατμόλουτρο μέχρι τους 70°C και ανακατεύονται με το γουδοχέρι μέχρι να τακούν.

Πριν την ανάμιξη εξάγεται το γουδί από το ατμόλουτρο και ζυγίζεται απευθείας μέσα σ αυτό το Bisabolol.

Τοποθετείται πάλι στο ατμόλουτρο, ανακατεύεται λίγο με το γουδοχέρι και φέρεται η θερμοκρασία του στους $70^{\circ}\text{C} \pm 2$.

Παρασκευή της υδατικής φάσης I

Σε ποτήρι ζέσεως ζυγίζονται 15g νερού και το GERMALL 115, όπου ανακατεύονται με γυάλινη ράβδο μέχρι την πλήρη διάλυση του. Τοποθετείται το ποτήρι με το περιεχόμενο του κάτω από τον ηλεκτρικό αναδευτήρα. Ζυγίζεται σε ύαλο ρολογιού το CARBOPOL 940, με τη βοήθεια της σπάτουλας κατεργάζεται ώστε να σπάσουν όλα τα τυχόν υπάρχοντα συσσωματώματα της σκόνης. Στη συνέχεια μεταφέρεται σε μικρές ποσότητες μέσα στο ποτήρι ζέσεως με ταυτόχρονη ανάδευση. Συνεχίζεται η ανάδευση με τον ηλεκτρικό αναδευτήρα αυξάνοντας σιγά – σιγά την ταχύτητα του μέχρι την πλήρη διασπορά και ενυδάτωση του πολυμερούς (περίπου 15 λεπτά).

Παρασκευή της υδατικής φάσης II

Σε ποτήρι ζέσεως ζυγίζεται το υπόλοιπο νερό και ζεσταίνεται πάνω στην πλάκα θέρμανσης μέχρι τους 75°C . Προστίθενται τα συστατικά:

- Allantoin
- Propylene glycol
- Triethanolamine 99%

και ανακατεύονται μέχρι να διαλυθούν. Φέρεται η θερμοκρασία στους $72^{\circ}\text{C} \pm 2$.

Ανάμιξη των φάσεων

Μεταφέρεται σιγά – σιγά και με συνεχή ανάδευση με το γουδοχέρι η φάση Γ μέσα στην φάση Α. Συνεχίζεται η ανάδευση για 5-10 λεπτά, ενώ η θερμοκρασία διατηρείται στους $67^{\circ}\text{C} \pm 2$

Εξάγεται το αγάτι από το ατμόλουτρο και ψύχεται στο περιβάλλον με ταυτόχρονη συνεχή ανάδευση με το γουδοχέρι. Καθώς το προϊόν ψύχεται, προστίθενται με ταυτόχρονη ανάδευση τα παρακάτω συστατικά και φάσεις:

- Φάση Β, στους 55-60°C
- Perfume, στους 45°C
- Polyethylene (or Almond Shell) granules, στους 40°C
- Aloe vera gel, στους <35°C

Συνεχίζεται η ψύξη σε ψυχρό υδατόλουτρο μέχρι τους 25-28°C και αποθήκευση στην συνέχεια στο ψυγείο στους 8-10°C.

4.2.5 Υγρή πέψη (με θερμότητα) του καλλυντικού δείγματος

Η υγρή πέψη με θερμότητα είναι η διεργασία της:

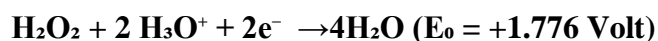
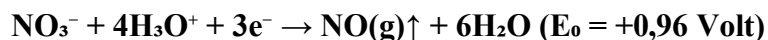
- Αποδόμησης και καταστροφής των οργανικών υλών του καλλυντικού προϊόντος (εκτός των μετάλλων) .
- Της διαλυτοποίησης δυσδιάλυτων ανόργανων ενώσεων (άλατα, οξείδια μετάλλων). Η διαλυτοποίηση ενώσεων των μετάλλων που βρίσκονται μέσα σε υλικά οργανικής φύσης (έκδοχα) είναι ο συνδυασμός αντιδράσεων εξουδετέρωσης και οξειδοαναγωγής για την οξείδωση της οργανικής ύλης.

Η διεργασία πραγματοποιείται:

- με την μεταφορά ενέργειας (θερμότητα) από μια πηγή θερμότητας έτσι ώστε να επιτευχθεί αύξηση της θερμοκρασίας στο δείγμα
- Το καλλυντικό προϊόν υποβάλλεται σε υγρή χώνεψη (wet digestion) με μίγμα (50% H₂O₂/πυκνό HNO₃) το οποίο θερμαίνεται με την συσκευή υγρής πέψης
- το HNO₃ επιδρά ταυτοχρόνως ως οξύ και ως οξειδωτικό μέσο

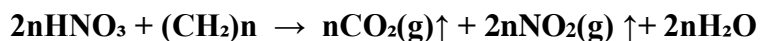
- Το H₂O₂ επιδρά ως οξειδωτικό μέσο.

Η οξειδωτική δράση των δύο αντιδραστηρίων :



Όπου η οξειδωτική δράση του H₂O₂ αυξάνεται σε όξινο περιβάλλον, που αυτό επιτυγχάνεται μέσω του HNO₃.

Η καταστροφή (πλήρης οξείδωση) της οργανικής ύλης επιτυγχάνεται από την εξής αντίδραση:



όπου το δείγμα με την οργανική ύλη και το οξύ δίνουν αέρια προϊόντα.

Σκοπός της όλης διεργασίας της υγρής πέψης στην συγκεκριμένη πειραματική πορεία είναι η καύση της οργανικής ύλης καθώς και η ταυτόχρονη απελευθέρωση του Ni²⁺ στο καλλυντικό δείγμα.

Πιο συγκεκριμένα, σε μία ογκομετρική φιάλη των 10 mL, προστέθηκε ακριβώς ποσότητα 1 g καλλυντικού δείγματος που ζυγίστηκε στον αναλυτικό ζυγό ακριβείας. Στην συνέχεια προστέθηκε 1,5 mg Ni(NO₃)₂·6H₂O , το οποίο ζυγίστηκε στον ζυγό και που αντιστοιχεί σε ποσότητα 0,03 mg Ni²⁺, δηλαδή σε 30 ppm Ni²⁺.

Στον απαγωγό, στην ίδια ογκομετρική φιάλη προστίθενται 5mL πυκνού HNO₃ 65% w/w και 1mL H₂O₂ 30%w/w και η ογκομετρική φιάλη τοποθετείται σε θερμαντική πλάκα υπό συνεχή ανάδευση για 3 ώρες περίπου στους 130 °C. Προστέθηκαν 5-6 σφαρίδια βρασμού για να επιτευχθεί ομαλός βρασμός, Κατά την διάρκεια της αντίδρασης, επίλθε διαύγαση του μίγματος,

καθώς και μεταβολή του χρώματος σε καφέ και διαφυγή καφέ ατμών. Η μεταβολή αυτή οφείλεται στο γεγονός ότι εκλύεται $\text{NO}_2\uparrow$, και αποτελεί απόδειξη ότι η οξείδωση της οργανικής ύλης (έκδοχα) προχωράει. Την στιγμή που θα αποχρωματιστεί το διάλυμα σημαίνει πως η οξείδωση ολοκληρώθηκε επειδή δεν εκλύεται πια NO_2 .

Εφόσον η πέψη ήρθε σε πέρας, ακολουθεί η ρύθμιση του pH του διαλύματος με την προσθήκη πυκνού NaOH . Για την ρύθμιση του pH, δοκιμάστηκαν διαφορετικές αναλογίες NaOH ώστε να γίνει αλκαλικό – ουδέτερο το διάλυμα, και το επιθυμητό αποτέλεσμα πραγματοποιήθηκε με την δημιουργία διαλύματος πυκνού NaOH 120 %w/v, όπου προστέθηκαν 12g NaOH σε 10mL διαλύματος. Η προσθήκη π. NaOH πραγματοποιήθηκε μέσα σε παγόλουτρο για την απαγωγή της εκλυόμενης θερμότητας λόγω της εξώθερμης αντίδρασης με το HNO_3 ($\Delta H < 0 \text{ KJ/mol}$).

Στην συνέχεια ακολούθησε η μετάγγιση του διαλύματος σε μια νέα ογκομετρική φιάλη των 10 mL, κάνοντας μία έκπλυση της προηγούμενης ογκομετρικής φιάλης και στην συνέχεια κάνουμε αραίωση στα 10 mL.

Τέλος, ακολουθεί η ρύθμιση του pH στο 2-2,5, όπου αυτό πραγματοποιείται με την προσθήκη ελάχιστης ποσότητας (2-3 σταγόνες) HNO_3 5%w/v. Η ρύθμιση ελεγχόταν με πεχαμετρικό χαρτί.

Στην συνέχεια, από την ογκομετρική φιάλη των 10 mL, λήφθηκε 1 mL διαλύματος με πιπέτα των 1000 μL , που αντιστοιχεί σε ποσότητα Ni^{2+} 0,03 mg, δηλαδή 30 ppm Ni^{2+} .

Η ποσότητα αυτή εισάγεται σε ένα φιαλίδιο των 4 mL και στην συνέχεια ακολουθεί η διαδικασία που προαναφέρθηκε στην ενότητα 2.2, με τον σχηματισμό του συμπλόκου $\text{Ni}(\text{PDC})_2$ με την διαδικασία της μικροεκχύλισης SPME όπου στο φιαλίδιο προστίθενται :

- 1mL του δείγματος (ύστερα από την διαδικασία της υγρής πέψης)
- 500 μL $\text{CH}_3\text{COONH}_4$
- 10 μL HNO_3
- 600 μL APDC
- 500 μL NaCl

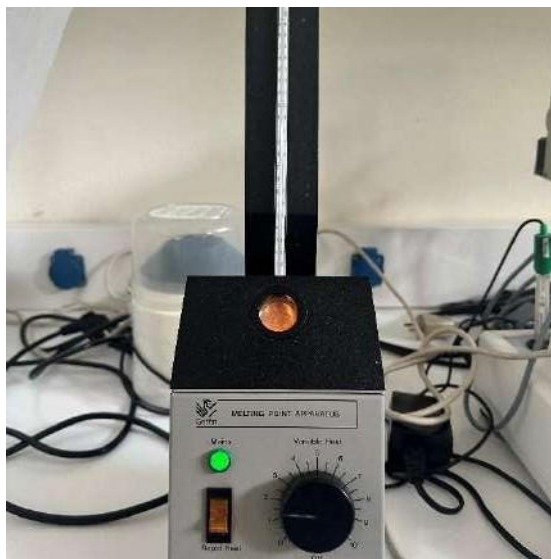
Στην συνέχεια ακολουθεί όλη η διαδικασία της μικροεκχύλισης με τα στάδια της ενεργοποίησης, προσρόφησης και εκρόφησης της ίνας, έτσι ώστε να προσδιοριστεί χρωματογραφικά το δείγμα και η ποσότητα του Ni^{2+} .

5. Ανάλυση

5.1 Σημείο Τήξης του συμπλόκου αναφοράς.

Μαζί την σύνθεση του συμπλόκου αναφοράς $\text{Ni}(\text{PDC})_2$, είναι εύλογο να γίνουν και προσδιορισμοί για την ταυτοποίηση του.

Ένας αρχικός προσδιορισμός και εύκολος για μία γρήγορη ταυτοποίηση αποτελεί η μέτρηση του σημείου τήξης, χαρακτηριστική σταθερά που επιτρέπει τόσο τον έλεγχο της καθαρότητας μιας οργανικής ένωσης όσο και την ταυτοποίηση της.



Εικόνα 26 Συσκευή Σημείου Τήξης Εργαστηρίου

Βιβλιογραφικά το Σ.Τ του συμπλόκου $\text{Ni}(\text{PDC})_2$, βρίσκεται στους $268\text{ }^\circ\text{C}$ και πειραματικά άνω των $260\text{ }^\circ\text{C}$. Στην θερμοκρασία αυτή το σύμπλοκο αποσυντέθηκε και παρατηρήθηκε η μεταβολή χρώματος από το απαλό πράσινο χρώμα σε μαύρο.[140]

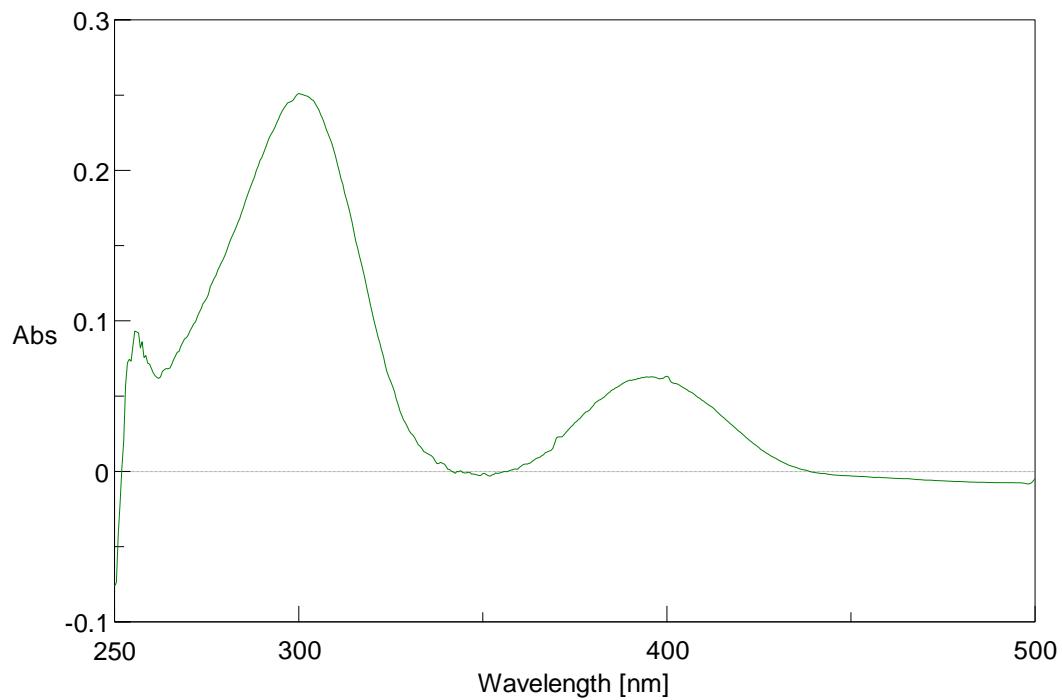
5.2 Φασματοσκοπία Απορρόφησης Υπεριώδους Ορατού (UV-Vis)

Για την λήψη φασμάτων IR χρησιμοποιήθηκε το φασματοφωτόμετρο UV-VIS της εταιρείας JASCO V-630, το οποίο είναι διπλής δέσμης.

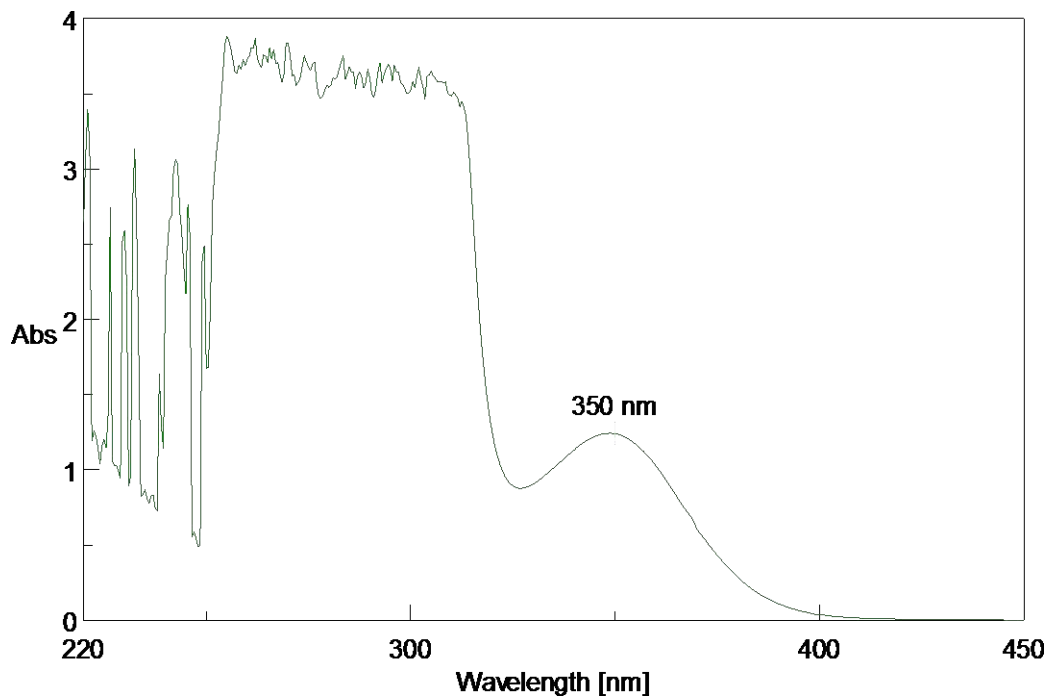


***Εικόνα 27:** Φασματοφωτόμετρο UV-VIS JASCO V-630*

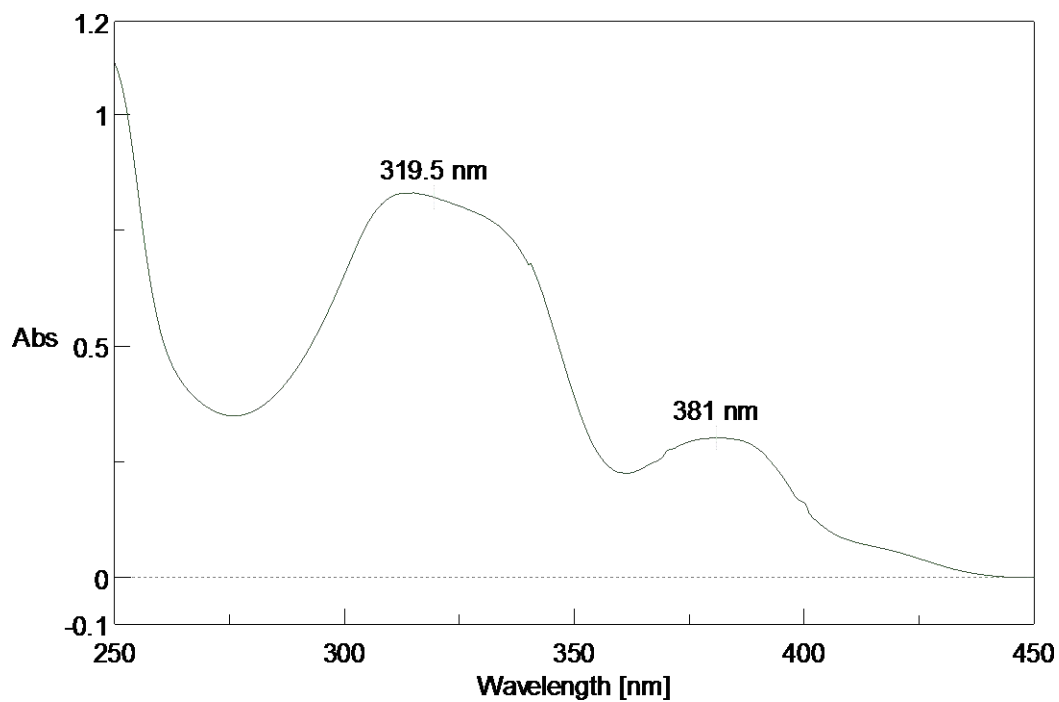
Τα φάσματα που λήφθηκαν για την ταυτοποίηση του σχηματισμού του συμπλόκου $\text{Ni}(\text{PDC})_2$ ήταν τα εξής:



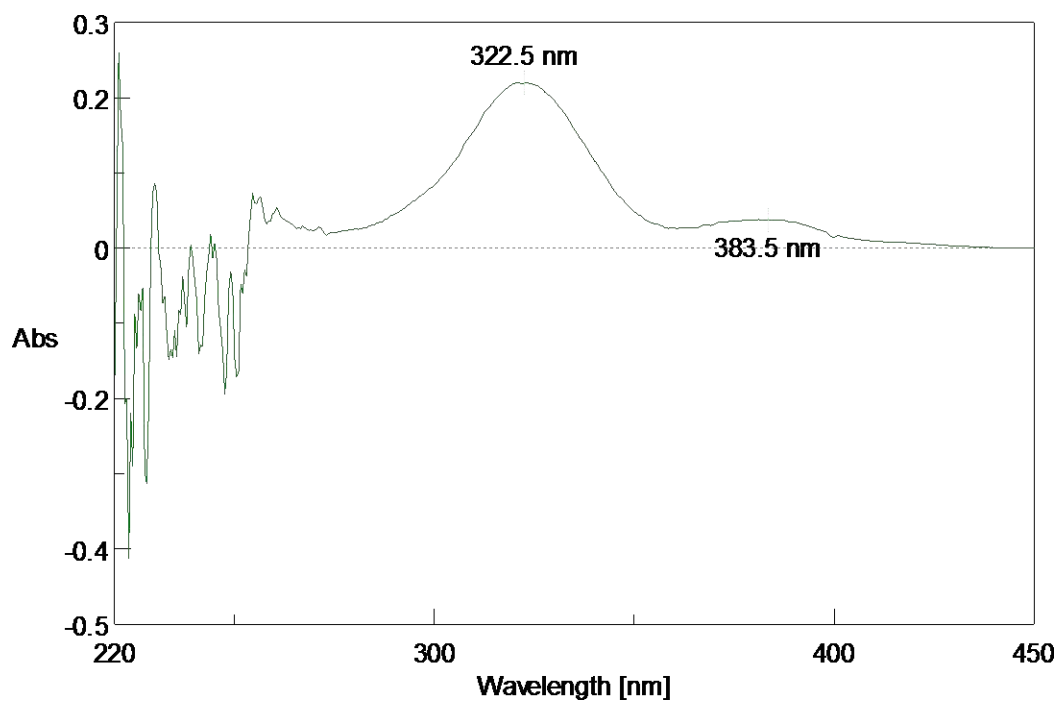
Εικόνα 28: Φάσμα UV $Ni(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ (1000ppm) σε H_2O



Εικόνα 29: Φάσμα UV APDC (1% w/v) σε ACN



Εικόνα 30: Φάσμα UV πρότυπου συμπλόκου $Ni(PDC)_2$ (10 ppm) σε ACN



Εικόνα 31: Φάσμα UV συμπλόκου $Ni(PDC)_2$ με χρήση ίνας SPME σε ACN

Πίνακας 6: Σύνοψη απορροφήσεων του APDC και Ni(PDC)₂

Μήκος Κύματος	Ni(NO ₃) ₂ 6H ₂ O	APDC	Πρότυπο σύμπλοκο Ni(PDC) ₂	Ni(PDC) ₂ fiber (SPME)	Ni(PDC) ₂ Βιβλιογραφία
λ ₁ (nm)	302	350	319.5	322.5	325
λ ₂ (nm)	397	-	381	383.5	387

Το φάσμα του υποκαταστάτη (πυρρολιδινικό διθειοκαρβαμικό αμμώνιο) παρουσιάζει κύρια κορυφή: στα 354nm βιβλιογραφικά και πειραματικά στα 350nm. Η ταινία απορρόφησης αποδόθηκε σε $\pi \rightarrow \pi^*$ μετάβαση.. Το φάσμα απορρόφησης του συμπλόκου του νικελίου (II) εμφανίζει ευρείες ζώνες στα 325nm και 387nm που αποδίδονται στις μεταβάσεις $n \rightarrow \pi^*$ και $\pi \rightarrow \pi^*$. Παρόμοιες ζώνες εντοπίζονται πειραματικά με το φάσμα του πρότυπου συμπλόκου αναφοράς στα 319.5nm και 381nm και το φάσμα του συμπλόκου με την διαδικασία μικροεκχυλίσσης (SPME) στα 322.5nm και 383.5nm αντίστοιχα.[140]

Συμπερασματικά, από τα αποτελέσματα των φασμάτων του UV κατά τον σχηματισμό του συμπλόκου αναφοράς Ni(PDC)₂ με απορροφήσεις στα 319,5nm και στα 381nm, αποδεικνύουν την επιτυχία της ταυτοποίησης σχηματισμού του. Επιπλέον, τα αντίστοιχα αποτελέσματα με αυτά του συμπλόκου αναφοράς εμφανίζονται με την διαδικασία σχηματισμού συμπλόκου με μικροεκχύλιση SPME, όπου και αποδεικνύεται η λειτουργία ρόφησης- εκρόφησης του Ni(PDC)₂ στην ίνα.

5.3 Φασματοσκοπία Υπερύθρου FT-IR

Για την λήψη του φάσματος IR χρησιμοποιήθηκε το όργανο FTIR SHIMADZU 8300.



Εικόνα 32: Φασματοφωτόμετρο FTIR-8300

Στη φασματοσκοπία υπερύθρου με μετασχηματισμό Fourier (FTIR), το συμβολόμετρο Michelson, γνωστό από τα τέλη του 19ου αιώνα[144] αποτελεί τον πυρήνα της τεχνικής. Περιλαμβάνει δύο καθρέφτες κάθετους μεταξύ τους, εκ των οποίων ο ένας είναι κινητός, και έναν διαχωριστή δέσμης τοποθετημένο μεταξύ τους σε γωνία 45°. Το συμβολόμετρο Michelson διαχωρίζει μια δέσμη ακτινοβολίας σε δύο δέσμες και τις επανασυνδυάζει αφού ακολουθήσουν ξεχωριστές διαδρομές διαφορετικού μήκους. Οι μεταβολές της έντασης της παρεμβολής μεταξύ των δύο ακτίνων ως συνάρτηση της διαφοράς της οπτικής διαδρομής καταγράφονται από έναν ανιχνευτή.[145] Η μαθηματική επεξεργασία του συμβολογραφήματος (μετασχηματισμός Fourier) δίνει το φάσμα απορρόφησης υπερύθρου.

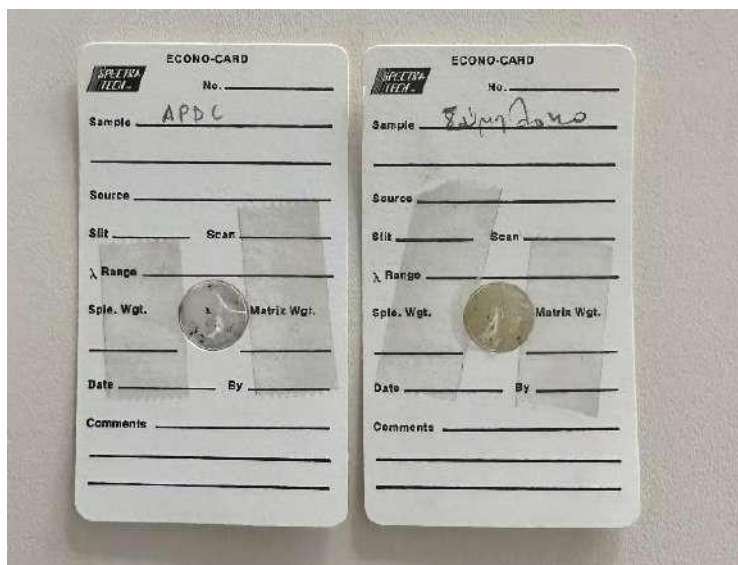
Τα πλεονεκτήματα της φασματοσκοπίας υπερύθρου με μετασχηματισμό Fourier έναντι της συμβατικής φασματοσκοπίας υπερύθρου περιλαμβάνουν βελτιωμένο και σταθερό λόγο σήματος προς θόρυβο για δεδομένο χρόνο σάρωσης ή μειωμένο χρόνο σάρωσης για τον ίδιο λόγο σήματος προς θόρυβο, λόγω της ταυτόχρονης συλλογής πληροφοριών σε ένα ευρύ φάσμα μηκών κύματος.[146]

Πιο συγκεκριμένα, η διαδικασία που ακολούθησε για τον προσδιορισμό του συμπλόκου Ni(PDC)_2 στο φάσμα FT-IR είναι η εξής:

Η διαδικασία ξεκινά με τη ζύγιση περίπου 300mg ξηρού KBr σε αναλυτικό ζυγό, ακολουθούμενη από τη ζύγιση του υποκαταστάτη APDC και του πρότυπου συμπλόκου Ni(PDC)_2 , ποσότητας 3mg αντίστοιχα. Στη συνέχεια, τα δείγματα προετοιμάζονται μέσω της τεχνικής συμπιεσμένου δισκίου με χρήση KBr. Το KBr και APDC αναμειγνύονται και λειοτριβούνται για ομοιογενοποίηση στο ιγδίο από αχάτη. Στη συνέχεια, το μείγμα τοποθετείται στην μήτρα συμπίεσης, η οποία πριν έχει καθαριστεί με αιθανόλη ή ακετόνη, συνδέεται με την πρέσα και την αντλία κενού για μερικά λεπτά. Με αυτήν την διαδικασία, απομακρύνεται ο εγκλωβισμένος αέρας, ενώ στη συνέχεια εφαρμόζεται πίεση περίπου 5 τόνων για 3-5 λεπτά. Με την ολοκλήρωση της συμπίεσης, διακόπτεται η λειτουργία της αντλίας και εκτονώνεται η πίεση, ενώ η συσκευή συμπίεσης απομακρύνεται από το πιεστήριο και αποσυναρμολογείται. Το δισκίο υψηλής διαπερατότητας αφαιρείται και προσαρμόζεται σε ειδική υποδοχή holder. Λαμβάνεται φάσμα με κενό το θάλαμο τοποθέτησης του δείγματος, με σκοπό την ελαχιστοποίηση του θορύβου. Τέλος, τοποθετούνται τα δείγματα με το holder διαδοχικά, στην πορεία της δέσμης στο φασματοφωτόμετρο υπερύθρου και λαμβάνονται τα φάσματα IR. Η ίδια διαδικασία επαναλαμβάνεται για το Ni(PDC)_2 .



Εικόνα 33: (αριστερά) ιγδίο από αχάτη όπου λειοτριβούνται τα υλικά, (δεξιά) ειδική συσκευή συμπίεσης (μήτρα)



Εικόνα 34: Ειδική υποδοχή πιεσμένου δισκίου (holder)

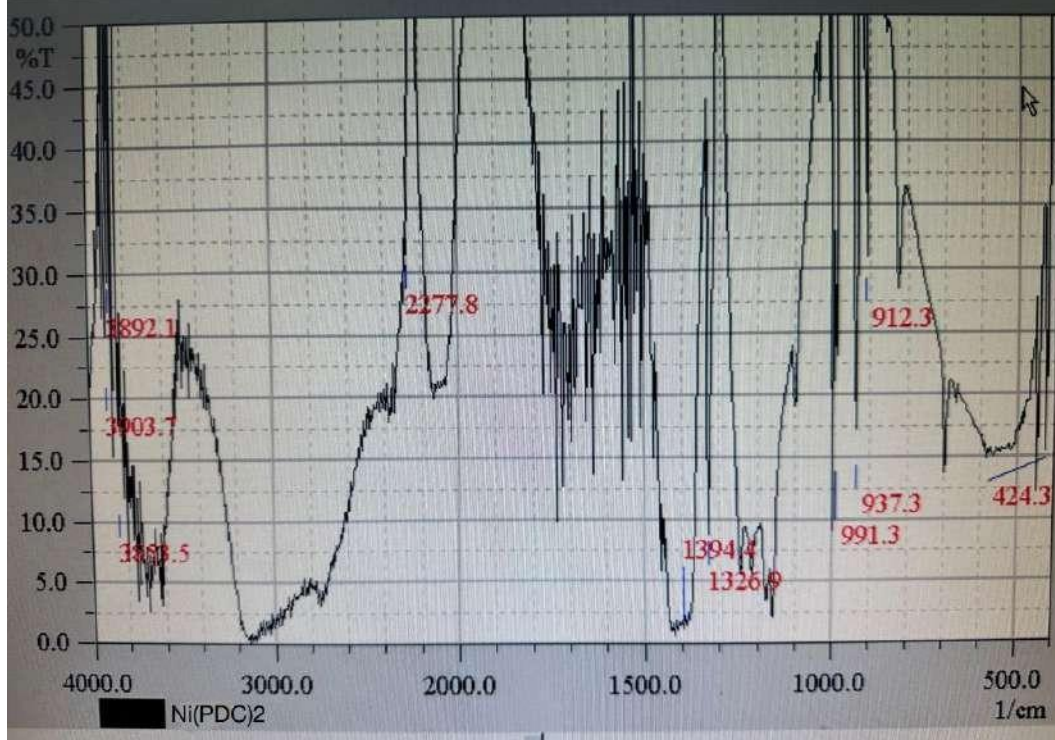
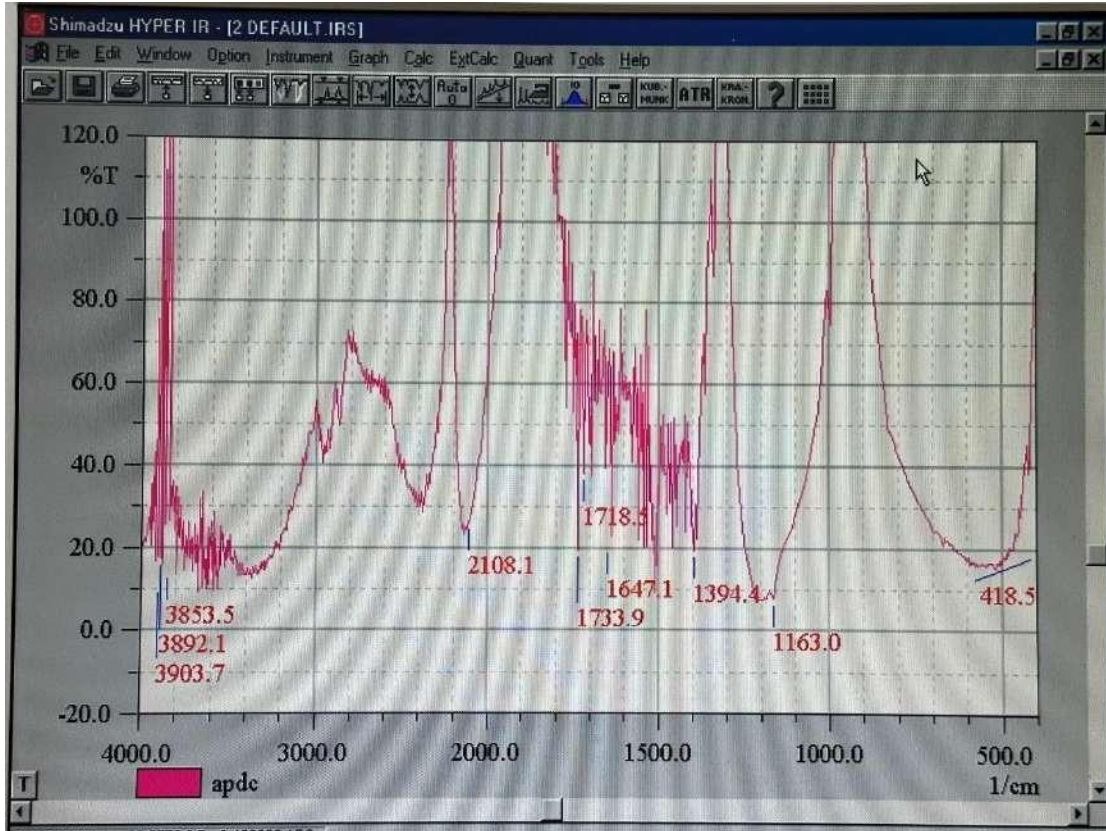


Εικόνα 35: Πρέσα

Τα φάσματα που λήφθηκαν από το FTIR ήταν τα εξής:

1. Το φάσμα του υποκαταστάτη APDC (ροζ φάσμα)
2. Το φάσμα του συμπλόκου Ni(PDC)_2 αναφοράς (μαύρο φάσμα)

Η συγκεκριμένη διαδικασία πραγματοποιείται για την ταυτοποίηση του συμπλόκου.



Εικόνα 36: Φάσματα FTIR APDC (ροζ-πάνω) και Ni(PDC)₂ (μαύρο-κάτω)

Πίνακας 7 : Δονήσεις τάσης χαρακτηριστικών ομάδων των APDC και Ni(PDC)₂

ΔΟΝΗΣΕΙΣ ΤΑΣΗΣ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΩΝ ΟΜΑΔΩΝ	APDC (CM ⁻¹)	NI(PDC) ₂ (CM ⁻¹)
V _{C-H}	2880	2950
V _{C-N}	1454	1500
V _{C=S}	937	1000
V _{C-S}	912	-
V _{NI-S}	-	418

Στα φάσματα προβάλλονται οι δονήσεις των χαρακτηριστικών ομάδων του υποκαταστάτη και του συμπλόκου. Χαρακτηριστικές αυτών αποτελούν οι δονήσεις τάσης των δεσμών δύο ατόμων όπως οι δεσμοί C-H που προβάλλονται στο φάσμα στα 2880cm⁻¹ για το APDC ενώ στα 2950 cm⁻¹ για το σύμπλοκο , οι δεσμοί C-N στα 1454cm⁻¹ για το APDC και 1500cm⁻¹ για το σύμπλοκο, οι δεσμοί C=S στα 937cm⁻¹ και 1000cm⁻¹ για το Ni(PDC)₂ , οι δεσμοί C-S στα 912 cm⁻¹ στον υποκαταστάτη ενώ στο σύμπλοκο οι δονήσεις στην ομάδα αυτή απουσιάζουν από το φάσμα , καθώς και ο δεσμός Ni-S ο οποίος εμφανίζεται στα 418cm⁻¹ και αποκλειστικά στο φάσμα του συμπλόκου καθώς δημιουργείται ο συγκεκριμένος καινούριος δεσμός.

Τα φάσματα και οι δονήσεις βιβλιογραφικά αντιστοιχούν με τα πειραματικά και οι διαφορές στους κυματάριθμους εντοπίζονται λόγω της μετατόπισης των ηλεκτρονιακών φορτίων για αυτό και η αντίστοιχη μεταβολή. [140]

Οπότε, οι χαρακτηριστικές κορυφές που αποκαλύπτουν την διαφορά των δύο φασμάτων και ταυτοποιούν τον σχηματισμό του συμπλόκου αποτελούν οι δονήσεις μεταξύ των δεσμών C-H , οι δονήσεις μεταξύ των δεσμών C-S (λόγω απουσίας στο σύμπλοκο) και οι δονήσεις μεταξύ δεσμού Ni-S (λόγω εμφάνισης στο σύμπλοκο).

5.4 Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Απόδοσης (HPLC-DAD)

Το όργανο που χρησιμοποιήθηκε για την λήψη των χρωματογραφημάτων είναι ο χρωματογράφος ULTIMATE 3000 HPLC με Diode Array Detector (DAD)



Εικόνα 37: Διάταξη Χρωματογράφου HPLC ULTIMATE 3000

Πίνακας 8: Συνθήκες Χρωματογραφημάτων

Ροή (flow)	1mL/min
Όρια πίεσης(limits of pressure)	0-6000psi
Έκλυση	Ισοκρατική, 60% ACN και 40% H ₂ O/2x10 ⁻² M CH ₃ COONH ₄ /1,5x10 ⁻⁵ M APDC
Θερμοκρασία	RT
Όρια θερμοκρασίας: Χαμηλότερη θ	5°C
Υψηλότερη θ	40°C

UV-Vis κανάλια:	
1	195nm
2	200nm
3	254nm (μελέτη απορροφήσεων)
4	265nm
Χρόνος t	από 15 έως 20 min
Loop	20μL

Για την προετοιμασία κινητής φάσης ακολουθείται η εξής διαδικασία:

Σε μία φιάλη παροχής κινητής φάσης των 500mL μεταφέρουμε 500mL ACN (HPLC). Σε μια άλλη φιάλη παρασκευάζεται ένα διάλυμα με 500mL H₂O, 2x10⁻² M CH₃COONH₄ (όπου ζυγίστηκαν 0,77g) και 1,5x10⁻⁵ M APDC (όπου ζυγίστηκαν 1,2mg) σε pH=5,6.

Η απαέρωση των διαλυμάτων πραγματοποιείται σε συσκευή υπερήχων προς αποφυγή φυσαλίδων στην διάταξη της HPLC. Στη συνέχεια το διάλυμα H₂O/CH₃COONH₄/APDC διηθήθηκε σε διάταξη υπό κενό στον απαγωγό.

Η προσθήκης ελάχιστης ποσότητας APDC στην κινητή έχει σκοπό την αποφυγή διάσπασης του συμπλόκου στην στήλη και συνεπώς την μετατόπιση της ισορροπίας προς τα δεξιά.[133]



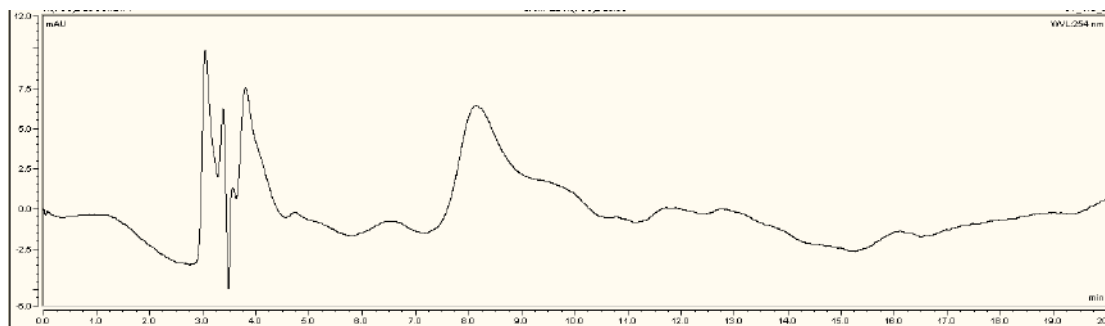
5.4.1 Χρωματογραφικές Στήλες

Για να επιλεγθεί η σωστή χρωματογραφική στήλη για την λήψη των χρωματογραφημάτων, έγιναν αρχικά κάποιες δοκιμές:

Phenomenex Luna 5μm NH₂ 100 Å, 250x4,6mm

Η συγκεκριμένη στήλη που διαθέτει -NH₂ άκρο στην υδρογονανθρακική αλυσίδα της στατικής φάσης είναι κατάλληλη για τον διαχωρισμό πολικών συστατικών. Τα αποτελέσματα των χρωματογραφημάτων δεν ήταν ικανοποιητικά, καθώς η γραμμή βάσης δεν σταθεροποιούνταν .

Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί το συγκεκριμένο χρωματογράφημα του συμπλόκου Ni(PDC)₂ με την μέθοδο της μικροεκχύλισης.



Εικόνα 38: Χρωματογράφημα με στήλη Phenomenex Luna 5 μ m NH₂ 100 Å, 250x4,6mm (ασταθές baseline)

Phenomenex Luna 5 μ M C18(2) 100 Å, LC column 150x4.6mm

Στην συνέχεια, στήλη Phenomenex Luna 5 μ m NH₂ 100 Å, 250x4,6mm αντικαταστάθηκε με μια μη πολική στήλη RP-18, η οποία χρησιμοποιήθηκε καθόλη την διάρκεια του πειράματος καθώς όπως αποδεικνύεται στα παρακάτω χρωματογραφήματα αποτελεί την κατάλληλη στήλη. Η συγκεκριμένη στήλη διαθέτει πρόστηλη, η οποία χρησιμεύει ως φίλτρο του πρώτου διαχωρισμού και βελτιώνει την συμμετρία της κορυφής.

Πριν την πραγματοποίηση των χρωματογραφημάτων, πραγματοποιήθηκε πλήρης αναγέννηση (column regeneration) του υλικού της στήλης RP-18. Κύριοι στόχοι της αναγέννησης είναι η διόρθωση της γραμμής βάσης καθώς και η αύξηση της απόδοσης της στήλης.

Η πορεία που ακολουθείται για την αναγέννηση του υλικού της στήλης έχει ως εξής:

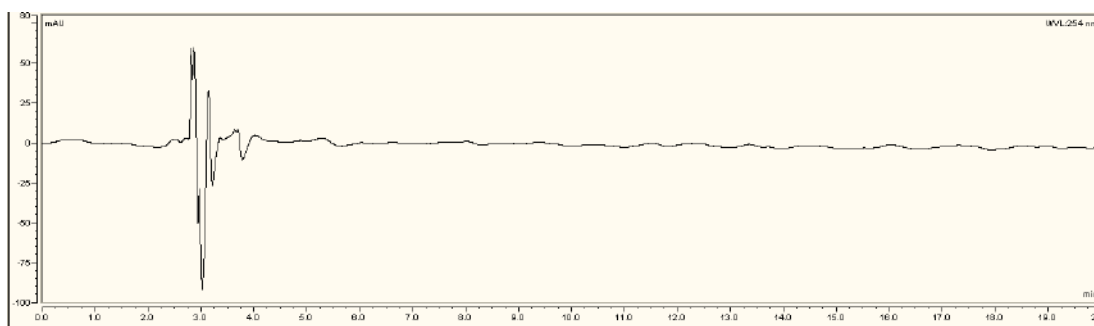
Πραγματοποιείται αποσύνδεση της στήλης και επανασύνδεση της στο σύστημα, με ροή της στήλης στην αντίστροφη κατεύθυνση. Η στήλη σε αυτή την φάση δεν είναι συνδεδεμένη με τον ανιχνευτή προς αποφυγή επιμόλυνσης του ή clogging. Η πορεία ξεκινάει με έκπλυση της στήλης με 25 mL H₂O HPLC (πολικός πρωτικός διαλύτης) με ροή ταχύτητας 1mL/min.

Στην συνέχεια η σειρά διαλυτών που γίνεται έκπλυση με συνεχή ροή 1mL/min στην κινητή φάση είναι:

25mL ACN→25mL Ισοπροπανόλη→ 25ml Εξάνιο→ 25mL Ισοπροπανόλη→ 25mL ACN → 25mL H₂O (HPLC).

Τέλος, πραγματοποιείται επανασύνδεση της στήλης στο σύστημα, με ροή προς την προβλεπόμενη από τον κατασκευαστή κατεύθυνση, όπου και γίνεται εξισορρόπηση της στήλης με 25mL κινητής φάσης.

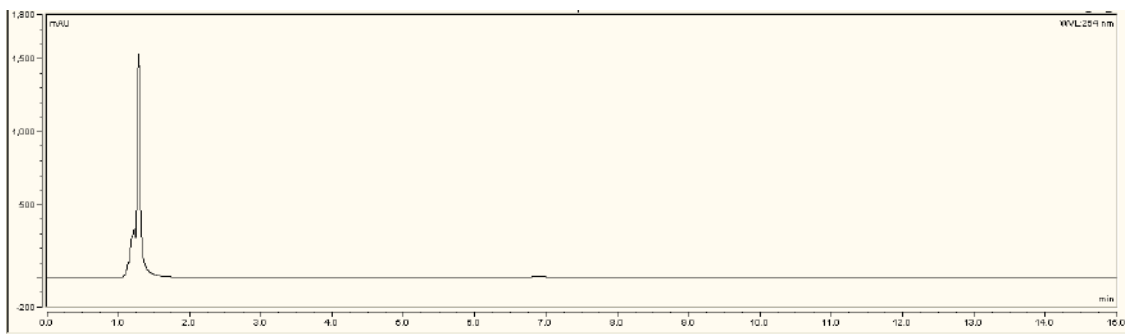
Για να εντοπιστούν οι κορυφές παρεμβολής της κινητής φάσης, παρασκευάστηκε διάλυμα όπου περιείχε [ACN/H₂O] καθώς και ελάχιστη ποσότητα CH₃COONH₄ και υποκαταστάτη APDC και λήφθηκε το εξής χρωματογράφημα μετά από εισαγωγή 20μL καθαρού ACN:



Εικόνα 39: Χρωματογράφημα [ACN/H₂O/ CH₃COONH₄/ APDC]

Στο συγκεκριμένο χρωματογράφημα από t = 2.710 min έως t = 4,027 min υπήρξαν πολλές σπαστές κορυφές που αντιστοιχούν στην ύπαρξη των συστατικών της κινητής φάσης.

Αντίστοιχα, λήφθηκε και το χρωματογράφημα του υποκαταστάτη APDC στο οποίο:

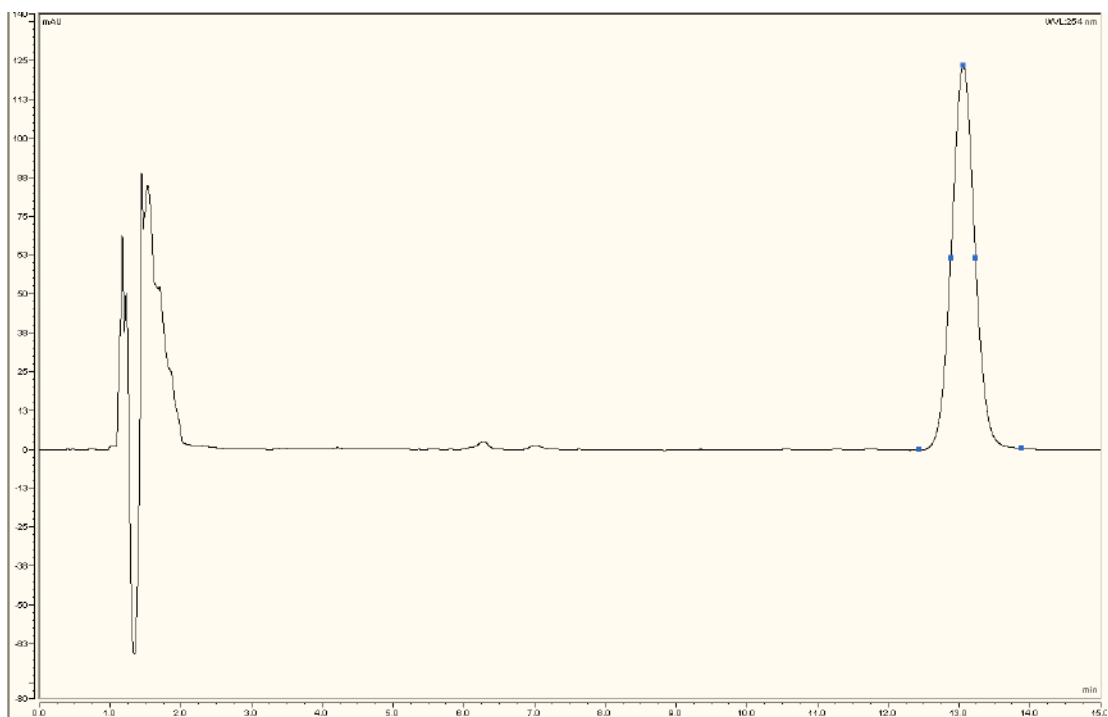


Εικόνα 40: Χρωματογράφημα υποκαταστάτη APDC

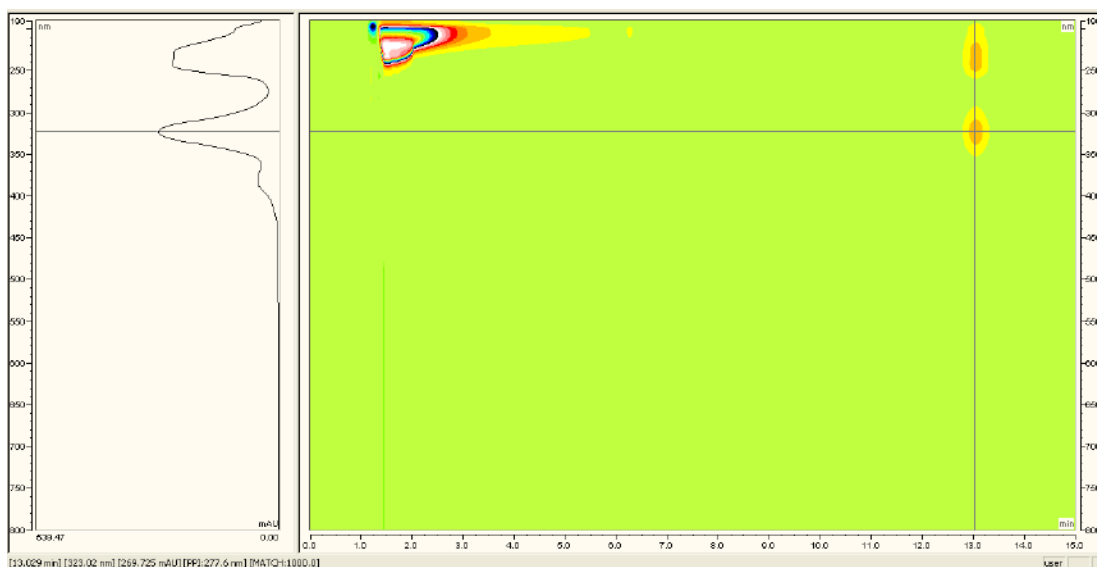
Σε χρόνο $t = 1.288\text{min}$ εμφανίζεται η κορυφή του APDC.

Οπότε με την λήψη των συγκεκριμένων χρωματογραφημάτων μπορεί να ερμηνευθεί μετέπειτα η ύπαρξη κορυφών στον αρχικό χρόνο.

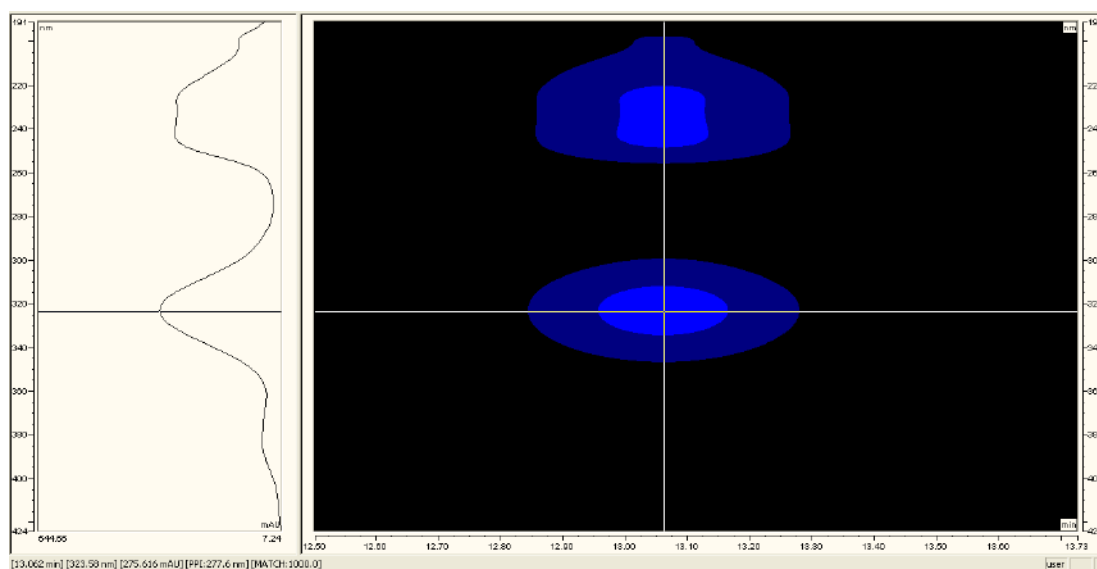
Στην συνέχεια λήφθηκε χρωματογράφημα του συμπλόκου αναφοράς $\text{Ni}(\text{PDC})_2$:



Εικόνα 41: Χρωματογράφημα συμπλόκου αναφοράς $\text{Ni}(\text{PDC})_2$



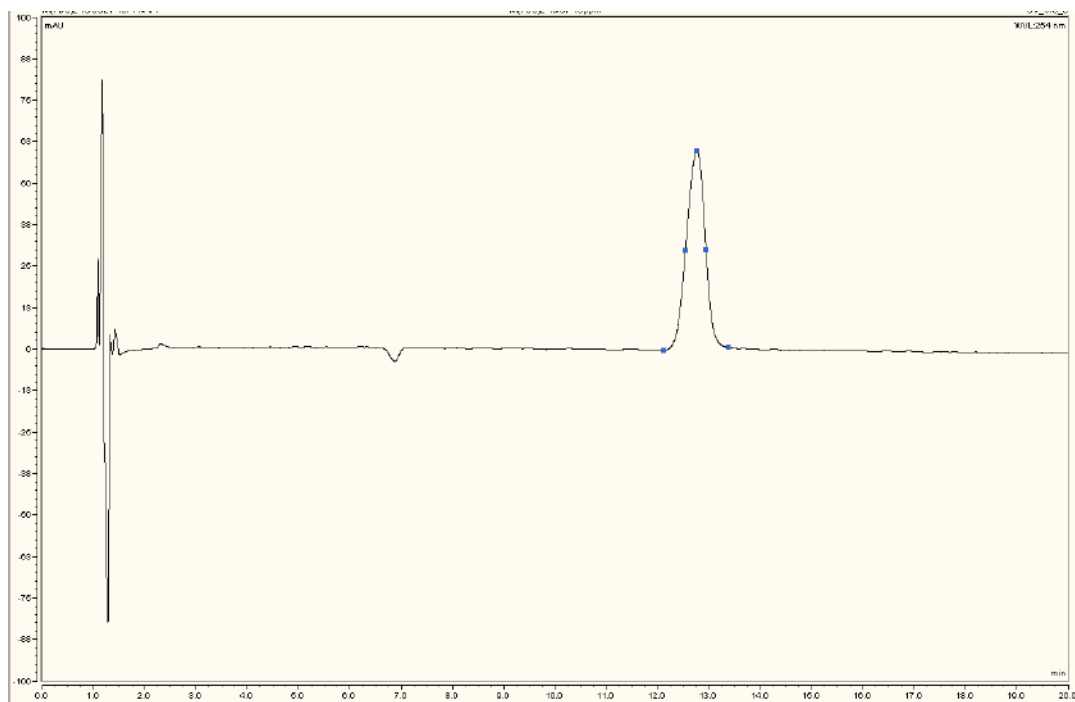
Εικόνα 42: Φάσμα απορρόφησης UV του συμπλόκου αναφοράς $Ni(PDC)_2$ από τον DAD



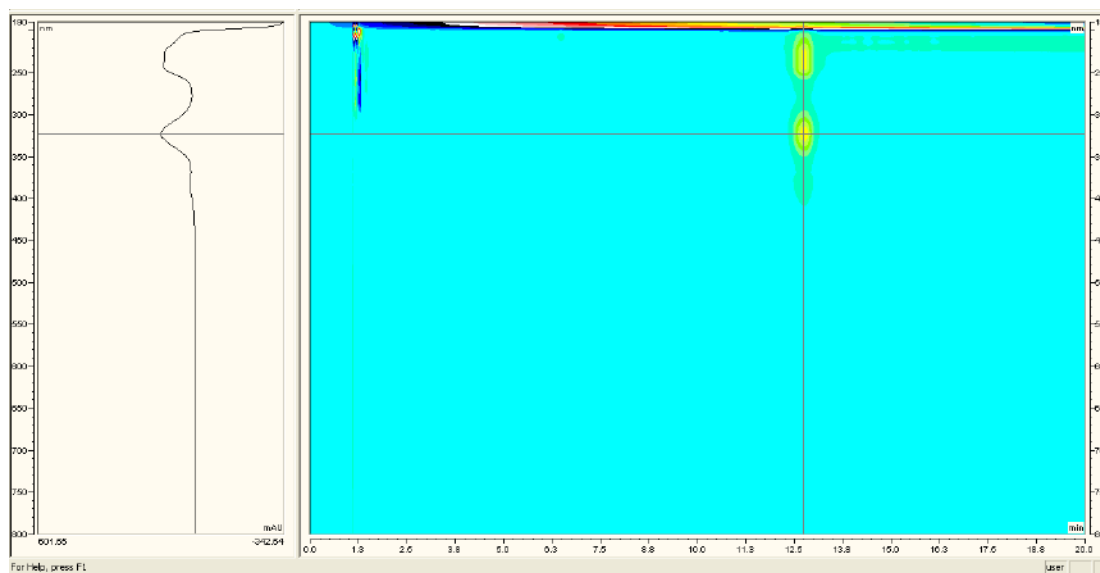
Εικόνα 43: Φάσμα απορρόφησης UV μεγεθυμένο στην περιοχή απορρόφησης του συμπλόκου $Ni(PDC)_2$

Στο συγκεκριμένο χρωματογράφημα σε χρόνο $t = 13.025\text{min}$ εντοπίζουμε μία κορυφή κατά την οποία σε συνδυασμό με τις απορροφήσεις στα μήκη 323.58nm και στα 383.12nm από το φάσμα UV της HPLC, μπορεί να ταυτοποιηθεί ο σχηματισμός συμπλόκου αναφοράς $Ni(PDC)_2$. Η ύπαρξη των κορυφών στα (1-2)min αντιστοιχεί στην κινητή φάση.

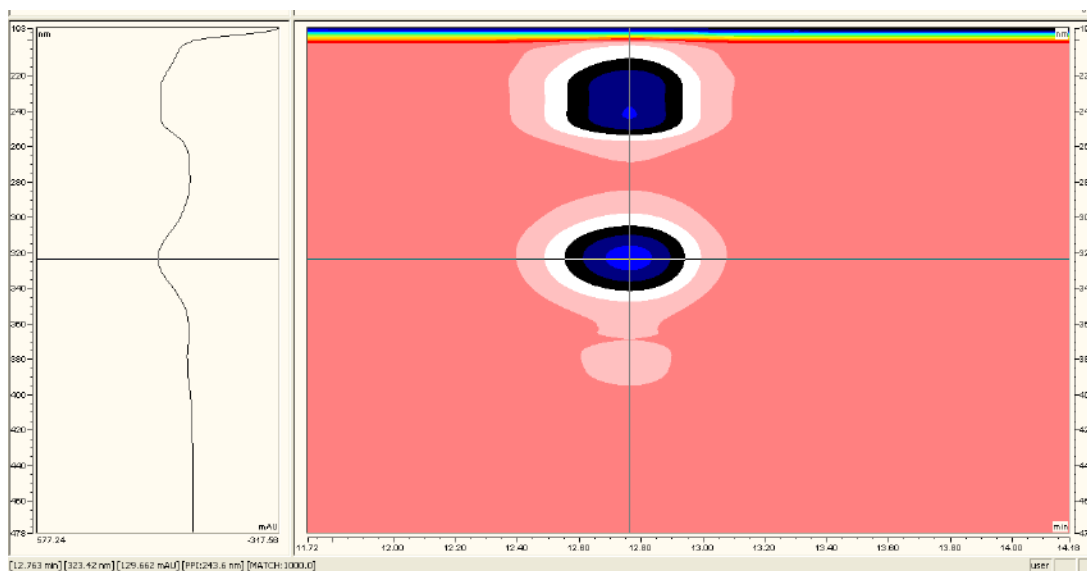
Επόμενο χρωματογράφημα που λήφθηκε είναι ο σχηματισμός του συμπλόκου Ni(PDC)_2 με την μέθοδο της μικροεκχύλισης SPME όπου:



Εικόνα 44: Χρωματογράφημα συμπλόκου Ni(PDC)_2 με την μέθοδο SPME.



Εικόνα 45: Φάσμα απορρόφησης UV του συμπλόκου Ni(PDC)_2



Εικόνα 46: Μεγεθυμένο φάσμα απορρόφησης περιοχής του συμπλόκου $Ni(PDC)_2$

Στο συγκεκριμένο χρωματογράφημα κατά την χρονική στιγμή $t = 12,763\text{min}$ εμφανίζεται μια κορυφή η οποία έχει απορρόφηση 323.42nm και μια πιο μικρή απορρόφηση στα 382.36nm , γεγονός που ταυτοποιεί την ύπαρξη συμπλόκου $Ni(PDC)_2$.

Ο χρόνος, οι κορυφές και οι απορροφήσεις των κορυφών αυτών στα δύο χρωματογραφήματα ταυτίζονται γεγονός που αποδεικνύει πως η μέθοδος της μικροεκχύλισης για τον σχηματισμό του συμπλόκου λειτούργησε αποτελεσματικά.

5.4.2 Σχηματισμός πρότυπης καμπύλης

Για την παρασκευή της πρότυπης καμπύλης χρησιμοποιούμε 4 διαφορετικές συγκεντρώσεις του συμπλόκου αναφοράς $Ni(PDC)_2$: **3 ppm, 10 ppm, 20 ppm, 40 ppm**.

Οι συγκεκριμένες συγκεντρώσεις παρασκευάστηκαν ύστερα από τις επιμέρους αραιώσεις από το μητρικό διάλυμα συμπλόκου αναφοράς $Ni(PDC)_2$ συγκέντρωσης **40 ppm** το οποίο περιέχει :

1 mg συμπλόκου ζυγίστηκε στον αναλυτικό ζυγό ακριβείας, και διαλύθηκε σε 25mL DMSO σε μία ογκομετρική φιάλη των 25mL. Με αυτόν τον τρόπο σχηματίστηκε **διάλυμα 40 ppm**. Ακολούθησε ανάδευση του διαλύματος για 25 min και στην συνέχεια ακολούθησαν οι εξής αραιώσεις:

Διάλυμα 20ppm →

$$C_1 V_1 = C_2 V_2,$$

$$40\text{ppm} \cdot x_1 \text{ mL} = 20\text{ppm} \cdot 10\text{mL} ,$$

$$X_1 = 5\text{mL}$$

Οπότε σε μία ογκομετρική φιάλη των 10 mL μεταφέρονται 5 mL του διαλύματος των 40 ppm με σιφώνι πλήρωσης 5 mL και στην συνέχεια το καινούριο διάλυμα συμπληρώνεται με 5 mL ACN. Με αυτόν τον τρόπο σχηματίστηκε διάλυμα συμπλόκου αναφοράς 20 ppm.

Με τον ίδιο τρόπο παρασκευάζονται και τα **διαλύματα των 10ppm** και **των 3ppm** σε ογκομετρικές φιάλες των 10ppm.

6. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΜΕΤΡΗΣΕΩΝ

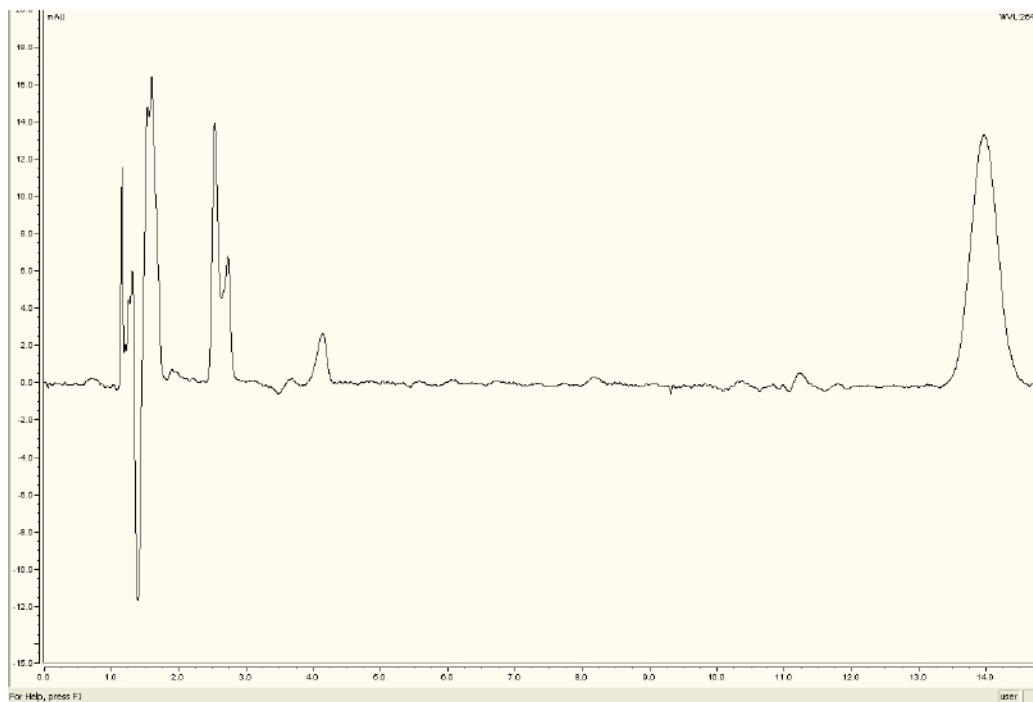
Πριν την χρωματογράφιση των διαλυμάτων αυτά διηθήθηκαν με ηθμούς μίας χρήσης, και στην συνέχεια είσηχθηκαν στον χρωματογράφο για την λήψη των αντίστοιχων χρωματογραφήματων. Για κάθε εισαγωγή πρότυπου διαλύματος ανά συγκέντρωση, λήφθηκαν 3 χρωματογραφήματα.

Πίνακας 9: Αποτελέσματα χρωματογραφημάτων για 3ppm, 10ppm, 20ppm, 40ppm Ni(PDC)₂.

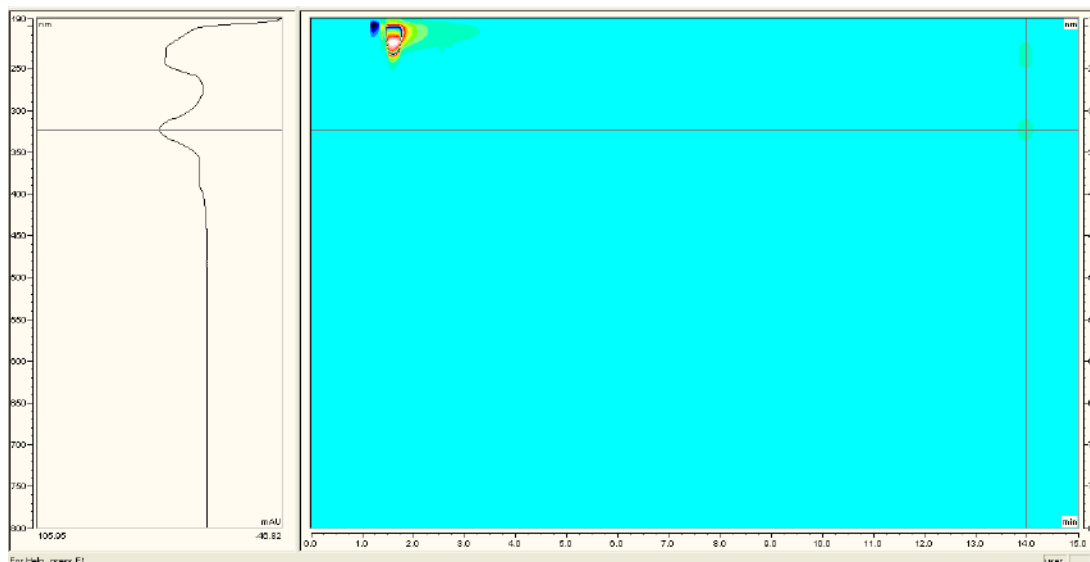
Μετρήσεις	3 ppm		10 ppm		20 ppm		40 ppm	
	t(sec)	AREA	t	AREA	t	AREA	t	AREA
1η	13.918	6.69	13.313	21.29	13.762	39.28	15.187	83.05
2η	13.973	6.48	13.448	20.78	14.238	37.66	15.085	80.64
3η	13.956	6,64	13.308	20.83	14.047	36.13	15.087	82
M.O. AREA	6.6		20.96		37.79		81.89	

Χαρακτηριστικά παραδείγματα χρωματογραφημάτων για την κάθε συγκέντρωση σε συνδυασμό με τις χαρακτηριστικές απορροφήσεις συμπλόκου Ni(PDC)₂ αποτελούν:

3 ppm:



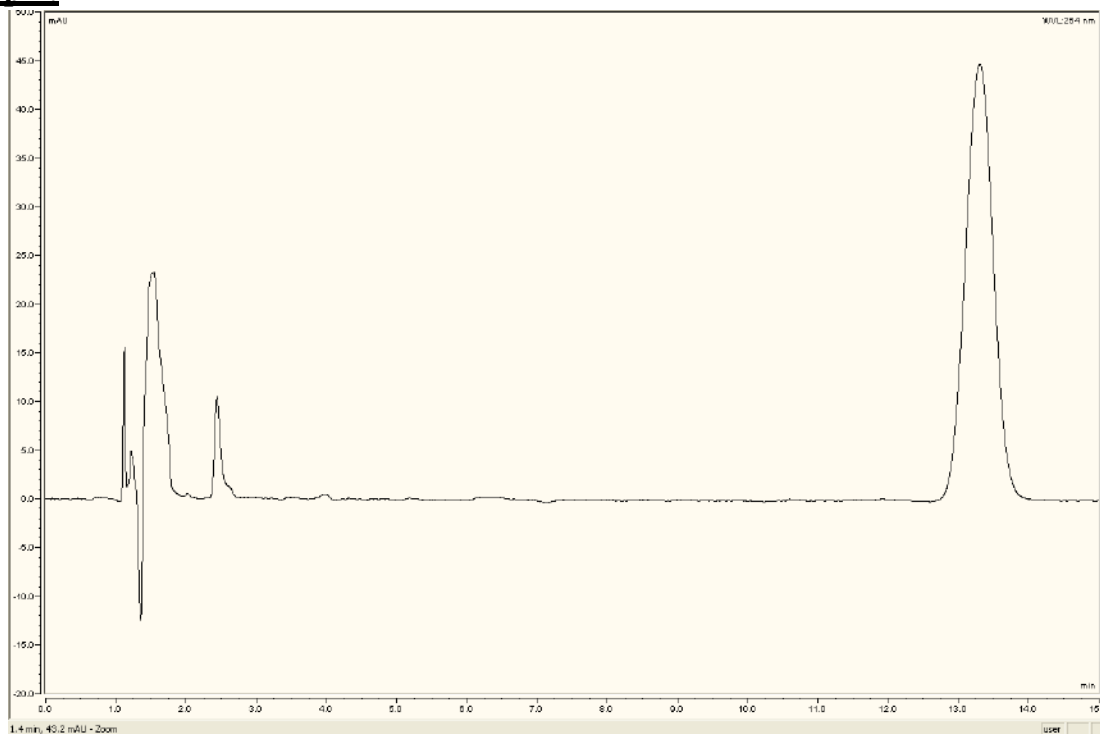
Εικόνα 47: Χρωματογράφημα Ni(PDC)₂, C= 3ppm



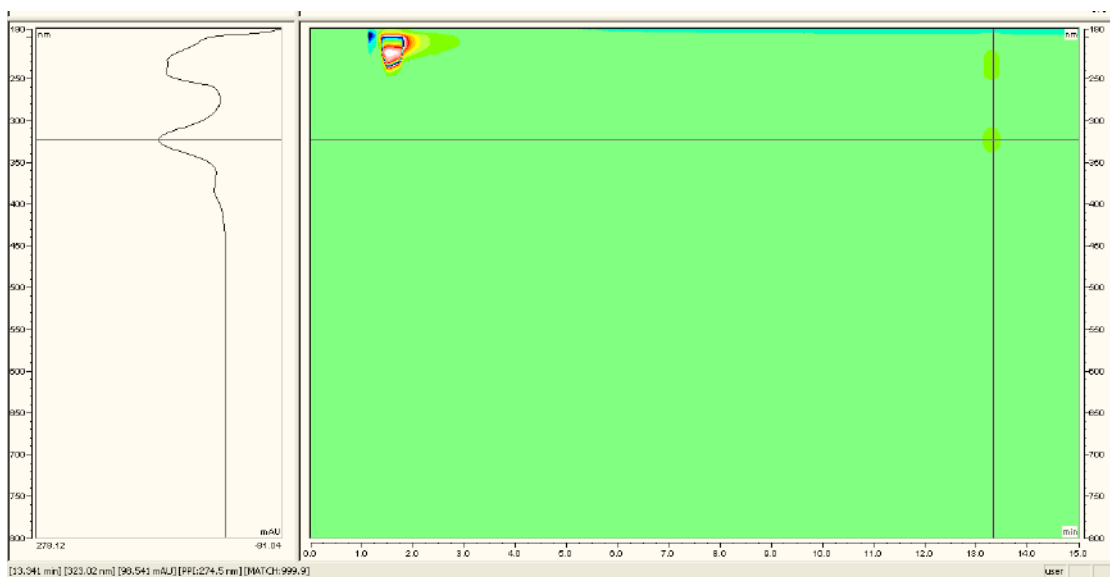
Εικόνα 48: Φασμα Απορρόφησης Ni(PDC)₂ , C = 3 ppm

Το σύμπλοκο σε χρόνο t = 13.973 min έχει απορρόφηση στα 324.05 nm και μια πιο χαμηλή στα 383.29 nm

10 ppm:



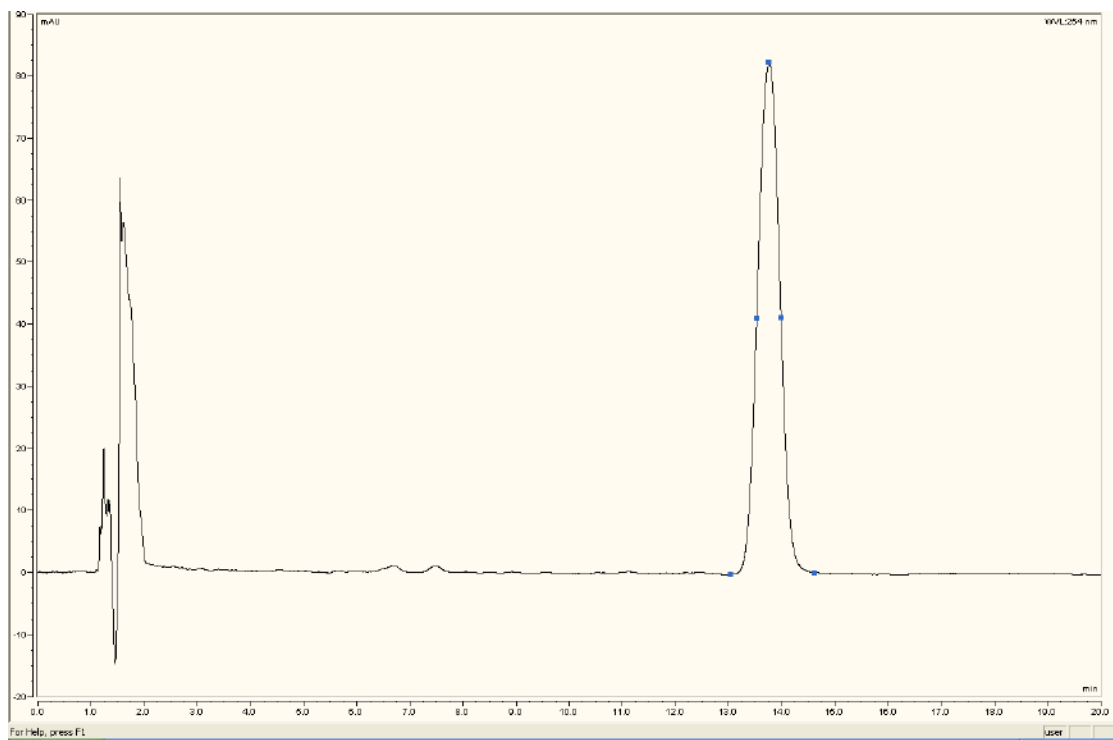
Εικόνα 49: Χρωματογράφημα συμπλόκου Ni(PDC)₂, C= 10 ppm



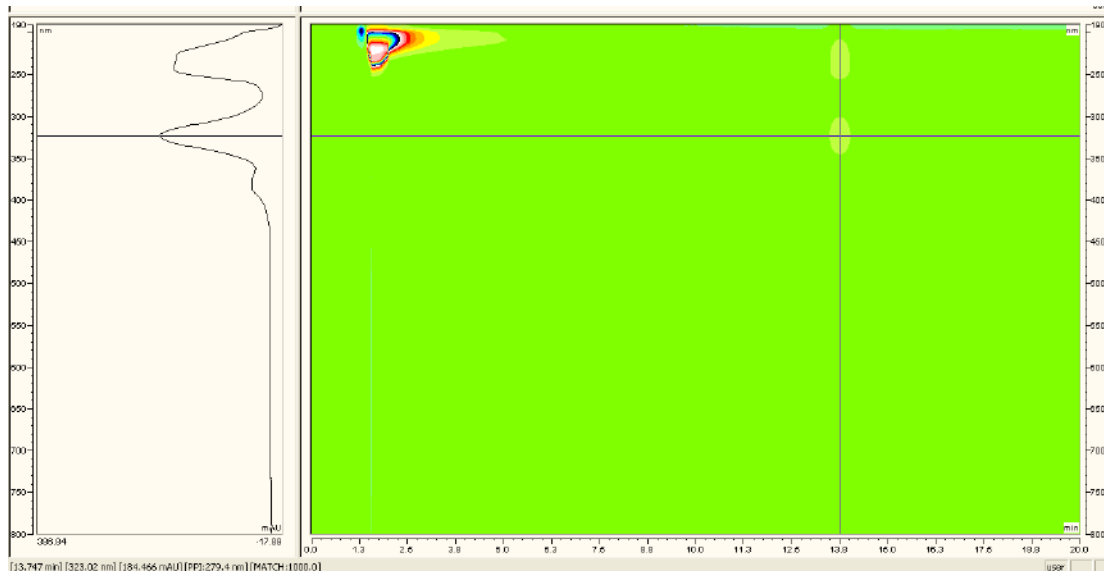
Εικόνα 50: Φάσμα απορρόφησης του συμπλόκου $Ni(PDC)_2$, $C = 10 \text{ ppm}$

Το συμπλόκο σε χρόνο $t = 13.341 \text{ min}$ έχει απορρόφηση στα 323.02 nm και μια πιο χαμηλή απορρόφηση στα $381,92 \text{ nm}$

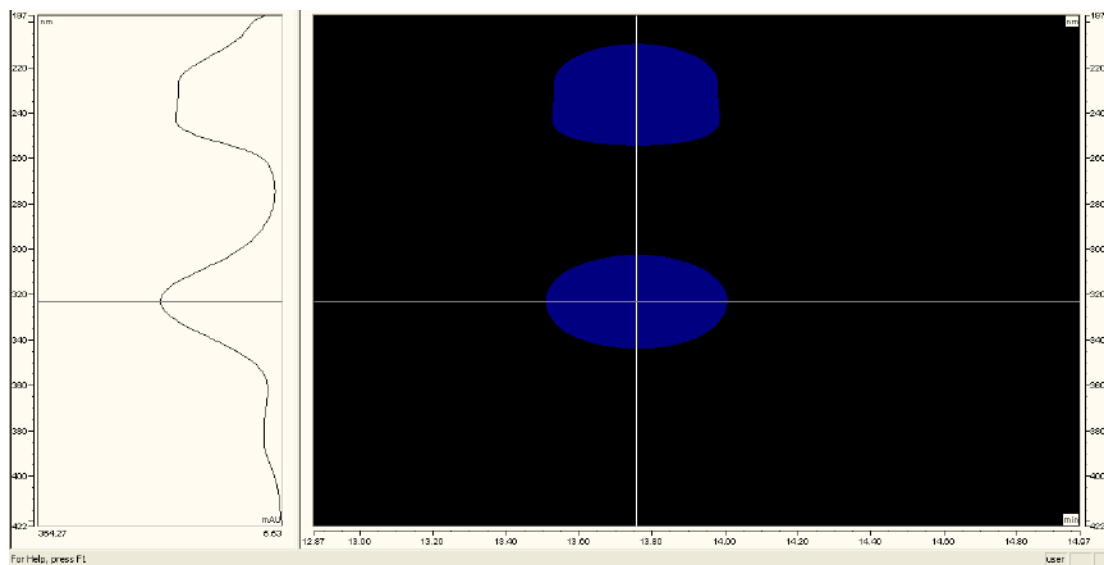
20 ppm



Εικόνα 51: Χρωματογράφημα συμπλόκου $Ni(PDC)_2$, $C = 20 \text{ ppm}$



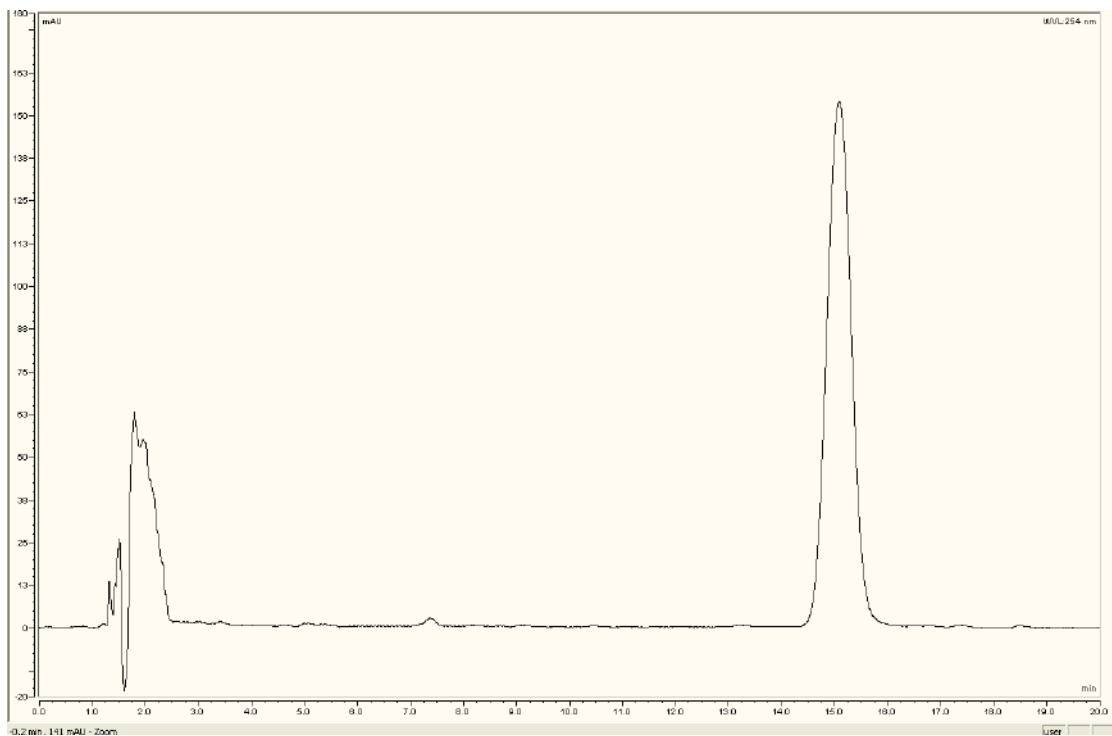
Εικόνα 52: Φάσμα Απορρόφησης $Ni(PDC)_2$ $C = 20 \text{ ppm}$



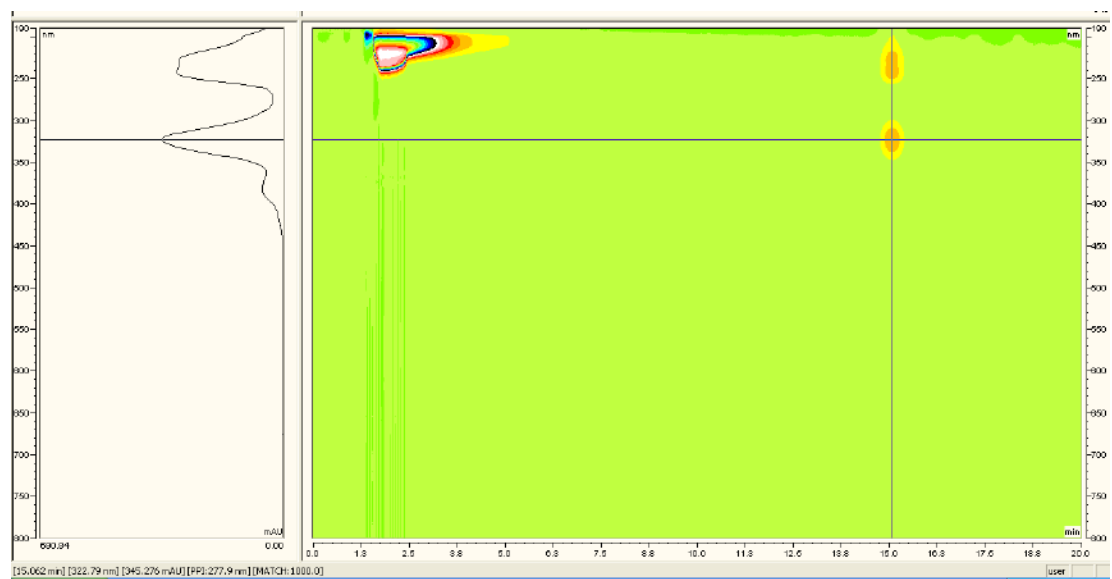
Εικόνα 53: Μεγενθυμένη περιοχή απορρόφησης του συμπλόκου $Ni(PDC)_2$

Το σύμπλοκο στα 20 ppm εμφανίζει απορρόφηση σε χρόνο 13.762 min στα 323.66 nm και 382.97 nm

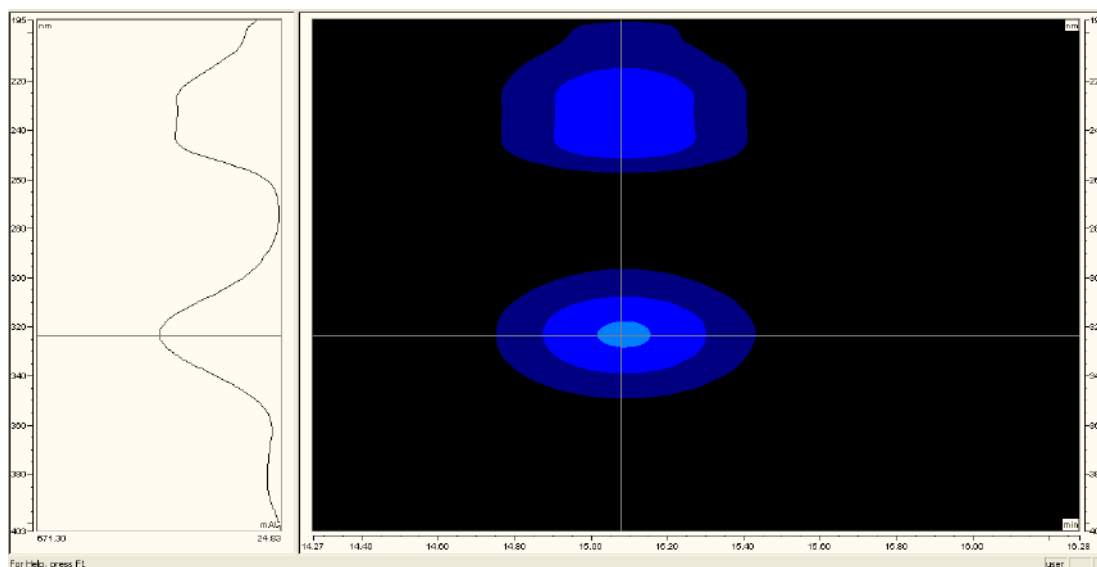
40 ppm:



Εικόνα 54: Χρωματογράφημα συμπλόκου $Ni(PDC)_2$, $C = 40\text{ ppm}$



Εικόνα 55: Φάσμα απορρόφησης συμπλόκου $Ni(PDC)_2$, $C = 40\text{ ppm}$



Εικόνα 56: Μεγενθυμένη περιοχή απορρόφησης του συμπλόκου $Ni(PDC)_2$

Πιο συγκεκριμένα στα 40 ppm του συμπλόκου $Ni(PDC)_2$ εμφανίζεται μια απορρόφηση στα 323.41 nm και στα 382,84 nm σε χρόνο 15.087 min.

Παρατήρηση:

Από τον συνδυασμό των χρωματογραφημάτων με τις χαρακτηριστικές κορυφές και τα φάσματα που λήφθηκαν με τις αντίστοιχες απορροφήσεις, αποδεικνύεται η ύπαρξη του συμπλόκου σε όλες τις επιμέρους συγκεντρώσεις.

Αξιολόγηση κορυφών

Η αξιολόγηση των κορυφών είναι απαραίτητη προϋπόθεση για την ερμηνεία ενός χρωματογραφήματος καθώς και για την απόδοση της στήλης. Παράμετροι όπως η απόδοση, η αποτελεσματικότητα της στήλης, η ασυμμετρία ή η συμμετρία των κορυφών, ο παράγοντας tailing και fronting είναι μερικοί από αυτούς που χρησιμοποιούνται για την αξιολόγηση τους.

Πιο συγκεκριμένα:

Η κορυφή του συμπλόκου αναφοράς $Ni(PDC)_2$ παρουσιάζει τα εξής αποτελέσματα:

- Απόδοση της στήλης : $n = 6883$
- Αποτελεσματικότητα της στήλης : $C_{\text{eff}} = 4588 \text{ cm}^{-1}$
- Ύψος θεωρητικών πλακών: $H = 0,02 \text{ mm}$
- Παράγοντας Ασυμμετρίας : $As = 1,2 > 1$ (tailing)
- Παράγοντας tailing : $T_f = 1,12$

Για την κορυφή του συμπλόκου Ni(PDC)_2 με την μέθοδο της μικροεκχύλισης SPME σε χρόνο εμφάνισης $t = 12.763 \text{ min}$:

- Απόδοση της στήλης : $n = 5273$
- Αποτελεσματικότητα της στήλης : $C_{\text{eff}} = 35150 \text{ cm}^{-1}$
- Ύψος θεωρητικών πλακών: $H = 0,03 \text{ mm}$
- Παράγοντας Ασυμμετρίας : $As = 0,93 < 1$ (fronting)
- Παράγοντας tailing: $T_f = 0,97$

Κατά τον σχηματισμό πρότυπης καμπύλης έγιναν με την λήψη χρωματογραφημάτων και αξιολόγηση των κορυφών του συμπλόκου Ni(PDC)_2 κάθε συγκέντρωσης. Πιο συγκεκριμένα:

Για την κορυφή του συμπλόκου με συγκέντρωση $3 \mu\text{ppm}$ σε χρόνο εμφάνισης $t = 13.973 \text{ min}$:

- Απόδοση της στήλης : $n = 5392$
- Αποτελεσματικότητα της στήλης : $C_{\text{eff}} = 35950 \text{ cm}^{-1}$
- Ύψος θεωρητικών πλακών: $H = 0,04 \text{ mm}$
- Παράγοντας Ασυμμετρίας : $As = 1,06 > 1$ (tailing)
- Παράγοντας tailing : $T_f = 1,058$

Για την κορυφή του συμπλόκου με συγκέντρωση $10 \mu\text{ppm}$ σε χρόνο εμφάνισης $t = 13.308 \text{ sec}$:

- Απόδοση της στήλης : $n = 4400$
- Αποτελεσματικότητα της στήλης : $C_{\text{eff}} = 29330 \text{ cm}^{-1}$
- Ύψος θεωρητικών πλακών: $H = 0,03 \text{ mm}$
- Παράγοντας Ασυμμετρίας : $As = 0,96 < 1$ (fronting)

- Παράγοντας tailing : $T_f = 0,98$

Για την κορυφή του συμπλόκου με συγκέντρωση 20 ppm σε χρόνο εμφάνισης $t = 13.762$ min:

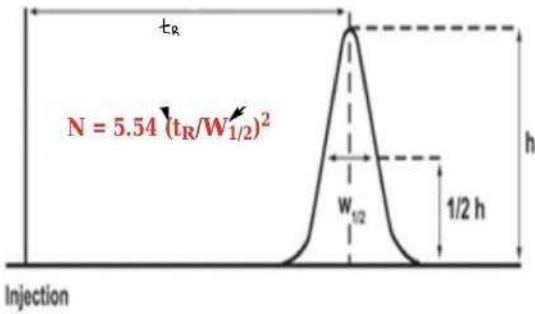
- Απόδοση της στήλης : $n = 5540$
- Αποτελεσματικότητα της στήλης : $C_{eff} = 3693 \text{ cm}^{-1}$
- Ύψος θεωρητικών πλακών: $H = 0,027 \text{ mm}$
- Παράγοντας Ασυμμετρίας : $As = 1,04 > 1$ (tailing)
- Παράγοντας tailing : $T_f = 1,04$

Για την κορυφή του συμπλόκου με συγκέντρωση 40 ppm σε χρόνο εμφάνισης $t = 15.087$ min:

- Απόδοση της στήλης : $n = 4428$
- Αποτελεσματικότητα της στήλης : $C_{eff} = 29520 \text{ cm}^{-1}$
- Ύψος θεωρητικών πλακών: $H = 0,05 \text{ mm}$
- Παράγοντας Ασυμμετρίας : $As = 0.9 < 1$ (fronting)
- Παράγοντας tailing : $T_f = 0,98$

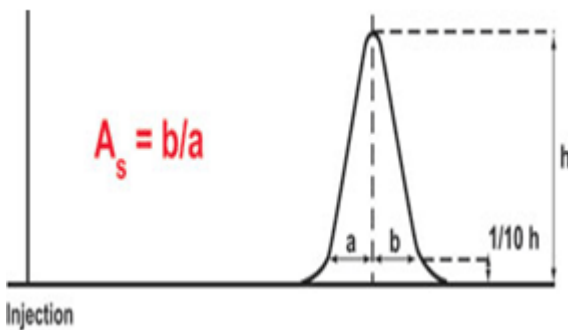
Πίνακας 10: Παράμετροι και τύποι εξισώσεων για την αξιολόγηση κορυφών.

Παράμετρος	Τύπος
Αριθμός θεωρητικών πλακών (απόδοση της στήλης)	$n = 5,54(t_R/w_{1/2})^2$
Αποτελεσματικότητα στήλης c_{eff}	$c_{eff} = n \times 100/L$
Ύψος θεωρητικών πλακών	$H = L/n_{eff}$
Παράγοντας Ασυμμετρίας (10% h)	$As = \frac{\beta}{\alpha}$, όπου $As < 1$ (fronting) $As > 1$ (tailing)
Παράγοντας tailing (5% h)	$T_f = \frac{\alpha + \beta}{2\alpha}$



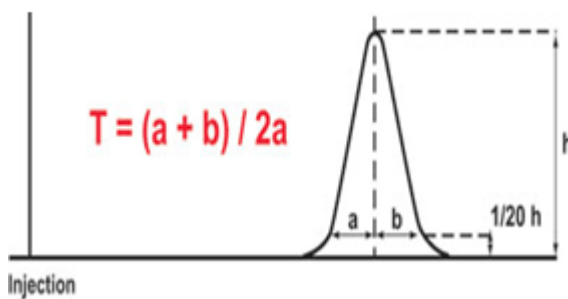
Όπου N , ο αριθμός των θεωρητικών πλακών
 t_R , ο χρόνος συγκράτησης
 $W_{1/2}$, το εύρος κορυφής στο μέσο ύψος της.

Εικόνα 57: Υπολογισμός αποτελεσματικότητας της στήλης



Όπου, A_s είναι ο παράγοντας ασυμμετρίας (μετρούμενος στο 10% του ύψους της κορυφής)
 b είναι η απόσταση από το σημείο στο μέσο της κορυφής έως το άκρο της ουράς
 A είναι η απόσταση από το μπροστινό άκρο του μέσου σημείου της κορυφής έως το μέσο σημείο.

Εικόνα 58: Χρωματογραφική απεικόνιση της παραμέτρου της ασυμμετρίας των κορυφών

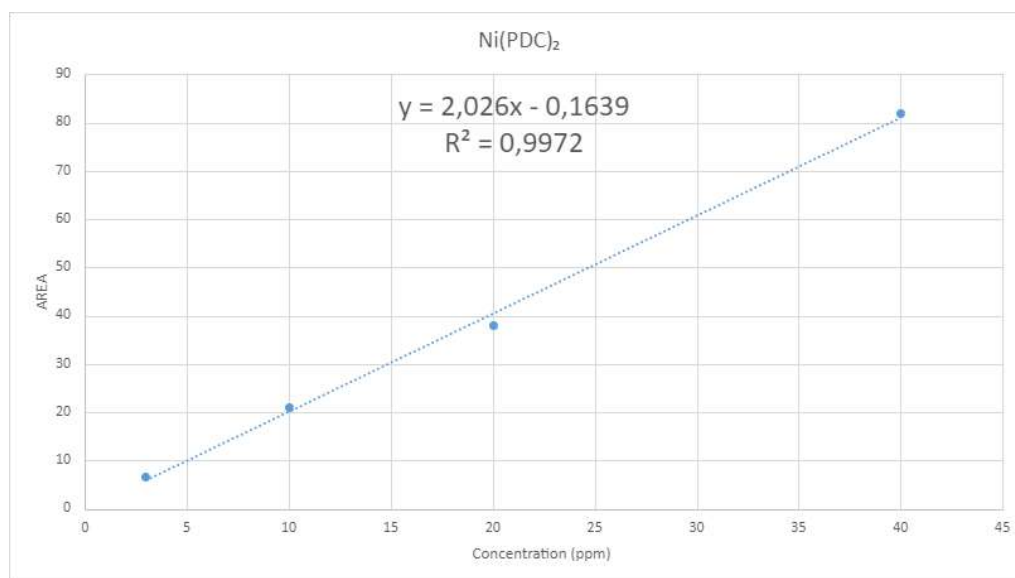


Όπου, T_f είναι ο παράγοντας tailing (μετρούμενος στο 5% του ύψους της κορυφής)
 B είναι η απόσταση από το σημείο στο μέσο της κορυφής έως το άκρο ουράς
 A είναι η απόσταση από το μπροστινό άκρο του μέσου σημείου της κορυφής έως το μέσο σημείο.

Εικόνα 59: Χρωματογραφική απεικόνιση του παράγοντα tailing

Υπολογισμός Πρότυπης Καμπύλης

Από τα στοιχεία του **Πίνακα 9**, με τα μετρήσεις των εμβαδών όλων των χρωματογραφημάτων αλλά και των μέσων όρων αυτών, σε συνδυασμό με την βοήθεια του προγράμματος excel προκύπτει η καμπύλη παλινδρόμησης:



Εικόνα 60: Καμπύλη παλινδρόμησης

Πίνακας 11: Αποτελέσματα μετρήσεων από το υπολογιστικό φύλλο του excel.

ppm	AREA	P ₁	P ₂	P ₃	SD	(CV)%
3	6,6	6,69	6,48	6.64	0,15	2,25
10	20,96	21,29	20,78	20,83	0,28	1,34
20	37,69	39,28	37,66	36,13	1,58	4,17
40	81,89	83,05	80,64	82	1,21	1,48

Όπου , AREA: ο μέσος όρος των εμβαδών των κορυφών

P_{1,2,3}: τα επιμέρους εμβαδά των μετρήσεων

SD: τυπική απόκλιση των μετρήσεων

CV%: συντελεστής διακύμανσης (επαναληψιμότητα των μετρήσεων)

Η εξίσωση παλινδρόμησης έχει την μορφή $y = ax \pm b$:

$$y = 2,026x - 0,1639$$

όπου:

$$a \text{ (Slope)} = 2,026$$

$$b \text{ (Intercept)} = 0,1639$$

με $R^2 = 0,9972$. (R^2 =coefficient of determination, συντελεστής προσδιορισμού)

Η γραμμικότητα είναι αποδεκτή καθώς είναι πάνω από την τιμή του $R^2 = 0,98$ που είναι το όριο. Τα αποτελέσματα των μετρήσεων για τον υπολογισμό της CV% είναι αποδεκτά καθώς καθένα από αυτά είναι κάτω από την τιμή του 5%, γεγονός που κάνει τις μετρήσεις να έχουν επαναληψιμότητα.

Επιπλέον στοιχεία όπως το όριο ανίχνευσης LOD και όριο ποσοτικοποίησης LOQ προσδιορίζονται πειραματικά από την εξίσωση παλινδρόμησης της καμπύλης αναφοράς. Το SD στον άξονα των τετμημένων υπολογίστηκε από το υπολογιστικό φύλο excel SD-X!

$$LOD = 0,123 \text{ ppm} \text{ όπου } LOD = 3,3 * SD-X / Slope$$

$$LOQ = 0,327 \text{ ppm} \text{ όπου } LOQ = 10 * SD-X / Slope$$

Υπολογισμός συγκέντρωσης νικελίου στο καλλυντικό προϊόν με SPME-HPLC-DAD

Για να υπολογιστεί η συγκέντρωση του νικελίου στο καλλυντικό δείγμα πραγματοποιήθηκε η ακόλουθη διαδικασία. Αφού το δείγμα (καλλυντικό/ Ni^{2+}) πρώτα υποβληθεί σε διαδικασία της υγρής πέψης (**ενότητα 4.2.5**) με θερμότητα, στην συνέχεια πραγματοποιείται η σύνθεση του $Ni(PDC)_2$ και η προσρόφηση του στην ίνα SPME. Στην συνέχεια γίνεται εκρόφηση του συμπλόκου από την ίνα σε 1 mL ACN.

Το τελικό δείγμα της εκρόφησης υποβλήθηκε σε μια συμπύκνωση με τελικό όγκο στα 70 μL (κάθε εισαγωγή στο loop αντιστοιχεί στα 20 μL) ούτως ώστε οι μετρήσεις που πραγματοποιούνται να είναι από το ίδιο δείγμα. Ακολούθως πραγματοποιήθηκαν 3 εισαγωγές (injector) στην HPLC-DAD.

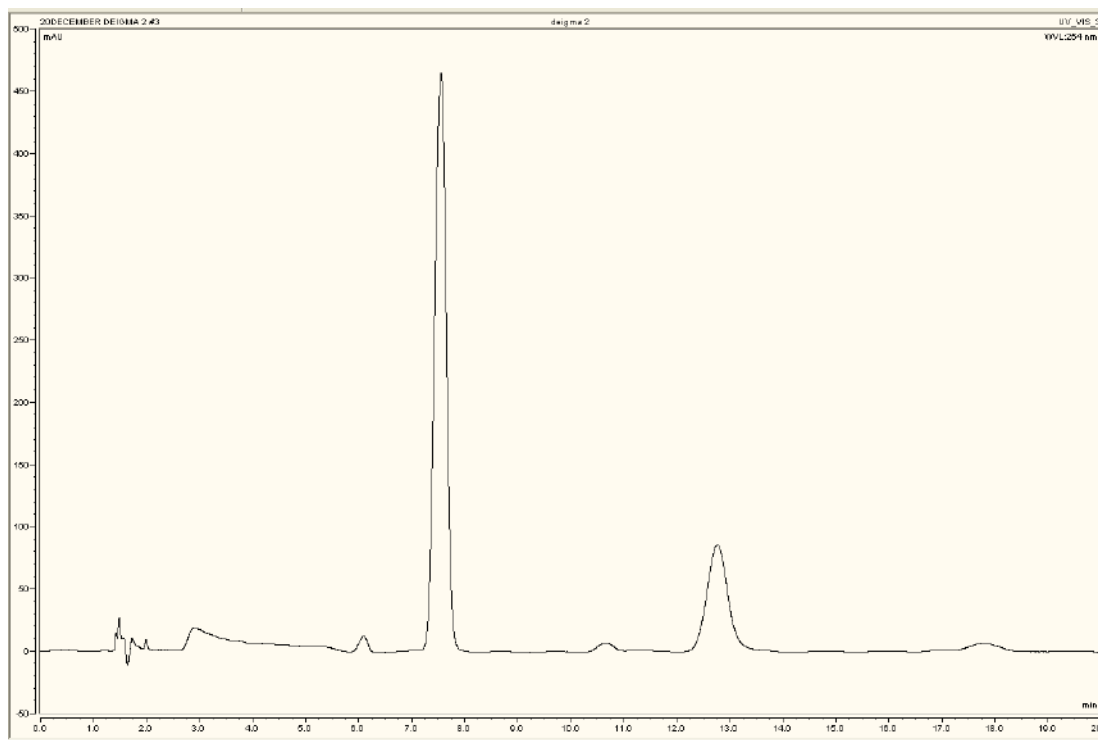
Υπό κανονικές συνθήκες, η σωστή διαδικασία λήψης χρωματογραφήματος σε ένα δείγμα μικροεκχύλισης SPME, γίνεται με μία συγκεκριμένη διάταξη που βρίσκεται στην συσκευή όπου σε αυτήν μεταφέρεται και τοποθετείται η ίνα που έχει το προσροφημένο σύμπλοκο και συμπαρασύρεται όλη η ουσία από την κινητή φάση.

Αυτό όμως δεν ήταν εφικτό λόγω έλλειψης του συγκεκριμένου εξαρτήματος στο εργαστήριο, οπότε η επόμενη άμεση λύση ήταν η διαδικασία συμπύκνωσης του διαλύματος με την λήψη 3 χρωματογραφημάτων .

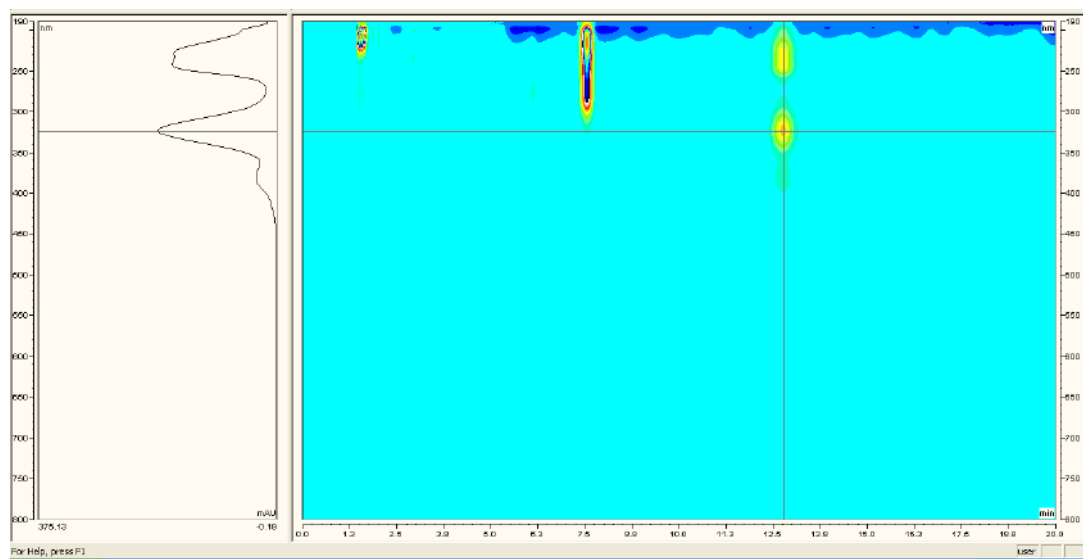
Πίνακας 12: Επιμέρους μετρήσεις του $\text{Ni}(\text{PDC})_2$ στο καλλυντικό δείγμα και ρόφηση/εκρόφηση στην ίνα SPME

παράμετροι	1η	2η	3η	\bar{x}
t	12.763 min	12.123 min	13.550 min	
AREA	41.0018	41.5747	42.78	41.7855

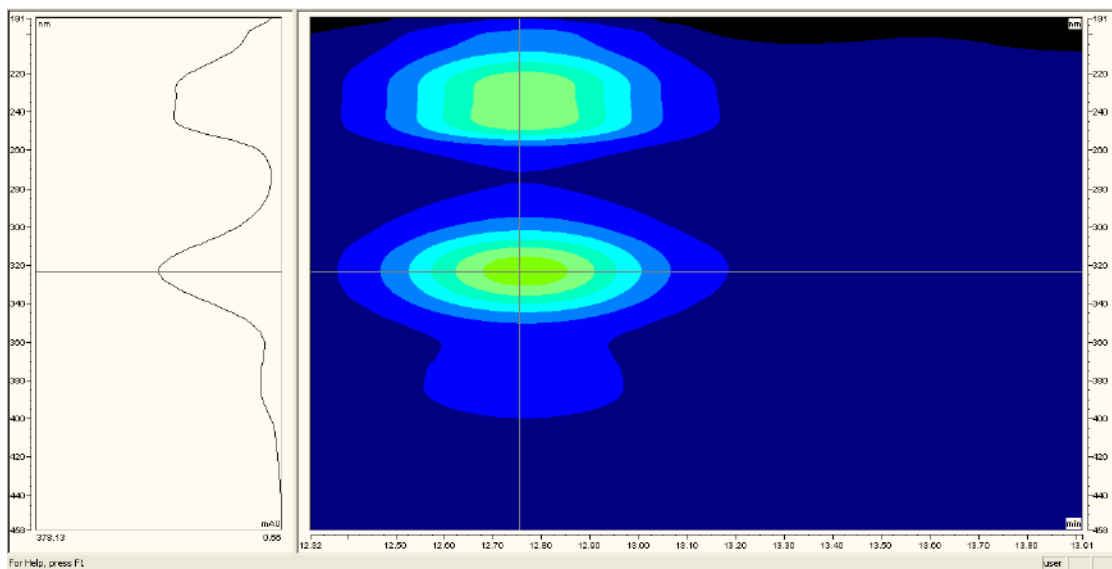
Χαρακτηριστικό χρωματογράφημα του $\text{Ni}(\text{PDC})_2$ στο καλλυντικό δείγμα :



Εικόνα 61: Χρωματογράφημα του $Ni(PDC)_2$ στο καλλοντικό δείγμα μετά από SPME.



Εικόνα 62: Φάσμα Απορρόφησης UV του $Ni(PDC)_2$ στο καλλοντικό δείγμα.



Εικόνα 63: Φάσμα απορρόφησης του συμπλόκου $Ni(PDC)_2$ στο καλλυντικό δείγμα

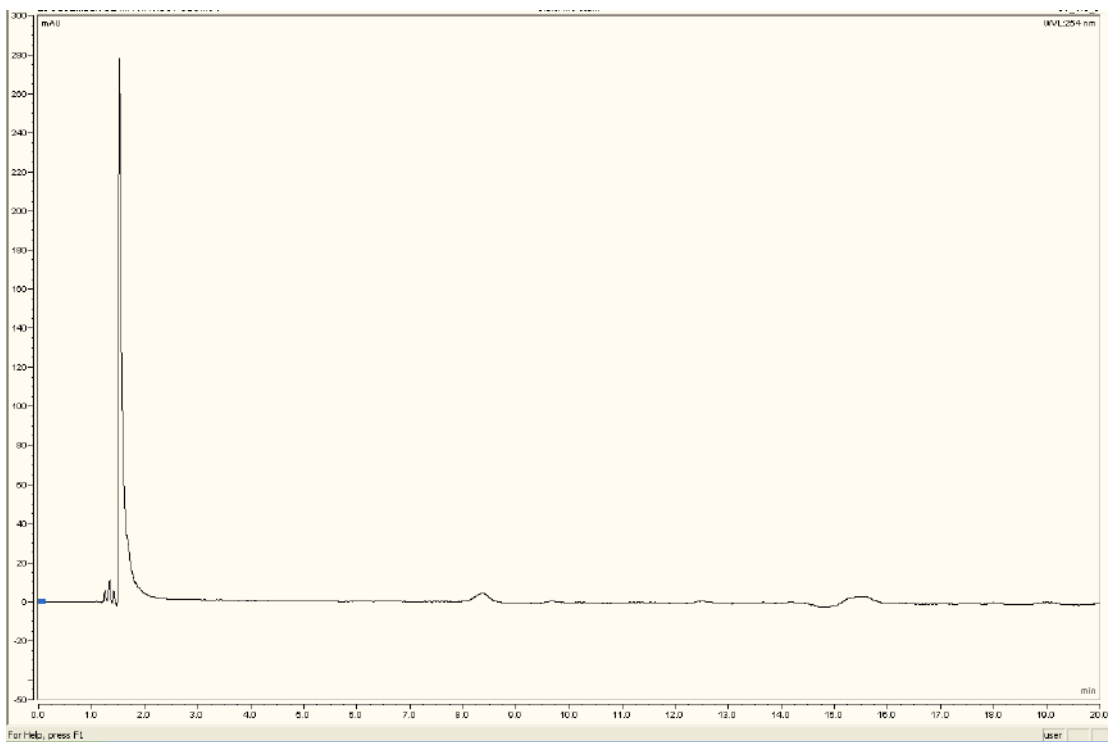
Στο χρωματογράφημα εμφανίζεται μία κορυφή στα 7,5min περίπου όπου έχει μία σχετική απορρόφηση στα 214.70nm και στα 279.50nm, γεγονός που δεν σχετίζεται με τον σχηματισμό του συμπλόκου καθώς ανιχνεύεται κανονικά με απορρόφησεις στα 323nm και στα 382.7nm. Η ύπαρξη της μπορεί να οφείλεται σε κάποια παρεμβολή σήματος κατά την λειτουργία του οργάνου ή σε κάποια πρόσμιξη.

Η παρασκευή του blank και στη συνέχεια η λήψη χρωματογραφημάτων και φασμάτων πραγματοποιήθηκε για τον αποκλεισμό οποιασδήποτε κορυφής που θα μπορούσε να εμφανιστεί στον ίδιο χρόνο με την κορυφή του συμπλόκου.

Πιο συγκεκριμένα για την παρασκευή του blank ακολουθήθηκε η διαδικασία της υγρής πέψης και της προσρόφησης του χωνεμένου καλλυντικού δείγματος στην ίνα SPME και εκρόφησης σε ACN).

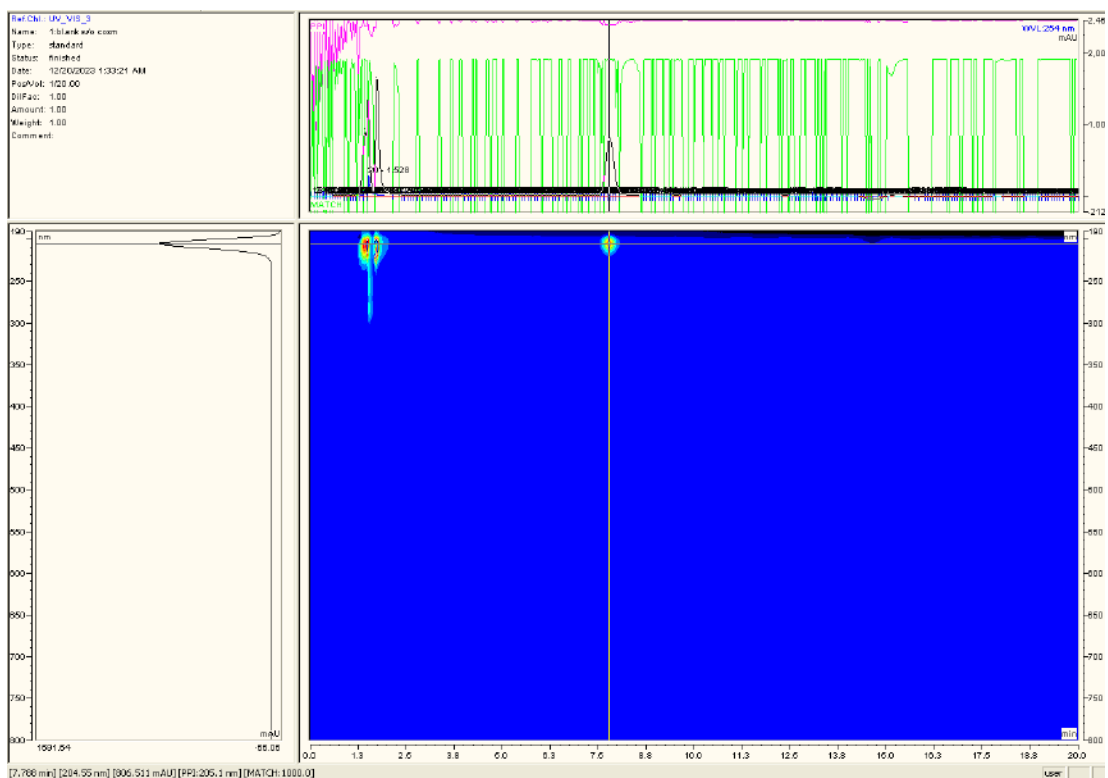
Επομένως το διάλυμα του blank περιείχε το καλλυντικό δείγμα και τα οξέα πέψης (HNO_3 και H_2O_2) χωρίς την προσθήκη Ni^{2+} [$Ni(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$].

Οι χρωματογραφικές συνθήκες για το blank είναι ακριβώς οι ίδιες όπως έχουν ήδη αναφερθεί:



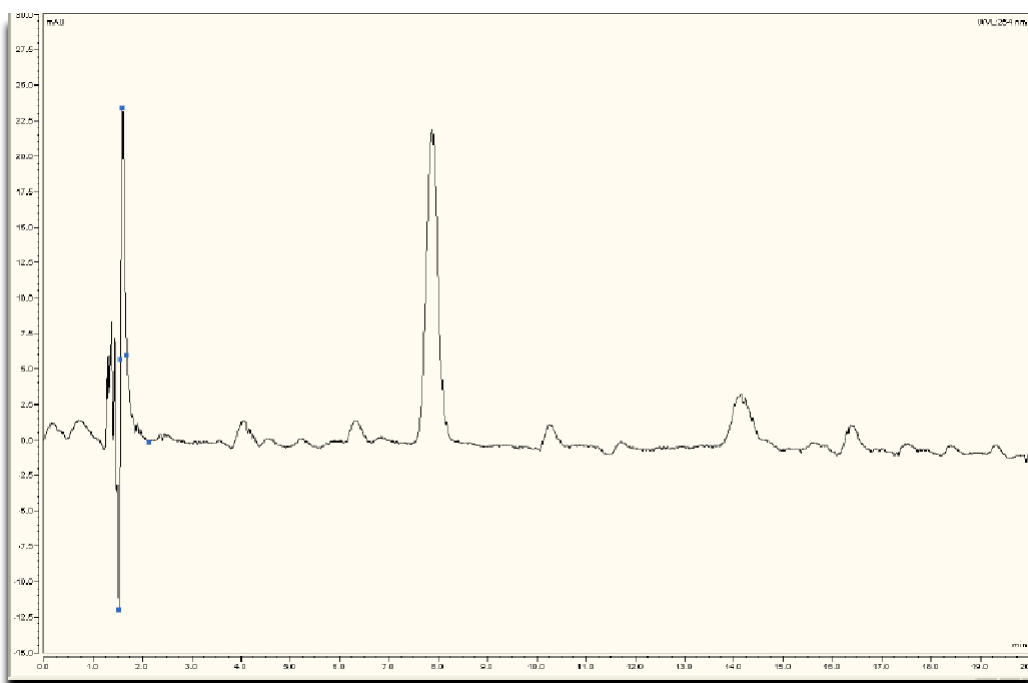
Εικόνα 64: Χρωματογράφημα blank (καλλυντικό δείγματος απουσία Ni^{2+})

Στο χρωματογράφημα εμφανίστηκε στα 7.7 min μία κορυφή όπως και στο καλλυντικό προϊόν με Ni^{2+} . Σύμφωνα με το φάσμα UV, η απορρόφηση της κορυφής που αντιστοιχεί στα 204 nm, απορρίπτει την πιθανότητα εμφάνισης του συμπλόκου στο σημείο αυτό διότι δεν υπάρχουν τα μήκη απορροφήσεως του συμπλόκου στα 323nm και στα 382 nm. Συνεπώς, ορισμένες από τις πιθανότητες προέλευσης-εμφάνισης της συγκεκριμένης κορυφής μπορεί να οφείλεται σε συστατικό του καλλυντικού δείγματος. Ωστόσο, το καλλυντικό προϊόν έχει υποβληθεί σε πέψη, γεγονός που σημαίνει ότι δεν πρέπει να υφίσταται πλέον κάποιο οργανικό έκδοχο.



Εικόνα 65: Φάσμα απορρόφησης UV blank του καλλυντικού δείγματος απουσία Ni^{2+}

Με αύξηση της ευαισθησίας της κλίμακας (AREA) το χρωματογράφημα εμφανίζεται ως ακολούθως :



Εικόνα 66: Χρωματογράφημα καλλυντικού δείγματος blank με αυξημένη ευαισθησία

Παρατηρείται μία κορυφή στα 14 min, η οποία αντιστοιχεί σε κορυφή σχηματισμού του συμπλόκου, η οποία είναι ασήμαντης ποσότητας. Η ύπαρξη της συγκεκριμένης κορυφής είναι πιθανό να οφείλεται σε υπόλειμμα Ni(PDC)₂ πάνω στην ίνα, λόγω μη σωστού καθαρισμού της.

Στο χρωματογράφημα του blank δεν εμφανίζεται κορυφή στον ίδιο χρόνο με αυτήν του συμπλόκου.

Για τον υπολογισμό της συγκέντρωσης του Ni²⁺ στο καλλυντικό δείγμα, ύστερα από όλη την διεργασία που υποβλήθηκε, υπολογίσαμε τον μέσο όρο των εμβαδών των μετρήσεων όπου $\bar{x} = 41.7855$ και θα τον αντικαταστήσουμε στην εξίσωση παλινδρόμησης:

$$41.7855 = 2,026 x - 0,1639$$

Το αποτέλεσμα που προκύπτει είναι $x = 20,70$ ppm και αυτό υποδεικνύει πως η τελική συγκέντρωση του Ni²⁺ ισούται με 20 ppm, δηλαδή περιέχονται τελικά 0,2 mg Ni²⁺ σε 1g καλλυντικού προϊόντος ή 0,02g Ni²⁺ σε 100g καλλυντικού δείγματος ή 0,02% w/w Ni²⁺ δείγματος.

Αρχικά είχαν προστεθεί 30 ppm Ni²⁺ ή αλλιώς 0,3 mg Ni²⁺ σε 1g καλλυντικού προϊόντος ή 0,03 g σε 100g καλλυντικού δείγματος.

Υπολογισμός ανάκτησης R% [Recovery]

$$R\% = \frac{\text{Τελική συγκέντρωση Ni}}{\text{Αρχική συγκέντρωση Ni}} * 100 = \frac{0,2mg}{0,3mg} * 100 = 66,7\%$$

Το ποσοστό ανάκτησης είναι 66,7% το οποίο δεν είναι αποδεκτό, καθώς τα όρια που θεωρούνται αποδεκτά, είναι $R > 90\%$.

Υπολογισμός Σφάλματος μέτρησης

$$\sigma = \frac{\sqrt{(x_1 - \bar{x})^2 + (x_2 - \bar{x})^2 + (x_3 - \bar{x})^2}}{N-1} \Rightarrow$$

$\sigma = 0,907$ (εμβαστό)

όπου $x_{1,2,3}$: τα εμβαστά των 3 μετρήσεων του καλλυντικού δείγματος

\bar{x} : ο μέσος όρος των μετρήσεων του καλλυντικού

N : βαθμοί ελευθερίας

Στην συνέχεια, το αποτέλεσμα αντικαταστήθηκε στην εξίσωση παλινδρόμησης, όπου $y = 0,907$ οπότε:

$$y = 2,026 x - 0,1639 \Rightarrow$$

$X = 0,528$ ppm Ni^{2+} , είναι το σφάλμα της μέτρησης. Αυτή η τιμή εκφράζεται σε 100 g δείγματος, δηλαδή 0,000528g στα 100 g δείγματος,

Οπότε συνολικά η συγκέντρωση του Ni^{2+} με ακρίβεια είναι **$C = (m \pm \sigma)$ g** όπου, **$C_{\text{Ni}^{2+}} = (20,7 \pm 0,528)$ ppm** ή **$C_{\text{Ni}^{2+}} = (0,02 \pm 0,000528)$ g** στα 100 g καλλυντικού δείγματος.

7. ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΚΑΙ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Μέσω των διαδικασιών που πραγματοποιήθηκαν στην συγκεκριμένη ερευνητική εργασία, η μέθοδος της μικροεκχύλισης για την ανίχνευση βαρέων μετάλλων και συγκεκριμένα του Ni^{2+} , ήταν επιτυχής στα επιμέρους στάδια. Ωστόσο για την πλήρη αξιοπιστία της μεθόδου θα πρέπει να διενεργηθούν επιπλέον στάδια. Για να διασφαλιστεί η αξιοπιστία της μεθόδου απαραίτητη είναι η επικύρωση της (validation).

Συνοπτικά, η επικύρωση μιας μεθόδου περιλαμβάνει διεργασίες όπως:

- Ειδικότητα (specificity)
- Εκλεκτικότητα
- Γραμμικότητα (linearity)
- Επαναληπτικότητα

- Πιστότητα (precision)
- Ακρίβεια (Accuracy)
- Ανάκτηση (Recovery)
- Προσδιορισμός LOD (όριου ανίχνευσης)
- Προσδιορισμός LOQ (ορίου ποσοτικοποίησης)

Στην συγκεκριμένη ερευνητική εργασία, οι διεργασίες του validation όπως προαναφέρθηκαν, περιορίστηκαν στον σχηματισμό πρότυπης καμπύλης αναφοράς, στην γραμμικότητα, επαναληπτικότητα, τα όρια LOD και LOQ και στην ανάκτηση. Μια επικύρωση ωστόσο απαιτεί την ολοκλήρωση όλων των διεργασιών ως προϋπόθεση αξιοπιστίας της συγκεκριμένης μεθόδου. Μια επίπλεον παρατήρηση που αξίζει να συζητηθεί, είναι η προβλεπόμενη μείωση της τελικής συγκέντρωσης της εναπομείνουσας ποσότητας Ni^{2+} στο καλλυντικό δείγμα, το οποίο αυτόματα οδήγησε στο χαμηλό ποσοστό ανάκτησης. Αυτό είναι πιθανό να οφείλεται στην απουσία του ειδικού injector σχεδιασμένος για την εισαγωγή της ίνας SPME, έτσι ώστε να πραγματοποιείται άμεση σύνδεση του injector με το loop και από εκείνο το σημείο η κινητή φάση να συμπαρασύρει το σύμπλοκο στην στήλη για την ανίχνευση σου μετέπειτα, και αντί αυτής της διάταξης να πραγματοποιείται τελικά η λήψη 3 χρωματογραφημάτων του ίδιου συμπυκνωμένου καλλυντικού δείγματος. Επιπλέον, ο τρόπος χώνεψης των δειγμάτων θα ήταν ευκολότερος και αξιόπιστος με συσκευή μικροκυμάτων. Μελλοντικό στόχο αποτελεί η ολοκλήρωση των διεργασιών για την επικύρωση της μεθόδου. Πιο συγκεκριμένα η αύξηση του αριθμού των θεωρητικών πλακών θα είχε ως αποτέλεσμα την μείωση του εύρους των κορυφών και την απόδοση της στήλης ώστε μελλοντικά να είναι πιθανά εφικτό να προσδιοριστούν ταυτοχρόνως διαφορετικά βαρέα μέταλλα σε καλλυντικοτεχνικές μορφές δειγμάτων. Ένα ακόμη στόχο αποτελεί η επεξεργασία των παραμέτρων της μικροεκχύλισης SPME για την διερεύνηση καταλληλότερων συνθηκών. Είναι εύλογο λοιπόν, να διερευνηθεί περαιτέρω η διαλυτότητα του συμπλόκου.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [1] Pawliszyn J., “New directions in sample preparation for analysis of organic compounds,” 1995.
- [2] Pawliszyn, J. New directions in sample preparation for analysis of organic compounds. *TrAC*, 14(3), 113-122 .[1995]
- [3] Liu, S., & Ouyang, G. Introduction of solid-phase microextraction. *Solid Phase Microextraction: Recent Developments and Applications*, 1-16.[2017]
- [4] Chen, J., & Pawliszyn, J. B. Solid phase microextraction coupled to high-performance liquid chromatography. *Anal. Chem.*, 67(15), 2530-2533. [1995]
- [5] Wercinski, S. A. (Ed.). . *Solid phase microextraction: a practical guide*. CRC Press.[1999]
- [6] Snow, N. H. Solid-phase micro-extraction of drugs from biological matrices. *J.Chromatog. A*, 885(1-2), 445-455. [2000]
- [7] Ibanez, E., Oca, A., de Murga, G., López-Sebastián, S., Tabera, J., & Reglero, G. Supercritical fluid extraction and fractionation of different preprocessed rosemary plants. *J. Agric. Food Chem.*, 47(4), 1400-1404. [1999]
- [8] Burford, M., Ozel, M., Clifford, A., Bartle, K., Wai, C., & Smart, N. Extraction and recovery of metals using a supercritical fluid with chelating agents. *Analyst*, 124(4), 609-614.[1999]
- [9] Chester, T. L., Pinkston, J. D., & Raynie, D. Supercritical fluid chromatography and extraction. *Anal.Chem.*, 68(12), 487-514. [1996]
- [10] Prosen, H., & Zupančič-Kralj, L. Solid-phase microextraction. *TrAC* 18(4), 272-282.[1999]
- [11] Jönsson, J. Å. Liquid membrane techniques. *In Compr. Anal Chem.* (Vol. 37, pp. 503-530). Elsevier. [2002]
- [12] Yang, M. J., Harms, S., Luo, Y. Z., & Pawliszyn, J. Membrane extraction with a sorbent interface for capillary gas chromatography. *Anal. Chem.*, 66(8), 1339-1346. [1994]
- [13] Yang, M. J., & Pawliszyn, J. Multiplex gas chromatography with a hollow fiber membrane interface for determination of trace volatile organic compounds in aqueous samples. *Anal. Chem.*, 65(13), 1758-1763. [1993]
- [14] Dressler, M. Extraction of trace amounts of organic compounds from water with porous organic polymers. *J. Chromatog. A*, 165(2), 167-206. [1979]
- [15] Poole, C. F., & Schuette, S. A. Isolation and concentration techniques for capillary column gas chromatographic analysis. *JSS* 6(10), 526-549. [1983]
- [16] Hagen, D. F., Markell, C. G., Schmitt, G. A., & Blevins, D. D. Membrane approach to solid-phase extractions. *Anal. Chim. Acta*, 236, 157-164. [1990]

- [17] Caro, E., Marcé, R. M., Borrull, F., Cormack, P. A. G., & Sherrington, D. C. Application of molecularly imprinted polymers to solid-phase extraction of compounds from environmental and biological samples. *TrAC*, 25(2), 143-154. [2006]
- [18] Murray, D. A. J. Rapid micro extraction procedure for analyses of trace amounts of organic compounds in water by gas chromatography and comparisons with macro extraction methods. *J. Chromatog. A*, 177(1), 135-140. [1979]
- [19] Thielen, D. R., Olsen, G., Davis, A., Bajor, E., Stefanovski, J., & Chodkowski, J. An evaluation of microextraction/capillary column gas chromatography for monitoring industrial outfalls. *J. Chromatogr. Sci.*, 25(1), 12-16. [1987]
- [20] Arthur, C. L., & Pawliszyn, J. Solid phase microextraction with thermal desorption using fused silica optical fibers. *Anal. Chem.*, 62(19), 2145-2148. [1990]
- [21] Lord, H., & Pawliszyn, J. Evolution of solid-phase microextraction technology. *J. Chromatogr. A*, 885(1-2), 153-193. [2000]
- [22] Arthur, C. L., & Pawliszyn, J. . Solid phase microextraction with thermal desorption using fused silica optical fibers. *Anal. Chem.*, 62(19), 2145-2148. [1990]
- [23] Pawliszyn, J., *Solid-Phase Microextraction: Theory and Practice*. New York: Wiley, 1997.
- [24] PAWLISZYN, J., PAWLISZYN, B., & PAWLISZYN, M. Solid phase microextraction (SPME). *Chem. Educator*, 2(4), 1-7. [1997]
- [25] Billiard, K. M., Dershem, A. R., & Gionfriddo, E. Implementing green analytical methodologies using solid-phase microextraction: a review. *Molecules*, 25(22), 5297. [2020]
- [26] Barceló, D. Environmental Protection Agency and other methods for the determination of priority pesticides and their transformation products in water. *J. Chromatogr. A*, 643(1-2), 117-143. [1993]
- [27] Lao, R. C., Thomas, R. S., & Monkman, J. L. Computerized gas chromatographic-mass spectrometric analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in environmental samples. *J. Chromatogr. A*, 112, 681-700. [1975]
- [28] Masqué, N., Marcé, R. M., & Borrull, F. New polymeric and other types of sorbents for solid-phase extraction of polar organic micropollutants from environmental water. *TraC*, 17(6), 384-394. [1998]
- [29] Nielen, M. W. F., Brinkman, U. T., & Frei, R. W. Industrial wastewater analysis by liquid chromatography with precolumn technology and diode-array detection. *Anal. Chem.*, 57(4), 806-810. [1985]
- [30] Zhang, Z., Yang, M. J., & Pawliszyn, J. Solid-phase microextraction. A solvent-free alternative for sample preparation. *Anal. Chem.*, 66(17), 844A-853A. [1994]
- [31] Pan, L., Chong, J. M., & Pawliszyn, J. Determination of amines in air and water using derivatization combined with solid-phase microextraction. *J. Chromatogr. A*, 773(1-2), 249-260 . [1997]
- [32] Bartelt, R. J., & Zilkowski, B. W. Nonequilibrium quantitation of volatiles in air streams by solid-phase microextraction. *Anal. Chem.*, 71(1), 92-101. [1999]

- [33] Fattore, E., Benfenati, E., & Fanelli, R. Analysis of chlorinated 1, 3-butadienes by solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr. A*, 737(1), 85-91 [1996]
- [34] de Fatima Alpendurada, M. Solid-phase microextraction: a promising technique for sample preparation in environmental analysis. *J. Chromatogr. A*, 889(1-2), 3-14. [2000]
- [35] Lee, M. R., Yeh, Y. C., Hsiang, W. S., & Hwang, B. H. Solid-phase microextraction and gas chromatography–mass spectrometry for determining chlorophenols from landfill leaches and soil. *J. Chromatogr. A*, 806(2), 317-324. [1998]
- [36] Clausen, P. A., Wilkins, K., & Wolkoff, P. Gas chromatographic analysis of free fatty acids and fatty acid salts extracted with neutral and acidified dichloromethane from office floor dust. *J. Chromatogr. A*, 814(1-2), 161-170. [1998]
- [37] Zambonin, C. Solid phase microextraction coupled to gas chromatography-mass spectrometry for the determination of the adsorption coefficients of triazines in soil. *Analyst*, 123(12), 2825-2828. [1998]
- [38] Snow, N. H. Solid-phase micro-extraction of drugs from biological matrices. *J. Chromatogr. A*, 885(1-2), 445-455. [2000]
- [39] Steffen, A., & Pawliszyn, J. Analysis of flavor volatiles using headspace solid-phase microextraction. *J. Agric. Food Chem.*, 44(8), 2187-2193. [1996]
- [40] Kataoka, H., Lord, H. L., & Pawliszyn, J.. Applications of solid-phase microextraction in food analysis. *J. Chromatogr. A*, 880(1-2), 35-62. [2000]
- [41] Papadopoulos, A., Assimomytis, N., & Varvaresou, A. Sample preparation of cosmetic products for the determination of heavy metals. *Cosmetics*, 9(1), 21. [2022]
- [42] ALqadami, A. A., Abdalla, M. A., ALOthman, Z. A., & Omer, K. Application of solid phase extraction on multiwalled carbon nanotubes of some heavy metal ions to analysis of skin whitening cosmetics using ICP-AES. *IJERPH*, 10(1), 361-374. [2013]
- [43] Ebrahimzadeh, H., Moazzen, E., Amini, M. M., & Sadeghi, O. (Pyridine-2, 6-diamine-functionalized Fe₃O₄ nanoparticles as a novel sorbent for determination of lead and cadmium ions in cosmetic samples. *Int. J. Cosmet. Sci.*, 35(2), 176-182. [2013].
- [44] Esteve-Turrillas, F. A., Pastor, A., & de la Guardia, M. Passive sampling of atmospheric organic contaminants. *Anal. Techn.Sci.*, [2012.]
- [45] Spietelun, A., Kloskowski, A., Chrzanowski, W., & Namieśnik, J. Understanding solid-phase microextraction: key factors influencing the extraction process and trends in improving the technique. *Chem.Rev.*, 113(3), 1667-1685. [2013]
- [46] Manual Guide for SPME fibers from MERCK [<https://www.sigmaaldrich.com/deepweb/assets/sigmaaldrich/product/documents/415/395/spme-gc-analysis-br1410en-mk.pdf>]]
- [47] Lancioni, C., Castells, C., Candal, R., & Tascon, M. Headspace solid-phase microextraction: Fundamentals and recent advances. *Advances in Sample Preparation*, 3, [2022]
- [48] J. Pawliszyn, Handbook of Solid-Phase Microextraction, Elsevier. 2011.

- [49] Dietz, C., Sanz, J., & Cámara, C. Recent developments in solid-phase microextraction coatings and related techniques. *J. Chromatogr. A*, 1103(2), 183-192. [2006]
- [50] de Fatima Alpendurada, M. Solid-phase microextraction: a promising technique for sample preparation in environmental analysis. *J. Chromatogr. A*, 889(1-2), 3-14. [2000]
- [51] Pawliszyn, J. (2012). Solid-phase microextraction in perspective. In *Handbook of solid phase microextraction* (1-12). Elsevier.
- [52] Lord, H., & Pawliszyn, J. Evolution of solid-phase microextraction technology. *J. Chromatogr. A*, 885(1-2), 153-193. [2000]
- [53] Pawliszyn, J. Development of SPME devices and coatings. In *Handbook of solid phase microextraction* (61-97). Elsevier. [2012]
- [54] Chai, M., & Pawliszyn, J. Analysis of environmental air samples by solid-phase microextraction and gas chromatography/ion trap mass spectrometry. *Environ.Sci.Tech.*, 29(3), 693-701. [1995]
- [55] Motlagh, S., & Pawliszyn, J. On-line monitoring of flowing samples using solid phase microextraction-gas chromatography. *Anal. Chim.Acta*, 284(2), 265-273. [1993]
- [56] Pawliszyn, J. Solid phase microextraction. *Headspace Analysis of Foods and Flavors: Theory and Practice*, 73-87. [2001]
- [57] Lancioni, C., Castells, C., Candal, R., & Tascon, M. Headspace solid-phase microextraction: Fundamentals and recent advances. *Adv Sample Prep.*, 3. [2002]
- [58] Lord, H., & Pawliszyn, J. Evolution of solid-phase microextraction technology. *J. Chromatogr. A*, 885(1-2), 153-193. [2000]
- [59] Zhang, Z., Poerschmann, J., & Pawliszyn, J. Direct solid phase microextraction of complex aqueous samples with hollow fibre membrane protection. *Anal. Com.*, 33(7), 219-221. [1996]
- [60] Louch, D., Motlagh, S., & Pawliszyn, J. Dynamics of organic compound extraction from water using liquid-coated fused silica fibers. *Analytical chemistry*, 64(10), 1187-1199. [1992]
- [61] Zhang, Z., & Pawliszyn, J. Headspace solid-phase microextraction. *Anal.Chem.*, 65(14), 1843-1852. [1993]
- [62] Järup, L. Hazards of heavy metal contamination. *Br. Med. Bull.*, 68(1), 167-182. [2003]
- [63] Nagajyoti, P. C., Lee, K. D., & Sreekanth, T. V. M. Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: a review. *Environ.l Chem. Let.*, 8, 199-216. [2010]
- [64] Aragay, G., Pons, J., & Merkoçi, A. Recent trends in macro-, micro-, and nanomaterial-based tools and strategies for heavy-metal detection. *Chem. Rev.*, 111(5), 3433-3458. [2011]
- [65] Bagal-Kestwal, D., Karve, M. S., Kakade, B., & Pillai, V. K.. Invertase inhibition based electrochemical sensor for the detection of heavy metal ions in aqueous system: Application of ultra-microelectrode to enhance sucrose biosensor's sensitivity. *Biosen.Bioelec.*, 24(4), 657-664. [2008]

- [66] Sayin, S. Fabrication of efficient calix [4] arene-adorned magnetic nanoparticles for the removal of Cr (VI)/As (V) anions from aqueous solutions. *PAHs*, 42(4), 1023-1034. [2022]
- [67] Liu, X., Yao, Y., Ying, Y., & Ping, J. Recent advances in nanomaterial-enabled screen-printed electrochemical sensors for heavy metal detection. *TrAC*, 115, 187-202. [2019]
- [68] Flora, S. J. Structural, chemical and biological aspects of antioxidants for strategies against metal and metalloid exposure. *Oxid. Med. Cell. Longev* 2, 191-206. [2009]
- [69] Mester, Z., Sturgeon, R., & Pawliszyn, J. Solid phase microextraction as a tool for trace element speciation. *Spectrochimica Acta Part B: Atom. Spectr.*, 56(3), 233-260. [2001]
- [70] Werner, J., Grześkowiak, T., Zgoła-Grześkowiak, A., & Stanisiz, E. Recent trends in microextraction techniques used in determination of arsenic species. *TrAC*, 105, 121-136. [2018]
- [71] Werner, J., Grześkowiak, T., Zgoła-Grześkowiak, A., & Stanisiz, E. Recent trends in microextraction techniques used in determination of arsenic species. *TrAC*, 105, 121-136. [2018]
- [73] Rüdell, H., Körner, W., Letzel, T., Neumann, M., Nödler, K., & Reemtsma, T. Persistent, mobile and toxic substances in the environment: a spotlight on current research and regulatory activities. *Environ.Sci. Eu.*, 32(1), 5. [2020]
- [74] Nieboer, E., & Richardson, D. H. (1980). The replacement of the nondescript term 'heavy metals' by a biologically and chemically significant classification of metal ions. *Environ.Pol.S. B, Chem. Phys.l*, 1(1), 3-26. [1980]
- [75] Abdel-Fattah, A., & Pingitore, N. E. Low levels of toxic elements in Dead Sea black mud and mud-derived cosmetic products. *Environ. Geochem.Health*, 31, 487-492. [2009]
- [76] Jallad, K. N., & Espada-Jallad, C.. Lead exposure from the use of Lawsonia inermis (Henna) in temporary paint-on-tattooing and hair dying. *Sci. Tot. Environ.*, 397(1-3), 244-250. [2008]
- [77] Faruruwa, M. D., & Bartholomew, S. P. Study of heavy metals content in facial cosmetics obtained from open markets and superstores within Kaduna metropolis, Nigeria. *Am. J. Chem. Appl*, 1(2), 27-33.[2014]
- [78] Alam, M. F., Akhter, M., Mazumder, B., Ferdous, A., Hossain, M. D., Dafader, N. C., ... & Atique Ullah, A. K. M. Assessment of some heavy metals in selected cosmetics commonly used in Bangladesh and human health risk. *J. Anal. Sci. Techn.*, 10(1), 1-8. [2019]
- [79] Sin, K. W., & Tsang, H. F. Large-scale mercury exposure due to a cream cosmetic: community-wide case series. *Hong Kong Medical Journal*, 9(5), 329-334. [2003]
- [80] European Parliament and Council Of The European, "Κανονισμός (ΕΚ)1223/2009," *Official Journal of The European Union*, Nov. 2009.
- [81] Borowska, S., & Brzóška, M. M. Metals in cosmetics: implications for human health. *J.Appl. Tox.*, 35(6), 551-572. [2015]

- [82] Bilal, M., & Iqbal, H. M. An insight into toxicity and human-health-related adverse consequences of cosmeceuticals—a review. *Sci.Tot. Environ*, 670, 555-568. [2019]
- [83] Bakr, R. O., Amer, R. I., Fayed, M. A., & Ragab, T. I. A completely polyherbal conditioning and antioxidant shampoo: A phytochemical study and pharmaceutical evaluation. *J.Pharm. Bioallied Sci.*, 11(2), 105-115. [2019]
- [84] Mohiuddin, A. K. Heavy metals in cosmetics: the notorious daredevils and burning health issues. *Am. J. Biomed. Sci. Res*, 4(5), 333-337. [2019]
- [85] Ahsan, H. The biomolecules of beauty: Biochemical pharmacology and immunotoxicology of cosmeceuticals. *J. Immunol. Immunochem.*, 40(1), 91-108. [2019]
- [86] Omenka, S. S., & Adeyi, A. A. Heavy metal content of selected personal care products (PCPs) available in Ibadan, Nigeria and their toxic effects. *Toxicol.Rep.*, 3, 628-635. [2016]
- [87] Alam, M. F., Akhter, M., Mazumder, B., Ferdous, A., Hossain, M. D., Dafader, N. C., ... & Atique Ullah, A. K. M. Assessment of some heavy metals in selected cosmetics commonly used in Bangladesh and human health risk. *JAST*, 10(1), 1-8. [2019]
- [88] Mohiuddin, A. K. Heavy metals: the notorious daredevils of daily personal care products. *Int J Pharm Pharm Res*, 2, 8-18. [2019]
- [89] Crosera, M., Bovenzi, M., Maina, G., Adami, G., Zanette, C., Florio, C., & Filon Larese, F. (2009). Nanoparticle dermal absorption and toxicity: a review of the literature. *Intern. Arch. Occ. Environ. Health*, 82, 1043-1055.
- [90] Stauber, J. L., Florence, T. M., Gulson, B. L., & Dale, L. S. Percutaneous absorption of inorganic lead compounds. *Sci. Total Environ*. 145(1-2), 55-70. [1994]
- [91] Center for Disease Control (US), Centers for Disease Control (US), Centers for Disease Control, & Prevention (US). *Morbidity and mortality weekly report: MMWR* (Vol. 53). US Department of Health, Education, and Welfare, Public Health Service, Center for Disease Control. [2004]
- [92] Warley, M. A., Blackledge, P., & O'gorman, P. Lead poisoning from eye cosmetic. *Br. Med.J*, 1(5584), 117. [1968]
- [93] Liu, X., Song, Q., Tang, Y., Li, W., Xu, J., Wu, J., ... & Brookes, P. C. Human health risk assessment of heavy metals in soil–vegetable system: a multi-medium analysis. *Sci.Total Environ.*, 463, 530-540. [2013]
- [94] Al-Masri, M. S., Amin, Y., Al-Akel, B., & Al-Naama, T. Biosorption of cadmium, lead, and uranium by powder of poplar leaves and branches. *Appl. Biochem. Biotech.*, 160, 976-987. [2010]
- [95] Tuchman, M., Silverberg, J. I., Jacob, S. E., & Silverberg, N. Nickel contact dermatitis in children. *Clin.Derm.*, 33(3), 320-326. [2015]
- [96] Halicz, L., Portugal-Cohen, M., Russo, M. Z., Robino, F., Vanhaecke, T., & Rogiers, V. Safety evaluation of traces of nickel and chrome in cosmetics: The case of Dead Sea mud. *Reg. Tox. Pharm.*, 73(3), 797-801. [2015]

- [97] Travassos, A. R., Claes, L., Boey, L., Drieghe, J., & Goossens, A. Non-fragrance allergens in specific cosmetic products. *CD*, 65(5), 276-285. [2011]
- [98] Vahter, M., Berglund, M., Åkesson, A., & Liden, C. Metals and women's health. *Environ. Res.*, 88(3), 145-155. [2002]
- [99] Zug, K. A., Warshaw, E. M., Fowler Jr, J. F., Maibach, H. I., Belsito, D. L., Pratt, M. D., ... & Rietschel, R. L. Patch-test results of the North American contact dermatitis group 2005-2006. *DERM*, 20(3), 149-160. [2009]
- [100] Alinaghi, F., Bennike, N. H., Egeberg, A., Thyssen, J. P., & Johansen, J. D. Prevalence of contact allergy in the general population: a systematic review and meta-analysis. *CD* 80(2), 77-85. [2019]
- [101] Chavatte, L., Juan, M., Mounicou, S., Leblanc Noblesse, E., Pays, K., Nizard, C., & Bulteau, A. L. Elemental and molecular imaging of human full thickness skin after exposure to heavy metals. *Metallomics*, 12(10), 1555-1562. [2020]
- [102] Cammarota, M., Lamberti, M., Masella, L., Galletti, P., De Rosa, M., Sannolo, N., & Giuliano, M. Matrix metalloproteinases and their inhibitors as biomarkers for metal toxicity in vitro. *Tox, in vitro*, 20(7), 1125-1132. [2006]
- [103] Mahurpawar, M. Effects of heavy metals on human health. *Int J Res Granthaalayah*, 530(516), 1-7. [2015]
- [104] Ahlström, M. G., Thyssen, J. P., Wennervaldt, M., Menné, T., & Johansen, J. D. Nickel allergy and allergic contact dermatitis: A clinical review of immunology, epidemiology, exposure, and treatment. *CD* 81(4), 227-241. [2019]
- [105] Vogelmeier, C. F., Criner, G. J., Martinez, F. J., Anzueto, A., Barnes, P. J., Bourbeau, J., ... & Agusti, A. Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive lung disease 2017 report. GOLD executive summary. *Am. J. Respir. Crit. Care Med* 195(5), 557-582. [2017]
- [106] Bocca, B., Forte, G., Petrucci, F., & Cristaudo, A.. Levels of nickel and other potentially allergenic metals in Ni-tested commercial body creams. *J.Pharm. BioMed.Anal*, 44(5), 1197-1202. [2007]
- [107] Basketter, D. A., Briatico-Vangosa, G., Kaestner, W., Lally, C., & Bontinck, W. J. Nickel, cobalt and chromium in consumer products: a role in allergic contact dermatitis?. *CD*, 28(1), 15-25. [1993]
- [108] Sainio, E. L., Jolanki, R., Hakala, E., & Kanerva, L. Metals and arsenic in eye shadows. *CD*, 42(1), 5-10. [2000]
- [109] Le Coz, C. J., Leclere, J. M., Arnoult, E., Raison-Peyron, N., Pons-Guiraud, A., Vigan, M., & Of Revidal-gerda, T. M. Allergic contact dermatitis from shellac in mascara. *CD* 46(3), 149-152. [2002]
- [110] Diepgen, T. L., & Weisshaar, E. Contact dermatitis: epidemiology and frequent sensitizers to cosmetics. *JEADV*, 21, 9-13. [2007]
- [111] Amer, M. M., Sabry, B. A., Marrez, D. A., Hathout, A. S., & Fouzy, A. S. Exposure assessment of heavy metal residues in some Egyptian fruits. *Tox. Rep.*, 6, 538-543. [2019]

- [112] Zhong, Z., & Li, G. Current trends in sample preparation for cosmetic analysis. *J.Sep. Sci.*, 40(1), 152-169. [2017]
- [113] Daşbaşı, T., Kartal, Ş., Saçmacı, Ş., & Ülgen, A. Dispersive liquid-liquid microextraction of bismuth in various samples and determination by flame atomic absorption spectrometry. *J. Anal. Met.Chem.*, [2016.]
- [114] Saçmacı, Ş., & Saçmacı, M. A new chelating reagent: its synthesis/characterization and application for the determination of Cd (II) and Ni (II) in various food and make-up product samples by FAAS using simultaneous microextraction sampling. *J. AOAC Int.*, 99(4), 1058-1065. [2016]
- [115] Saçmacı, Ş., & Saçmacı, M. A new procedure for determination of nickel in some fake jewelry and cosmetics samples after dispersive liquid–liquid microextraction by FAAS. *Appl. Organometal. Chem.*, 31(11). [2017]
- [116] Sharafi, K., Fattahi, N., Pirsaeheb, M., Yarmohamadi, H., & Fazlzadeh Davil, M. Trace determination of lead in lipsticks and hair dyes using microwave-assisted dispersive liquid–liquid microextraction and graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Int. J. Cosm. Sci.*37(5), 489-495. [2015]
- [117] Papadopoulos, A., Assimomytis, N., & Varvaresou, A. Sample preparation of cosmetic products for the determination of heavy metals. *Cosmetics*, 9(1), 21. [2022]
- [118] Zhang, J. Y., Guo, W., & Guo, W. Elimination of memory effects and simultaneous determination of B, Br, I, Hg, Bi, and Sb in groundwater samples by inductively coupled plasma mass spectrometry. *Atom. Spectrosc.* 35(3), 97-102. [2014]
- [119] Jiang, Y., Wu, Y., Liu, J., Xia, X., & Wang, D. Ammonium pyrrolidinedithiocarbamate-modified activated carbon micro-column extraction for the determination of As (III) in water by graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Microchimica Acta*, 161, 137-142. [2008]
- [120] Daşbaşı, T., Muğlu, H., Soykan, C., & Ülgen, A. SPE and determination by FAAS of heavy metals using a new synthesized polymer resin in various water and dried vegetables samples. *J. Macromolec. Sci., Part A*, 55(3), 288-295. [2018]
- [121] Khan, W. A., Arain, M. B., & Soylak, M. Nanomaterials-based solid phase extraction and solid phase microextraction for heavy metals food toxicity. *FCT 145*, [2020]
- [122] Siddiqui, M. F., Khan, Z. A., Jeon, H., & Park, S. (2020). SPE based soil processing and aptasensor integrated detection system for rapid on site screening of arsenic contamination in soil. *Ecotoxicol Environ Saf* 196. [2020]
- [123] Kreidl, M., Rainer, M., Jakschitz, T., & Bonn, G. K. . Determination of phototoxic furanocoumarins in natural cosmetics using SPE with LC-MS. *Anal. Chim. Acta*, 1101, 211-221. [2020]
- [124] Cabaleiro, N., De La Calle, I., Bendicho, C., & Lavilla, I.. An overview of sample preparation for the determination of parabens in cosmetics. *TrAC*, 57, 34-46. [2014]
- [125] Baranowska, I., & Wojciechowska, I. The determination of preservatives in cosmetics and environmental waters by HPLC. *Polish Journal of Environmental Studies*, 22(6).[2013]

- [126] Fei, T., Li, H., Ding, M., Ito, M., & Lin, J. M. Determination of parabens in cosmetic products by solid-phase microextraction of poly (ethylene glycol) diacrylate thin film on fibers and ultra high-speed liquid chromatography with diode array detector. *J.Sep. Sci.* 34(13), 1599-1606. [2011]
- [127] Griffith, J. S., & Orgel, L. E. Ligand-field theory. *Quarterly Reviews, Chem. Soc.*, 11(4), 381-393. [1957]
- [128] Shriver, D. F., Abel, E. W., Stone, F. G. A., Bruce, M. I., & Wilkinson, G. Comprehensive Organometallic Chemistry II: A Review of the Literature 1982-1994. [1995]
- [129] Housecroft, C. E. Catherine Housecroft, Alan G. Sharpe-Inorganic Chemistry-Prentice Hall (2012). *Vibrational spectroscopy*, 71, 3-7. [2012]
- [130] Cotton, F. A. *I-Ligand field theory*. *J.Chem. Edu.*, 41(9), 466. [1964]
- [131] van Eldik, R. (Ed.). *Advances in Inorganic Chemistry: Recent Highlights II*. Academic Press. [2022.]
- [132] Sandell, E. B. *Colorimetric Determination of traces of metals*, vol. 59,6, 481. 1945.
- [133] Daud, J. M., & Alakili, I. M. High performance liquid chromatographic separations of metal pyrrolidine dithiocarbamate complexes. *Mal. J. Anal. Sci.*, 7(1), 113-120. [2001]
- [134] Chauhan, H. P. S., & Carpenter, J. Synthesis, characterization and single crystal X-ray analysis of chlorobis (N, N-dimethyldithiocarbamato-S, S') antimony (III). *J. Saudi Chem. Soc.*, 19(4), 417-422. [2015]
- [135] Chauhan, H. P. S., & Singh, U. P. Synthetic, spectral, thermal and antimicrobial studies on some bis (N, N'-dialkyldithiocarbamato) antimony (III) alkylenedithiophosphates. *Appl. Organomet. Chem.*, 21(10), 880-889. [2007]
- [136] Gringeri, A., Keng, P. C., & Borch, R. F. Diethyldithiocarbamate inhibition of murine bone marrow toxicity caused by cis-diamminedichloroplatinum (II) or diammine-(1, 1-cyclobutanedicarboxylato) platinum (II). *Cancer Res.*, 48(20), [1988]
- [137] Daorattanachai, P., Unob, F., & Imyim, A. Multi-element preconcentration of heavy metal ions from aqueous solution by APDC impregnated activated carbon. *Talanta*, 67(1), 59-64. [2005]
- [138] Marguá, E., Floor, G. H., Hidalgo, M., Kregsamer, P., Román-Ross, G., Strelí, C., & Queralt, I. Analytical possibilities of total reflection X-ray spectrometry (TXRF) for trace selenium determination in soils. *Anal Chem.*, 82(18), [2010]
- [139] Kazantzi, V., Drosaki, E., Skok, A., Vishnikin, A. B., & Anthemidis, A. Evaluation of polypropylene and polyethylene as sorbent packing materials in on-line preconcentration columns for trace Pb (II) and Cd (II) determination by FAAS. *Microchem. J.*, 148, 514-520. [2019]
- [140] Islam, S. I., Das, S. B., Chakrabarty, S., Hazra, S., Pandey, A., & Patra, A. Synthesis, Characterization, and Biological Activity of Nickel (II) and Palladium (II) Complex with Pyrrolidine Dithiocarbamate (PDTC). *Adv.Chem.*, 1-6. [2016]
- [141] Kurniawan, T. A., Chan, G. Y., Lo, W. H., & Babel, S. Physico-chemical treatment techniques for wastewater laden with heavy metals. *Chem.Eng.J.* 118(1-2), 83-98. [2006]

- [142] Bone, K. M., & Hibbert, W. D. Solvent extraction with ammonium pyrrolidinedithiocarbamate and 2, 6-dimethyl-4-heptanone for the determination of trace metals in effluents and natural waters. *Anal. Chim. Acta*, 107, 219-229. [1979]
- [143] Jung, Y. J., Choi, J. M., Choi, H. S., & Kim, Y. S. Organic Precipitate Flotation of Trace Metallic Elements with Ammonium Pyrrolidinedithiocarbamate (I). Determination of Bismuth, Cadmium, Cobalt and Lead in Water Samples by Coprecipitation-Flotation with Cu-pyrrolidinedithiocarbamate. *J. Korean Chem. Soc.*, 40(12), 724-732. [1996]
- [144] Bell, R. *Introductory Fourier Transform Spectroscopy*. 2012.
- [145] Hariharan, P. *Basics of Interferometry*. 2010.
- [146] White, R. *Chromatography/Fourier transform infrared spectroscopy and its applications*. 2020.