



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ  
Εθνικόν και Καποδιστριακόν  
Πανεπιστήμιον Αθηνών  
—ΙΔΡΥΘΕΝ ΤΟ 1837—

**ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ**

**ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ**

**ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ**

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ «ΧΗΜΕΙΑΣ»  
ΕΙΔΙΚΕΥΣΗ «ΑΝΑΛΥΤΙΚΗ ΧΗΜΕΙΑ»**

**ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ΔΙΠΛΩΜΑΤΟΣ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ**

**«Προσδιορισμός αναδυόμενων ρύπων σε δείγματα  
στραγγισμάτων από Χ.Υ.Τ.Α. της Ελλάδας»**

**ΕΛΥΤΗΣ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ  
ΧΗΜΙΚΟΣ**

**ΑΘΗΝΑ**

**ΙΟΥΛΙΟΣ 2019**



**ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ΔΙΠΛΩΜΑΤΟΣ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ**

**«Προσδιορισμός αναδυόμενων ρύπων σε δείγματα  
στραγγισμάτων από Χ.Υ.Τ.Α. της Ελλάδας»**

**ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ**

**ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ Ν. ΕΛΥΤΗΣ**

**A.M.: 11702**

**ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ:**

**Θωμαΐδης Νικόλαος, Καθηγητής Αναλυτικής Χημείας, ΕΚΠΑ**

**ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ**

- 1. Νικόλαος Θωμαΐδης , Καθηγητής ΕΚΠΑ**
- 2. Αναστάσιος Οικονόμου, Καθηγητής ΕΚΠΑ**
- 3. Χρήστος Κόκκινος, Επίκουρος Καθηγητής ΕΚΠΑ**

**ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΕΞΕΤΑΣΗΣ 03/07/2019**



## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σε αυτήν την εργασία πραγματοποιήθηκε προσδιορισμός αναδυόμενων ρύπων σε δείγματα στραγγισμάτων από οκτώ Χώρους Υγειονομικής Ταφής της Ελλάδας. Συνολικά αναλύθηκαν 25 δείγματα στραγγισμάτων από τα οποία τα 8 ήταν δείγματα εισόδου (ανεπεξεργαστα), και τα υπόλοιπα 17 ήταν επεξεργασμένα με βιολογική επεξεργασία ή με συνδυασμό βιολογικής επεξεργασίας με αντίστροφη ώσμωση. Τα δείγματα αναλύθηκαν με σκοπό την ανίχνευση και τον ποσοτικό προσδιορισμό αναδυόμενων ρύπων και μελέτη της επίδρασης των διαδικασιών επεξεργασίας στην απομάκρυνσή του, ώστε να αξιολογηθεί η αποτελεσματικότητα των μεθόδων επεξεργασίας.

Για τον καθαρισμό του δείγματος και την προσυγκέντρωση των αναλυτών, τα δείγματα επεξεργάστηκαν με την μέθοδο της Εκχύλισης Στερεάς Φάσης (Solid Phase Extraction, SPE). Τα δείγματα αναλύθηκαν με υγροχρωματογραφία αντίστροφης φάσης συζευγμένη με φασματομετρία μάζας τύπου τετραπόλου - χρόνου πτήσης (RP)LC-QTOF-MS και η λήψη των δεδομένων πραγματοποιήθηκε με τη λειτουργία bbCID η οποία παρείχε πληροφορίες για τα πρόδρομα ιόντα και τα θραύσματα, χωρίς προεπιλογή των αναλυτών, με μία μόνο ανάλυση. Μια βάση δεδομένων περίπου 2.100 ενώσεων χρησιμοποιήθηκε για τη στοχευμένη ανάλυση και η ανίχνευση βασίστηκε στο χρόνο ανάκτησης, στην ακρίβεια μάζας, στο ιστοτοπικό προφίλ και στα προϊόντα θραυσματοποίησης

Σύμφωνα με τις παραπάνω διαδικασίες, ταυτοποιήθηκαν συνολικά 58 ενώσεις, συμπεριλαμβανομένων φαρμακευτικών ενώσεων, ναρκωτικών, φυτοφαρμάκων, προϊόντων καθημερινής χρήσης, γλυκαντικών ουσιών και χημικών που χρησιμοποιούνται στη βιομηχανία.

**ΘΕΜΑΤΙΚΗ ΠΕΡΙΟΧΗ:** ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΗ ΧΗΜΕΙΑ

**ΛΕΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ:** Αναδυόμενοι ρύποι, Στραγγίσματα, Εκχύλιση Στερεάς Φάσης, Υγρή χρωματογραφία συνδεδεμένη με αναλυτή μάζας υψηλής διακριτικής ικανότητας HRMS, στοχευμένη σάρωση



## ABSTRACT

In this study leachates samples from 8 different Sanitary Landfills from Greece, were analyzed for the presence of emerging contaminants. In total, 25 leachate samples were analyzed, among them, 8 were influent samples (prior to processing) and the rest 17 were processed either by biological treatment or by a further step of reversed osmosis treatment. The samples were analyzed for the quantitative determination of emerging pollutants and for the evaluation of the efficiency of the applied treatments.

Solid Phase Extraction (SPE) was used for the sample clean-up and the pre-concentration of the analytes. The samples were analyzed with reversed-phase liquid-chromatography coupled to quadrupole-time-of-flight mass spectrometry (RP)LC-QTOF-MS and the data was acquired through broad-band Collision Induced Dissociation (bbCID) mode, which provided information on parent and fragment ions without pre-selection of analytes, in a single run. A database of approximately 2,100 emerging contaminants was used for the wide-scope target screening and the detection was based on retention time, mass accuracy, isotopic pattern and fragmentation profile criteria.

According to the above procedures, in total 58 compounds were detected in the tested samples including pharmaceuticals, illicit drugs, pesticides, personal care products, artificial sweeteners and industrial chemicals.

**SUBJECT AREA:** Environmental Analytical Chemistry

**KEY WORDS:** Emerging Pollutants, Leachates, Solid Phase Extraction, Liquid Chromatography Tandem with High Resolution Mass Spectrometry, Target screening





## ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα διπλωματική εργασία σχεδιάστηκε και πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Αναλυτικής Χημείας του Τμήματος Χημείας Πανεπιστημίου Αθηνών, υπό την επίβλεψη του Καθηγητή, Νικόλαου Θωμαΐδη.

Πρώτα από όλους, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον κ. Θωμαΐδη Νικόλαο, για την επιστημονική καθοδήγηση, εμπιστοσύνη και συμπαράσταση που μου παρείχε κατά τη διάρκεια εκπόνησης και συγγραφής της διπλωματικής εργασίας, καθώς και για τη δυνατότητα που μου έδωσε να γίνω μέλος της ερευνητικής του ομάδας. Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Αναπληρωτή Καθηγητή Αθανάσιο Στασινάκη και την μεταπτυχιακή φοιτήτρια Κωνσταντίνα Μαρία Ντάιου, από το Εργαστήριο Ποιότητας Υδάτων και Αέρα, του Πανεπιστημίου Αιγαίου, για τη άψογη συνεργασία μας κατά τη διάρκεια της διπλωματικής μου εργασίας.

Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω από καρδιάς όλα τα παιδιά από την ερευνητική ομάδα του κύριου Θωμαΐδη, τόσο για την συνεργασία μας σε επιστημονικό επίπεδο, όσο και για τη σχέση που δημιουργήσαμε σε προσωπικό επίπεδο εντός και εκτός εργαστηρίου.

Ένα μεγάλο ευχαριστώ θα ήθελα να εκφράσω στην Διδάκτορα και φίλη Μαριστίνα Νίκα, για την αξιοσημείωτη επιμονή που έδειξε καθ' όλη τη διάρκεια της συνεργασίας μας αλλά και την καθοδήγηση, την πολύτιμη συμβολή και συμπαράσταση της, έτσι ώστε να ολοκληρωθεί η παρούσα εργασία.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω πάνω και πέρα από όλους την οικογένεια μου και όλους τους δικούς μου ανθρώπους για την αμέριστη βοήθεια και κατανόησή τους καθ' όλη την διάρκεια των σπουδών αλλά και της ζωής μου.



## Περιεχόμενα:

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ .....	19
1.1 Αναδυόμενοι ρύποι.....	20
1.2 Διαχείριση Αστικών Απορριμμάτων : .....	24
1.3 Χώροι Υγειονομικής Ταφής Απορριμμάτων(Χ.Υ.Τ.Α.): .....	25
1.4 Στραγγίσματα (leachates):.....	31
1.5 Παράμετροι σε περιβαλλοντικά δείγματα: .....	34
1.6 Κέντρα Επεξεργασίας Λυμάτων:.....	34
1.6.1 Πρωτοβάθμια και Δευτεροβάθμια Επεξεργασία :.....	35
1.6.2 Διαδικασία ενεργής ιλύος:.....	36
1.6.3 Τριτοταγής (προχωρημένη) επεξεργασία: .....	37
2. ΒΙΒΛΙΟΓΡΦΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ: .....	41
2.1 Πίνακας 2.1: Βιβλιογραφική ανασκόπηση μεθόδων προσδιορισμών αναδυόμενων ρύπων σε δείγματα νερού.....	41
2.2 Πίνακας 2.2: Βιβλιογραφική ανασκόπηση ρύπων που ανιχνεύονται σε δείγματα στραγγισμάτων από ΧΥΤΑ εξωτερικού. ....	43
2.3 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗΣ ΑΝΑΣΟΠΙΣΗΣ.....	45
3. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ.....	47
4. ΜΕΘΟΔΟΙ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ – ΑΝΑΛΥΤΙΚΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ .....	49
4.1 ΑΝΑΛΥΤΙΚΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ.....	51
4.1.1 Στοχευμένη Ανάλυση (Target Analysis):.....	51
4.1.2 Σάρωση πιθανών ενώσεων (Suspect Screening):.....	52
4.1.3 Μη στοχευμένη ανάλυση (Non target Analysis .....	53
4.1.4 Επίπεδα ταυτοποίησης ενώσεων .....	54
4.2 ΕΝΟΡΓΑΝΗ ΑΝΑΛΥΣΗ.....	57
4.2.1 Αέρια Χρωματογραφία (GC) – Με ανιχνευτή Μάζας (MS). ....	57

4.2.2 Υγρή Χρωματογραφία (LC) – Με ανιχνευτή Μάζας Υψηλής Διακριτικής Ικανότητας (HRMS) .....	58
4.3 Ανιχνευτής Μάζας Χρόνου Πτήσης (ToF-MS).....	60
4.4 ΠΗΓΕΣ ΙΟΝΤΙΣΜΟΥ .....	63
5. ΟΡΓΑΝΟΛΟΓΙΑ .....	65
6. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	73
6.1 ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ.....	73
6.2 ΠΡΟΚΑΤΕΡΓΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ:.....	75
6.3 ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ΠΡΙΝ ΤΗΝ ΑΝΑΛΥΣΗ.....	77
6.4 ΑΝΑΛΥΣΗ ΣΤΟ LC-Q-TOF.....	79
6.5 ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ .....	79
6.6 ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΜΕ ΤΗΝ ΠΟΡΕΙΑ ΕΡΓΑΣΙΑΣ ΤΗΝ ΣΤΟΧΕΥΜΕΝΗΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ .....	79
7. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	81
7.2 ΠΟΣΟΤΙΚΟΠΟΙΗΣΗ ΜΕ ΚΑΜΠΥΛΗ ΠΡΟΣΘΗΚΗΣ ΓΝΩΣΤΗΣ ΠΟΣΟΤΗΤΑΣ.....	98
7.3 ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΟΡΙΟΥ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ : .....	100
7.4 ΣΥΝΟΛΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ: .....	100
8. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ .....	107
ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ – ΑΚΡΟΝΥΜΙΑ .....	109
9. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	111

## ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

<b>Πίνακας 2.1:</b> Βιβλιογραφική ανασκόπηση μεθόδων προσδιορισμών αναδύμενων ρύπων σε δείγματα νερού .....	<b>41</b>
<b>Πίνακας 2.2:</b> Βιβλιογραφική ανασκόπηση ρύπων που ανιχνεύονται σε δείγματα στραγγισμάτων από ΧΥΤΑ εξωτερικού .....	<b>43</b>
<b>Πίνακας 5.1:</b> Σύσταση κινητών φάσεων σε θετικό και αρνητικό ιοντισμό .....	<b>69</b>
<b>Πίνακας 5.2:</b> Πρόγραμμα βαθμιδωτής έκλουσης κινητών φάσεων .....	<b>70</b>
<b>Πίνακας 5.3:</b> Παράμετροι Q-TOF σε θετικό ιοντισμό.....	<b>70</b>
<b>Πίνακας 5.4:</b> Παράμετροι Q-TOF σε αρνητικό ιοντισμό .....	<b>71</b>
<b>Πίνακας 7.1:</b> Δείγματα στραγγισμάτων από διάφορες πόλεις της Ελλάδος με τις μετρήσεις των ποιοτικών τους χαρακτηριστικών .....	<b>82</b>
<b>Πίνακας 7.2:</b> Αναδύμενοι ρύποι όπου ανιχνεύθηκαν στα δείγματα .....	<b>85</b>
<b>Πίνακας 7.3:</b> Ποσοτικός προσδιορισμός αναλυτών .....	<b>94</b>



## ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

<b>Εικόνα 1:</b> Πηγές και πορεία μεταφοράς αναδυσόμενων ρύπων.....	<b>20</b>
<b>Εικόνα 1.1.1:</b> Μερικές από τις πιο σημαντικές κατηγορίες αναδυσόμενων ρύπων.....	<b>24</b>
<b>Εικόνα 1.3.1:</b> Τυπικό παράδειγμα ενός ΧΥΤΑ .....	<b>28</b>
<b>Εικόνα 1.4.1:</b> Δείγματα Στραγγισμάτων .....	<b>31</b>
<b>Εικόνα 1.6.1:</b> Απεικόνιση μιας τυπικής μονάδας επεξεργασίας αποβλήτων .....	<b>35</b>
<b>Εικόνα 1.6.3:</b> Τρόπος λειτουργίας αντίστροφης ώσμωσης .....	<b>39</b>
<b>Εικόνα 4.1:</b> Κριτήρια επιλογής μεθοδολογίας για την ανίχνευση αναδυσόμενων ρύπων.....	<b>50</b>
<b>Εικόνα 4.1.4:</b> Προτεινόμενα επίπεδα ταυτοποίησης αναλυτών φασματομετρίας μαζών HRMS .....	<b>55</b>
<b>Εικόνα 4.3.1:</b> Σχηματική απεικόνιση ενός οργάνου Q-TOF .....	<b>62</b>
<b>Εικόνα 5.4.1:</b> Συσκευή Εκχύλισης Στερεάς Φάσης .....	<b>65</b>
<b>Εικόνα 5.4.2:</b> Συσκευή Εξάτμισης με αέριο N <sub>2</sub> .....	<b>66</b>
<b>Εικόνα 5.4.3:</b> Όργανο UHPLC-QToF-MS.....	<b>68</b>
<b>Εικόνα 5.4.3:</b> Χάρτης της Ελλάδος με τα ΧΥΤΑ της Ελλάδος όπου λήφθηκαν τα δείγματα στραγγισμάτων. ....	<b>83</b>
<b>Εικόνα 7.1.1:</b> Χρωματογραφήματα ενώσεων σε δείγματα εισόδου, δείγματα επεξεργασμένα με βιολογικές διαδικασίες και δείγματα επεξεργασμένα με συνδυασμό βιολογικής επεξεργασίας και αντίστροφης ώσμωσης .....	<b>88-93</b>





## ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ

<b>Διάγραμμα 7.1.2:</b> Απεικόνιση τιμών COD σε κάθε δείγμα στραγγισμάτων .....	<b>84</b>
<b>Διάγραμμα 7.1.3:</b> Απεικόνιση τιμών Αγωγιμότητας σε κάθε δείγμα στραγγισμάτων .....	<b>84</b>
<b>Διάγραμμα 7.2.1:</b> Εξίσωση ευθείας της ένωσης Meloxicam σε δείγματα εισόδου (influent).....	<b>88</b>
<b>Διάγραμμα 7.2.2:</b> Εξίσωση ευθείας της ένωσης Meloxicam σε δείγματα εξόδου (effluent).....	<b>99</b>
<b>Διάγραμμα 7.2.3:</b> Εξίσωση ευθείας της ένωσης Bisphenol A σε δείγματα εισόδου (Influent) .....	<b>99</b>
<b>Διάγραμμα 7.2.4:</b> Εξίσωση ευθείας της ένωσης Bisphenol A σε δείγματα εξόδου (effluent).....	<b>100</b>
<b>Διάγραμμα 7.2.5:</b> Διαγραμματική απεικόνιση συνεισφοράς κάθε κατηγορίας ενώσεων . όσον αφορά στη συνολική συγκέντρωση αναδυόμενων ρύπων σε εισερχόμενα δείγματα .....	<b>101</b>
<b>Διάγραμμα 7.2.6:</b> Διαγραμματική απεικόνιση συνεισφοράς κάθε κατηγορίας ενώσεων . όσον αφορά στη συνολική συγκέντρωση αναδυόμενων ρύπων σε δείγματα επεξεργασμένα με βιολογικές διαδικασίες.....	<b>101</b>
<b>Διάγραμμα 7.2.7:</b> Διαγραμματική απεικόνιση συνεισφοράς κάθε κατηγορίας ενώσεων . όσον αφορά στη συνολική συγκέντρωση αναδυόμενων ρύπων σε δείγματα επεξεργασμένα με αντίστροφη ώσμωση.....	<b>102</b>
<b>Διάγραμμα 7.2.8:</b> Συνολικός αριθμός ενώσεων ανά κατηγορία αναδυόμενων ρύπων στις 3 διαφορετικές μήτρες.....	<b>103</b>
<b>Διάγραμμα 7.2.9:</b> Κανονικοποιημένες συγκεντρώσεις ανά κατηγορία.....	<b>104</b>
<b>Διάγραμμα 7.2.10:</b> Κανονικοποιημένες συγκεντρώσεις ανά κατηγορία ενώσεων σε κάθε δείγμα & συνολικός αριθμός ενώσεων.....	<b>105</b>

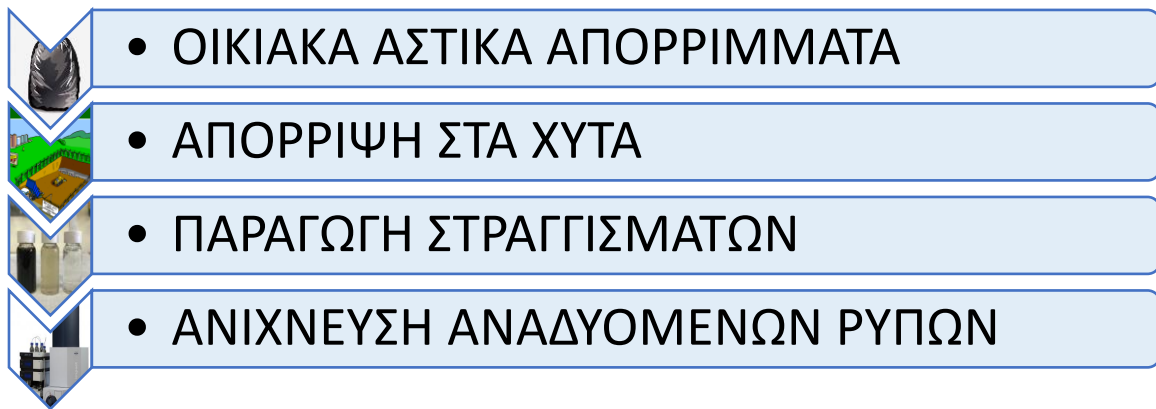


# ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

## 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η παραγωγή απορριμμάτων στις μέρες μας είναι ένα μεγάλο πρόβλημα παγκοσμίως. Το επίπεδο παραγωγής απορριμμάτων αυξάνεται καθώς αυξάνεται και ο παγκόσμιος πληθυσμός. Για την καταπολέμηση του προβλήματος της αυξημένης παραγωγής απορριμμάτων πρέπει να γίνεται σωστή μελέτη διαχείρισης και επεξεργασίας αυτών. Η κάθε χώρα έχει διαφορετικές μεθόδους συλλογής και επεξεργασίας απορριμμάτων. Στην χώρα μας η πιο διαδεδομένη μέθοδος είναι η Υγειονομική Ταφή των Απορριμμάτων. Η υγειονομική ταφή των Αστικών Απορριμμάτων είναι μια από τις ευρέως διαδεδομένες τεχνικές διαχείρισης απορριμμάτων, όπου τα απορρίμματα θάβονται σε ειδικά διαμορφωμένους χώρους. Οι χώροι αυτοί διαμορφώνονται με σκοπό την προστασία του περιβάλλοντος από τυχούσες μολύνσεις. Το κύριο μειονέκτημα της διαδικασίας αυτής είναι η παραγωγή στραγγισμάτων. Το νερό που περνά από τα απορρίμματα στις χωματερές (βροχή, υγρασία) αλληλοεπιδρά με αυτά και μέσω φυσικών, χημικών και μικροβιολογικών διεργασιών, ρύποι μεταφέρονται σε αυτό και έτσι δημιουργούνται τα αποκαλούμενα στραγγίσματα. Το κυριότερο πρόβλημα που σχετίζεται με τα στραγγίσματα είναι η μόλυνση που προκαλούν στο έδαφος, στα υπόγεια και επιφανειακά ύδατα μέσω του κύκλου του νερού. Για αυτό το λόγο τα στραγγίσματα πρέπει να συλλέγονται και στη συνέχεια να επεξεργάζονται κατάλληλα πριν από την απόρριψή τους. Η μελέτη της σύστασης των στραγγισμάτων είναι σημαντική για την καταπολέμηση των επιπτώσεων που θα έχουν, εάν αυτά διαρρεύσουν στο περιβάλλον. Τα στραγγίσματα έχουν μια πολύπλοκη σύσταση από διάφορες κατηγορίες ρύπων, συμπεριλαμβανομένων των αναδυόμενων ρύπων. Οι αναδυόμενοι ρύποι, είναι ενώσεις όπου ανιχνεύονται στο περιβάλλον, δεν έχουν μελετηθεί επαρκώς, αλλά βρίσκονται στο επίκεντρο του ερευνητικού ενδιαφέροντος. Οι αναδυόμενοι ρύποι έχουν γίνει αντικείμενο μελέτης λόγω των επιπτώσεων που φαίνεται να έχουν στα ζώα και στα φυτά και γενικότερα στο περιβάλλον. Οι συγκεντρώσεις τους κυμαίνονται από ng/L(ppb) έως

mg/L(ppm). Για την ανίχνευσή τους απαιτείται μια ευαίσθητη, με χαμηλά όρια ανίχνευσης τεχνική.



Εικόνα 1: Πηγή και πορεία μεταφορά αναδυόμενων ρύπων.

### 1.1 Αναδυόμενοι ρύποι.

Η ραγδαία αύξηση του πληθυσμού έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της βιομηχανικής και της αγροτικής δραστηριότητας για να καλυφθούν οι ανάγκες του ανθρώπινου πληθυσμού. Έτσι η δραστηριότητα αυτή συμβάλλει στην αύξηση της σύνθεσης χημικών προϊόντων, τα οποία καταλήγουν στα υδάτινα οικοσυστήματα, προκαλώντας σοβαρές επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία και στο περιβάλλον, ακόμα και σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις [1].

Πολλοί από τους ρύπους είναι γνωστοί, έχουν μελετηθεί στο παρελθόν και τα επίπεδά τους στο περιβάλλον οριοθετούνται από νομοθεσίες και κανονισμούς. Ένα μεγάλο μέρος όμως των ρύπων, που ορίζονται ως αναδυόμενοι, δεν ανήκουν σε αυτήν την κατηγορία. Ως αναδυόμενοι ρύποι [emerging pollutants (EPs) or emerging contaminants (ECs)] ορίζονται οι χημικές ενώσεις και τα προϊόντα μετατροπής τους (-Transformation Products, TPs) που δεν περιλαμβάνονται στις ισχύουσες νομοθεσίες ή κανονισμούς της ποιότητας των υδάτων, δεν μελετώνται συχνά και θεωρούνται ως πιθανή απειλή για το οικοσύστημα, την ανθρώπινη υγεία και ασφάλεια. Μέχρι σήμερα έχουν καταγραφεί χιλιάδες αναδυόμενοι ρύποι, οι μεταβολίτες τους και τα παράγωγα τους, οι οποίοι κατηγοριοποιούνται σε πάνω από 20 κατηγορίες με βάση την προέλευσή τους ([www.norman-network.net](http://www.norman-network.net)). Οι

αναδυόμενοι ρύποι μπορούν να κατηγοριοποιηθούν σε ομάδες όπως είναι τα φαρμακευτικά προϊόντα, προϊόντα καθημερινής χρήσης, φυτοφάρμακα, εθιστικές ουσίες, τεχνητά γλυκαντικά και βιομηχανικά χημικά κατάλοιπα [2].

Κατά την απελευθέρωσή τους στο περιβάλλον, υπόκεινται σε βιοτικές και αβιοτικές διαδικασίες μετασχηματισμού που είναι υπεύθυνες για την μετατροπή ή και την εξάλειψή τους, ανάλογα με την ανθεκτικότητά τους, τις φυσικοχημικές τους ιδιότητες και τις επεξεργασίες που συντελούν στην απομάκρυνσή/ μετασχηματισμό τους. Ανάλογα με το είδος των μετασχηματισμών που μπορούν να λάβουν χώρα, παράγονται ενώσεις, των οποίων τόσο η περιβαλλοντική συμπεριφορά όσο και η οικοτοξικολογική τους ιδιότητα μπορεί να διαφέρουν κατά κάποιο βαθμό, από την μητρική τους ένωση. Ο σχηματισμός των προϊόντων μετατροπής, λαμβάνει χώρα κυρίως μέσω διαδικασιών οξειδωσης, υδροξυλίωσης, υδρόλυσης, σύζευξης, διάσπασης, απαλκυλίωσης, μεθυλίωσης και απομεθυλίωσης. Κατά κύριο λόγο, τα υπόγεια ύδατα συμβάλλουν ώστε οι αναδυόμενοι ρύποι να μετακινούνται και πέρα της περιοχής στην οποία αποβλήθηκαν, ενώ μέσω του υπεδάφους, των αποχετεύσεων, των υδάτινων ρευμάτων, και με τη βοήθεια ποταμών και δεξαμενών να καταλήξουν στους ωκεανούς και άλλα επιφανειακά ύδατα [3].

Παρακάτω αναφέρονται κάποιες από τις βασικότερες κατηγορίες αναδυόμενων ρύπων.

**ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ:** Αποτελούν μια μεγάλη κατηγορία αναδυόμενων ρύπων. Λόγω της μεγάλης παρουσίας τους στο υδάτινο περιβάλλον, υπάρχουν ανησυχίες για πιθανές επιπτώσεις, σε οργανισμούς και στον άνθρωπο. Μια κύρια ανησυχία για τα φαρμακευτικά προϊόντα αναφέρεται στην ανάπτυξη της αντίστασης των βακτηρίων στα αντιβιοτικά. Υπολογίζεται ότι περίπου 3.000 διαφορετικές ενώσεις χρησιμοποιούνται ως φαρμακευτικά συστατικά παγκοσμίως έως σήμερα, συμπεριλαμβανομένων των αναλγητικών, αντιβιοτικών, αντικαταθλιπτικών, αντισυλληπτικών κ.ά. Παρ' όλα αυτά μόνο ένας μικρός αριθμός από τις φαρμακευτικές ενώσεις (~150) έχουν μελετηθεί από περιβαλλοντικές μελέτες. Τα φαρμακευτικά προϊόντα περιλαμβάνουν μια μεγάλη ποικιλία από

ενώσεις (μεγάλη ποικιλία από δομές, λειτουργικές ομάδες και έχουν ένα ευρύ φάσμα φυσικοχημικών χαρακτηριστικών). Τα περισσότερα από τα προϊόντα αυτά είναι υδατοδιαλυτά, τα οποία αναλύονται με τεχνική υγρής χρωματογραφίας συζευγμένη με φασματομέτρο μάζας. Σκοπός των φαρμακευτικών προϊόντων είναι η πρόληψη ή και θεραπεία από κάποια ασθένεια [4]. Τα φαρμακευτικά προϊόντα ανιχνεύονται στα αστικά απορρίμματα διότι ληγμένα και μη χρησιμοποιημένα προϊόντα απορρίπτονται στα σκουπίδια.

ΝΑΡΚΩΤΙΚΑ - ΕΘΙΣΤΙΚΕΣ ΟΥΣΙΕΣ: Η λέξη ναρκωτικό (drug) σύμφωνα με την νομοθεσία των ΗΠΑ, αναφέρεται στο όπιο, τα παράγωγά του και τα ημισυνθετικά ή πλήρως συνθετικά υποκατάστατά τους καθώς και στην κοκαΐνη και τα φύλλα της. Ο όρος αυτός μπορεί να χρησιμοποιηθεί και για τα παράνομα φάρμακα. Η χρήση παράνομων ναρκωτικών αυξάνεται παγκοσμίως και εκατομμύρια άνθρωποι αναφέρονται ως χρήστες κοκαΐνης, ηρωίνης, αμφεταμίνης και άλλων διεγερτικών ουσιών. Τα επίπεδα συγκέντρωσης της κοκαΐνης και του μεταβολίτη της, βενζοϋλεγκονίνης στα επιφανειακά ύδατα και στα απόβλητα χρησιμοποιήθηκαν για τον υπολογισμό των περιβαλλοντικών φορτίων και την εκτίμηση της κατανάλωση κοκαΐνης σε διάφορες κοινότητες. Όχι μόνο οι πρωτογενείς ενώσεις, αλλά και οι μεταβολίτες τους πρέπει να προσδιορίζονται τόσο για δικαστικές διαδικασίες, όσο και για περιβαλλοντικές μελέτες [4]. Στις εθιστικές ουσίες μπορεί να κατηγοριοποιηθεί και μια ουσία που χρησιμοποιείται από ένα μεγάλο ποσοστό του πλανήτη, η νικοτίνη (τσιγάρο).

ΠΟΛΥΦΘΟΡΙΟΜΕΝΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ (PFCs): Είναι μια ομάδα συνθετικών ενώσεων που χρησιμοποιούνται για την βελτίωση της αντοχής των προϊόντων στη θερμότητα, σε έλαια και νερό. Κοινές εφαρμογές τους είναι τα αντικολλητικά σκεύη μαγειρικής, υφάσματα ανθεκτικά στους λεκέδες, συστατικά του αφρού πυρόσβεσης και επιφανειοδραστικά. Σε βιομηχανικούς τομείς έχουν χρησιμοποιηθεί σε κατασκευή αεροσκαφών, αυτοκινήτων, σε οικοδομικές κατασκευές, σε χημικές διαδικασίες, σε ηλεκτρονικά (ημιαγωγούς) και σε βιομηχανίες υφασμάτων. Οι κυριότερες κατηγορίες τους είναι: πολυφθοριωμένες σουλφονικές ενώσεις (PFASs) και πολυφθοριωμένες καρβοξυλικές ενώσεις

(PFACs). Θεωρούνται επίμονοι και διαδεδομένοι ρύποι με τάση βιοσυσσώρευσης και μπορεί να λειτουργούν ως ενδοκρινικοί διαταράκτες [5].

ΠΡΟΙΟΝΤΑ ΚΑΘΗΜΕΡΙΝΗΣ ΧΡΗΣΗΣ: Εκατομμύρια άνθρωποι χρησιμοποιούν προϊόντα καθημερινής χρήσης όπως είναι τα απολυμαντικά, φίλτρα και σταθεροποιητές ακτινοβολίας UV (χρησιμοποιούνται στις συσκευασίες τροφίμων), προϊόντα καθημερινής περιποίησης (λοσιόν, οδοντόκρεμες, καλλυντικά, κ.α.). Μια αναπόφευκτη επίπτωση της αύξησης την χρήσης αυτών των προϊόντων είναι η ανίχνευση τους στο περιβάλλον σε συγκεντρώσεις που κυμαίνονται από ng/L μέχρι mg/L. Η κύρια ανησυχία είναι ότι αυτές οι ενώσεις συμπεριφέρονται ως ενδοκρινικοί διαταράκτες καθώς είναι ικανοί να παρεμβαίνουν στην παραγωγική διαδικασία και στην ανάπτυξη των οργανισμών. Ανάλογα με τη χρήση τους τα προϊόντα προσωπικής χρήσης χωρίζονται σε επιμέρους κατηγορίες [6].

ΦΥΤΟΦΑΡΜΑΚΑ: Στην κατηγορία αυτή ανήκουν τα εντομοκτόνα και τα ζιζανιοκτόνα. Τα φυτοφάρμακα χρησιμοποιούνται στην αγροτική καλλιέργεια για την πρόληψη των ασθενειών των φυτών και για την προστασία από τυχόν προσβολή από μικροοργανισμούς και έντομα. Όλα τα φυτοφάρμακα είναι ευδιάλυτα ώστε να απορροφώνται από το ριζικό σύστημα ή από το φύλλωμα. Καθώς όμως τα φυτά έχουν συγκεκριμένο βαθμό απορρόφησης, δεν είναι δυνατόν να απορροφήσουν όλη την ποσότητα του φυτοφάρμακου. Έτσι τα φυτοφάρμακα καταλήγουν στον υδροφόρο ορίζοντα και ανιχνεύονται στα ύδατα. Τα φυτοφάρμακα ανιχνεύονται και στα αστικά απορρίμματα καθώς μεγάλες ποσότητες (για το περιβάλλον) παραμένουν στους περιέκτες και από απορρίπτονται χωρίς πρώτα να ξεπλυθούν.

ΤΕΧΝΙΚΑ ΓΛΥΚΑΝΤΙΚΑ: Τα τεχνητά γλυκαντικά (πχ sucralose, acesulfame, saccharine) έχουν πρόσφατα εισαχθεί στην κατηγορία των αναδυόμενων ρύπων. Η σουκραλόζη είναι ένα σχετικά νέο τεχνητό γλυκαντικό και μπορεί να φαίνεται λίγο περιέργως ο χαρακτηρισμός της ως αναδυόμενος ρύπος, αλλά ανιχνεύεται ευρέως στα περιβαλλοντικά δείγματα και έχει μεγάλο χρόνο ζωής. Λόγω της αδυναμίας τους προς την δημιουργία προϊόντων μετασχηματισμού, η sucralose

και η acesulfame χρησιμοποιούνται σαν δείκτες οικιακών λυμάτων σε περιβαλλοντικά δείγματα [7][8].

BENZOTΡΙΑΖΟΛΕΣ: Οι Βενζοτριαζόλες είναι ενώσεις που χρησιμοποιούνται στην βιομηχανία σε υδραυλικά υγρά, ως αντιδιαβρωτικά σε ψυκτικά ή αντιψυκτικά υγρά και γενικότερα σε θερμαντικά μέσα. Είναι γνωστό ότι όταν ο χαλκός βυθιστεί σε διάλυμα που περιέχει βενζοτριαζόλη σχηματίζεται ένα παθητικό στρώμα, που αποτελείται από ένα σύμπλοκο αυτών των δυο και είναι αδιάλυτο σε υδατικά και σε ορισμένα οργανικά διαλύματα. Επίσης έχουν χρησιμοποιηθεί και για την παραγωγή φυτοφαρμάκων. Ως ενώσεις είναι υδατοδιαλυτές, είναι ανθεκτικές στην αποικοδόμηση και δεν αφαιρείται ένα μέρος τους κατά την επεξεργασία των υδάτων [5].



Εικόνα 1.1.1: Μερικές από τις πιο σημαντικές κατηγορίες αναδυόμενων ρύπων.

## 1.2 Διαχείριση Αστικών Απορριμμάτων :

Μια τεράστια πηγή η οποία είναι υπεύθυνη για την παραγωγή ρύπων στο περιβάλλον είναι τα αστικά στερεά απορρίμματα. Η διαχείριση των απορριμμάτων, στις μέρες μας αποτελεί ένα μεγάλο κοινωνικό, περιβαλλοντικό και οικονομικό ζήτημα διότι ο ρυθμός παραγωγής απορριμμάτων είναι μεγαλύτερος από τον ρυθμό αύξησης του πληθυσμού. Στα απορρίμματα συνήθως βρίσκονται συσκευασίες όπου έχουν φυτοφάρμακα και ζιζανιοκτόνα, διαλύτες ακόμα και αχρησιμοποίητα φάρμακα. Υπάρχουν διάφοροι μέθοδοι για την διαχείριση



αστικών στερεών απορριμμάτων, συμπεριλαμβανομένων της υγειονομικής ταφής, κομποστοποίησης, αποτέφρωσης και άλλων μεθόδων. Η υγειονομική ταφή είναι ευρέως διαδεδομένη στον κόσμο λόγω των οικονομικών της πλεονεκτημάτων. Παρ' όλα αυτά η μέθοδος αυτή, έχει αρκετά μειονεκτήματα, με κυριότερο της ότι παράγει μια τεράστια ποσότητα από στραγγίσματα, που περιέχουν μεγάλες συγκεντρώσεις από πολύπλοκους ρύπους [9][10].

### **1.3 Χώροι Υγειονομικής Ταφής Απορριμμάτων(Χ.Υ.Τ.Α.):**

Οι Χώροι Υγειονομικής Ταφής εισήχθησαν στην κοινωνία στις αρχές του 20ού αιώνα, αλλά απέκτησαν ευρεία εφαρμογή στην δεκαετία του 1960 και 1970, σε μια προσπάθεια αντικατάστασης των τότε "μη" υγειονομικών μεθόδων διαχείρισης απορριμμάτων όπου υπήρχαν. Οι ΧΥΤΑ είναι ο τερματικός σταθμός κατάληξης για τα ετερογενή μίγματα απορριμμάτων που προκύπτουν από τις οικιακές, βιομηχανικές και εμπορικές πηγές.

Τα ΧΥΤΑ είναι ειδικά διαμορφωμένες εγκαταστάσεις που διαχωρίζουν και περιορίζουν τα απόβλητα, τοποθετώντας τα απορρίμματα επί, εντός του εδάφους ή υπογείως και καλύπτοντας αυτά με χώμα και άλλα αδρανή υλικά σε στρώσεις. Στην πραγματικότητα όμως τα ΧΥΤΑ λειτουργούν σαν βιολογικός αντιδραστήρας στον οποίο τα μικρόβια διασπούν την οργανική ύλη σε πιο απλές και λιγότερες τοξικές μορφές ύλης.

Συνήθως, η αερόβια αποσύνθεση είναι το πρώτο στάδιο που πραγματοποιείται σε ένα ΧΥΤΑ. Μετά ακολουθούν άλλα 4 στάδια αναερόβιας αποσύνθεσης. Τα οργανικά στερεά υλικά διασπώνται γρήγορα καθώς τα μεγάλα οργανικά μόρια ανοικοδομούνται σε μικρότερα. Οι μικρότερες οργανικές ενώσεις που προκύπτουν υδρολύονται και περνάνε στην υγρή φάση. Στη συνέχεια, οι υδρολυμένες αυτές ενώσεις μετατρέπονται σε διοξείδιο του άνθρακα και μεθάνιο στην αέρια φάση, ενώ τα υπόλοιπα απορρίμματα παραμένουν στην υγρή και στερεά φάση.

Ο βιολογικές διεργασίες που λαμβάνουν χώρα σε ένα ΧΥΤΑ μπορούν να κατηγοριοποιηθούν σε πέντε στάδια: [11][12].

- **ΣΤΑΔΙΟ 1: Αρχικό Στάδιο**

Καθώς τα απορρίμματα τοποθετούνται στους ΧΥΤΑ, στους κενούς χώρους που δημιουργούνται από την ανόμοια τοποθέτηση των απορριμμάτων, παγιδεύεται μοριακό οξυγόνο (O<sub>2</sub>). Στη συνέχεια, ενώ προστίθενται και συμπιέζονται κι άλλα απορρίμματα το μοριακό οξυγόνο αρχίζει σταδιακά και μειώνεται. Καθώς δημιουργείται υγρασία και μικροβιακός πληθυσμός αυξάνεται και ξεκινάει η αερόβια αποικοδόμηση.

- **ΣΤΑΔΙΟ 2: Μεταβατικό Στάδιο**

Το μοριακό οξυγόνο καταναλώνεται ταχέως από τον μικροβιακό πληθυσμό. Η μείωση του οξυγόνου οδηγεί από αερόβιες σε αναερόβιες συνθήκες. Οι κύριοι αποδέκτες ηλεκτρονίων κατά την διάρκεια της μετάβασης είναι τα νιτρικά και τα θειικά καθώς το μοριακό οξυγόνο αντικαθίσταται από το διοξείδιο του άνθρακα στα παραγόμενα αέρια.

- **ΣΤΑΔΙΟ 3: Σχηματισμός οξέος.**

Στο στάδιο αυτό ξεκινάει η υδρόλυση του βιοαποικοδομήσιμου κλάσματος των στερεών αποβλήτων, η οποία οδηγεί σε ταχεία συσσώρευση πτητικών λιπαρών οξέων στα στραγγίσματα. Το αυξημένο οργανικό περιεχόμενο σε οξύ μειώνει το pH των στραγγισμάτων από 7,5 σε 5,6. Κατά την διάρκεια αυτού του σταδίου η αποσύνθεση των ενδιάμεσων προϊόντων όπως είναι τα πτητικά λιπαρά οξέα αυξάνουν πολύ την απαίτηση οξυγόνου. Οι πτητικές οργανικές ενώσεις με μεγάλη ανθρακική αλυσίδα μετατρέπονται σε οξικό οξύ (C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>O<sub>2</sub>), CO<sub>2</sub> και H<sub>2</sub>. Οι υψηλές συγκεντρώσεις σε πτητικά οργανικά οξέα αυξάνουν την βιοχημική απαίτηση οξυγόνου, για να πραγματοποιηθούν οι βιολογικές διεργασίες, και την συγκέντρωση των πτητικών οργανικών οξέων με μεγάλες ανθρακικές αλυσίδες.

- **ΣΤΑΔΙΟ 4: Σχηματισμός μεθανίου**

Τα ενδιάμεσα προϊόντα που σχηματίστηκαν κατά τη φάση σχηματισμού οξέος (οξικό οξύ και άλλα), μετατρέπονται σε μεθάνιο και διοξείδιο του άνθρακα από μεθανογενικούς μικροοργανισμούς. Καθώς τα πτητικά λιπαρά οξέα μεταβολίζονται

από τους μικροοργανισμούς, το pH των στραγγισμάτων επανέρχεται σε ουδέτερο. Αυτό είναι το μεγαλύτερο σε διάρκεια στάδιο.

- **ΣΤΑΔΙΟ 5: Τελική ωρίμανση και σταθεροποίηση**

Το τελικό αυτό στάδιο της αποικοδόμησης των απορριμμάτων χαρακτηρίζεται από χαμηλή βιολογική δραστηριότητα καθώς μειώνονται τα θρεπτικά συστατικά, όπως για παράδειγμα ο φωσφόρος. Η παραγωγή μεθανίου σταματάει, με το μοριακό οξυγόνο και τα οξειδωμένα είδη να επανεμφανίζονται σταδιακά στα φρεάτια των αερίων καθώς το μοριακό οξυγόνο διεισδύει προς τα κάτω από την ατμόσφαιρα με αντίστοιχη αύξηση του δυναμικού οξείδωσης στο στραγγιστήριο προς οξειδωτικές διεργασίες. Τα υπολειμματικά οργανικά υλικά μετατρέπονται σταδιακά στην αέρια φάση καθώς η οργανική ύλη είναι λιπασματοποιημένη.

#### **ΠΡΟΔΙΑΓΡΑΦΕΣ ΧΥΤΑ**

Ο χρόνος ζωής ενός ΧΥΤΑ υπολογίζεται περίπου στα 30 χρόνια. Όταν ο χώρος διάθεσης φθάσει στη τελική του χωρητικότητα, τοποθετείται τελική στρώση αδρανούς υλικού και στρώμα χύματος κατάλληλο για δενδροφύτευση με σκοπό την αποκατάσταση του τοπίου. Για την λειτουργία ενός ΧΥΤΑ, σύμφωνα με την Ελληνική Νομοθεσία, πρέπει να έχουν γίνει Μελέτη Περιβαλλοντικών Επιπτώσεων, καθώς και μελέτη κατασκευής και λειτουργίας του ΧΥΤΑ. Για την θέση του χώρου λαμβάνονται υπόψη:

- Απαιτήσεις που αφορούν τις αποστάσεις των ορίων του χώρου από κατοικημένες περιοχές
- Την ύπαρξη υπογείων ή παράκτιων υδάτινων ή ζωνών προστασίας της φύσης στην περιοχή
- Τις γεωλογικές και υδρογεωλογικές συνθήκες της περιοχής
- Τον κίνδυνο πλημμυρών, καθιζήσεων, κατολισθήσεων ή χιονοστιβάδων στο ΧΥΤΑ.
- Την προστασία της φυσικής και πολιτιστικής κληρονομιάς της περιοχής.

Επίσης για την λειτουργία του ΧΥΤΑ είναι απαραίτητη η συλλογή των μολυσμένων υδάτων και στραγγισμάτων, καθώς και η επεξεργασία αυτών προκειμένου να τηρούν τις προϋποθέσεις για την αποχέτευσή τους. Η συλλογή αυτή γίνεται μέσω σωληνώσεων οι οποίες καταλήγουν σε αποθήκες ή σε μονάδες επεξεργασίας. Η διαμόρφωση του χώρου των ΧΥΤΑ δηλαδή, πρέπει να γίνεται με τέτοιο τρόπο ώστε τα τοξικά, οργανικά και άλλα απόβλητα να μην διαφεύγουν στο περιβάλλον ή στον υδροφόρο ορίζοντα των κοντινών περιοχών. Αυτό επιτυγχάνεται με τη στεγανοποίηση του εδάφους με τσιμέντο, χώμα, πλαστικές μεμβράνες και άλλα υλικά. Ο ΧΥΤΑ πρέπει να είναι εξοπλισμένος κατά τρόπον ώστε οι ρύποι που προέρχονται αυτόν να μην διασκορπίζονται στους δρόμους και στο γύρο χώρο ή να διαφεύγουν στον υδροφόρο ορίζοντα. Μετά το πέρας της λειτουργίας του ΧΥΤΑ γίνεται αποκατάσταση του τοπίου με δενδροφύτευση αφού πρώτα προστεθεί μια τελευταία στρώση αδρανούς υλικού και χρώματος στο πάνω μέρος του [13][14].



### Εικόνα 1.3.1: Τυπικό παράδειγμα ενός ΧΥΤΑ

[<https://www.laredosolidwaste.com/index.php/community-outreach-education/from-garbage-collection-to-the-landfill>]

Παρακάτω παρατίθενται κάποια από τα κύρια πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα των ΧΥΤΑ.

#### Πλεονεκτήματα ΧΥΤΑ:

- Μικρό κόστος κατασκευής
- Σχετικώς εύκολη τεχνολογία
- Παραγωγή βιο-αερίου
- Επαναχρησιμοποίηση χώρου μετά την πλήρωση

#### Μειονεκτήματα ΧΥΤΑ:

- Παραγωγή μεθανίου (εφόσον δεν καίγεται το βιο-αέριο)
- Παραγωγή CO<sub>2</sub> (εφόσον καίγεται το βιο-αέριο)
- Δυσχερής η εύρεση χώρων για την δημιουργία ΧΥΤΑ
- Σχετικό υψηλό κόστος μεταφοράς
- Ανάγκη παρακολούθησης της συμπεριφοράς έναντι διαφυγής των ρύπων
- Κατάληψη μεγάλης έκτασης
- Κοινωνική αντίδραση κατά τη χωροθέτηση των ΧΥΤΑ και την μεταφορά των απορριμμάτων
- Μεγάλο όγκος απορριμμάτων
- Υψηλό κόστος λειτουργίας των ΧΥΤΑ.

Λόγω των μειονεκτημάτων των ΧΥΤΑ και κυρίως λόγω των κοινωνικών αντιδράσεων που προκύπτουν όταν αποφασίζεται η δημιουργία τους σε μια

καινούργια περιοχή υπάρχει σημαντικό πρόβλημα στην κατασκευή τους. Έτσι τα παλαιότερα ΧΥΤΑ ενώ θα έπρεπε να σταματήσει η λειτουργία τους, συνεχίζουν και δέχονται απορρίμματα και αφού έχουν ξεπεράσει τον μέγιστο όγκο απορριμμάτων λειτουργούν ανεξέλεγκτα, δηλαδή χωρίς να πληρούν τους κανόνες προστασίας του περιβάλλοντος για την αποφυγή εκπομπής αέριων ρύπων ή μόλυνσης του υδροφόρου ορίζοντα.

#### 1.4 Στραγγίσματα (leachates):



Εικόνα 1.4.1: Δείγματα Στραγγισμάτων (κατά σειρά από αριστερά) εισερχόμενα, κατά την διάρκεια της επεξεργασίας και δείγματα εξόδου.

Στραγγίσματα από απορρίμματα υγειονομικής ταφής ορίζονται ως το υγρό που παράγεται μέσω διήθησης από τα απορρίμματα, όπου αυτό αλληλοεπιδρά με τα απόβλητα σε αναερόβιο περιβάλλον, συγκεντρώνοντας οργανικά, ανόργανα στοιχεία και ανθρωπογενώς παραγόμενες οργανικές ουσίες. Τα χαρακτηριστικά και η σύσταση των στραγγισμάτων μπορούν να περιγραφούν με βάση την ποιότητα και την ποσότητά τους. Η ποιότητά τους καθορίζεται από το είδος των απορριμμάτων, από την ηλικία του χώρου ταφής και από το βάθος του [15]. Η ποσότητα τους επηρεάζεται από την έκταση του χώρου υγειονομικής ταφής, τον όγκο απορριμμάτων που δέχεται καθημερινά, τις περιβαλλοντικές συνθήκες, βροχόπτωση και θερμοκρασία περιβάλλοντος, την επιφανειακή διαρροή και την διείσδυση από τα υπόγεια ύδατα, καθώς και αν ο Χώρος Υγειονομικής ταφής είναι ενεργός ή ανενεργός [10][16].

Εστιάζοντας σε ένα κοινό τύπο Χώρου Υγειονομικής Ταφής που δέχεται αστικά, εμπορικά και βιομηχανικά απορρίμματα, τα στραγγίσματα μπορούν να χαρακτηρισθούν ως διάλυμα νερού που περιέχουν τέσσερις κύριες κατηγορίες ρύπων [17]:

- Διαλυμένο οργανικό φορτίο, όπου εκφράζεται ως Chemical Oxygen Demand – COD ή Total Organic C (TOC), συμπεριλαμβανομένων του CH<sub>4</sub>, πτητικών λιπαρών ενώσεων και πιο ανθεκτικές ενώσεις, όπως για παράδειγμα το φουλβικό και το χιουμικό οξύ.
- Ανόργανα στοιχεία: Ca, Mg, Na, K, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, Fe, Mn, Cl, SO<sub>4</sub><sup>2+</sup> και HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> .
- Βαρέα Μέταλλα: Κυρίως Cd, Cr, Cu, Pb, Ni και Zn.
- Ξενοβιοτικές οργανικές ενώσεις όπου προκύπτουν από οικιακά ή βιομηχανικά χημικά και βρίσκονται σε σχετικά χαμηλές συγκεντρώσεις στα στραγγίσματα (συνήθως 1 µg/L για μεμονωμένες ενώσεις). Αυτές οι ενώσεις περιλαμβάνουν εκτός των άλλων και μια ποικιλία από αρωματικούς υδρογονάνθρακες, φαινόλες και χλωριωμένες αλειφατικές ενώσεις [17].

Τα στραγγίσματα στις περισσότερες των περιπτώσεων συλλέγονται μέσω σωληνώσεων σε ειδικές δεξαμενές, για να υποστούν κάποια επεξεργασία. Η επεξεργασία αυτή στοχεύει στην μείωση της τοξικότητά τους, ώστε να είναι ασφαλές να γυρίσουν πίσω στο περιβάλλον χωρίς επιπτώσεις για αυτό. Τα στραγγίσματα μπορούν να επεξεργαστούν με φυσικές, χημικές και βιολογικές διαδικασίες. Η πλειονότητα των οργανικών ενώσεων που δεν είναι τοξικά, και αυτά που είναι τοξικά συνήθως αφαιρούνται με βιολογικές και χημικές διεργασίες. Παρ' όλα αυτά υπάρχουν μερικές ενώσεις, οι οποίες παραμένουν μετά τις διαδικασίες επεξεργασίας. Αυτές οι ενώσεις ανιχνεύονται τις περισσότερες φορές σε χαμηλές συγκεντρώσεις και συνήθως η ανίχνευσή τους είναι δύσκολη, διότι επικαλύπτονται από ενώσεις με πιο μεγάλες συγκεντρώσεις. Οι συγκεκριμένες ενώσεις φαίνεται να είναι οι πιο τοξικές για τους οργανισμούς [18].

Συνήθως τα στραγγίσματα παραλαμβάνονται από τα Κέντρα Επεξεργασίας Λυμάτων για να απομακρυνθούν οι επικίνδυνες ενώσεις και το παραγόμενο νερό να γυρίσει στον κύκλο του νερού με όσο το δυνατόν λιγότερες επιπτώσεις για το περιβάλλον. Εάν τα στραγγίσματα από την υγειονομική ταφή δεν αντιμετωπιστούν σωστά, μπορούν να έχουν σοβαρές επιπτώσεις στο περιβάλλον και στους ζωντανούς οργανισμούς.



Τα στραγγίσματα μπορούν να κατηγοριοποιηθούν σε δύο κύριες κατηγορίες: Τα εισερχόμενα ή ανεπεξέργαστα (influent) και τα εξερχόμενα ή αυτά που έχουν υποστεί κάποιου είδους επεξεργασίας (effluent).

## 1.5 Παράμετροι σε περιβαλλοντικά δείγματα:

Στην Χημεία Περιβάλλοντος υπάρχουν κάποιοι παράμετροι που χρησιμοποιούνται για την αξιολόγηση της ποιότητας των περιβαλλοντικών δειγμάτων. Οι πιο συχνά μετρούμενοι παράμετροι αναφέρονται παρακάτω:

Chemical Oxygen Demand (COD) (mg/L): Είναι μια ενδεικτική ποσοτική μέτρηση του οξυγόνου που καταναλώνεται από αντιδράσεις στο μετρούμενο δείγμα. Μια COD μέτρηση ποσοτικοποιεί εύκολα το ποσό των οργανικών στοιχείων στο δείγμα [19].

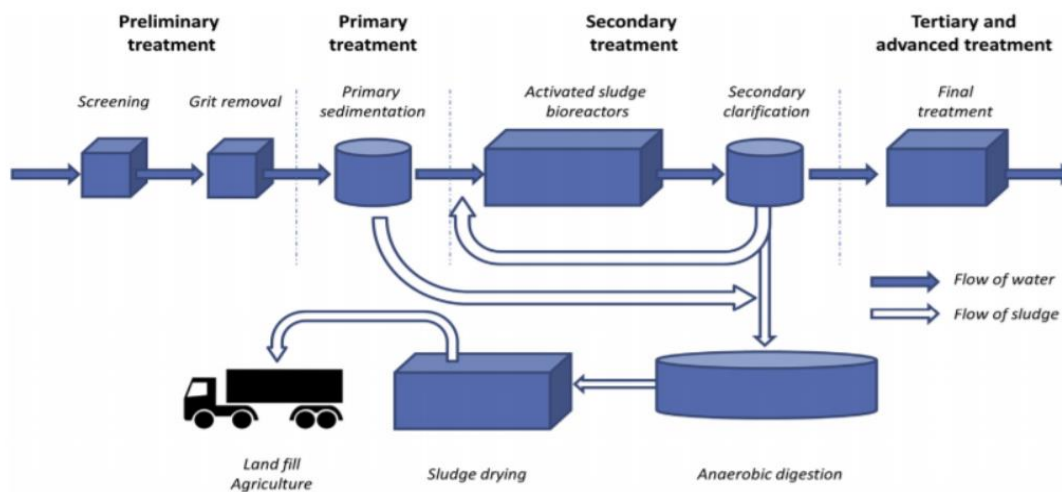
Total Suspended Solids (TSS): Είναι το βάρος αδιάλυτων (ξηρών) σωματιδίων. Σε δείγματα νερού μπορούν εύκολα να κατακρατηθούν με φιλτράρισμα. Χρησιμοποιείται συχνά σαν μέτρο καθαρότητας στα Κέντρα επεξεργασίας Λυμάτων μετά την επεξεργασία τους[20].

Ammoniacal nitrogen ( $\text{NH}_3\text{-N}$ ) (mg/L): Είναι η μέτρηση της ποσότητας της αμμωνίας, ένα τοξικού ρύπου, που συχνά ανιχνεύεται σε δείγματα στραγγισμάτων και γενικά σε απόβλητα. Επίσης χρησιμοποιείται για την μέτρηση της ποιότητας σε φυσικές πηγές όπως είναι οι λίμνες και οι ποταμοί[21].

## 1.6 Κέντρα Επεξεργασίας Λυμάτων:

Τα Κέντρα Επεξεργασίας Λυμάτων είναι μονάδες που δέχονται απόβλητα με σκοπό να τα μετατρέψουν σε ακίνδυνα προς το περιβάλλον εξερχόμενα ύδατα με σκοπό να επιστρέψουν στον κύκλο του νερού με όσο το δυνατόν λιγότερες επιπτώσεις για το περιβάλλον. Τα Κέντρα Επεξεργασίας Λυμάτων (ΚΕΛ) έχουν δημιουργηθεί για να απομακρύνουν το οργανικό φορτίο, τα θρεπτικά συστατικά, τα αιωρούμενα σωματίδια και τους παθογόνους μικροοργανισμούς [16][22]. Παρ' όλα αυτά, πολλές κατηγορίες από μικρορύπους έχουν ανιχνευθεί από τα εξερχόμενα λύματα των ΚΕΛ, οι οποίοι δεν μπορούν να μειωθούν από την τρέχουσα αντιμετώπιση και στη συνέχεια απορρίπτονται στο οικοσύστημα. Αυτός είναι ο λόγος για τον οποίο μελετάται η πορεία των μικρορύπων αυτών κατά την

διάρκεια της επεξεργασίας τους από τα ΚΕΛ και ιδιαίτερα η πορεία κατά την απολύμανσή τους. Ένα ΚΕΛ αποτελείται συνήθως από μια μονάδα προεπεξεργασίας, πρωτοβάθμια μονάδα επεξεργασίας, μονάδα ενεργής ιλύος και μια μονάδα απολύμανσης.



Εικόνα 1.6.1: Απεικόνιση μιας τυπικής μονάδας επεξεργασίας αποβλήτων [23].

### 1.6.1 Πρωτοβάθμια και Δευτεροβάθμια Επεξεργασία :

Η πρωτοβάθμια επεξεργασία με τον φυσικό διαχωρισμό των υγρών από τα βαρέα στερεά μέσω της καθίζησης, αφαιρεί ένα μεγάλο μέρος των αιωρούμενων σωματιδίων και ένα μέρος του οργανικού φορτίου. Ένα επαρκές σύστημα πρωτογενής επεξεργασίας αφαιρεί έως και το 90% των καθιζάνων σωματιδίων, 40% με 60% των αιωρούμενων σωματιδίων και 20% με 40% του οργανικού φορτίου. Μέσω των πρωτοβάθμιων δεξαμενών απομακρύνεται επίσης ο αφρός στην επιφάνεια. Επιπλέον, η παραγόμενη πρωτογενής ιλύς, χρησιμοποιείται για διάθεση ή περεταίρω επεξεργασία.

Η δευτεροβάθμια επεξεργασία έχει ως στόχο να απαλλάξει τα απόβλητα από τα θρεπτικά συστατικά και τα αδιάλυτα οργανικά και ανόργανα στερεά, που έχουν παραμείνει από την πρωτοβάθμια επεξεργασία, με εφαρμογή βιολογικής επεξεργασίας. Ο διαφορετικός παράγοντας της δευτεροβάθμιας επεξεργασίας είναι η οξείδωση του άνθρακα και η απομάκρυνση των θρεπτικών συστατικών. Η

οξειδωση του άνθρακα πραγματοποιείται από μικροοργανισμούς και περιλαμβάνει την οξειδωση ή τον μεταβολισμό της οργανικής ύλης σε CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O και κυτταρική βιομάζα. Τα δύο κύρια θρεπτικά συστατικά που πρέπει να απομακρυνθούν πριν την αποβολή των αποβλήτων, είναι το άζωτο και ο φώσφορος [23].

Όπως όλες οι βιολογικές διαδικασίες έτσι και αυτές όπου λαμβάνου χώρα στα κέντρα επεξεργασίας λυμάτων εξαρτώνται από τις δραστηριότητες των ενζύμων, τα οποία καταλύουν βιοχημικές αντιδράσεις. Τα ένζυμα είναι εκλεκτικά ως προς την δράση τους και καταλύουν και βελτιώνουν την απόδοση σε ορισμένες κατηγορίες χημικών αντιδράσεων (πυρινόφιλες, ηλεκτρόφιλες και αντιδράσεις οξέος-βάσης). Η βιολογική επεξεργασία έχει την ικανότητα μετασχηματισμού πολλών οργανικών μικροοργανισμών όπως είναι τα φαρμακευτικά προϊόντα, τα βιοκτόνα, τα προϊόντα καθημερινής χρήσης όπως και των προϊόντων μετασχηματισμών τους [24].

### **1.6.2 Διαδικασία ενεργής ιλύος:**

Η διαδικασία ενεργής ιλύος χρησιμοποιείται συνήθως για την απομάκρυνση των θρεπτικών συστατικών από τα απόβλητα. Η προαναφερθείσα διαδικασία περιλαμβάνει δυο κύρια στάδια. Το πρώτο στάδια αναφέρεται στην αποσύνθεση των ρύπων από ένα σύνολο μικροοργανισμών, το οποίο μεταβολίζει την οργανική ύλη και τα ανόργανα συστατικά σε πιο απλά και φιλικά προς το περιβάλλον προϊόντα, όπως για παράδειγμα το N<sub>2</sub> και το CO<sub>2</sub>. Το σύνολο αυτών των μικροοργανισμών ονομάζεται "ενεργή ιλύς" και η βιομάζα κρατείται σε αναστολή με αερισμό και μηχανική ανάδευση. Η πιο απλή διάταξη για αυτή τη διαδικασία περιλαμβάνει μια αεριζόμενη δεξαμενή και μια πηγή παροχής αέρα.

Το δεύτερο στάδιο την διαδικασίας ενεργής ιλύος είναι ο διαχωρισμός της βιομάζας από το επεξεργασμένο νερό σε ένα δεύτερο διαχωριστή, ο οποίος χρησιμοποιεί διαχωρισμό μέσω καθίζησης. Το υπερκείμενο υγρό που δημιουργείται από την καθίζηση στέλνεται για τριτοταγή επεξεργασία, ενώ η καθιζάμενη βιομάζα ανακυκλώνεται πίσω στην αρχή της διαδικασίας. Ενώ η κύριος σκοπός της διαδικασίας ενεργής ιλύος είναι η βιολογική απομάκρυνση και η σταθεροποίηση

των θρεπτικών συστατικών, έχει αναγνωριστεί επίσης η δράση της να είναι αποτελεσματική στην καταστροφή παθογόνων μικροοργανισμών (από μεγαλύτερους οργανισμούς) [25].

### **1.6.3 Τριτοταγής (προχωρημένη) επεξεργασία:**

Η τριτοταγής επεξεργασία είναι το τελευταίο στάδιο για να επέλθει η επιθυμητή ποιότητα στο επεξεργασμένο νερό, ενώ έχουν μεσολαβήσει μια ποικιλία χημικών, βιολογικών και φυσικών διαδικασιών. Η επιλογή της τριτοταγής διαδικασίας έχει να κάνει με τον σκοπό για τον οποίο προορίζεται το επεξεργασμένο νερό. Κατά την διαδικασία της τριτοταγής επεξεργασία χρησιμοποιούνται ισχυρά οξειδωτικά μέσα με σκοπό να αντιδράσουν με το διαλυμένο οργανικό φορτίο και με τους παθογόνους μικροοργανισμούς. Η χλωρίωση, η οζόνωση και η υπεριώδης ακτινοβολία ή συνδυασμός κάποιων από τις παραπάνω διαδικασίες, είναι οι πιο συχνά χρησιμοποιούμενες μέθοδοι [25].

#### **Χλωρίωση:**

Η χλωρίωση έχει χρησιμοποιηθεί για δεκάδες χρόνια και είναι η βασική διαδικασία για την απολύμανση του ανακυκλώσιμου νερού. Η χλωρίνη έχει μεγάλη οξειδωτική ικανότητα και χρησιμοποιείται σε μεγάλες συγκεντρώσεις για να σκοτώσει τους παθογόνους μικροοργανισμούς. Δυο μεγάλα μειονεκτήματά της είναι ότι κατά την χρήση της σε μεγάλες συγκεντρώσεις δημιουργούνται επιβλαβή υποπροϊόντα της και ότι για να επιτύχει τα επιθυμητά επίπεδα απολύμανσης αυξάνεται πολύ το κόστος της διαδικασίας. Η χλωρίνη αντιδρά με την κυτταρική μεμβράνη και καταστρέφει τις κυτταρικές λειτουργίες. Μετά την απολύμανση είναι απαραίτητη η αποχλωρίωση την εναπομένουσας χλωρίνης, το οποίο αυξάνει περεταίρω την όλη διαδικασία. Αυτό το βήμα είναι απαραίτητο για την προστασία του περιβάλλοντος που μπορεί να δεχθεί αυτά τα απόβλητα, γιατί η χλωρίνη και τα παράγωγά της είναι τοξικά για πολλούς υδατικούς οργανισμούς [23].

### **Υπεριώδης ακτινοβολία (UV):**

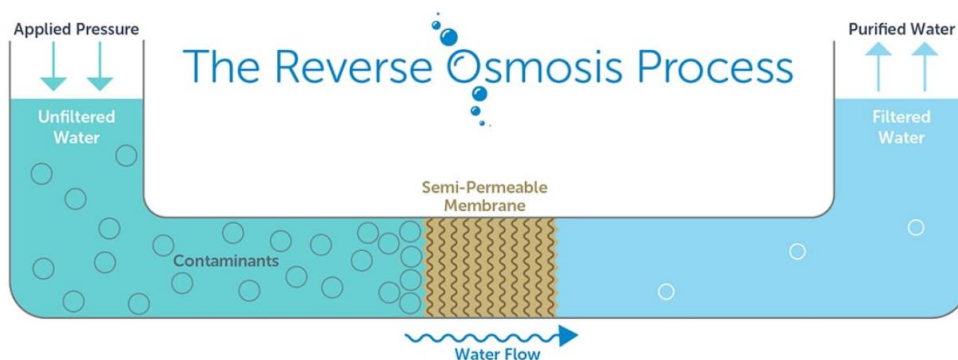
Η υπεριώδης ακτινοβολία είναι μια μέθοδος που τείνει να αντικαταστήσει την χλωρίωση για την απολύμανση των αποβλήτων, διότι αποτελείται από λιγότερα στάδια, είναι πιο ασφαλής και δεν δημιουργεί υποπροϊόντα [25]. Οι λάμπες UV εκπέμπουν σημαντική ακτινοβολία σε μήκος κύματος 240-260 nm, όπου είναι το μήκος κύματος στο οποίο απορροφούν τα νουκλεϊκά οξέα (όπως είναι το DNA και το RNA). Όταν εκτεθεί το DNA στην ακτινοβολία UV, οι γειτονικές βάσεις θυμίνης του δίκλωνου μορίου διμερίζονται. Έτσι η αλυσίδα του δίκλωνου μορίου δεν μεταγράφεται με αποτέλεσμα το βακτηριακό κύτταρο να μην έχει τη δυνατότητα να διαιρεθεί. Παρόμοιοι μηχανισμοί εφαρμόζονται για την απενεργοποίηση ιών [26]. Η ακτινοβολία UV μας παρέχει μια αποτελεσματική απενεργοποίηση των βακτηρίων, πρωτόζωων και κάποιων ιών.

### **Όζον (O<sub>3</sub>):**

Μια πολλά υποσχόμενη τεχνική που χρησιμοποιείται για τη μείωση των μικρορύπων από τα εξερχόμενα των ΚΕΛ, είναι η χρήση του όζοντος. Το όζον έχει αποδειχθεί ότι είναι αποτελεσματικό στην οξειδωση φαρμακευτικών ενώσεων και άλλων μικρορύπων στο πόσιμο νερό και στα απόβλητα. Η οξειδωση επιδρά θετικά στο σχηματισμό των προϊόντων μετασχηματισμού, που στις περισσότερες περιπτώσεις έχουν λιγότερη βιολογική δραστηριότητα από τις μητρικές ενώσεις [26]. Επίσης η οζόνωση φαίνεται να απενεργοποιεί τους ιούς, βακτήρια και ακόμα περισσότερο τα πρωτόζωα όπου η χλωρίνη και τα παράγωγά του αποτύγχαναν να καταστρέψουν. Στις μέρες μας, η τεχνική αυτή έχει έλθει στο προσκήνιο για τα οικονομικά της πλεονεκτήματα και την υψηλή οξειδωτική της δράση από τις πρωταρχικές τεχνικές (χλωρίωση και UV ακτινοβολία). Ο συνδυασμός της της μικροβιακής απομάκρυνσης και της απομάκρυνσης των μικρορύπων κάνει αυτή την τεχνική ελκυστική για χρήση ως προχωρημένη εναλλακτική επεξεργασία αποβλήτων [27].

## Αντίστροφη ώσμωση:

Η χρήση μεμβρανών και ιδιαίτερα της αντίστροφης ώσμωσης είναι ένα μεγάλο βήμα για την αλυσίδα του καθαρισμού νερού ή και από μόνη της μια επιλογή για τον καθαρισμό χωρίς να συνδυαστεί με άλλη τεχνική. Η τεχνική αυτή βασίζεται στη διαδικασία διαχωρισμού δύο διαλυμάτων με διαφορετικές συγκεντρώσεις με χρήση ημιπερατών μεμβρανών. Σε αυτή τη διαδικασία η πίεση εφαρμόζεται στο διάλυμα με την μεγαλύτερη συγκέντρωση δίνοντας του ώθηση για να περάσει μέσα από την μεμβράνη και οι ενώσεις να κατακρατηθούν στην μεμβράνη. Η επίδοση αυτών των μεμβρανών μπορούν να επιτύχουν ποσοστό που φθάνει το 99% στην κατακράτηση οργανικών και ανόργανων συστατικών. Ένα μειονέκτημα αυτής της διαδικασίας είναι όμως η συσσώρευση των συστατικών που περνούν από την μεμβράνη μειώνοντας έτσι την απόδοσή της. Ο καθαρισμός της μεμβράνης επιτυγχάνεται με χημικό καθαρισμό της μεμβράνης ή με την επεξεργασία των στραγγισμάτων πριν περάσουν από τις μεμβράνες. Για να επιτευχθεί το αποτελεσματικός καθαρισμός με μεμβράνη απαιτείται και η παρακολούθηση της απόδοσής της [2][28].



Εικόνα 1.6.3.1: Τρόπος λειτουργίας αντίστροφης ώσμωσης

[<https://reliancehomecomfort.com/ro-benefits/>]





## 2. ΒΙΒΛΙΟΓΡΦΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ:

Ο προσδιορισμός των αναδυόμενων ρύπων έχει κινήσει το ερευνητικό ενδιαφέρον διαφόρων ομάδων, σε παγκόσμιο επίπεδο. Τα απόβλητα είναι μια από τις μεγαλύτερες πηγές αναδυόμενων ρύπων που ελευθερώνονται στο υδάτινο περιβάλλον. Στον Πίνακα 1 παρουσιάζονται οι πιο ενδεικτικές μελέτες προσδιορισμού αναδυόμενων ρύπων. Πιο συγκεκριμένα παρουσιάζεται η μήτρα του περιβαλλοντικού υδατικού δείγματος, οι προσδιοριζόμενοι αναλύτες, καθώς και η χρησιμοποιούμενη τεχνική προκατεργασίας και ανάλυσης του δείγματος.

**2.1 Πίνακας 2.1: Βιβλιογραφική ανασκόπηση μεθόδων προσδιορισμών αναδυόμενων ρύπων σε δείγματα νερού**

ΜΗΤΡΑ	ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΖΟΜΕΝΟΙ ΑΝΑΛΥΤΕΣ	ΤΕΧΝΙΚΗ ΠΡΟΚΑΤΕΡΓΑΣΙΑΣ	ΤΕΧΝΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ
Στραγγίσματα	PFCs, Φαρμακευτικές ενώσεις & βιομηχανικά κατάλοιπα, ζιζανιοκτόνα, Τεχνικά γλυκαντικά	SPE (OASIS HLB)	RP - UHPLC (ZORBA X)-ESI- TSQ - MS	[10]
Εισερχόμενα/ Εξερχόμενα Απόβλητα	Φαρμακευτικές ενώσεις	SPE	LC – MS/MS	[29]
Λάσπη από ΚΕΛ	Φαρμακευτικές ενώσεις & βιομηχανικά κατάλοιπα & ναρκωτικά	Ultra-Sonic Extraction from Freeze Dried Sewage Sludge	HPLC – ESI- TSQ- MS	[30]
Λάσπη από ΚΕΛ	Φαρμακευτικές ενώσεις & βιομηχανικά κατάλοιπα	Ultra-Sonic Extraction	RP- UHPLC -ESI_ TSQ- MS	[31]
Λάσπη από ΚΕΛ	Ναρκωτικά	SPE	GC – TOF - MS	[32]
Απόβλητα	Φαρμακευτικές ενώσεις	SPE (Oasis MCX)	UHPLC – ESI - MS/MS	[33]
Εισερχόμενα/ Εξερχόμενα Απόβλητα	Φαρμακευτικές ενώσεις	SPE (Oasis HLB)	RP – ESI - TSQ	[34]
Εισερχόμενα/ Εξερχόμενα Απόβλητα	Φαρμακευτικές ενώσεις	SPE (HLB)	LC – MS	[34]

Απόβλητα	Φαρμακευτικές ενώσεις	SPE (Oasis HLB)	HPLC – MS/MS – Ion Trap	[35]
Απόβλητα	150 οργανικοί μικρορύπτοι, συμπεριλαμβανομένων των φυτοφαρμάκων	SPE	GC - EI – TOF - MS	[36]
Απόβλητα & Επιφανειακά Ύδατα	Φαρμακευτικές ενώσεις & Φυτοφάρμακα	SPE	RP – UHPLC-ESI- qTOF - MS	[37]
Απόβλητα & Επιφανειακά Ύδατα	Οργανοφωσφωρικοί επιβραδυντές καύσης	-	LC- Qtrap/MS	[38]
Απόβλητα	Αντιβιοτικά	SPE	UHPLC- Orbitrap	[39]
Απόβλητα	Προϊόντα καθημερινής χρήσης, Φαρμακευτικά προϊόντα	SPE (Oasis HLB)	UPLC -ESI- qToF/MS	[40]
Απόβλητα	Φαρμακευτικές ενώσεις	SPE (Strata X)	HPLC – q - Orbitrap	[41]
Απόβλητα Νοσοκομείου	Φαρμακευτικές ενώσεις	SPE ( Phenomenex)	UFLC – ESI – MS/MS	[42]
Απόβλητα	Φαρμακευτικές ενώσεις & Φυτοφάρμακα	Online SPE	UHPLC – Orbitrap	[43]
Εισερχόμενα/ Εξερχόμενα Απόβλητα	Φαρμακευτικές ενώσεις	-	UHPLC – q - ToF	[44]
Απόβλητα	Φαρμακευτικές ενώσεις, φυτοφάρμακα, μυκητοκτόνα	SPE	UPLC – q - ToF	[45]
Απόβλητα	Φαρμακευτικά προϊόντα, Φυτοφάρμακα, ναρκωτικά και προϊόντα μετατροπής	-	UHPLC – q - ToF	[46]
Στραγγίσματα	Φαρμακευτικές ενώσεις, βιομηχανικά κατάλοιπα, χημικές ενώσεις που χρησιμοποιούνται στο σπίτι,	-	UHPLC – TQ-MS	[47]
Απόβλητα	Φαρμακευτικές ενώσεις, φυτοφάρμακα	SPE	UHPLC – q - ToF	[37]
Στραγγίσματα	Φαρμακευτικές ενώσεις, Προϊόντα Καθημερινής Χρήσης	SPE	HPLC- MS/MS	[48]
Απόβλητα	Φαρμακευτικές ενώσεις, Προϊόντα Καθημερινής Χρήσης	SPE	HPLC- MS/MS	[49]
Στραγγίσματα	χημικές ενώσεις που χρησιμοποιούνται στο σπίτι,	SPE	HPLC-TQ GC-TQ	[50]

	φαρμακευτικές ενώσεις, εντομοκτόνα, φυτοφάρμακα			
Εξερχόμενα Απόβλητα	Φαρμακευτικές ενώσεις και προϊόντα μετατροπής τους.	SPE	UHPLC-ESI-QToF	[51]
Απόβλητα	Ψυχοδραστικές Ουσίες	SPE	UHPLC-TSQ	[52]
Απόβλητα	Φαρμακευτικές ενώσεις, Επιφανειοδραστικά, Νικοτίνη	SPE	LC-QTOF-MS	[53]

**2.2 Πίνακας 2.2: Βιβλιογραφική ανασκόπηση ρύπων που ανιχνεύονται σε δείγματα στραγγισμάτων από ΧΥΤΑ εξωτερικού.**

Όνομα Ένωσης	Κατηγορία	Επίπεδα συγκεντρώσεων (µg/L)	Βιβλιογραφία
DEET	Φυτοφάρμακο	6,8 – 10 <sup>5</sup>	[10],[47]
Sucralose	Τεχνικό Γλυκαντικό	0,01 – 620	[10], [47]
Sulfamethoxazole	Φαρμακευτική ένωση	0,01 – 0,6	[10], [47]
Bishphenol A	Χημική ένωση Βιομηχανίας	45 (median) – 1.720	[10], [47]
Benzophenon	Προϊόν καθημερινής Χρήσης	15,3 (max)	[47]
Cotinine	Εθιστική ουσία	51,2	[47]
Nicotine	Εθιστική ουσία	100	[47]
Lidocaine	Φαρμακευτική ένωση/ Ναρκωτικό	147	[47]
Ibuprofen	Φαρμακευτική ένωση	32-166	[47],[54]
Ranitidine	Φαρμακευτική ένωση	1,92	[47]
Tramadol	Ζιζανιοκτόνο, Μυκητοκτόνο	3,13 (max)	[47]
Amphetamine	Ναρκωτικό	7,23 (max)	[47]

PFOA	PFCs	0,177 – 2,50	[10], [47]
PFOS	PFCs	1,5 (max)	[10]
PFBuS	PFCs	1,3 (max)	[55]
PFHxA	PFCs	<0,003 – 2,96	[55]
PFHpA	PFCs	<0,00012 – 0,28	[55]
PFDeA	PFCs	< 0,003 – 0,0001	[55]
Paracetamol	Φαρμακευτική ένωση	2-96.9	[55],[56]
MCPA	Φυτοφάρμακο	0,2-9,1	[57]
Mecoprop	Φυτοφάρμακο	0,38-150	[57]
Diclofenac	Φαρμακευτική ένωση	19-31	[48]
Salicylic acid	Φαρμακευτική ένωση	0,047-2	[58]
Cotinine	Stimulant metabolite	0,023-0,080	[54]
Ranitidine	Φαρμακευτική ένωση	0,01	[54]
Lincomycin	Φαρμακευτική ένωση	0,05	[54]
5-Methyl -1H- Benzotriazole	Χημική ένωση Βιομηχανίας	1,1-1,9	[54]
Benzothiazole	Χημική ένωση Βιομηχανίας	0,016-0,281	[54]
Triethyl phosphate	Χημική ένωση Βιομηχανίας	0,003-0,9	[54]

### 2.3 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗΣ ΑΝΑΣΟΠΙΣΗΣ

Σύμφωνα με τη διαθέσιμη βιβλιογραφία, οι ρύποι που ανιχνεύονται σε δείγματα στραγγισμάτων, ποικίλλουν από ΧΥΤΑ σε ΧΥΤΑ και παρατηρείται και έντονη διαφοροποίηση της συγκέντρωσής τους. Μερικοί από τους παράγοντες που επηρεάζουν την ποιοτική και ποσοτική σύσταση των στραγγισμάτων, είναι οι ακόλουθοι:

- Κατάσταση Χώρου Υγειονομικής Ταφής ( Ενεργός – Ανενεργός ). Ο ρυθμός παραγωγής στραγγισμάτων είναι πιο αργός όταν ένας ΧΥΤΑ είναι ανενεργός.
- Ηλικία ΧΥΤΑ. Καθώς αυξάνεται η ηλικία του ΧΥΤΑ, τα απορρίμματα που δέχεται αυξάνονται και έτσι ενώσεις που δεν ανιχνεύονταν αρχικά, μπορούν να ανιχνευθούν με την πάροδο των χρόνων.
- Χρονολογία που έγινε η δειγματοληψία. Κάθε χρόνο νέα προϊόντα όπως φαρμακευτικές ενώσεις, προϊόντα καθημερινής χρήσης και άλλες ενώσεις εισέρχονται στην καθημερινότητα του ανθρώπου.
- Χώρα στην οποία ανήκει ο κάθε ΧΥΤΑ. Διαφορετικές χώρες, διαφορετικά προϊόντα όπου απαντώνται στα απορρίμματα.
- Εποχή που έγινε η δειγματοληψία. Η συγκέντρωση των στραγγισμάτων αλλάζει σε εποχές όπου η βροχόπτωση είναι αυξημένη.
- Βάθος δειγματοληψίας. Το βάθος της δειγματοληψία επηρεάζει την συγκέντρωση και το πλήθος των ρύπων που ανιχνεύονται στα στραγγίσματα.
- Τεχνική προκατεργασίας δειγμάτων και τεχνική ανάλυσης. Η κάθε τεχνική προκατεργασίας, όπως ποια στήλη SPE θα χρησιμοποιηθεί κατακρατά διαφορετικούς αναλύτες. Επίσης η υγρή χρωματογραφία χρησιμοποιείται για ανίχνευση διαφορετικών ενώσεων από την αέρια χρωματογραφία.

Σε κάθε περίπτωση όμως, ο ποιοτικός και ποσοτικός προσδιορισμός αναδυόμενων ρύπων σε στραγγίσματα, είναι ένα ταχέως αναπτυσσόμενο ερευνητικό πεδίο με σημαντικές κοινωνικές και οικονομικές προεκτάσεις.

### 3. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Ένα μεγάλο εύρος από οργανικές ενώσεις έχουν μπει στην καθημερινότητα του ανθρώπου στη σύγχρονη κοινωνία. Οι ενώσεις αυτές καθώς και προϊόντα μετασχηματισμού τους καταλήγουν στα αστικά απορρίμματα. Μέσω των διαδικασιών διαχείρισης των απορριμμάτων οι ρύποι καταλήγουν στα στραγγίσματα που δημιουργούνται από αυτά. Πρέπει λοιπόν να γίνει μελέτη της ύπαρξης των αναδυόμενων ρύπων στα στραγγίσματα εφόσον αποτελούν μια πιθανή πηγή ρύπανσης του περιβάλλοντος αφού είτε μέσω διαρροών είτε μέσω του κύκλου του νερού επιστρέφουν στο περιβάλλον. Τα στραγγίσματα πρέπει να επεξεργάζονται με κατάλληλες τεχνικές, πρώτου απορριφθούν στο περιβάλλον.

Η υγροχρωματογραφία συζευγμένη με αναλυτή μαζών υψηλής διακριτικής ικανότητας μας δίνει την δυνατότητα μια ευρείας μελέτης των αναδυόμενων ρύπων και των προϊόντων μετασχηματισμού τους με την παροχή φασμάτων υψηλής ακρίβειας μάζας. Τα δεδομένα αυτά μπορούν να χρησιμοποιηθούν για στοχευμένη σάρωση, σάρωση «ύποπτων» ενώσεων και μη-στοχευμένη σάρωση, παρέχοντας τη δυνατότητα αι αναδρομικής ανάλυσης.

Ο σκοπός της παρούσας μελέτης είναι ο προσδιορισμός πάνω από 2.100 αναδυόμενους ρύπους σε δείγματα στραγγισμάτων από 8 ΧΥΤΑ της Ελλάδος. Για την ανίχνευση αυτού του μεγάλου εύρους ενώσεων θα χρησιμοποιηθεί η τεχνική της υγροχρωματογραφίας συζευγμένη με αναλυτή μαζών χρόνου πτήσης (HPLC-qToF-MS). Ο ποσοτικός προσδιορισμός των αναδυόμενων στα μη επεξεργασμένα δείγματα, καθώς και στα δείγματα ύστερα από βιολογική επεξεργασία και επεξεργασία με αντίστροφη ώσμωση, θα υποδείξουν την αποτελεσματικότητα των τεχνικών για την απομάκρυνση των ρύπων.





#### 4. ΜΕΘΟΔΟΙ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ – ΑΝΑΛΥΤΙΚΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ

Υπάρχουν διάφορες αναλυτικές πορείες για την ταυτοποίηση των αναδυόμενων ρύπων και των προϊόντων μετατροπής του ανάλογα με την διαθεσιμότητα του οργάνου και του λογισμικού. Τα κύρια βήματα αναφέρονται στην εικόνα 2.

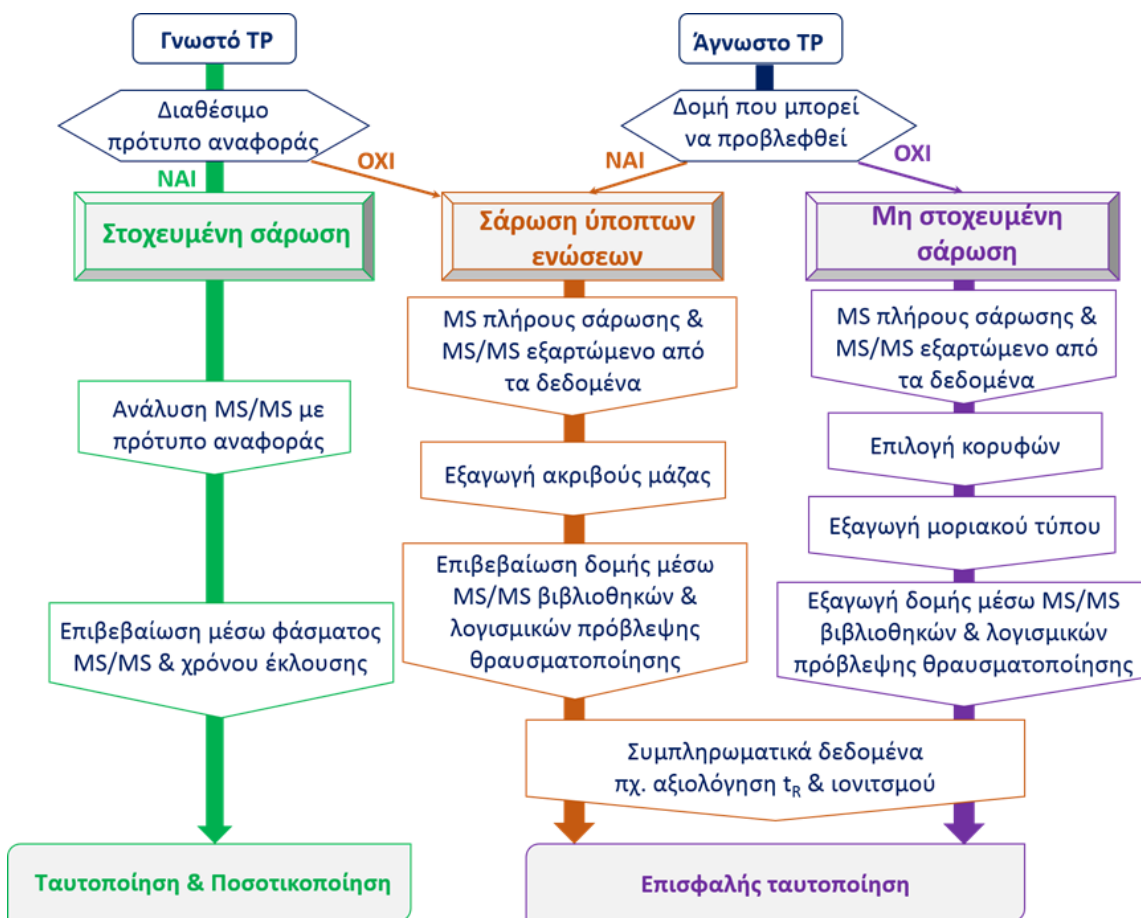
A) Στοχευμένη σάρωση (Target Analysis) που βασίζεται στην ταυτοποίηση ήδη γνωστών αναδυόμενων ρύπων και πραγματοποιείται με τη χρήση αντίστοιχων προτύπων διαλυμάτων.

B) Σάρωση «ύποπτων» ενώσεων (Suspect Screening), όπου γίνεται σάρωση για μία λίστα από αναδυόμενους ρύπους όπου έχουν συλλεχθεί έπειτα από βιβλιογραφική ανασκόπηση και τα δείγματα αναλύονται για την πιθανή ανίχνευσή τους στα δείγματα.

Γ) Μη-στοχευμένη σάρωση «Non-target screening», όταν γίνεται σάρωση για ταυτοποίηση μη αναμενόμενων ενώσεων, είναι δύσκολο να επιλεχθούν τα μεμονωμένα ιόντα ειδικά όταν η μήτρα είναι πολύπλοκη ή η συγκέντρωση του αναλύτη είναι πολύ χαμηλή. Κάτω από αυτές τις συνθήκες είναι απαραίτητο να γίνει χρήση εξελιγμένων λογισμικών με χρωματογραφικές ικανότητες όπου μπορούν να ταυτοποιήσουν την παρουσία πολλών ενώσεων και να παράξουν φάσματα για κάθε μια από τις ξεχωριστά. Γενικά, η κάθε κορυφή του φάσματος όπου είναι υπό εξέταση συγκρίνεται με μια βιβλιοθήκη φασμάτων δίνοντας αποτέλεσμα βασισμένο στην αντιστοίχιση των κορυφών και των σχετικών εντάσεων τους[46].

Στις μέρες μας η υγροχρωματογραφία συνδυαζόμενη με φασματομετρία μάζας χρησιμοποιώντας μια ποικιλία από αναλυτές μάζας είναι η τεχνική που χρησιμοποιείται ευρέως για την ταυτοποίηση αναδυόμενων ρύπων και των προϊόντων μετατροπής τους. Η υγρή χρωματογραφία είναι κατάλληλη για τον προσδιορισμό πολικών έως μετρίων άπολων ενώσεων και για θερμο-ασταθείς ενώσεις, έτσι είναι κατάλληλη και για τους αναδυόμενους ρύπους και τα προϊόντα μετατροπής τους, όπου γενικά είναι πιο πολικά από τις μητρικές ενώσεις. Οι πιο συχνά χρησιμοποιούμενοι αναλυτές μάζας είναι:

- το τριπλό τετράπολο (triple quadrupole, QqQ)
- ο αναλυτής χρόνου πτήσης (time-of-flight, TOF)
- η παγίδα ιόντων (ion-trap, IT)
- η τροχιακή παγίδα ιόντων το Orbitrap
- το τετράπολο-αναλυτής χρόνου πτήσης (Q-TOF)
- το τετράπολο-γραμμική παγίδα ιόντων (quadrupole-linear ion trap, Q-LIT)
- η γραμμική παγίδα ιόντων (linear ion trap - LTQ) σε σειρά με τροχιακή παγίδα ιόντων (orbital trap - Orbitrap / Fourier Transform Mass Spectrometer).



Εικόνα 4.1: Κριτήρια επιλογής μεθοδολογίας για προσδιορισμό αναδυόμενων ρύπων [2].

Η ανάπτυξη και η χρήση των αναλυτών μάζας υψηλής διακριτικής ικανότητας (HR-MS) είναι ο οδηγός της ανάπτυξης νέων αναλυτικών μεθόδων για την ταυτοποίηση των αναδόμενων ρύπων. Αξιοποιώντας την υψηλή τους ευαισθησία και την υψηλή διακριτική τους ικανότητα σε λειτουργία full-scan, είναι ικανοί και για target και non-target ανάλυση για την ταυτοποίηση τεράστιου αριθμού αναδόμενων ρύπων.

Ως συμπλήρωμα της υγροχρωματογραφίας, η αεριοχρωματογραφία είναι κατάλληλη να προσδιορίσει ενώσεις με χαμηλή πολικότητα, (ημί)-πτητικές και θερμοσταθερές ενώσεις, όπως είναι siloxanes, musks, polychlorinatedbiphenyls (PCBs), πολυκυκλικοί αρωματικοί υδρογονάνθρακες (PAHs), poly-brominated diphenyl ethers (PBDEs) και μερικά φυτοφάρμακα καθώς και άλλες ενώσεις.

Παρόλο που και οι απλοί αναλυτές μάζας όπως είναι το τριπλό τετράπολο, το τετράπολο και ο αναλυτής παγίδας ιόντων είναι ικανοί για αυτό τον στόχο, οι αναλυτές υψηλής διακριτικής ικανότητας είναι οι καταλληλότεροι. Ως πηγή ιοντισμού προτιμάται ο ιοντισμός με πρόσκρουση ηλεκτρονίων (EI), γιατί είναι μια επαρκώς μελετημένη τεχνική, έχει επαναλήψιμο φάσμα μαζών και έχει υψηλή ανθεκτικότητα (υψηλή ανθεκτικότητα σε μικρές σκοπούμενες μικροαλλαγές τις μεθόδου), και αποτελεί την βάση για την ανάπτυξη βιβλιοθηκών μαζών [47]. Βιβλιοθήκες με πληροφορίες με πάνω από 200.000 ενώσεις είναι διαθέσιμες και κάποιες από αυτές είναι ήδη συνδεδεμένες με λογισμικά για να χρησιμοποιηθούν για non-target ανάλυση[59].

## **4.1 ΑΝΑΛΥΤΙΚΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ**

**4.1.1 Στοχευμένη Ανάλυση (Target Analysis):** Στην στοχευμένη ανάλυση οι αναλύτες μας είναι γνωστοί, περιλαμβάνονται σε καθορισμένη μέθοδο MS και μπορούν να αναλυθούν με μια απλή μέθοδο ρουτίνας. Ο αναλυτής μάζας που χρησιμοποιείται ευρέως στην στοχευμένη σάρωση είναι ο QqQ (τριπλό

τετράπολο), το οποίο είναι ένας αναλυτής χαμηλής διακριτικής ικανότητας (low-resolution, LR), αλλά επιτρέπει την εφαρμογή διαφόρων λειτουργιών MS/MS. Κάποιες από τις λειτουργίες αυτές είναι η σάρωση του πρόδρομου ιόντος (precursor ion scan), η σάρωση προϊόντος ιόντος (product ion scan), η σάρωση ουδέτερης απώλειας (neutral loss scan) και η παρακολούθηση επιλεγμένης αντίδρασης (selected reaction monitoring, SRM).

Η λειτουργία SRM είναι η πιο κύρια και προσφέρει πολλά πλεονεκτήματα στη στοχευμένη σάρωση, αυξάνοντας την ευαισθησία και την εκλεκτικότητα και ελαττώνοντας ταυτόχρονα τις παρεμβολές.

Η λειτουργία SRM θέτει περιορισμούς τους οποίους με τη χρήση αναλυτών μάζας υψηλής διακριτικής ικανότητας στη στοχευμένη ανάλυση μπορούμε και ξεπερνάμε, καθώς όλες οι υπάρχουσες στο δείγμα ενώσεις μπορούν να προσδιοριστούν ταυτόχρονα με τη χρήση της λειτουργίας full-scan. Οι υβριδικοί αναλυτές μαζών έχουν την ικανότητα της λειτουργίας απόκτησης φάσματος MS/MS εξαρτώμενο από τα δεδομένα (data-dependent MS/MS). Η ανάλυση ενεργοποιείται όταν μία ένωση η οποία υπάρχει στη λίστα στοχευμένων ιόντων ανιχνευτεί στη λειτουργία full scan ή στη λειτουργία σάρωσης συγκεκριμένου ιόντος (selected ion monitoring, SIM) και η έντασή του ξεπερνά ένα καθορισμένο όριο.

**4.1.2 Σάρωση πιθανών ενώσεων (Suspect Screening):** Η διαφορά αυτής της τεχνικής σε σύγκριση με την στοχευμένη ανάλυση είναι ότι η πρώτη δεν βασίζεται σε πρότυπα αναφοράς για την επιβεβαίωση. Ένα μειονέκτημα της είναι ότι δεν υπάρχουν εμπορικά διαθέσιμα πρότυπα για όλες τις ενώσεις, ενώ για κάποια άλλα πρότυπα οι τιμές τους είναι πάρα πολύ υψηλές. Παρόλα αυτά όμως, ο συντακτικός τους τύπος όπως και η μοριακή τους δομή μπορούν να προβλεφθούν (ή είναι γνωστές από τη βιβλιογραφία) και να χρησιμοποιηθούν για την αναγνώριση και την επιβεβαίωση των ενώσεων αυτών.

Για το στάδιο της πρόβλεψης της πορείας που ακολουθείται, σχετικά με την μικροβιακή μετατροπή των ξеноβιοτικών ουσιών και των πιθανών δομών, υπάρχουν εμπορικά διαθέσιμα και ελεύθερα προσβάσιμα προγράμματα όπως τα

παρακάτω: University of Minnesota Pathway Prediction System (UM-PPS), CATABOL, Meteor και PathPred.

Μέσω της αξιολόγησης των δεδομένων απόκτησης από HRMS ανάλυση, δηλαδή του χρόνου ανάσχεσης (retention time,  $t_R$ ), της ακρίβειας μάζας, της ισοτοπικής αναλογίας, της αποτελεσματικότητας του ιοντισμού και του φάσματος MS/MS (ή MS<sup>n</sup>), καταλήγουμε στις πιο κύριες δομές που θα μπορούσαν να αποδοθούν στα προϊόντα μετατροπής που εξετάζονται.

**4.1.3 Μη στοχευμένη ανάλυση (Non target Analysis):** Η τεχνική αυτή εφαρμόζεται όταν δεν υπάρχει καμία πληροφορία, εκ των προτέρων, για τους αναλύτες του δείγματος (πχ περιβαλλοντικά δείγματα). Συνεπώς η πλήρης αναγνώριση και ταυτοποίηση μιας τέτοιας ένωσης είναι δύσκολα εφικτή ενώ υπάρχουν αμφιβολίες για την εγκυρότητα του συμπεράσματος στο οποίο η έρευνα μπορεί να οδηγήσει. Πληθώρα δεδομένων ταυτοποίησης από το φάσμα MS και MS/MS, καθώς και αποτελέσματα συμπληρωματικών τεχνικών, και πειραματικών ενδείξεων, είναι βασικά προαπαιτούμενα προκειμένου να αποδοθεί μία και μοναδική δομή στην υπό ταυτοποίηση ένωση [60][61].

Η ανάλυση με HR αναλυτές μάζας παρέχει μια πληθώρα δεδομένων σε μικρό χρόνο, καθώς οι full scan και data-dependent MS/MS λειτουργίες μπορούν να γίνονται παράλληλα.

Για την αποτελεσματική και γρήγορη εξαγωγή αποτελεσμάτων πραγματοποιείται, μετά από την ανάλυση, επεξεργασία των δεδομένων με διαθέσιμα λογισμικά για μη στοχευμένη ανάλυση όπως τα MZmine, XCMS, EnviMass, Nontarget, ACD MS/Manager, καθώς και λογισμικά προμηθευτών όπως: Waters MetaboLynx, Thermo Networks, Bruker Metabolite Tools και Agilent Metabolite ID.

Προκειμένου να εξαχθεί το τελικό αποτέλεσμα, υπάρχουν πολλά στάδια που λαμβάνουν χώρα και καθένα παρέχει τη δική του πληροφορία. Το αρχικό βασικό στάδιο στη διαδικασία της μη στοχευμένης σάρωσης είναι η βαθμονόμηση μάζας. Στη συνέχεια, μέσα από σύγκριση του δείγματός μας με δείγματα ελέγχου (control samples) και λευκά δείγματα (blank samples) επιτυγχάνεται ο εντοπισμός

κορυφών που οφείλονται αποκλειστικά σε προϊόντα μετασχηματισμού. Αποκλείονται οι κορυφές που είναι αποτέλεσμα χρωματογραφικού θορύβου ενώ γίνεται σύζευξη κορυφών που οφείλονται σε ισότοπα και ιόντα προσθήκης.

Τέλος εξάγεται ο συντακτικός τύπος της ένωσης και πραγματοποιείται αναζήτηση για ταυτοποίηση των ουσιών με τη βοήθεια βιβλιοθηκών όπως ChemSpider, PubChem, DAIOS database και NIST.

Για την ολοκληρωμένη ταυτοποίηση των νέων ενώσεων που βρίσκονται υπό εξέταση, βασική πληροφορία παρέχεται από το φάσμα MS/MS, το οποίο σε σύγκριση με φάσματα από βιβλιοθήκες προσφέρει νέα δεδομένα για την ορθή απεικόνιση των δομών των νέων ουσιών. Επιβεβαίωση της σωστής δομής μπορεί να προσφέρει και μια συμπληρωματική τεχνική, η φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού εντοπισμού (nuclear magnetic resonance, NMR) [2].

#### **4.1.4 Επίπεδα ταυτοποίησης ενώσεων**

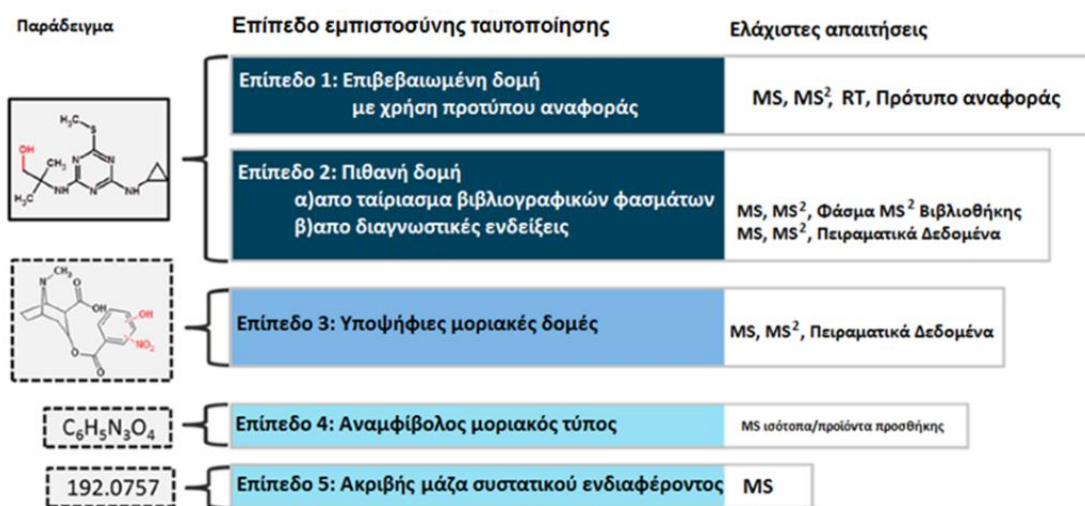
Η υψηλή ακρίβεια μάζας σε συνδυασμό με την υψηλή ακρίβεια ισοτοπικής αφθονίας είναι δύο απαραίτητες προϋποθέσεις έτσι ώστε να προταθεί ένας πιθανός μοριακός τύπος, βασισμένος σε λογισμικά ενσωματωμένα στην οργανολογία HR-MS.

Σύμφωνα με τις προδιαγραφές των οργάνων, η αποδεκτή τιμή απόκλισης του  $m/z$  της υπό μελέτης ένωσης σε σχέση με την θεωρητική είναι τα 5 ppm, έτσι ώστε να θεωρείται εγγυημένη η μοριακή τους ταύτιση. Παρόλα αυτά όμως, έχουν υπάρξει και περιπτώσεις εξαιρέσεων όπου λόγω χαρακτηριστικών ιοντικών τμημάτων έχουν γίνει αποδεκτές και δομές που διαφέρουν έως και 10 ppm της θεωρητικής τιμής.

Όσο απαραίτητη όμως και αν είναι μιας τέτοιας ακρίβειας ταυτοποίηση, δεν είναι επαρκής. Προκειμένου να υπάρξει μια πιο αξιόπιστη πρόταση δομής, πρέπει να παρέχονται και συμπληρωματικές πληροφορίες βασισμένες σε εξελιγμένα μοντέλα και λογισμικά.

Για να διευκολυνθεί η κατανόηση του επιπέδου εμπιστοσύνης της αναγνώρισης των προϊόντων μετατροπής, προτάθηκε το παρακάτω σχήμα επιπέδων από τον Schymanki et al [62].

Το επίπεδο 5 αφορά στην ανίχνευση της ακριβούς μάζας ενός συστατικού, μπορεί να μετρηθεί σε ένα δείγμα και να είναι ιδιαίτερου ενδιαφέροντος σε μια έρευνα, αλλά υπάρχει ελλιπής πληροφορία για να αποδοθεί ένας συγκεκριμένος μοριακός τύπος. Είναι ακόμα πιθανόν να έχει καταγραφεί φάσμα MS/MS μιας μάζας επιπέδου πέντε και να σωθεί ως άγνωστο φάσμα. Αυτό το επίπεδο μπορεί μόνο να εφαρμοστεί σε λίγες μάζες ειδικού ενδιαφέροντος αφού θα μπορούσε να είναι αντιπαραγωγικό να τεθούν ταμπέλες σε όλες τις μάζες σε ένα δείγμα ως επίπεδο πέντε. Στο επίπεδο αυτό είναι σημαντικό να διασφαλιστεί ότι η μάζα δεν υπάρχει στο τυφλό δείγμα και άρα δεν προκύπτει από τα στάδια προκατεργασίας του δείγματος.



Εικόνα 4.1.4: Προτεινόμενα επίπεδα ταυτοποίησης αναλυτών μέσω φασματομετρίας μαζών υψηλής διακριτικής ικανότητας [62].

Το επίπεδο 4 υποδηλώνει ότι υπάρχει κατηγορηματικός μοριακός τύπος. Ο μοριακός τύπος μπορεί να αποδοθεί χρησιμοποιώντας τη φασματική πληροφορία

(π.χ. ιόντα προσθήκης, ισοτοπικές κορυφές ή πληροφορία θραυσμάτων) αλλά δεν υπάρχουν επαρκή στοιχεία για να προταθούν δομές. Το φάσμα MS/MS μπορεί να μην παρέχει πληροφορίες σχετικά με τη δομή της ένωσης ή να περιέχει παρεμποδίσεις ή ακόμα και να μην υπάρχει διαθέσιμο. Παρόλα αυτά ο μοριακός τύπος παρέχει κάποια πληροφορία που είναι άξια παρουσίασης καθώς μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε μελλοντικές έρευνες.

Το επίπεδο 3 υποδηλώνει ότι υπάρχουν υποψήφιες δομές και περιγράφει μια γκρίζα ζώνη όπου υπάρχουν πειραματικές ενδείξεις για πιθανές δομές αλλά μη επαρκής πειραματική πληροφορία, έτσι ώστε να οδηγηθούμε σε μία μόνο επακριβή δομή (για παράδειγμα έχουν προκύψει πιθανές ισομερείς δομές). Παρόλο που υπάρχει αβεβαιότητα μεταξύ των πιθανών καταστάσεων, η ακριβής δομή παραμένει θεωρητική. Μπορούμε να οδηγηθούμε σε αυτό το επίπεδο ταυτοποίησης αν προκύψουν δομές με υψηλό ποσοστό ταύτισης μεταξύ του πειραματικού φάσματος MS/MS με το *in silico* φάσμα. Επιπλέον μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως πρόσθετη πληροφορία η υψηλή πιθανότητα μετασχηματισμού ενός συστατικού, ο αριθμός αναφορών ενός συστατικού σε χημικές βιβλιοθήκες (ChemSpider) ή ο χρόνος ανάλυσης του.

Το επίπεδο 2 υποδηλώνει ότι υπάρχει μόνο μία πιθανή δομή που μπορεί να προταθεί και έχει προκύψει από διαφορετικές ενδείξεις. Το επίπεδο δυο διαχωρίζεται σε δυο υποεπίπεδα, το 2A και το 2B. Για το επίπεδο 2A πρέπει να περιλαμβάνεται αναμφίβολη ταύτιση του πειραματικού φάσματος MS/MS με φάσματα από βιβλιογραφία ή από βιβλιοθήκες φασμάτων. Πρέπει να ληφθεί μέριμνα ώστε τα υπό σύγκριση φάσματα να έχουν αποκτηθεί με ίδιες παραμέτρους (ενέργεια διάσπασης, ιοντισμός, επίπεδο MS) προκειμένου να διασφαλιστεί η εγκυρότητα και η ταύτιση και τα κριτήρια επιλογής να αναπαρίστανται με σαφήνεια. Επιπλέον αξιολογείται ο χρόνος ανάλυσης. Το επίπεδο 2B, καλείται και διαγνωστικό επίπεδο, διότι υπάρχουν διαγνωστικά θραύσματα στο φάσμα MS/MS τα οποία δεν υπάρχουν σε άλλες ισομερείς δομές, αλλά όμως δεν υπάρχει πρότυπο ή βιβλιογραφικό φάσμα για επιβεβαίωση. Ενδείξεις μπορούν να



περιλαμβάνουν θραύσματα MS/MS ή/και συμπεριφορά ιοντισμού, πληροφορίες για το αρχικό συστατικό και πειραματικές πληροφορίες.

Τέλος, το επίπεδο 1 απεικονίζει την ιδανική κατάσταση, στην οποία υπάρχει επιβεβαιωμένη δομή και η επιβεβαίωση έχει πραγματοποιηθεί με τη χρήση προτύπου αναφοράς και σύγκριση των φασμάτων MS, MS/MS και ταύτιση μέσω χρόνου ανάλυσης [62].

## **4.2 ΕΝΟΡΓΑΝΗ ΑΝΑΛΥΣΗ**

Για τον προσδιορισμό των αναδυσόμενων ρύπων χρησιμοποιούνται και η υγρο- και η αεριο- χρωματογραφία, οι οποίες επιλέγονται ανάλογα με την πολικότητα, την διαλυτότητα και την θερμική σταθερότητα των ενώσεων όπου μας ενδιαφέρουν. Λόγω της πολικότητας των περισσότερων αναδυσόμενων ρύπων χρησιμοποιείται τόσο η υγρή, όσο και η αέρια χρωματογραφία [63],[49].

### **4.2.1 Αέρια Χρωματογραφία (GC) – Με ανιχνευτή Μάζας (MS).**

Η αέρια χρωματογραφία συνδυασμένη με φασματομετρία μάζας είναι η τεχνική που χρησιμοποιείται στις μέρες μας για την ανάλυση των πτητικών οργανικών ρύπων σε περιβαλλοντικά δείγματα. Η ευρεία εφαρμογή της τεχνικής αυτής είναι το αποτέλεσμα της αποτελεσματικότητας του διαχωρισμού της αέριας χρωματογραφίας και των καλών ποιοτικών πληροφοριών και της υψηλής ευαισθησίας που παρέχεται από την φασματομετρία μάζας.

Η βιβλιοθήκη θραυσμάτων μπορεί συχνά να παρέχει σαφή αναγνώριση συστατικών σε σύγκριση με τα φάσματα της βιβλιοθήκης. Οι τεράστιες φασματικές βιβλιοθήκες μάζας ιοντισμού ηλεκτρονίων είναι εμπορικά διαθέσιμες, όπως η βιβλιοθήκη NIST, η οποία περιέχει 250,000 φάσματα και η βιβλιοθήκη Wiley με 720,000 φάσματα με τη νέα συνδυασμένη έκδοση που περιλαμβάνει περίπου 950.000 φάσματα. (<http://www.siseb.com/software/ms/wiley.htm>).

Υπάρχουν διάφορες πηγές ιοντισμού που χρησιμοποιούνται στη GC-MS. Μεταξύ αυτών, ο ιοντισμός με ηλεκτρόνια (EI) είναι ο πιο γνωστός διότι συχνά παράγει τόσο μοριακά όσο και θραύσματα ιόντων. Στον EI, οι αέριοι μοριακοί αναλύτες

βομβαρδίζονται με φορτισμένα ηλεκτρόνια (συνήθως 70 eV), το οποίο οδηγεί στην παραγωγή μιας μοριακής ρίζας (M+), το οποίο μπορεί στη συνέχεια να παράξει ιοντισμένα θραύσματα. Η τεχνική συνήθως μας δίνει την δυνατότητα να προσδιορίσουμε και την σχετική μοριακή μάζα και την δομή του μορίου. Ένα μεγάλο πλεονέκτημα του EI είναι η υψηλή επαναληψιμότητα που μας παρέχει, το οποίο σημαίνει ότι η βιβλιοθήκες φασμάτων μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τον προσδιορισμό αγνώστων αναλυτών. Παρ' όλα αυτά, ο EI σε κάποιες περιπτώσεις, δεν μας παρέχει την κατάλληλη ευαισθησία που είναι απαραίτητη για την ανάλυση για την χαμηλή συγκέντρωση αναλυτών που περιέχονται στα περιβαλλοντικά δείγματα. Αυτό οφείλεται κυρίως στην εκτεταμένη θραυσματοποίηση.[50]

Τα μίγματα αναλυτών που πρόκειται να αναλυθούν εγχύονται σε ένα ρεύμα αδρανούς αερίου και μεταφέρονται σε ένα σωλήνα που περιέχει πληρωτικό υλικό και ο διαχωρισμός των συστατικών πραγματοποιείται στην αέρια φάση. Οι ενώσεις που συνήθως αναλύονται με GC-MS περιλαμβάνουν τα αλκάνια, τους πολυκυκλικούς υδρογονάνθρακες, αρωματικούς υδρογονάνθρακες, τα παρασιτοκτόνα, τα πολυχλωριομένα διφαινύλια, καθώς και τις ουσίες που προκαλούν ενδοκρινικές διαταραχές [50].

#### **4.2.2 Υγρή Χρωματογραφία (LC) – Με ανιχνευτή Μάζας Υψηλής**

##### **Διακριτικής Ικανότητας (HRMS)**

##### **Χρωματογραφικός Διαχωρισμός**

Για την ορθή και σωστή ταυτοποίηση των ενώσεων είναι απαραίτητος ο διαχωρισμός των συστατικών του δείγματος [49]. Τόσο η μητρική ένωση όσο και τα προϊόντα μετασχηματισμού τα οποία έχουν παρόμοια δομή και ίσως παράγουν κοινά ιόντα, κρίνεται απαραίτητος ο σωστός χρωματογραφικός τους διαχωρισμός. Συνήθως στην υγροχρωματογραφία πραγματοποιείται ανάλυση με αντίστροφης φάσης (Reversed Phase mode) στήλες C<sub>18</sub>, όπου η κινητή φάση είναι κάποιος πολικός διαλύτης (πχ H<sub>2</sub>O/MeOH) και η στατική φάση είναι μη πολική. Η γραμμική μεταβολή της σύστασης των κινητών φάσεων προτιμάται για τον διαχωρισμό των προϊόντων μετασχηματισμού. Η διαφορά πολικότητας μεταξύ μητρικής ένωσης και

προϊόντος μετασχηματισμού, μας δίνει την δυνατότητα διαχωρισμού, δηλαδή να ανακτήσουμε ξεχωριστά τις ενώσεις σε διαφορετικό χρόνο κατακράτησης.

Συμπληρωματικά της υγροχρωματογραφίας αντίστροφης φάσης μπορεί να χρησιμοποιηθεί και η χρωματογραφία υδρόφιλης αλληλεπίδρασης (HILIC). Η HILIC είναι μια μέθοδος υγροχρωματογραφίας όπου και η στατική και η κινητή φάση είναι πολικές ενώσεις. Στη HILIC το ποσοστό του υδατικού διαλύτη αυξάνεται με στόχο την έκλυση των αναλυτών από μια υδρόφιλη στατική φάση.

Η HILIC χρησιμοποιείται είτε ως εναλλακτική λύση είτε για συμπληρωματικά αποτελέσματα, λόγω της ικανότητας να διαχωρίσει υδρόφιλες ενώσεις, οι οποίες κατακρατούνται ελάχιστα από στήλες RP [64].

### **Φασματομετρία Υψηλής Διακριτικής Ικανότητας (HRMS):**

Η υγροχρωματογραφία συνδυασμένη με ανιχνευτή μάζας μας παρέχει την δυνατότητα μια ευρείας εφαρμογής της τεχνικής αυτής για τον προσδιορισμό αναδυόμενων ρύπων και αυτός είναι ο λόγος για τον οποίο σήμερα είναι η τεχνική επιλογής στον τομέα περιβαλλοντικής ανάλυσης. Μεταξύ των διαφόρων αναλυτών μάζας που συνήθως εφαρμόζονται για την στοχευμένη ανάλυση, το τριπλό τετράπολο (QqQ) είναι ο ευρύτερα χρησιμοποιούμενος αναλυτής για την μέτρηση και την ποσοτικό προσδιορισμό των αναδυόμενων ρύπων. Ωστόσο, την τελευταία δεκαετία παρατηρείται αναμφίβολα μια τάση στην εφαρμογή φασματομετρίας υψηλής διακριτικής ικανότητας (πχ ToF, Orbitrap, FT-ICR). Η φασματομετρία υψηλής διακριτικής ικανότητας δίνει στον χρήστη πρόσβαση σε διάφορα διαγνωστικά εργαλεία τα οποία δεν ήταν νωρίτερα διαθέσιμα.

Οι αναλυτές μάζας υψηλής διακριτικής ικανότητας και οι υβριδικοί αναλυτές, όπως το Q-TOF, το LIT-Orbitrap, παρέχουν μια νέα οπτική στην περιβαλλοντική ανάλυση. Λόγω της υψηλής ισχύς τους στον διαχωρισμό που έχει ως αποτέλεσμα ακριβείς μετρήσεις μάζας, μαζί με τις πληροφορίες ισοτοπικού προφίλ, μπορεί να παρέχει ταυτοποίηση με υψηλό επίπεδο εμπιστοσύνης για τους αναλύτες-στόχους. Επιπροσθέτως, είναι εφικτή η ενδεχόμενη ταυτοποίηση ύποπτων και άγνωστων ενώσεων.

Η χρήση του LC-HRMS στην στοχευμένη ανάλυση έχει ορισμένα πλεονεκτήματα που προκύπτουν από τον τρόπο λειτουργίας πλήρους σάρωσης του συστήματος. Τα δεδομένα πλήρους σάρωσης μπορούν να επανεπεξεργαστούν χωρίς εκ των προτέρων γνώση σχετικά με την παρουσία ορισμένων ενώσεων, δηλαδή δεν απαιτούνται ειδικές πληροφορίες για συγκεκριμένο αναλύτη πριν από την έγχυση ενός δείγματος. Επίσης η παρουσία νέων αναγνωρισμένων ενώσεων μπορεί να επιβεβαιωθεί σε δείγματα που έχουν ήδη αναλυθεί απλώς και μόνο με την επανεπεξεργασία των δεδομένων. Αυτή η αναδρομική ανάλυση είναι το μεγαλύτερο πλεονέκτημα της στοχευμένης ανάλυσης μέσω HRMS.

### **4.3 Ανιχνευτής Μάζας Χρόνου Πτήσης (ToF-MS)**

Η βασική αρχή ενός οργάνου Q-TOF περιγράφεται στην Εικόνα 4.3.1 .

Η διακριτική ικανότητα του TOF συσχετίζεται απευθείας από το μήκος του διαδρόμου πτήσης. Τα σύγχρονα όργανα υψηλής διακριτικής ικανότητας έχουν ως κοινό χαρακτηριστικό το μήκος του διαδρόμου πτήσης όπου είναι μερικά μέτρα. Η εισαγωγή ενός ανακλαστήρα διπλασιάζει και την διαδρομή πτήσης και ρυθμίζει την κινητική ενέργεια με αποτέλεσμα την υψηλότερη διακριτική ικανότητα. Δεδομένου η διακριτική ανάλυση συσχετίζεται με τον μήκος της διαδρομής του χρόνου πτήσης, το TOF μας παρέχει την υψηλότερη διακριτική ικανότητα για σχετικές υψηλές μάζες ιόντων  $m/z$ . Οι τεχνικές προδιαγραφές συνήθως την διακριτική ικανότητα σε τέτοιες βέλτιστε τιμές του  $m/z$ . Η ισχύς της ανάλυσης ορίζεται σε πλήρες πλάτος της κορυφής μάζας στο μισό μέγιστο (FWHM) ως  $m/\Delta m$ , όπου το  $m$  είναι το  $m/z$  και το  $\Delta m$  είναι το πλάτος το πλάτος της κορυφής μάζας στο μισό ύψος κορυφής. Οι αναλυτές Orbitrap παρέχουν υψηλότερη διακριτική ικανότητα για μικρότερες τιμές ιόντων  $m/z$  η οποία είναι αντίθετη από την τυπική απόδοση TOF. Φυσικά, η τιμή που πρέπει να καταβληθεί για την υψηλή διακριτική ικανότητα είναι ο αριθμός των αποκτηθέντων δεδομένων ανά μονάδα χρόνου. Η ισχύς της διακριτικής ικανότητας μάζας στο TOF είναι περιορισμένη, ενώ η ισχύς της υψηλής διακριτικής ικανότητας απαιτεί μειωμένη ταχύτητα απόκτησης. Επιπλέον, σε όργανα TOF, ο λόγος πλάτος μάζας προς κορυφή είναι σχετικά σταθερός σε ολόκληρη την περιοχή μάζας σε αντίθεση με του αναλυτές Orbitrap.

Η επαρκής διακριτική ικανότητα σημαίνει ότι γίνεται δυνατή η ακριβής μέτρηση της μάζας ( $m/z$ ). Η αβεβαιότητα μέτρησης μάζας όσον αφορά την ακρίβεια της μάζας (δηλαδή το μέσο σφάλμα μάζας) και η ακρίβεια της μάζας (δηλαδή η τυπική απόκλιση στο σφάλμα μάζας) βασίζεται στον υπολογισμό της σχετικής ( $\rho_{\text{rel}}$ ) ή της απόλυτης ( $m\text{Da}$ ) διαφοράς μεταξύ της μετρούμενης και της θεωρητικής ακριβούς μάζας του αναλύτη [65].

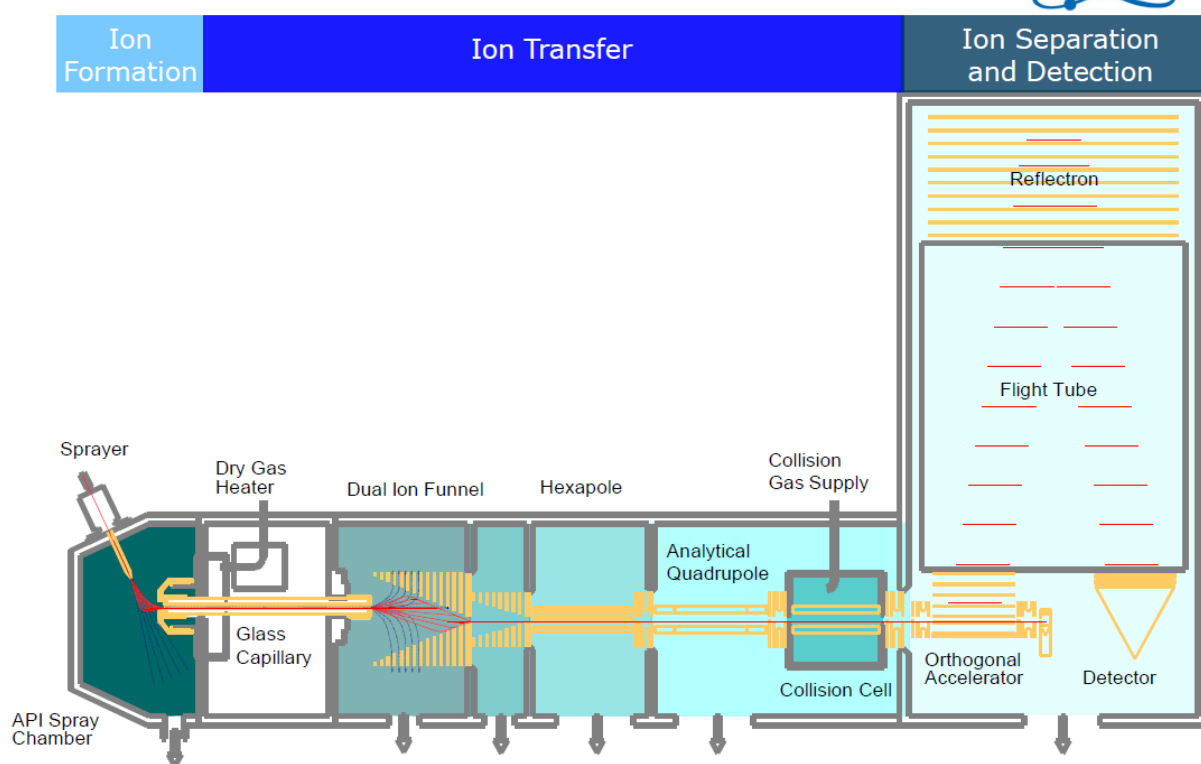
Οι υβριδικοί συζευγμένοι αναλυτές μαζών, όπως είναι το Q-TOF, μας παρέχουν δομικές πληροφορίες με την λήψη πλήρους φάσματος ιόντων προϊόντος με ακριβή μάζα. Η μεθοδολογία QTOFMS είναι ένας εξαιρετικός τρόπος επιβεβαίωσης πιθανών αναλυτών και είναι πολύ χρήσιμα για την αποσαφήνιση των δομών άγνωστων ενώσεων. Υπάρχουν 2 κύριες τεχνικές σάρωσης MS/MS όπου αναφέρονται στην βιβλιογραφία, οι οποίες χρησιμοποιούνται ανάλογα με την φύση της ανάλυσης. Για την στοχευμένη ανάλυση, η απόκτηση ανεξάρτητων δεδομένων (data-independent acquisition-IDA) είναι η πιο συχνά χρησιμοποιούμενη. Αυτή η προσέγγιση που αναφέρεται και ως bbCID (broad band Collision Induced Dissociation) (Brucker), συνεπάγεται με την ταυτόχρονη απόκτηση δεδομένων μάζας σε χαμηλή και υψηλή ενέργεια σύγκρουσης στην κυψελίδα συγκρούσεων. Με την εφαρμογή της χαμηλής ενέργειας στην κυψελίδα συγκρούσεων, δεν γίνεται θραυσματοποίηση και οι πληροφορίες στην ουσία που λαμβάνονται είναι στην πραγματικότητα πλήρους φάσματος MS. Σε υψηλή ενέργεια στην κυψελίδα συγκρούσεων, λαμβάνει χώρα η θραυσματοποίηση των ιόντων και έτσι αποκτάται το φάσμα MS/MS. Με αυτή την μεθοδολογία, γίνεται λήψη του φάσματος του μοριακού ιόντος και των θραυσμάτων του χωρίς ανάγκη προεπιλογής των αναλυτών.

Από την άλλη πλευρά, για την την σάρωση «ύποπτων» ενώσεων και τη μη-στοχευμένη σάρωση, η απόκτηση εξαρτημένων δεδομένων (data-dependent acquisition-DDA) είναι πιο ευνοϊκή, καθώς μπορούν να συλλεχθούν πληροφορίες για συγκεκριμένα ιόντα και να πραγματοποιηθεί ταυτοποίηση των ενώσεων.

Ένα από τα μειονεκτήματα των αναλυτών TOF είναι η πιθανότητα του κορεσμού του ανιχνευτή, το οποίο συνεπάγεται συνήθως σε απώλεια ακρίβειας μάζας. Οι

αλλαγές της θερμοκρασίας είναι υπεύθυνες για μικρή θερμική διαστολή ή συστολή του μήκους του διαδρόμου πτήσης. Αυτός είναι και ο λόγος που πρέπει να πραγματοποιηθεί βαθμονόμηση μάζας. Υπάρχουν 2 επίπεδα βαθμονόμησης μάζας, η εξωτερική και η εσωτερική. Η εξωτερική και η εσωτερική βαθμονόμηση πρέπει να περιλαμβάνει τουλάχιστον τον εύρος μαζών που μας ενδιαφέρει και να πραγματοποιούνται με το ίδιο μείγμα βαθμονόμησης.

## Schematic Hardware Overview



Εικόνα 4.3.1: Σχηματική απεικόνιση ενός οργάνου Q-TOF (Maxis Impact, Bruker).

Η λειτουργία full scan HRMS περιλαμβάνει μια πληθώρα πληροφοριών. Πολύ συχνά μόνο ένα μέρος αυτής της πληροφορίας εξάγεται και αναλύεται. Οι υπάρχοντες περιορισμοί σχετίζονται με το software και το hardware του συστήματος. Οι περισσότερες στρατηγικές επεξεργασίας δεδομένων βασίζονται στο υψηλό πληροφοριακό περιεχόμενο που μας παρέχει η ακρίβεια μέτρησης

μάζας. Το HRMS είναι συμβατό για μεθόδους που θεωρητικά μπορούν να ανιχνεύσουν απεριόριστους αναλύτες.

#### 4.4 ΠΗΓΕΣ ΙΟΝΤΙΣΜΟΥ

Η φασματομετρία μαζών για τον προσδιορισμό δομής και τον ποσοτικό προσδιορισμό ενώσεων και στοιχείων, βασίζεται στον ιοντισμό ατόμων ή μορίων ή την παραγωγή ιοντικών θραυσμάτων μορίων στην αέρια φάση και καταγραφή της σχετικής έντασης του ιοντικού ρεύματος που αντιστοιχεί σε κάθε λόγο μάζας προς φορτίο ( $m/z$ ) [66]. Για τον λόγο αυτόν στην οργανολογία θα πρέπει να περιέχεται μια πηγή δημιουργίας ιόντων.

Οι πηγές ιόντων χωρίζονται σε δύο μεγάλες κατηγορίες.

- **Πηγές αέρια φάσης** όπου το δείγμα πρώτα εξαερώνεται και μετά ιοντίζεται

i) Πρόσκρουσης Ηλεκτρονίων (Electron Impact, EI)

ii) Χημικού Ιοντισμού (Chemical Ionization, CI)

- **Πηγές Εκρόφησης** όπου το δείγμα σε υγρή ή στερεά κατάσταση, μετατρέπεται σε αεριώδη ιόντα.

i) Βομβαρδισμός με άτομα μεγάλης ταχύτητας (Fast Atom Bombardment, FAB)

ii) Ιοντισμός εκρόφησης με τη βοήθεια υλικού μήτρας (Matrix Assisted Desorption Ionization, MALDI)

iii) Ιοντισμός με Ηλεκτροψεκασμό (Electrospray Ionization, ESI)

Οι πηγές ιοντισμού αέριας φάσης έχουν ένα σημαντικό μειονέκτημα και αυτό είναι ότι δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε θερμικά ασταθής ενώσεις.

Η πηγή Ιοντισμού FAB έχει υψηλό θόρυβο υποβάθρου και είναι ακατάλληλη για ενώσεις με χαμηλό  $m/z$  (<200 Da). Στην πηγή Ιοντισμού APCI έχουμε επίσης αυξημένο θόρυβο σε χαμηλό  $m/z$ , είναι ακατάλληλη για θερμικά ασταθής ενώσεις

και ενώσεις με  $m/z$  μεγαλύτερο των 2000 Da. Η πηγή MALDI έχει χαμηλή επαναληψιμότητα και ο αναλύτης δεν πρέπει να απορροφά την ακτινοβολία laser.

Στην πηγή ιοντισμού με ηλεκτροψεκασμό (ESI) το υγρό δείγμα ψεκάζεται μέσα από τριχοειδή σωλήνα στον οποίο εφαρμόζεται υψηλή τάση (3-4kV) και σχηματίζεται αερόλυμα φορτισμένων σταγονιδίων. Η τεχνική αυτή είναι συμβατή για ενώσεις χωρίς περιορισμούς στη μάζα, είναι καλή για ποικιλία ενώσεων (μετρίως πολικών και πολικών). Επίσης οι σχετικά χαμηλές θερμοκρασίες ιοντισμού επιτρέπουν την μελέτη θερμικά ασταθών ενώσεων. Έχει καλή ευαισθησία και εύκολη ποσοτικοποίηση. Χρησιμοποιείται με όργανα LC για τον προσδιορισμό μορίων μεγάλου εύρους μαζών (από μικρά πολικά μόρια έως μεγάλα βιομόρια) [67].



## 5. ΟΡΓΑΝΟΛΟΓΙΑ

### ΣΥΣΤΗΜΑ ΕΚΧΥΛΙΣΗΣ ΣΤΕΡΕΑΣ ΦΑΣΗΣ (SOLID PHASE EXTRACTION – SPE)

Για τον καθαρισμό και την απομόνωση των αναλυτών χρησιμοποιήθηκε ένα σύστημα εκχύλισης στερεάς φάσης, όπου απεικονίζεται στην εικόνα 5.1.1.:

Η διαδικασία της εκχύλισης Στερεάς Φάσης Περιγράφεται στο Κεφάλαιο 5.2 πιο αναλυτικά.

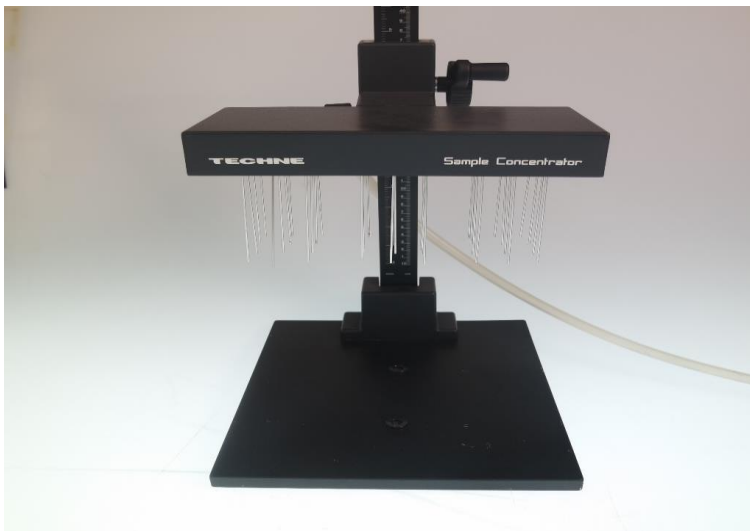


Εικόνα 5.1.1: Συσκευή εκχύλισης Στερεάς Φάσης

<http://www.chromoptic.com/extracteur-vac-elut-sps-24-avec-portoir-de-collecte-unit%C3%A9>

## ΣΥΣΚΕΥΗ ΕΞΑΤΜΙΣΗΣ ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΑΕΡΙΟΥ N<sub>2</sub> ΜΕ ΘΕΡΜΑΙΝΟΜΕΝΗ ΠΛΑΚΑ

Για την εξάτμιση του εκλούσματος της SPE με σκοπό την ανασύσταση των αναλυτών σε διάλυμα MeOH/H<sub>2</sub>O χρησιμοποιήθηκε συσκευή εξάτμισης N<sub>2</sub>. Οι αναλύτες που έχουν κατακρατηθεί στα πληρωτικά υλικά E, εκλούνται με την βοήθεια των διαλυτών έκλουσης και παραλαμβάνονται σε δοκιμαστικό σωλήνα. Στη συνέχεια γίνεται η εξάτμιση έως ξηρού στην συσκευή της εικόνας 5.1.2..



Εικόνα 5.1.2: Συσκευή εξάτμισης με αέριο N<sub>2</sub>

<https://s-a-le.nl/product/used-techne-sample-concentrator/>

## ΥΓΡΟΧΡΩΜΑΤΟΓΡΦΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΜΕ ΑΝΙΧΝΕΤΗ ΥΒΡΙΔΙΚΟ ΦΑΣΜΑΤΟΜΕΤΡΟ ΜΑΖΩΝ ΧΡΟΝΟΥ ΠΤΗΣΗΣ ΣΥΖΕΥΓΜΕΝΟ ΜΕ ΤΕΤΡΑΠΟΛΟ

Για τη διεκπεραίωση της συγκεκριμένης ανάλυσης χρησιμοποιήθηκε ένα σύστημα UHPLC-QTOF-MS, αποτελούμενο από:

- **Φιάλες αποθήκευσης διαλυτών** (δοχεία που περιέχουν τους διαλύτες που αποτελούν την κινητή φάση, συχνά είναι εφοδιασμένα με μέσα απομάκρυνσης διαλυμένων αερίων, σκόνης και αιωρούμενων σωματιδίων)

- **Απαερωτήρα**
- **Αντλία HPG-3400** (Dionex UltiMate 3000 RSLC, Thermo Fisher Scientific, Germany)
- **Αυτόματο δειγματολήπτη UltiMate 3000**
- **Θάλαμο** που περιέχει τη στήλη χρωματογραφίας
- **Προστήλη** (προστατευτική στήλη)
- **Βαλβίδα επιλογής διαλύτη**
- **Προσωπικό υπολογιστή** με εγκατεστημένο λογισμικό chroameleon, για την online λειτουργία της υγρής χρωματογραφίας, σε περιβάλλον Windows 7.
- **Φούρνο στήλης συζευγμένο με τον αναλυτή μάζας QTOF-MS** (τετράπολο-αναλυτής χρόνου πτήσης) (Maxis Impact, Bruker Daltonics, Bremen, Germany). Ο ιοντισμός πραγματοποιήθηκε με πηγή ηλεκτροψεκασμού (ESI) που λειτουργεί σε θετικό και αρνητικό ιοντισμό.



Εικόνα 5.1.3: UHPLC-QTOF-MS της εταιρίας Bruker

Για το χρωματογραφικό διαχωρισμό των ενώσεων χρησιμοποιήθηκε υγροχρωματογραφία αντίστροφης φάσης (Reversed Phase Liquid 40 Chromatography). Ο χρωματογραφικός διαχωρισμός διεξήχθη σε μία στήλη Thermo Scientific Acclaim RS LC C18 (100 mm χ 2.1 mm, 2.2 μm), με τη χρήση προστήλης ACQUITY UPLC BEH C18 1.7 μm, Van Guard Pre-Column, Waters, Δουβλίνο, Ιρλανδία) και θερμοστάτη στους 30 °C. Για τον διαχωρισμό των ενώσεων χρησιμοποιήθηκαν 2 διαλύτες, ένας υδατικός (A) και ένας οργανικός (B). Η σύσταση των διαλυτών της κινητής φάσης για τον θετικό και τον αρνητικό ιοντισμό παρουσιάζονται στον Πίνακα 5.2.

**Πίνακας 5.1:** Σύσταση κινητών φάσεων σε θετικό και αρνητικό ιοντισμό.

<b>ΘΕΤΙΚΟΣ ΙΟΝΤΙΣΜΟΣ (POSITIVE ESI)</b>	<b>A:</b> 90/10 % H <sub>2</sub> O/MeOH, 5Mm φορμικό αμμώνιο (HCOONH <sub>4</sub> ), 0.01% φορμικό οξύ(HCOOH)
	<b>B:</b> MeOH, 5 mM φορμικό αμμώνιο, 0.01% φορμικό οξύ
<b>ΑΡΝΗΤΙΚΟΣ ΙΟΝΤΙΣΜΟΣ (NEGATIVE ESI)</b>	<b>A:</b> 90/10 % H <sub>2</sub> O/MeOH, 5mM οξικό αμμώνιο
	<b>B:</b> MeOH, 5 mM οξικό αμμώνιο

Για τον διαχωρισμό των αναλυτών χρησιμοποιήθηκε πρόγραμμα βαθμιδωτής έκλουσης (κοινό και για τις δύο πολικότητες ιοντισμού, με τους εκάστοτε διαλύτες) . Το πρόγραμμα ξεκίνησε με 1,0% οργανικής φάσης (ρυθμός ροής 0,200 mL/ min) για 1 λεπτό, αυξήθηκε σε 39,0% μετά από 3 λεπτά (ρυθμός ροής 0.200 mL/ min) και στη συνέχεια σε 99.9% (ρυθμός ροής 0.400 mL/ min) για τα επόμενα 11 λεπτά. Αυτές οι οργανικές συνθήκες διατηρήθηκαν σταθερές για 2 λεπτά (ρυθμός ροής 0.480 mL/min) και στη συνέχεια οι αρχικές συνθήκες αποκαταστάθηκαν εντός 0,1 λεπτού, διατηρήθηκαν επί 3 λεπτά και έπειτα ο ρυθμός ροής μειώθηκε σε 0.200 mL/ min έως την ολοκλήρωση της ένεσης, με σκοπό την επανεξισορρόπηση του συστήματος για την επόμενη ένεση. Το πρόγραμμα βαθμιδωτής έκλουσης που χρησιμοποιήθηκε, παρουσιάζεται στον Πίνακα 5.2.

Πίνακας 5.2: Πρόγραμμα βαθμιδωτής έκλουσης κινητών φάσεων.

Χρόνος (min)	Ροή (mL/min)	Διαλύτης A (%)	Διαλύτης B (%)
0	0,2	99	1,0
1	0,2	99	1,0
3	0,2	61	39
14	0,4	0.1	99
16	0,48	0.1	99
16,1	0,48	99	1,0
19,1	0,2	99	1,0
20	0,2	99	1,0

Ο όγκος της ένεσης ρυθμίστηκε στα 5μL.

Οι συνθήκες ηλεκτροψεκασμού τόσο σε θετικό όσο και σε αρνητικό ηλεκτροψεκασμό παρουσιάζονται παρακάτω:

#### Θετικός Ιοντισμός:

Πίνακας 5.3: Παράμετροι Q-TOF στον θετικό ιοντισμό

Δυναμικό στην άκρη του τριχοειδούς	500V
Δυναμικό	2500v
Αέριο εκνέφωσης (N <sub>2</sub> )	2.0 bar
Αέριο Ξήρανσης (N <sub>2</sub> )	8 L/min
Θερμοκρασία Ξήρανσης	200 °C

## Αρνητικός Ιοντισμός:

Πίνακας 5.4: Παράμετροι Q-TOF σε αρνητικό ιοντισμό.

Δυναμικό στην άκρη του τριχοειδούς	500V
Δυναμικό	3000v
Αέριο εκνέφωσης (N <sub>2</sub> )	2.0 bar
Αέριο Ξήρανσης (N <sub>2</sub> )	8 L/min
Θερμοκρασία Ξήρανσης	200 °C

Για την ανάλυση των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκαν οι ακόλουθες δύο λειτουργίες σάρωσης:

1. Σάρωση χωρίς προεπιλογή ιόντων (data independent acquisition) – καταγραφή φάσματος MS και MS/MS πλήρους σάρωσης ιόντων χωρίς προεπιλογή. Λειτουργία σάρωσης broad band Collision Induced Dissociation (bbCID) (απόκτηση φάσματος πλήρους σάρωσης MS με ενέργεια θραυσματοποίησης: 4 eV και MS/MS φάσματος με ενέργεια θραυσματοποίησης: 25 eV, σε μία μόνο ένεση)
2. Σάρωση ιόντων με προεπιλογή (data dependent acquisition) – καταγραφή φάσματος MS πλήρους σάρωσης ιόντων και MS/MS των 5 ιόντων με τη μεγαλύτερη αφθονία (5-most abundant ions)
  - Εύρος m/z (mass to charge ratio): 50-1000 Da
  - Συχνότητα σάρωσης: 2 Hz

## Βαθμονόμηση:

Πραγματοποιήθηκε βαθμονόμηση του φασματομέτρου μαζών QTOF με διάλυμα βαθμονόμησης (calibrant) φορμικού νατρίου (NaCOOH), συγκέντρωσης 10 mM σε μίγμα νερού: ισοπροπανόλης (1:1). Η βαθμονόμηση πραγματοποιήθηκε σε δύο επίπεδα:

- Εξωτερική βαθμονόμηση (external calibration), η οποία πραγματοποιείται καθημερινά πριν την έναρξη της ανάλυσης στην επιθυμητή πολικότητα και το επιθυμητό εύρος μαζών και
- Εσωτερική βαθμονόμηση (internal calibration), η οποία πραγματοποιείται στην αρχή κάθε χρωματογραφήματος.

#### **Προγράμματα λογισμικού:**

Τα λογισμικά που χρησιμοποιήθηκαν είναι το DataAnalysis 4.3, συμπεριλαμβανομένου του εργαλείου Isotope Pattern, και το TASQ Client 1.0, της Bruker Daltonics.



## 6. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Κατά την πειραματική διεργασία παραλάβαμε συνολικά 25 στιγμιαία δείγματα στραγγισμάτων από Χ.Υ.Τ.Α. από διάφορες πόλεις της Ελλάδος. Η δειγματοληψία πραγματοποιήθηκε τον Ιούνιο του 2018, από τους συνεργάτες μας στο Πανεπιστήμιο Αιγαίου Τα 8 από αυτά τα δείγματα είναι δείγματα εισόδου (ανεπεξεργαστα) και τα υπόλοιπα 17 είναι επεξεργασμένα δείγματα με διάφορες μεθόδους επεξεργασίας (βιολογική επεξεργασία, αντίστροφη ώσμωση και συνδυασμό αυτών των δυο).

Για την προετοιμασία των δειγμάτων με σκοπό την ανάλυσή του ακολούθησαν τα στάδια που περιγράφονται στα παρακάτω Υποκεφάλαια.

### 6.1 ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

**Για την μέθοδο προκατεργασίας SPE χρησιμοποιήθηκαν:**

- Μεθανόλη (MeOH HPLC grade  $\geq 99.8\%$ )
- Υπερκάθαρο νερό ( $18,2 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$ , παρεχόμενο από ένα σύστημα Milli-Q καθαρισμού του νερού)
- Ethyl acetate ( $\geq 99.5\%$  - Sigma- Aldrich)
- Formic Acid (for Analysis 99%)
- Ammonia solution (for analysis 25%)
- Υδροχλωρικό οξύ (Hydrochloric acid – Fluka) (χρησιμοποιήθηκε για την όξυνσή των δειγμάτων.)

**Για την ανάλυση στο σύστημα UPLC-HRMS χρησιμοποιήθηκαν :**

- Μεθανόλη (MeOH hypergrade για LC-MS, Sigma-Aldrich)
- Υπερκάθαρο νερό ( $18,2 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$ , παρεχόμενο από ένα σύστημα Milli-Q καθαρισμού του νερού)
- Ακετονιτρίλιο (ACN LC-MS, Merck)
- Μυρμηκικό οξύ (LC-MS Ultra, Fluka Analytical, Sigma-Aldrich)
- Μυρμηκικό αμμώνιο (Fluka, Sigma-Aldrich)

- Οξικό αμμώνιο (Fluka, Sigma-Aldrich).

## 6.2 ΠΡΟΚΑΤΕΡΓΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ:

- Τα δείγματα μετά την δειγματοληψία φυλάσσονται σε πλαστικά φιαλίδια σε καταψύκτη στους  $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Πριν την επεξεργασία τα δείγματα βγαίνουν από την κατάψυξη ώσπου να αποκτήσουν θερμοκρασία δωματίου. Το δείγμα ανακινείται για να αποκτήσει ομοιογένεια και στη συνέχεια ξεκινάει η διαδικασία της προκατεργασίας : 2mL από κάθε δείγμα μεταφέρεται σε φυγοκεντρικό σωλήνα των 50mL.
- Τα δείγματα αραιώνονται έως τελικό όγκο 20mL με υπερκάρθρο  $\text{H}_2\text{O}$ .
- Το pH των δειγμάτων ρυθμίζεται στο  $6,5 \pm 0,2$  με χρήση πυκνού HCl
- Τα δείγματα εμβολιάζονται με 80  $\mu\text{L}$  από μίγμα εσωτερικών προτύπων (IS) συγκέντρωσης 1ppm, που περιείχε τις ακόλουθες ισοτοπικά επισημασμένες ενώσεις :

-Diuron-d6

-Sulfadiazine-d4

-Sulfadimidine-d4

-Sulfadimethoxin-d4

-Amisulpride-d5

-Cetirizine-d8

-Mefenamic acid-d3

-Ranitidine-d6

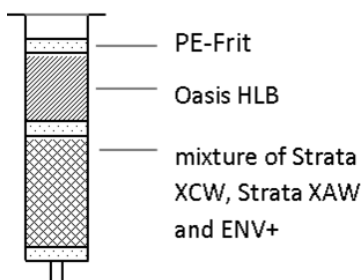
-Meloxicam-d3

-Bishphenol A-d16 (20ppm)

- Μαζί με τα δείγματα παρασκευάζεται και άλλα δυο δείγματα, ένα λευκό (blank) και ένα εμβολιασμένο δείγμα με μίγμα αναδυόμενων ρύπων (spiked sample). Στο blank εμβολιάζουμε με τα εσωτερικά πρότυπα και ακολουθείται η ίδια διαδικασία με τα δείγματα για να ανιχνεύσουμε τυχόν επιμολύνσεις. Το spiked sample χρησιμοποιείται για τον έλεγχο της πειραματικής πορείας και ανάλυσης.

- Ο καθαρισμός των δειγμάτων και η προσυγκέντρωση των αναλυτών πραγματοποιείται με χρήση της τεχνικής SPE ( Solid Phase Extraction ή Εκχύλιση Στερεάς Φάσης). Μια στήλη που αποτελείται με στρώσεις από δύο πληρωτικά υλικά Oasis HLB (200 mg) και ένα μίγμα από Strata-X-AW (χαμηλής ισχύος ανιονανταλλάκτης), Strata-X-CW (χαμηλής ισχύος κατιονανταλλάκτης) and Isolute ENV+ (300 mg of total mixture). Αρχικά γίνεται ενεργοποίηση των πληρωτικών υλικών με 6 ml methanol HPLC and 6 mL H<sub>2</sub>O. Στη συνέχεια τα δείγματα διηθούνται υπό κενό μέσα από τα πληρωτικά υλικά και έτσι κατακρατούνται σε αυτά οι αναλύτες. Η έκλυση των αναλυτών από τα πληρωτικά υλικά πραγματοποιείται με ένα βασικό διάλυμα (6 mL of ethyl acetate /methanol (50/50 v/v) που περιέχει 2% ammonia hydroxide (v/v)), ακολουθούμενο από ένα όξινο διάλυμα (4mL of ethyl acetate /methanol (50/50, v/v) που περιέχει 1.7% formic acid (v/v)).
- Το έκλουσμα μεταφέρεται στην συσκευή εξάτμισης με N<sub>2(g)</sub> και εξατμίζεται με ήπια διαβίβαση αερίου και θερμοκρασία 45 °C μέχρι ξηρού.
- Στη συνέχεια γίνεται ανασύσταση του δείγματος στα 400μL σε διάλυμα H<sub>2</sub>O/MeOH 50/50.
- Το δείγμα εισάγεται σε 2mL vial αφού πρώτα περάσει μέσω σύριγγας από 0.22 μm RC φίλτρο μεμβράνης.
- Τέλος, το δείγμα είναι έτοιμο για ανάλυση με LC-HRMS.

## Προετοιμασία για την στήλη SPE:



Σχήμα : Μέρη της στήλης SPE.

Σε ένα κενό φουσίγγιο (6 mL, SUPELCO), εισάγουμε ένα frit στο κάτω μέρος (Polyethylene, SUPELCO), γεμίζουμε με την μικτή φάση (350 mg σύνολο: 100 mg Strata-X-AW (Phenomenex, U.S.), 100 mg Strata-X-CW (Phenomenex, U.S.), 150 mg Isolute ENV+ (Biotage, Uppsala), βάζουμε άλλο ένα frit στο πάνω μέρος αυτής της στρώσης, και στη συνέχεια εισάγουμε 200 mg of OASIS HLB material (30 micro-M; Waters AG, U.S.) και στο τέλος βάζουμε άλλο ένα frit στο πάνω μέρος.

## Βασικό διάλυμα:

Σε ογκομετρική φιάλη των 100 mL προσθέτουμε 46 mL ethyl acetate, 46 mL MeOH και 8 ml ammonia 25%.

## Όξινο διάλυμα:

Σε ογκομετρική φιάλη των 100 mL προσθέτουμε 49 mL ethyl acetate, 49 mL MeOH και 1,7 mL formic acid 100%.

## 6.3 ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ΠΡΙΝ ΤΗΝ ΑΝΑΛΥΣΗ

Πριν ξεκινήσει η ανάλυση στο όργανο θα πρέπει να είναι προετοιμασμένο κατάλληλα για να πραγματοποιηθεί ομαλά η ανάλυση. Θα πρέπει να πραγματοποιηθούν οι εξής ενέργειες:

- **Καθαρισμός πηγής ιοντισμού ESI.** Η πηγή λύνεται σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή, και τα μέρη της πηγής καλύπτονται με διάλυμα ισοπροπανόλης/νερού 30/70% και τοποθετούνται σε συσκευή με υπερήχους για τον καθαρισμό τους για τουλάχιστον 20 min. Για να λυθεί η

πηγή πρέπει πρώτα να χαμηλώσουμε την θερμοκρασία και τα αέρια της πηγής ιοντισμού.

- **Διήθηση των κινητών φάσεων.** Εάν οι κινητές φάσεις περιέχουν άλας, θα πρέπει να διηθηθούν υπό κενό για τυχόν αποφυγή αδιάλυτου άλατος ή άλλων στερεών σωματιδίων.
- **Έλεγχος της στάθμης όλων των κινητών φάσεων.** Εκτός από τις κινητές φάσεις A και B σιγουρευόμαστε ότι και οι φιάλες με τους διαλύτες C και D επαρκούν για την ανάλυσή μας. (C: ACN για τον καθαρισμό του δειγματολήπτη και D: 90/10% ισοπροπανόλη /νερό που χρησιμοποιείται για τον καθαρισμό των σωληνώσεων)
- **Απαέρωση των κινητών φάσεων.** Είναι αναγκαίο να μην περιέχουν φυσαλίδες αέρα οι κινητές φάσεις και αυτό επιτυγχάνεται με απαέρωση με τη χρήση μεγάλης ροής από κάθε διαλύτη ξεχωριστά (3 mL/min για 3 λεπτά).
- **Εξισορρόπηση της στήλης υγρής χρωματογραφίας.** Για τουλάχιστον 50 min (χρόνος ικανός για να περάσουν 30 όγκοι από τη στήλη που χρησιμοποιήθηκε) αφήνουμε να περάσουν μέσα από την στήλη οι κινητές φάσεις με σύσταση 99/1 % A/B και ροή 0.2mL/min (1<sup>η</sup> σύσταση της βαθμιδής έκλουσης). Ελέγχουμε τα επίπεδα πίεσης της στήλης. Εάν η πίεση είναι κάτω από προβλεπόμενο επίπεδο σημαίνει ότι έχουμε κάποια διαρροή και πρέπει να ελέγξουμε πρώτα την στήλη στα σημεία συνδέσεως. Εάν η πίεση είναι πάνω από το προβλεπόμενο σημαίνει ότι πρέπει να γίνει αλλαγή στην προστήλη ή ακόμα και στην στήλη.
- **Επανασύνδεση της πηγής ιοντισμού ESI.** Αφού συνδέσουμε πάλι την πηγή ιοντισμού, επαναφέρουμε πάλι την θερμοκρασία και τα αέρια της πηγής στις τιμές που αναφέρθηκαν στο **Κεφάλαιο 3**.

#### **6.4 ΑΝΑΛΥΣΗ ΣΤΟ LC-Q-TOF**

Κάθε δείγμα αναλύθηκε με την μέθοδο υγροχρωματογραφίας σε θετικό και αρνητικό ιοντισμό (ESI) όπου παρουσιάστηκαν στο **Κεφάλαιο 3**. Από κάθε δείγμα αποκτήθηκαν δεδομένα τόσο σε φάσμα πλήρους σάρωσης MS, όσο και δεδομένα για το προφίλ θραυσματοποίησης των ενώσεων, τόσο με την απόκτηση πλήρους φάσματος σάρωσης MS/MS (bbCID) αλλά και MS/MS φάσματος εξαρτώμενο από τα δεδομένα (5-most abundant ions per scan).

#### **6.5 ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ**

Τα δεδομένα των μεθόδων bbCID χρησιμοποιήθηκαν για την στοχευμένη ανάλυση των δειγμάτων (σάρωση της βάσης δεδομένων με πάνω από 2.150 αναδυόμενους ρύπους), ενώ τα δεδομένα των μεθόδων AutoMS (5-most abundant ions) χρησιμοποιήθηκαν για τον έλεγχο προφίλ θραυσματοποίησης σε συνεκλουόμενες ισοβαρείς κορυφές.

#### **6.6 ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΜΕ ΤΗΝ ΠΟΡΕΙΑ ΕΡΓΑΣΙΑΣ ΤΗΝ ΣΤΟΧΕΥΜΕΝΗΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ**

Σε πρώτο επίπεδο δημιουργήσαμε την μέθοδο ανάλυσης, την οποία εισάγουμε στο λογισμικό του TASQ. Βάσει της συγκεκριμένης μεθόδου έγινε η διαλογή των αναλυτών στα δείγματα. Με την μέθοδο αυτή, η ολοκλήρωση των κορυφών έγινε σύμφωνα με τον κοντινότερο χρόνο κατακράτησης και για την παράμετρο S/N τέθηκε κατώτερο όριο η τιμή 4. Ύστερα από τον έλεγχο ορθής ολοκλήρωσης των χρωματογραφικών κορυφών, η ταυτοποίηση των ενώσεων βασίστηκε στα κριτήρια αξιολόγησης που περιλάμβαναν την ακρίβεια μάζας, το ισοτοπικό προφίλ, τον χρόνο έκλουσης και την ερμηνεία του φάσματος MS/MS.

Ως κριτήρια τέθηκαν τα εξής:

- Την απομάκρυνση των ενώσεων που εντοπίζονται στα δείγματα και δεν παρουσιάζουν χρωματογραφική κορυφή γκαουσιανής μορφής, ούτε έχουν ικανοποιητικό εμβαδόν κορυφής (οφειλόμενη σε χρωματογραφικό θόρυβο).
- Την απομάκρυνση ή διόρθωση των αναλυτών που ανιχνεύονται στα δείγματα καθαρών διαλυτών και στο δείγμα λευκού, διότι πρόκειται για επιμολύνσεις εργαστηρίου.
- Την εφαρμογή ενός ορίου μάζας 5 mDa (απόλυτο σφάλμα) ή/και 5ppm (σχετικό σφάλμα) στα πρόδρομα ιόντα.
- Την εφαρμογή ενός ορίου  $\leq 200$  mSigma (mSigma είναι το μέτρο της προσαρμογής του πειραματικού στο θεωρητικό ισοτοπικό προφίλ με αναλογίες μαζών και ιόντων. Όσο μικρότερη η τιμή, τόσο καλύτερη η αντιστοίχιση).
- Μέγιστο σφάλμα μεταξύ θεωρητικού και πειραματικού χρόνου κατακράτησης στα 0,40 min.
- Την παρουσία χαρακτηριστικών ιόντων προσθήκης:  $[M+Na]^+$ ,  $[M+K]^+$  και  $[M+NH_4]^+$  σε λειτουργία θετικού ηλεκτροψεκασμού, για τις ενώσεις που σχηματίζουν τέτοια ιόντα προσθήκης στο συγκεκριμένο υγροχρωματογραφικό σύστημα.
- Ανίχνευση χαρακτηριστικών θραυσμάτων (όσο περισσότερα θραύσματα ανιχνεύονται τόσο καλύτερη η ταυτοποίηση, άρα και μεγαλύτερη η εμπιστοσύνη).

Κατά την έναρξη της πειραματικής πορείας προστέθηκε στα δείγματα μια σειρά ισοτοπικά επισημασμένων ουσιών (εσωτερικά πρότυπα), για τον έλεγχο σφαλμάτων που οφείλονται είτε στην πειραματική πορεία, είτε σε οργανολογική αστάθεια. Η χρήση τους θα είναι βοηθητική για το κομμάτι της ποσοτικοποίησης των ενώσεων που ανιχνεύονται.



## 7. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Η μέτρηση των παραμέτρων καθώς και η δειγματοληψία των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε από το Πανεπιστήμιο Αιγαίου. Η φύλαξη, η προκατεργασία, ο ποιοτικός και ποσοτικός προσδιορισμός των αναλυτών πραγματοποιήθηκε από το Εργαστήριο Αναλυτικής Χημείας του Χημικού Τμήματος του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών. Στον παρακάτω Πίνακα αναφέρονται οι τιμές των Παραμέτρων pH, αγωγιμότητας, TSS, COD, NH<sub>3</sub>-N των στραγγισμάτων και η κωδικοποίησή τους ανά πόλη.

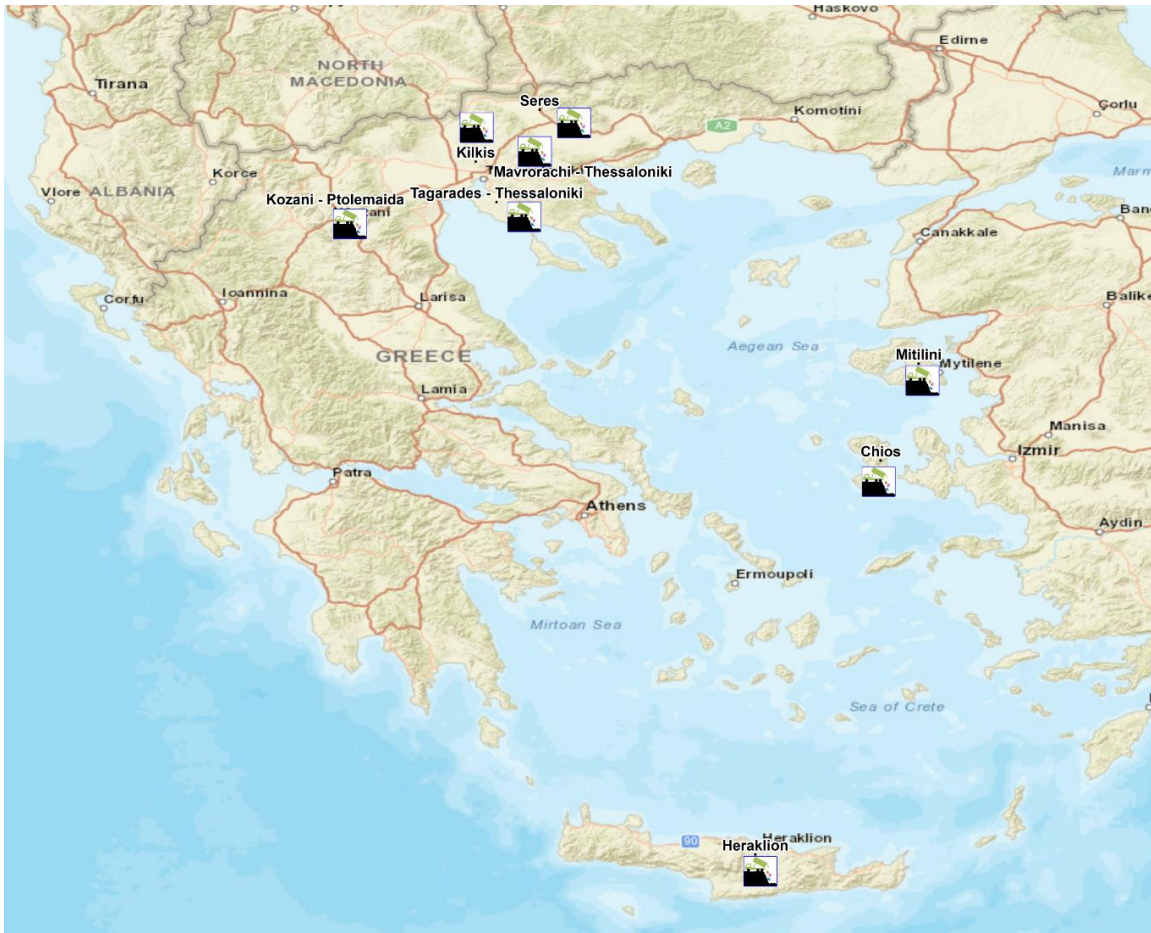
Η δειγματοληψία πραγματοποιήθηκε τον Ιούνιο του 2018 και λήφθηκαν 25 δείγματα από 8 ΧΥΤΑ της Ελλάδος.

Από τον παρακάτω πίνακα μπορούμε να συμπεράνουμε ότι οι τιμές των παραμέτρων αγωγιμότητας, TSS, COD, NH<sub>3</sub>-N μειώνονται κατά την επεξεργασία των δειγμάτων. Τα αποτελέσματα για τις μετρήσεις COD και αγωγιμότητας, παρατίθενται και σε επιμέρους διαγράμματα στις Εικόνες 7.1.2 και 7.1.3, αντίστοιχα

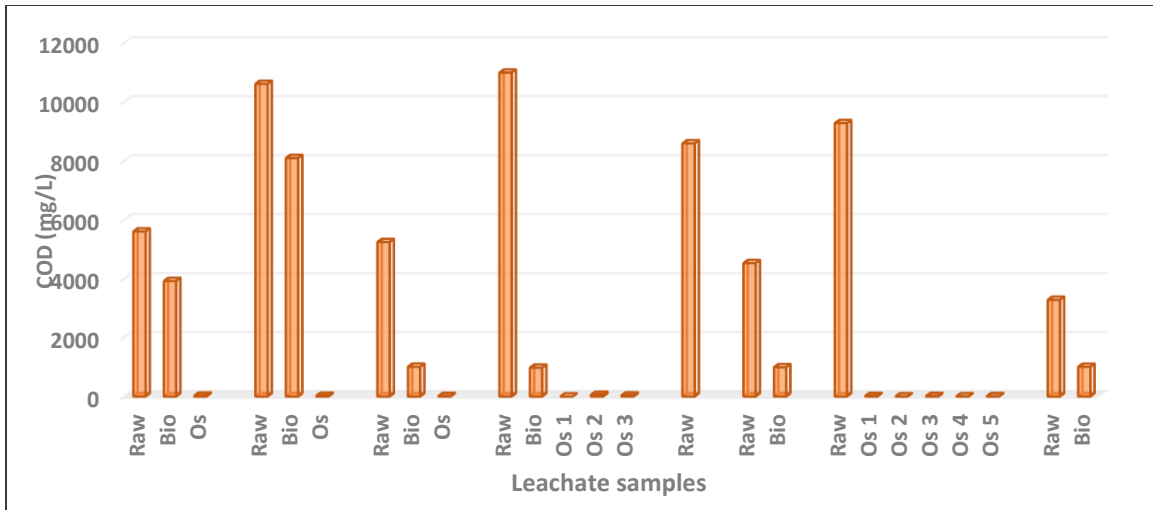
**Πίνακας 7.1:** Δείγματα στραγγισμάτων από διάφορες πόλεις της Ελλάδος με τις μετρήσεις των ποιοτικών τους χαρακτηριστικών

Δείγμα	Μέθοδος Επεξεργασίας	Ph	Αγωγιμότητα (mS/cm)	TSS (mg/l)	COD (mg/l)	NH <sub>3</sub> -N (mg/l)
HR1	Χωρίς Επεξεργασία	8.23	20.6	25	5598.2	1647.1
HRB	Βιολογική	8.85	8.5	28	3916.3	482.3
HRW	Βιολογική & Αντίστροφη Ωσμωση	8.18	0.65	21	29.89	64.4
KL1	Χωρίς Επεξεργασία	8.06	23.8	145	10604	400.96
KLB	Βιολογική	8.98	14.69	1200	8088.5	359.15
KLW	Βιολογική & Αντίστροφη Ωσμωση	6.67	0.73	23	26.66	20.9
K1	Χωρίς Επεξεργασία	8.15	16.83	120	5239.3	1015.47
KB	Βιολογική	8.13	10.86	145	1007.9	8.96
KW	Βιολογική & Αντίστροφη Ωσμωση	5.6	0.21	27	16.06	8.21
MA1	Χωρίς Επεξεργασία	8.27	26.4	185	10985	1285
MAB	Βιολογική	8.42	21.2	285	976.68	168
MAW1	Βιολογική & Αντίστροφη Ωσμωση	6.92	12.2	42	0	669.9
MAW2	Βιολογική & Αντίστροφη Ωσμωση	6.14	0.7	23	54.67	56
MAW3	Βιολογική & Αντίστροφη Ωσμωση	5.86	0.21	20	33.64	23.8
M1	Χωρίς Επεξεργασία	8.29	14.1	125	8585.1	468
S1	Χωρίς Επεξεργασία	7.85	17.89	165	4525.2	1365.7
S2	Βιολογική	7.88	13.8	125	992.27	30.1
T1	Χωρίς Επεξεργασία	8.25	27.9	205	9273.8	903
H1	Αντίστροφη Ωσμωση	6.41	0.61	25	18.51	28
H2	Αντίστροφη Ωσμωση	5.69	0.08	25	7.1	3.5
W1	Αντίστροφη Ωσμωση	6.59	1.76	22	16.13	66.5
W2	Αντίστροφη Ωσμωση	5.74	0.12	18	6.52	7
W3	Αντίστροφη Ωσμωση	5.28	0.07	22	12.69	5.6
X1	Χωρίς Επεξεργασία	7.78	10.98	83	3278.3	610.4
X2	Βιολογική	8.25	9.45	112	1006.8	224

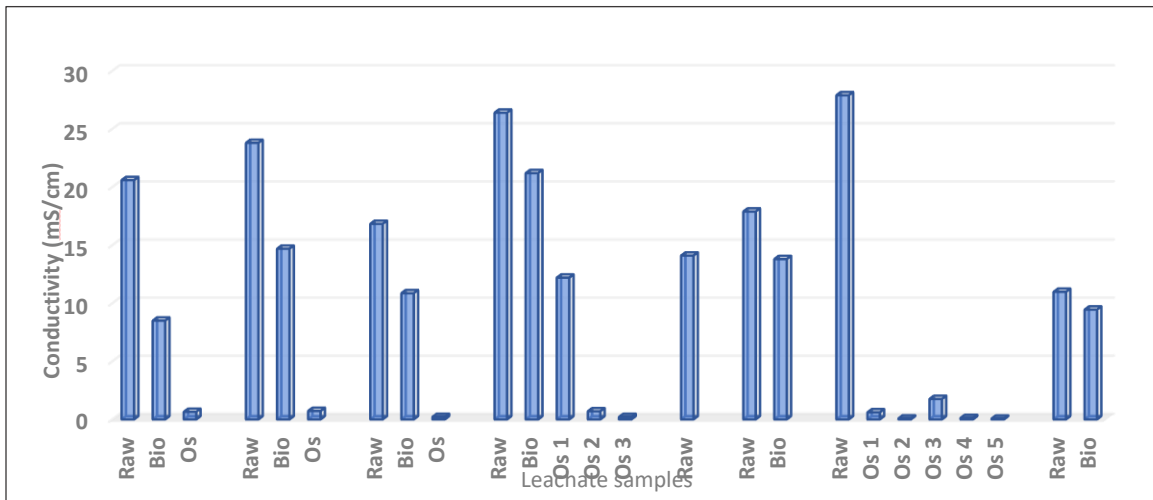
Στον παρακάτω χάρτη, έχουμε επισημάνει τα ΧΥΤΑ από τα οποία πραγματοποιήθηκε η δειγματοληψία των στραγγισμάτων:



Εικόνα 7.1.1: Χάρτης της Ελλάδος με τα ΧΥΤΑ της Ελλάδος όπου λήφθηκαν τα δείγματα στραγγισμάτων.



**Διάγραμμα 7.1.2:** Απεικόνιση τιμών COD σε κάθε δείγμα στραγγισμάτων



**Διάγραμμα 7.1.3:** Απεικόνιση τιμών Αγωγιμότητας σε κάθε δείγμα στραγγισμάτων.

Από τους συνολικά 2.100 αναδυόμενους ρύπους, 58 αναλύτες ανιχνεύθηκαν στα 25 υπό εξέταση δείγματα. Στον Πίνακα 7. παρατίθενται οι ενώσεις που ανιχνεύθηκαν στα δείγματα στραγγισμάτων από 8 ΧΥΤΑ της Ελλάδος, η κατηγοριοποίησή τους, καθώς και η πολικότητα ιοντισμού που προσδιορίστηκαν.

Πίνακας 7.2: Αναδυόμενοι ρύποι που ανιχνεύθηκαν στα δείγματα.

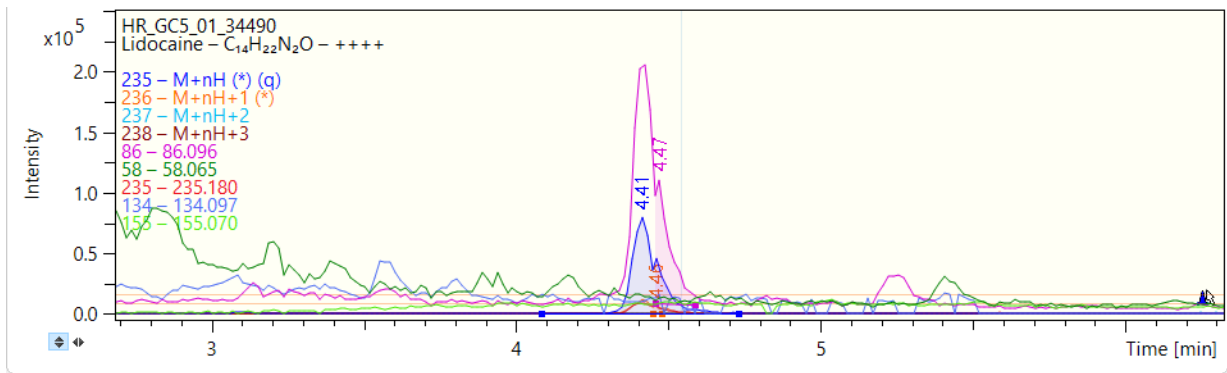
<u>A/A</u>	<u>Αναλύτης</u>	<u>Κατηγορία Ένωσης</u>	<u>Μέθοδος Ιοντισμού</u>
1	Paracetamol	Φαρμακευτική Ένωση	+
2	Clopidogrel Carbon acid	Pharmaceutical	+
3	Eprosartan	Pharmaceutical	+
4	Gabapentin	Pharmaceutical	+
5	Rivastigmine	Pharmaceutical	+
6	Tramadol	Pharmaceutical	+
7	Niflumic acid	Pharmaceutical	-
8	Flufenamic acid	Pharmaceutical	-
9	Mefenamic acid	Pharmaceutical	-
10	Meloxicam	Pharmaceutical	-
11	Salicylic acid	Pharmaceutical	-
12	Salicylamide	Pharmaceutical	-
14	Valsartan	Pharmaceutical	+
15	Benzamidine	Pharmaceutical	+
16	Atenolol acid (Metoprolol acid)	Pharmaceutical	+
17	Bufexamac	Pharmaceutical	+
18	Lincomycin	Pharmaceutical	+
19	Diclofenac	Pharmaceutical	+
20	Phenacetin	Pharmaceutical	+
21	5-Amino-salicylic acid	Pharmaceutical	-
22	Lidocaine	Pharmaceutical/Drugs of abuse	+
23	Amphetamine	Drugs of abuse	+
24	Amphetamine-3-methyl	Drugs of abuse	+
25	5,6-methylenedioxy-2-aminoindane (MDAI)	Drugs of abuse	+
26	Nicotine	Stimulant	+
27	Cotinine	Stimulant metabolite	+
28	Cotinine-Hydroxy	Stimulant metabolite	+
29	Anatabine	Stimulant metabolite	+
30	Anabasine	Stimulant metabolite	+
31	Benzothiazole -2-OH	BTHs	+
32	Benzotriazole (BTR)	BTHs	+

Table (continued)			
33	DEET (Diethyltoluamide)	Herbicide	+
34	Propazine-2-hydroxy (Prometon-Hydroxy)	Herbicide	+
35	Mecoprop	Herbicide	-
36	Dinoterb	Herbicide	-
37	Fluometuron	Herbicide	+
38	MCPA	Herbicide	-
39	Metamitron-desamino	Herbicide	+
40	Bentazone	Herbicide	-
41	Dichlorprop	Herbicide	-
42	Propamocarb	Fungicide	+
43	Pyrimidinol	Pesticide	+
44	Bisphenol A	Phenols	-
45	Ethyl sulfate	Industrial Chemical	-
46	Imidazolidinon- 1-3-Dimethyl-2-	Industrial Chemical	+
47	Benzenesulfonamide	Industrial Chemical	-
48	Benzenesulfonate-4-hydroxy	Industrial Chemical	-
49	Triethyl-phosphate	Industrial Catalyst/Plasticizer	+
50	PFBuS	PFCs	-
51	PFHxA	PFCs	-
52	PFOA	PFCs	-
53	PFPeA	PFCs	-
54	PFHpA	PFCs	-
55	PFDeA	PFCs	-
56	PFHxS	PFCs	-
57	Acesulfame	Sweetener	-
58	Sucralose	Sweetener	-
59	Saccharine	Sweetener	-

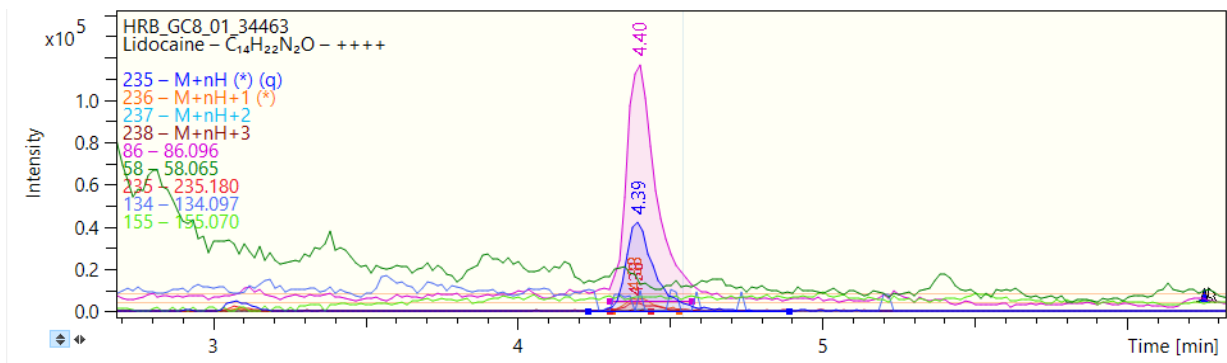
Συνοψίζοντας, στα δείγματα στραγγισμάτων ανιχνεύθηκαν συνολικά 58 αναδυόμενοι ρύποι από τους οποίους: 22 ήταν φαρμακευτικές ενώσεις, 3 ανήκουν στην κατηγορία των παράνομων ναρκωτικών, 5 ανήκουν στην κατηγορία των εθιστικών ουσιών και μεταβολιτών τους, 1 ανήκουν στην κατηγορία των φαινολών,

11 ανήκουν στην κατηγορία των φυτοφαρμάκων, 5 ανήκουν στην κατηγορία των χημικών που ανήκουν στη βιομηχανία, 7 ανήκουν στην κατηγορία των υπερφθορισμένων ενώσεων και 3 στην κατηγορία των γλυκαντικών.

Στις παρακάτω παρακάτω εικόνες, παρουσιάζονται ενδεικτικά χρωματογραφήματα από ενώσεις που ανιχνεύθηκαν είτε σε θετικό είτε σε αρνητικό ιοντισμό, σε δείγματα εισόδου, δείγματα που έχουν επεξεργαστεί με βιολογική επεξεργασία και δείγματα εξόδου που έχουν επεξεργαστεί με συνδυασμό βιολογικής επεξεργασίας και αντίστροφης ώσμωσης.

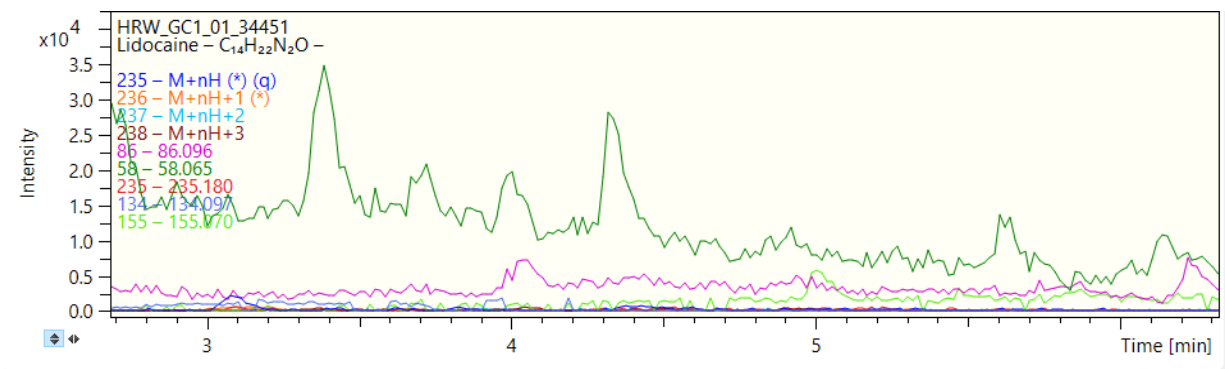


Εικόνα 7.1.4: Χρωματογράφημα της Lidocaine σε δείγμα εισόδου.

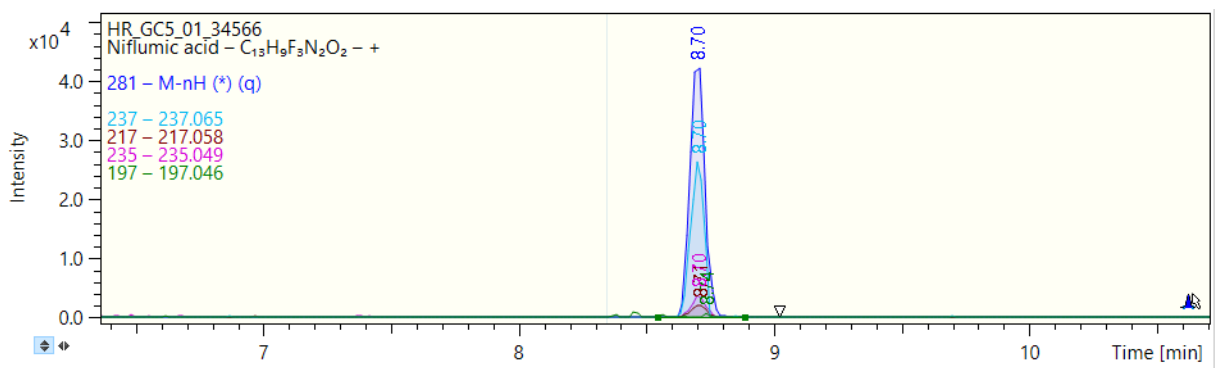


Εικόνα 7.1.5: Χρωματογράφημα της Lidocaine σε δείγμα επεξεργασμένο με βιολογική επεξεργασία.

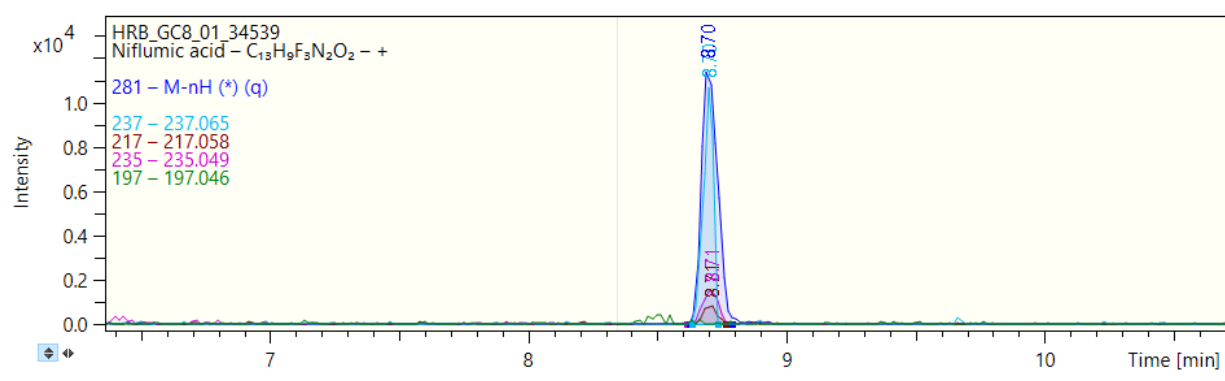




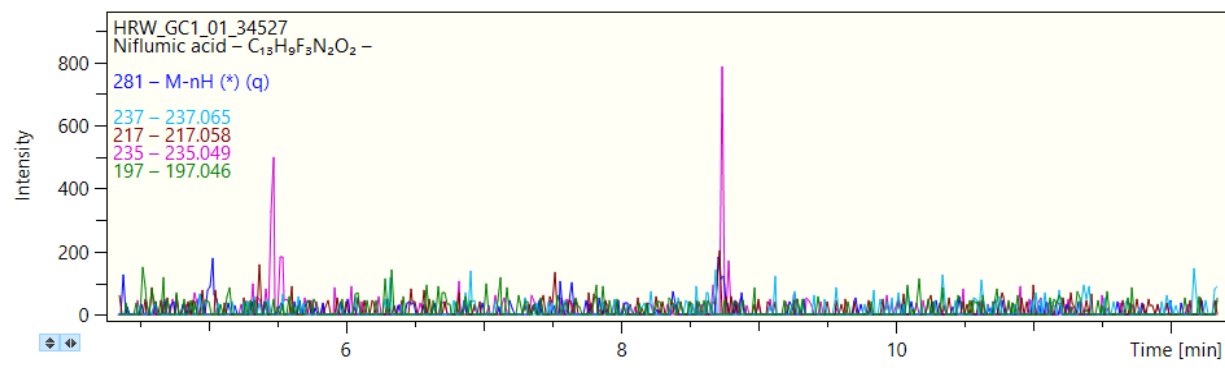
Εικόνα 7.1.6: Χρωματογράφημα της Lidocaine σε δείγμα εξόδου, επεξεργασμένο με βιολογική επεξεργασία και στη συνέχεια με αντίστροφη ώσμωση.



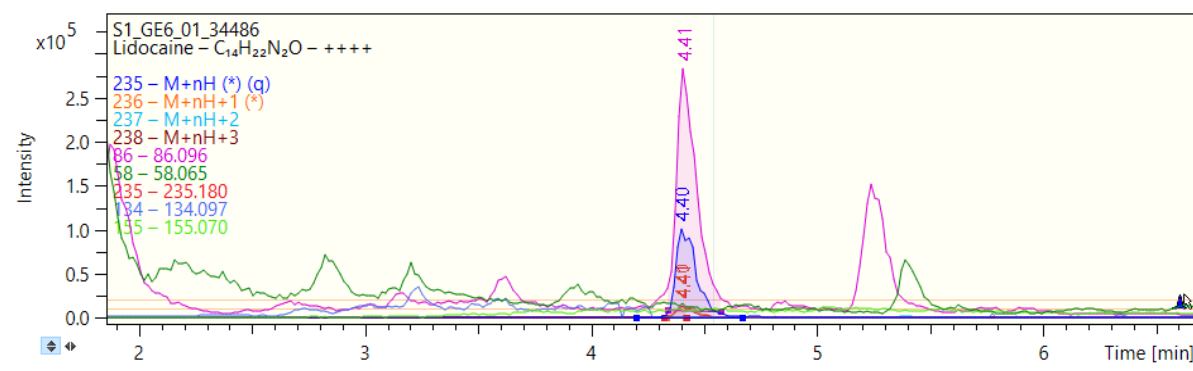
Εικόνα 7.1.7: Χρωματογράφημα του Niflumic Acid σε δείγμα εισόδου.



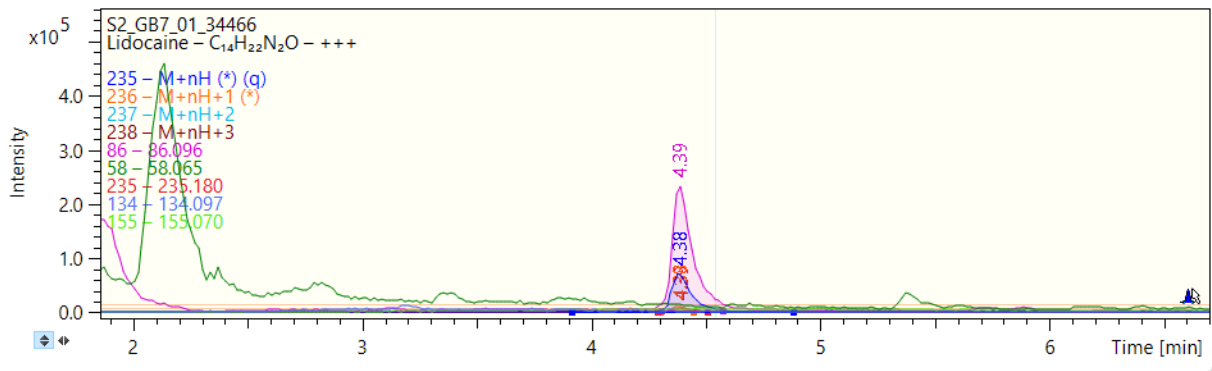
Εικόνα 7.1.8: Χρωματογράφημα του Niflumic Acid σε δείγμα επεξεργασμένο με βιολογικές διαδικασίες.



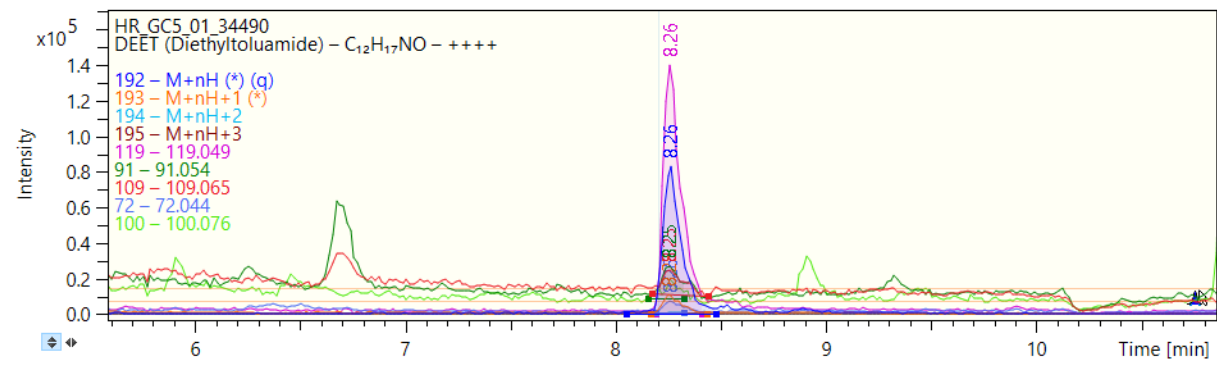
Εικόνα 7.1.9 : Χρωματογράφημα του Niflumic Acid σε δείγμα εξόδου, επεξεργασμένο με βιολογικές διαδικασίες και στη συνέχεια με αντίστροφη ώσμωση.



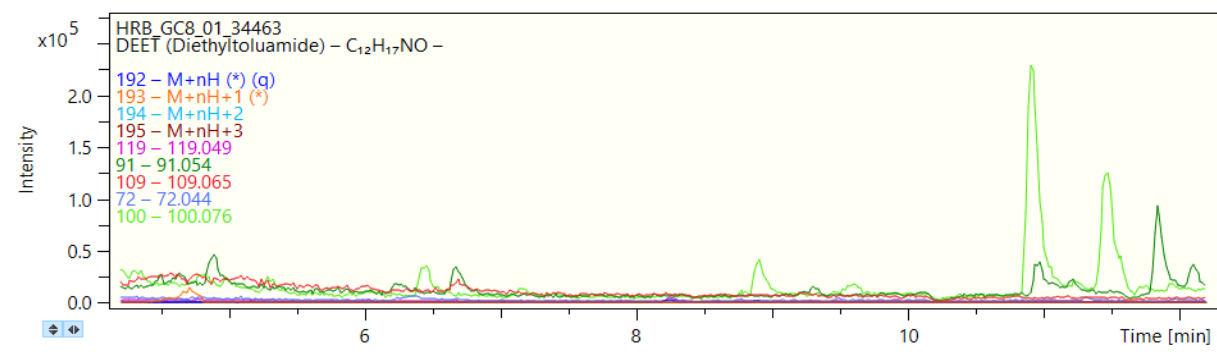
Εικόνα 7.1.10: Χρωματογράφημα της Lidocaine σε δείγμα εισόδου.



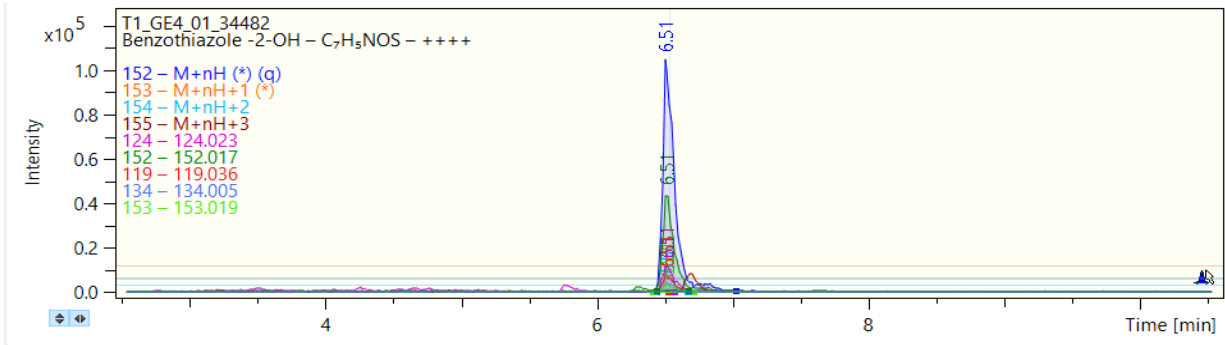
Εικόνα 7.1.11: Χρωματογράφημα της Lidocaine σε δείγμα εξόδου επεξεργασμένο μόνο με βιολογικές διαδικασίες.



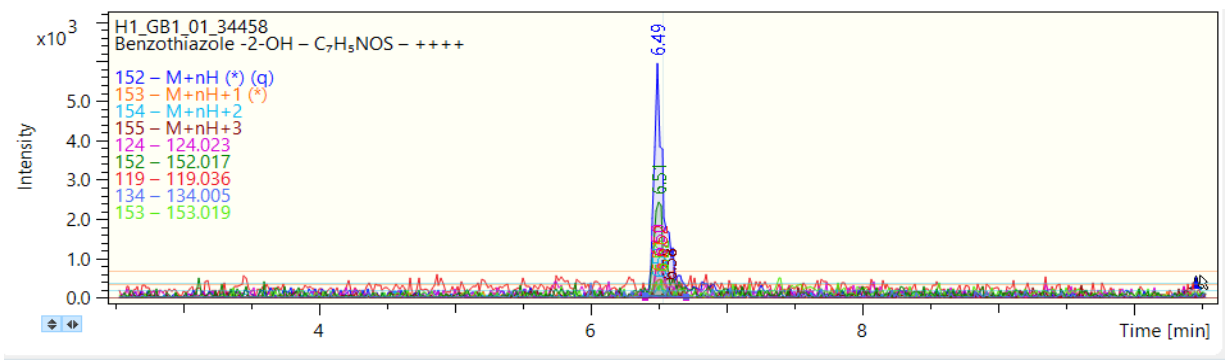
Εικόνα 7.1.12: Χρωματογράφημα της DEET σε δείγμα εισόδου.



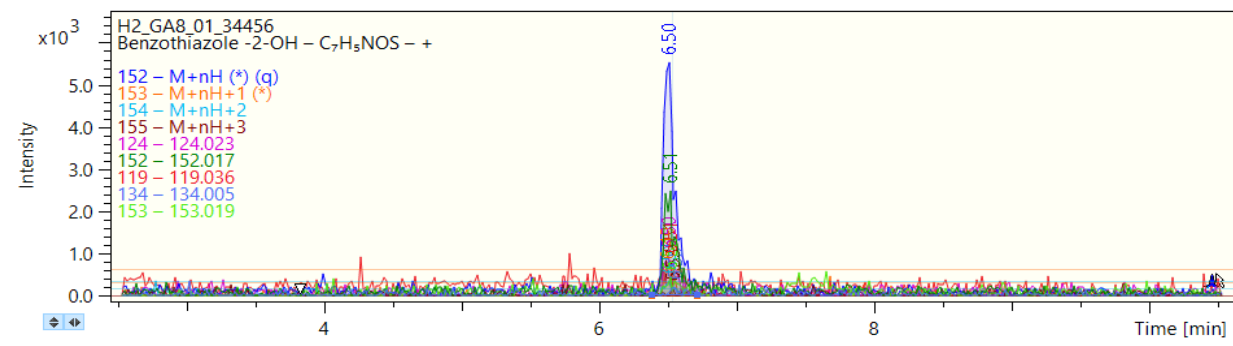
Εικόνα 7.1.13: Χρωματογράφημα DEET σε δείγμα εξόδου επεξεργασμένο μόνο με βιολογικές διαδικασίες.



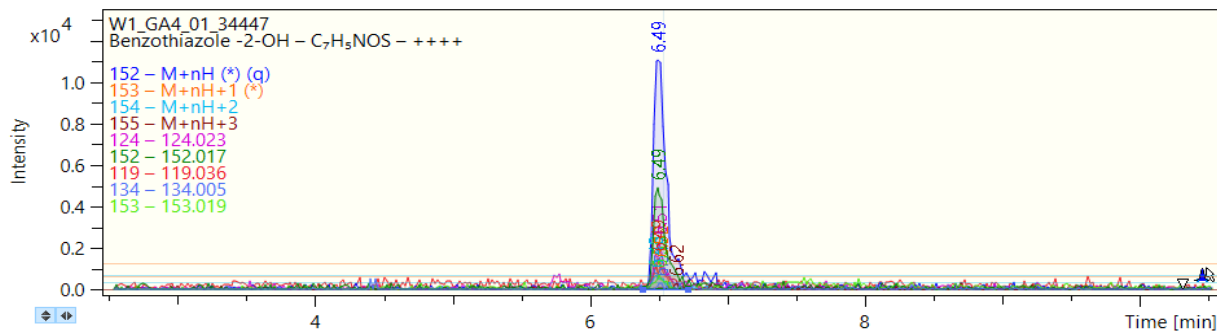
Εικόνα 7.1.14 : Χρωματογράφημα Benzothiazole-2-OH σε δείγμα εισόδου.



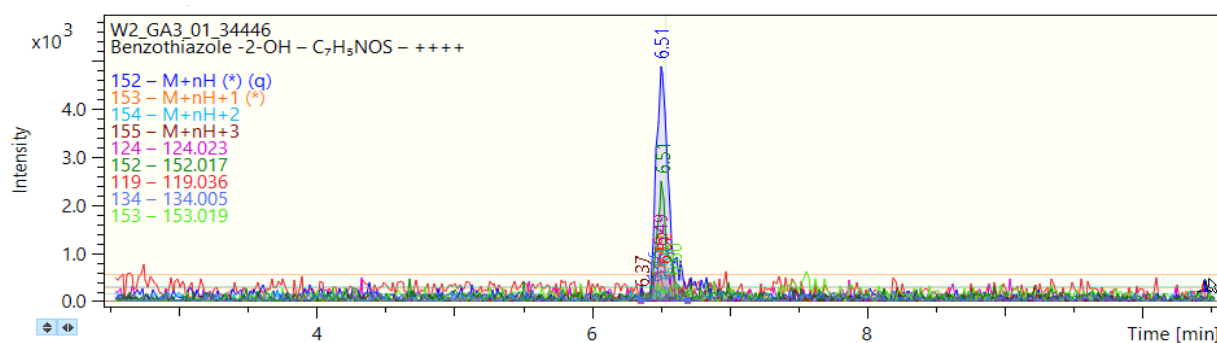
Εικόνα 7.1.15 : Χρωματογράφημα Benzothiazole-2-OH σε επεξεργασμένο με αντίστροφη ώσμωση (στάδιο 1).



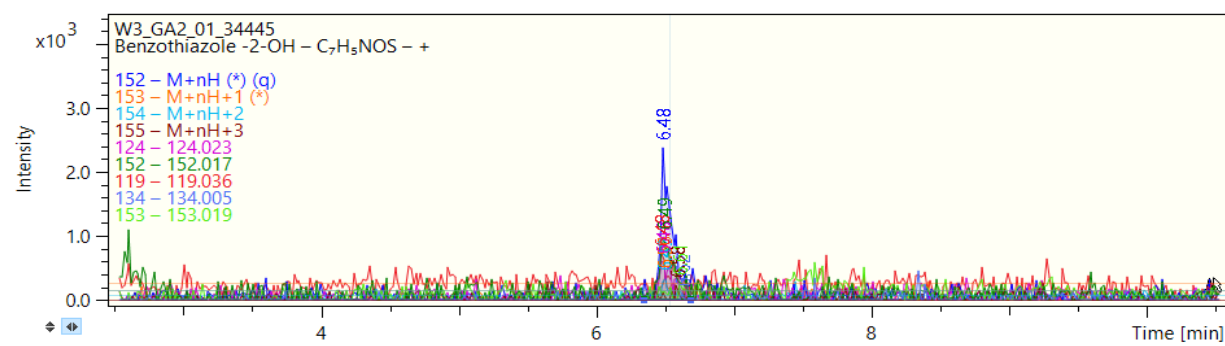
Εικόνα 7.1.16: Χρωματογράφημα Benzothiazole-2-OH σε επεξεργασμένο με αντίστροφη ώσμωση (στάδιο 2).



Εικόνα 7.1.17: Χρωματογράφημα Benzothiazole-2-OH σε επεξεργασμένο με αντίστροφη ώσμωση (στάδιο 3),



Εικόνα 7.1.18 : Χρωματογράφημα Benzothiazole-2-OH σε επεξεργασμένο με αντίστροφη ώσμωση (στάδιο 4)



Εικόνα 7.1.19 : Χρωματογράφημα Benzothiazole-2-OH σε επεξεργασμένο με αντίστροφη ώσμωση (στάδιο 5)

Πίνακας 7.3: Πίνακας συγκεντρώσεων των αναδεδόμενων ρύπων σε κάθε δείγμα.

Analyte	Raw	Treated	Raw	Treated	Treated	Treated	Treated	Treated	Raw	Treated	Raw	Raw	Treated	Treated
	X1	X2	T1	H1	H2	W1	W2	W3	S1	S2	M1	MA1	MAB	MAW1
	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L
Nicotine			307						28.7			255		245
Cotinine	9.20	2.50	106						35.6		64.4	87.9	59.1	4.13
Cotinine-Hydroxy			239						43.6			69.8		<8.67
Anatabine									<3.80		5.73	19.7	<8.01	
Anabasine														
Benzothiazole -2-OH		14.1	926	22.0	21.8	51.0	20.9	<12.0	109		92.8	304	250	183
Benzotriazole (BTR)	<3.35	2.27	7.01						<3.35	5.49		9.50	5.58	27.9
Paracetamol			100											
Clopidogrel Carbon acid	2.35	1.07	2.41						12.5	43.8	9.28	10.1	87.5	
Eprosartan	<4.44		<4.44						6.81	2.80	<4.44	<4.44	4.09	
Gabapentin	10.3	<8.65							21.5	141		30.7	146	
Rivastigmine									1.30	9.17		2.06	8.14	
Tramadol											2.06	4.42	12.9	
Niflumic acid	1.75	1.35	6.11						3.35	2.32	7.59	3.44	2.65	
Flufenamic acid	<0.62	<0.245	2.59						0.799		1.01	1.57	1.03	
Mefenamic acid			6.2						3.57		4.84	4.98	3.69	
Meloxicam											<0.962	<0.962	<0.817	
Salicylic acid												121		
Salicylamide								21.0			10.1		17.7	
Valsartan	<28.4	<18.8							69.6		81.9	110	740	
Lidocaine	6.20	3.74	9.75						8.77	7.14	6.10	61.1	73.4	4.29
Amphetamine	4.11		85.1						13.6		15.1	39.4	7.92	9.09
Amphetamine-3-methyl	<2.77		35.6						10.4	2.2	<2.77	19.0		
DEET (Diethyltoluamide)	56.5	1.38	127						60.9		261	143		2.96
Propazine-2-hydroxy (Prometon-Hydroxy)			21.4						9.48	70.9				
Mecoprop			5.45						10.8	2.35		4.73	3.86	
Dinoterb										18.1			8.70	
Bisphenol A	58.4	12.4	4.57E+03	9.31	2.74	8.51					297	1.92E+03	28.9	156
PFBuS	0.254	0.475	7.02						0.323	0.294	0.578	1.69	2.12	
PFHxA	2.26	4.12	9.31						1.38	1.98	3.10	4.05	7.26	0.971
PFOA	0.825	1.00	3.06						0.461	0.390	0.942	0.771	0.698	0.400
PFPeA	0.825	1.67	2.24						<0.607	1.06	0.987	1.37	2.43	
PFHpA	<0.326	<0.407	1.38								0.353	0.327	0.546	
PFDeA	<0.453		<0.453									<0.453		
Acesulfame	15.5	26.1	21.4						43.6	4.94	29.2	56.0		4.55
Sucralose	21.4	15.5							18.8	16.4		36.8	28.6	
Saccharine	<12.0	<2.92	77.0						<12.0	<2.92		66.0	14.2	
Ethyl sulfate		<5.19											29.9	
Pyrimidinol	4.6	4.4	28.9						7.43		4.50	11.4	6.33	
Imidazolidinon- 1-3-Dimethyl-2-			19.9											
Benzamidine	<1.73		<1.73						<1.73		<1.73	3.2	0.5	0.8
Benzenesulfonamide			38.2											
Benzenesulfonate-4-hydroxy	<121		265						<121	99.8				
Atenolol acid (Metoprolol acid)	32.8	4.57	149						123	46.9	104	169	454	

Πίνακας 7.3 : Πίνακας συγκεντρώσεων των αναδεδόμενων ρύπων σε κάθε δείγμα.

Treated	Treated	Raw	Treated	Treated	Raw	Treated	Treated	Raw	Treated	Treated	Raw		Treated	
MAW2	MAW3	K1	KB	KW	KL1	KLB	KLW	HR	HRB	HRW	LOD	LOQ	LOD	LOQ
µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L
					637						3.80	11.52	2.67	8.01
		19.5			514			61.8	1.71		0.97	2.93	0.57	1.71
		52.7						90.2			4.70	14.25	2.86	8.67
					56.2						3.80	11.52	2.67	8.01
					19.5						3.80	11.52	2.67	8.01
46.0	<12.0	64.1	<12.0		382	<12.0	<12.0	173	<12.0		5.79	17.54	3.98	12.0
6.51					7.92	8.12					1.11	3.35	0.46	1.41
											5.45	16.53	1.49	4.51
		7.86	1.77		12.7	4.01		6.1	1.7		0.65	1.96	0.20	0.61
		<4.44			6.18	<2.53		<4.44	<2.53		1.47	4.44	0.83	2.53
		13.9	10.9			<8.65					3.34	10.14	2.85	8.65
											0.63	0.63	0.13	0.39
											0.67	2.03	0.26	0.80
		4.03	1.54		2.27	1.43		8.32	4.05		0.12	0.38	0.11	0.34
		1.20			2.14	0.524		1.42	0.622		0.20	0.62	0.08	0.245
		3.66			3.26			5.60	4.38		1.04	3.16	1.08	3.28
					<0.962			<0.962			0.32	0.962	0.27	0.817
											1.01	3.07	0.86	2.61
	20.2	7.89									1.94	5.89	0.94	2.84
		94.8			198	98.1		57.3			9.38	28.44	6.26	18.77
		7.57	1.63		8.70	7.38		11.6			0.27	0.83	0.11	0.34
		12.0			47.5			32.9			0.91	2.77	0.47	1.42
		13.0			16.0			12.5			0.91	2.77	0.47	1.42
		73.8			220			31.7			0.36	1.10	0.20	0.62
											1.56	4.74	0.62	1.87
		12.5			34.4	7.80		<3.54			1.17	3.54	0.77	2.33
											0.22	0.66	0.17	0.52
		868	43.4		7.80E+03	13.9		1.98E+03	14.1		0.28	0.84	0.24	0.74
		1.69	1.58		14.7	15.0		4.54	3.80		0.07	0.23	0.09	0.27
		4.51	3.65		5.19	6.55	0.702	6.72	5.31		0.17	0.53	0.23	0.700
<0.253	0.485	1.96	1.24		1.64	1.47		2.54	2.30		0.15	0.460	0.08	0.253
		2.26	4.47		1.47	2.42		1.89	2.50		0.20	0.607	0.168	0.508
		0.459	0.535		0.606	0.647		0.736	0.987		0.108	0.326	0.134	0.407
			<0.374			<0.374					0.150	0.453	0.123	0.374
		15.1			48.4	23.5		11.5	6.39		1.30	3.95	0.42	1.26
		27.0									4.18	12.66	3.49	10.58
		17.2			12.8			<12.0			3.97	12.02	0.96	2.92
30.3	27.0	8.29			7.23						2.57	7.71	1.71	5.19
		18.2	3.52		20.5			11.5	6.05		0.69	2.09	0.21	0.63
					31.2	5.02					1.49	4.50	1.43	4.33
		<1.73			<1.73			<1.73	<2.16		0.57	1.73	0.71	2.16
											6.92	20.98	3.82	11.56
						<35.9		<121			40.31	121	11.86	35.93
		70.7			172			59.9			2.11	6.39	0.671	2.03

Πίνακας 7.3: Πίνακας συγκεντρώσεων των αναδυόμενων ρύπων σε κάθε δείγμα.

Analyte	Raw	Treated	Raw	Treated	Treated	Treated	Treated	Treated	Raw	Treated	Raw	Raw	Treated	Treated
	X1	X2	T1	H1	H2	W1	W2	W3	S1	S2	M1	MA1	MAB	MAW1
	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L	µg/L
Bufexamac			<76.9											
Lincomycin									6.13			13.3		
Diclofenac	<11.5		12.3						16.3	<11.5	16.7	28.0	21.4	
Fluometuron			1.64						20.2	17.8		2.96	2.22	
MCPA														
Metamitron-desamino									47.6	157				
Propamocarb	4.32	3.21	31.0						25.3	12.6	18.1	88.6	37.1	2.30
PFHxS														
Triethyl-phosphate	27.4	8.34	13.0						16.5	48.3	15.7	67.7	19.0	2.74
Phenacetin			33.8											
Bentazone	3.36	6.97	8.13						31.6	47.3	<0.982	20.3	29.4	4.63
Dichlorprop											13.7			
5,6-methylenedioxy-2-aminoindane (MDAI)														
5-Amino-salicylic acid	<3.07		8.21									5.95		



Πίνακας 7.3: Πίνακας συγκεντρώσεων των αναδυόμενων ρύπων σε κάθε δείγμα.

Treated	Treated	Raw	Treated	Treated	Raw	Treated	Treated	Raw	Treated	Treated	Raw		Treated		
MAW2	MAW3	K1	KB	KW	KL1	KLB	KLW	HR	HRB	HRW	LOD	LOQ	LOD	LOQ	
μg/L	μg/L	μg/L	μg/L	μg/L	μg/L	μg/L	μg/L	μg/L	μg/L	μg/L	μg/L	μg/L	μg/L	μg/L	
					<76.9			<76.9			25.4	76.9		21.9	66.4
											2.00	6.05		1.17	3.54
		11.7			23.4	<11.5		12.1	<11.5		3.81	11.54		3.81	11.54
					2.14	2.98					0.310	0.939		0.255	0.774
								22.2	34.4	31.2	2.70	8.17		1.79	5.41
											2.30	6.98		0.641	1.94
		24.1	0.943		65.8	5.47	<0.591	61.3	6.29		0.347	1.05		0.195	0.591
		0.552									0.173	0.525		0.231	0.700
		29.2	2.20		65.8	9.18		6.19			0.513	1.55		0.279	0.845
		6.60			43.3						0.311	0.933		0.115	0.349
		23.9	25.3		7.87	8.23	<0.727	6.40	6.23		0.324	0.982		0.240	0.727
											0.723	2.17		0.339	1.02
								36.3			1.50	4.51		0.518	1.57
								9.55	5.29		1.01	3.07		0.862	2.61

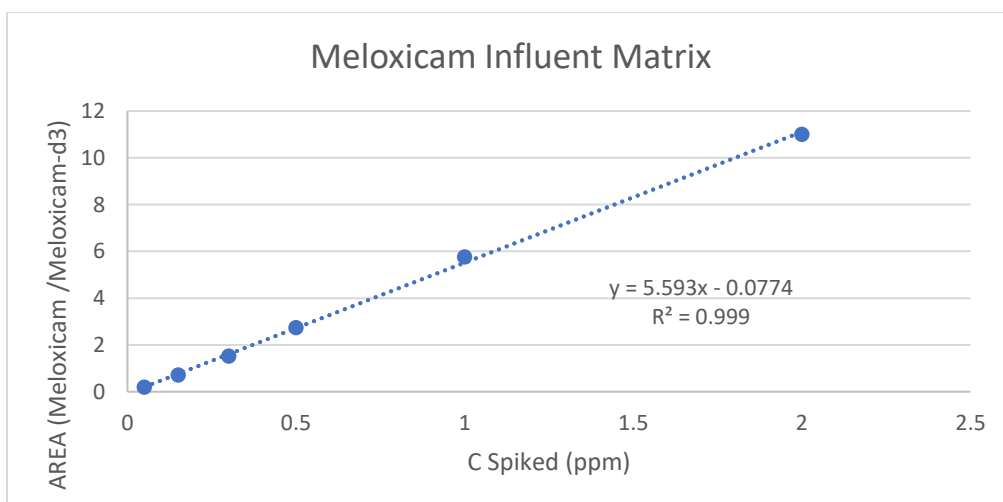
Στον Πίνακα 7.3 αναγράφονται οι συγκεντρώσεις των επιμέρους ενώσεων σε κάθε δείγμα. Οι συγκεντρώσεις που είναι επισημασμένες με πράσινο χρώμα, ήταν μεταξύ του ορίου ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης (<LOQ). Για λόγους στατιστικής επεξεργασίας, οι τιμές αυτές θεωρούνται ως LOQ/2. Αξίζει να σημειωθεί ότι εφόσον η μήτρα των μη-επεξεργασμένων και επεξεργασμένων δειγμάτων διέφερε σημαντικά, υπολογίστηκαν διαφορετικά LODs/LOQs για τις 2 κατηγορίες δειγμάτων.

## 7.2 ΠΟΣΟΤΙΚΟΠΟΙΗΣΗ ΜΕ ΚΑΜΠΥΛΗ ΠΡΟΣΘΗΚΗΣ ΓΝΩΣΤΗΣ ΠΟΣΟΤΗΤΑΣ

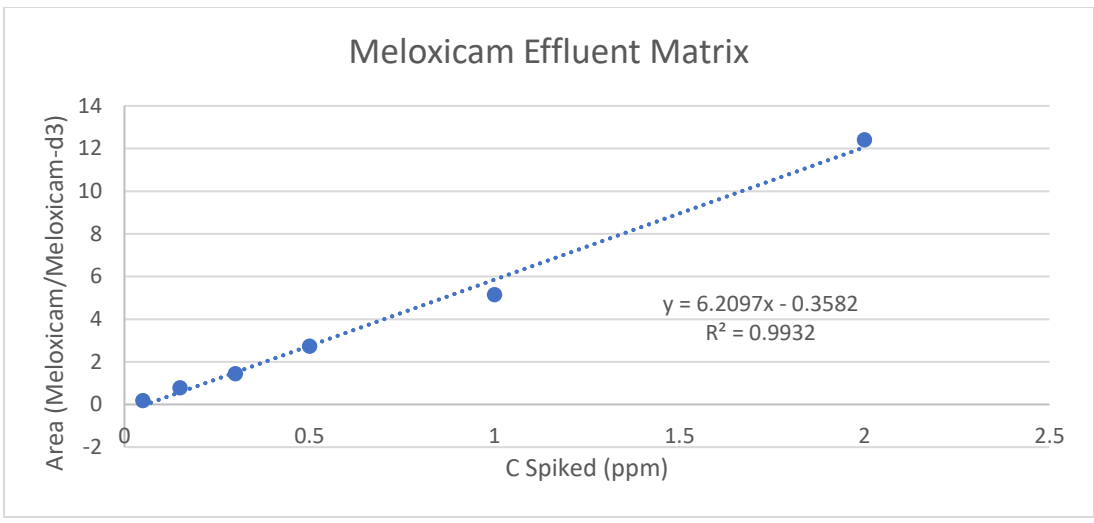
Η ποσοτικοποίηση των αποτελεσμάτων έγινε με κατασκευή καμπύλης με την μέθοδο προσθήκης γνωστής ποσότητας. Ξεχωριστά για τα δείγματα εισόδου (Influent) και για τα δείγματα εξόδου (Effluent) έγινε προσθήκη των αναλυτών που είχαμε ανιχνεύσει κατά την διαδικασία σάρωσης σε 5 επίπεδα συγκεντρώσεων και προσθήκη εσωτερικών προτύπων σε σταθερές συγκεντρώσεις. Τα επίπεδα των τελικών συγκεντρώσεων ήταν: 0,05 ppm, 0,15 ppm, 0,3 ppm, 0,5 ppm, 1 ppm και 2 ppm. Για την κατασκευή της ευθείας, για κάθε σημείο της, λήφθηκε ως τεταγμένη ο λόγος του σήματος του αναλύτη ως προς το σήμα του αντίστοιχου εσωτερικού προτύπου που λαμβάναμε στο κάθε επίπεδο συγκεντρώσεων και ως τετμημένη το επίπεδο της συγκέντρωσης του προστιθέμενου αναλύτη, αντίστοιχα για το κάθε επίπεδο συγκέντρωσης. Η εξίσωση της καμπύλης είναι της μορφής:

$$y = b(\pm S_b) C + a(\pm S_a)$$

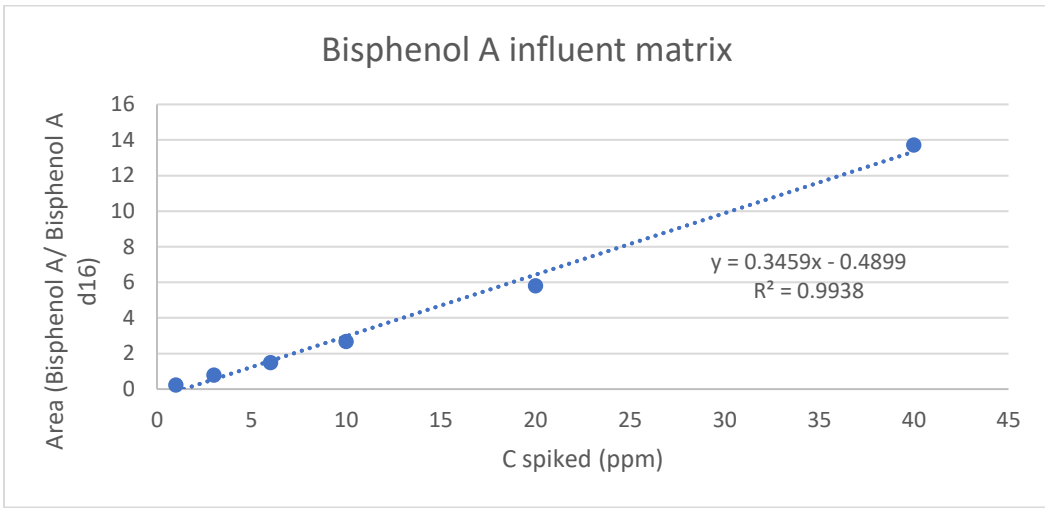
Κάποια παραδείγματα από τις καμπύλες αναφοράς παρατίθενται στις ακόλουθες εικόνες. Για ορισμένες ενώσεις, όπου δεν υπήρχε αρκετή διαθέσιμη ποσότητα προτύπων αναφοράς, πραγματοποιήθηκε ποσοτικοποίηση με ένα σημείο.



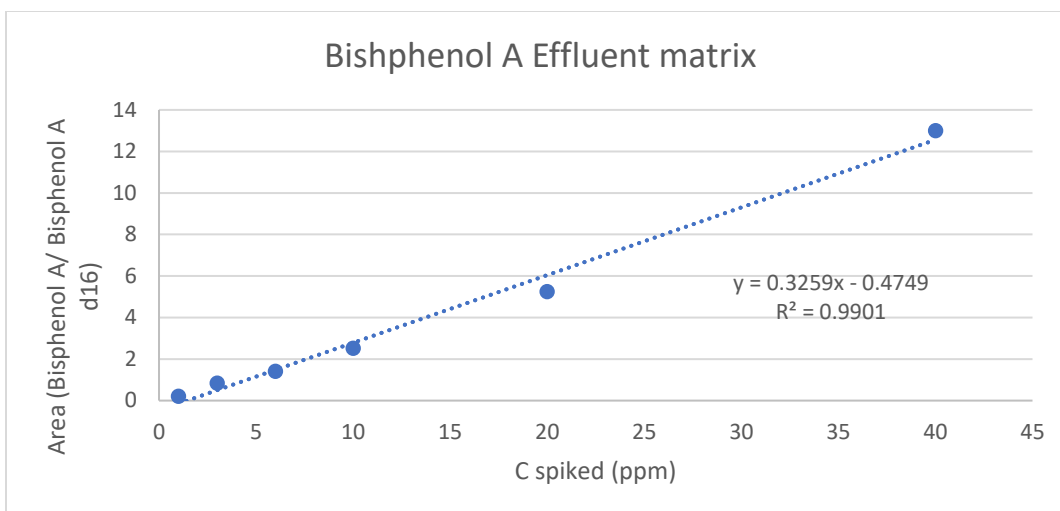
Διάγραμμα 7.2.1: Εξίσωση ευθείας της ένωσης Meloxicam σε δείγματα εισόδου (influent).



Διάγραμμα 7.2.2: Εξίσωση ευθείας της ένωσης Meloxicam σε δείγματα εξόδου (effluent).



Διάγραμμα 7.2.3: Εξίσωση ευθείας της ένωσης Bisphenol A σε δείγματα εισόδου (influent).



Διάγραμμα 7.2.4: Εξίσωση ευθείας της ένωσης Bisphenol A σε δείγματα εξόδου (effluent).

### 7.3 ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΟΡΙΟΥ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ :

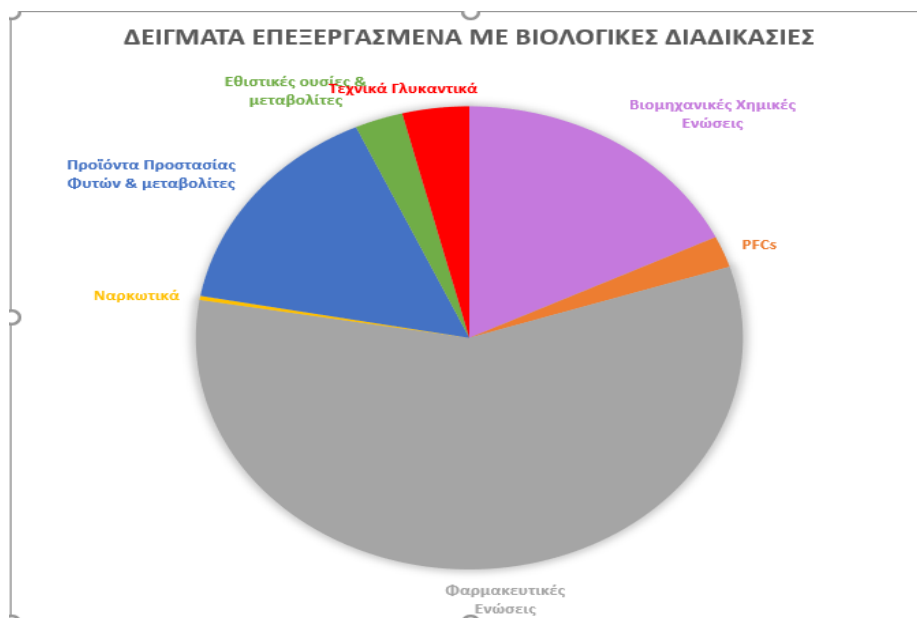
Ο υπολογισμός του ορίου ανίχνευσης υπολογίστηκε από την εξίσωση της ευθείας της κάθε ένωσης από τον τύπο  $LOD = 3,3 (a / Sb)$  και το όριο ποσοτικοποίησης από τον τύπο  $LOQ = 10 (a / Sb)$ . Σε όσες περιπτώσεις, μπορούσαν να αποδοθούν χαμηλότερα όρια ανίχνευσης τότε χρησιμοποιούταν ο λόγος σήμα προς θόρυβο από χαμηλής συγκέντρωσης εμβολιασμένο δείγμα.

### 7.4 ΣΥΝΟΛΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ:

Στα ακόλουθα διαγράμματα παρουσιάζεται η συνεισφορά κάθε κατηγορίας ενώσεων, όσον αφορά στη συνολική συγκέντρωση αναδυόμενων ρύπων, στις διαφορετικές μήτρες. Όπως παρατηρούμε από το διάγραμμα 7.2.5, οι ενώσεις βιομηχανικής χρήσης κυριαρχούν στη μήτρα των μη-επεξεργασμένων στραγγισμάτων και στα δείγματα ύστερα από αντίστροφη ώσμωση. Αντίθετα, στα δείγματα μετά από βιολογική επεξεργασία, ανιχνεύονται κυρίως φαρμακευτικές ενώσεις.

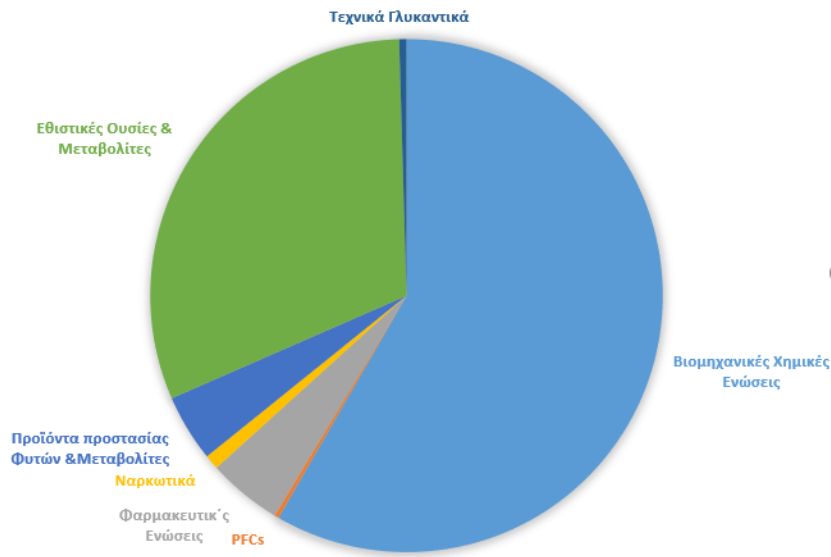


**Διάγραμμα 7.2.5:** Διαγραμματική απεικόνιση συνεισφοράς κάθε κατηγορίας ενώσεων . όσον αφορά στη συνολική συγκέντρωση αναδυόμενων ρύπων σε εισερχόμενα δείγματα.



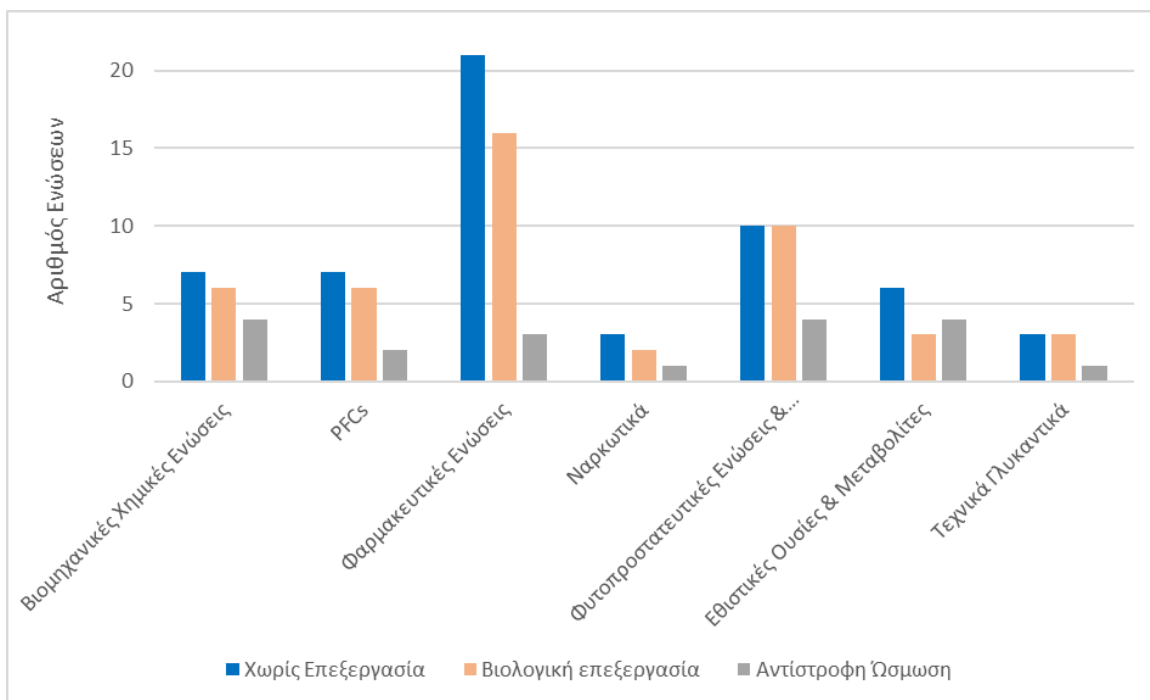
**Διάγραμμα 7.2.6:** Διαγραμματική απεικόνιση συνεισφοράς κάθε κατηγορίας ενώσεων . όσον αφορά στη συνολική συγκέντρωση αναδυόμενων ρύπων σε δείγματα επεξεργασμένα με βιολογικές διαδικασίες.

### ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΜΕΝΑ ΜΕ ΑΝΤΙΣΤΡΟΦΗ ΩΣΜΩΣΗ



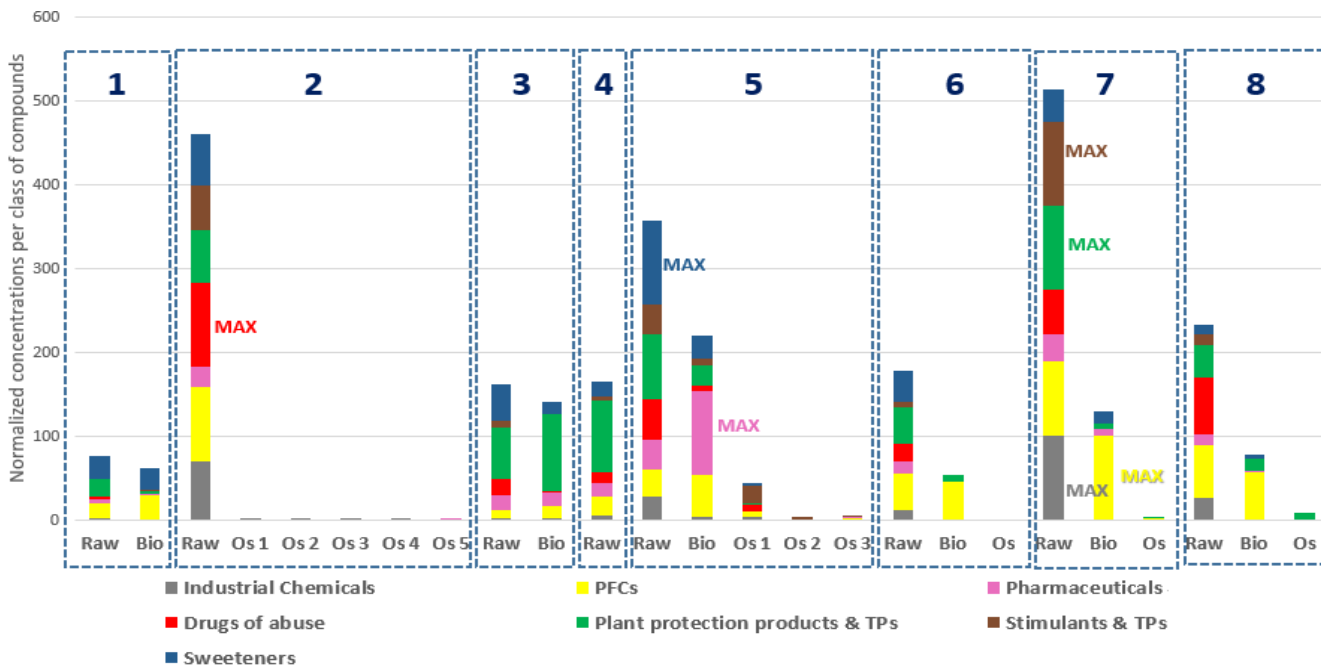
**Διάγραμμα 7.2.7:** Διαγραμματική απεικόνιση συνεισφοράς κάθε κατηγορίας ενώσεων . όσον αφορά στη συνολική συγκέντρωση αναδυόμενων ρύπων σε δείγματα επεξεργασμένα με αντίστροφη ώσμωση.

Στο Διάγραμμα 7.2.8, παρατίθενται ο συνολικός αριθμός των ενώσεων ανά κατηγορία που ανιχνεύθηκαν στις 3 διαφορετικές μήτρες. Όπως παρατηρείται, στα μη- επεξεργασμένα και στα δευτερογενώς επεξεργασμένα δείγματα ανιχνεύθηκαν κυρίως φαρμακευτικές ενώσεις, ενώ οι ενώσεις βιομηχανικής χρήσης, οι φυτοπροστατευτικές ενώσεις και οι διεγερτικές ουσίες, έχουν ίση συνεισφορά στον συνολικό αριθμό των ανιχνευθέντων αναδυόμενων ρύπων στα δείγματα μετά από επεξεργασία με αντίστροφη ώσμωση.



**Διάγραμμα 7.2.8:** Συνολικός αριθμός ενώσεων ανά κατηγορία αναδυόμενων ρύπων στις 3 διαφορετικές μήτρες

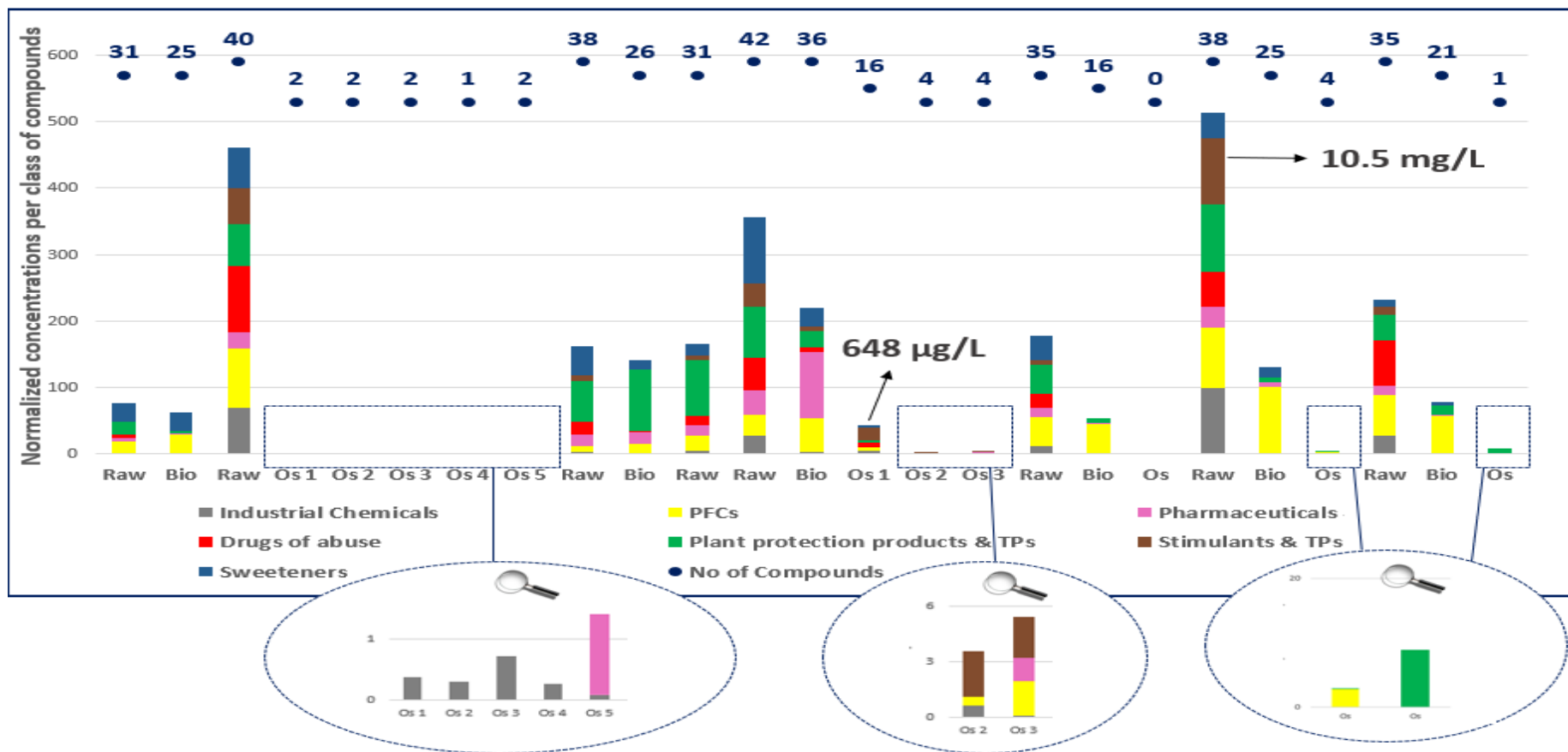
Τέλος, για να παρουσιαστούν τα συγκεντρωτικά αποτελέσματα από όλα τα υπό εξέταση δείγματα, δημιουργήθηκε το διάγραμμα 7.2.9. Για την κατασκευή του διαγράμματος αυτού, πραγματοποιήθηκε κανονικοποίηση των συγκεντρώσεων των ενώσεων, ανά κατηγορία. Σε πρώτο βήμα, υπολογίστηκε το άθροισμα συγκεντρώσεων, των 7 επιμέρους κατηγοριών ανά δείγμα. Στη συνέχεια, το δείγμα με τη μεγαλύτερη συγκέντρωση ανά κατηγορία, αντικαθίστατο με 100, και όλα τα υπόλοιπα δείγματα κανονικοποιούνταν με βάση την τιμή αυτή. Στο διάγραμμα 7.2.9, παρουσιάζεται το δείγμα όπου ανιχνεύθηκε η μέγιστη τιμή ανά κατηγορία ενώσεων. Επιπλέον, τα δείγματα από κάθε διαφορετικό Χ.Υ.Τ.Α., παρουσιάζονται με τις σκιασμένες γραμμές. Απεικονίζεται πρώτο το μη-επεξεργασμένο δείγμα, και ακολουθούν τα επεξεργασμένα σε πραγματική σειρά δείγματα.



**Διάγραμμα 7.2.9:** Κανονικοποιημένες συγκεντρώσεις ανά κατηγορία ενώσεων.

Με βάση τα αποτελέσματα του διαγράμματος, η συνολική συγκέντρωση των ρύπων μειώνεται αισθητά κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας.





**Διάγραμμα 7.2.10 :** Κανονικοποιημένες συγκεντρώσεις ανά κατηγορία ενώσεων σε κάθε δείγμα & συνολικός αριθμός ενώσεων.

Στο διάγραμμα 7.2.10. παρουσιάζεται επίσης στο επάνω μέρος του γραφήματος ο συνολικός αριθμός των ενώσεων σε κάθε δείγμα. Όπως παρατηρείται, έως 42 ρύποι ανιχνεύθηκαν στα μη-επεξεργασμένα δείγματα, ενώ έως 16 ρύποι ανιχνεύθηκαν στα επεξεργασμένα με αντίστροφη ώσμωση δείγματα. Αξίζει να σημειωθεί ότι σε ένα δείγμα, δεν ανιχνεύθηκε κανένας ρύπος. Επιπλέον η μέγιστη συγκέντρωση ανιχνεύθηκε σε μη-επεξεργασμένο δείγμα, αγγίζοντας τα 10.5 mg/L, ενώ οι συγκεντρώσεις σε δείγματα επεξεργασμένα με αντίστροφη ώσμωση, δεν ξεπέρασαν τα 648 µg/L.

## 8. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

- Η τεχνική της HRMS αποτελεί ένα πολύ ισχυρό εργαλείο για τον προσδιορισμό αναδυόμενων ρύπων στην Περιβαλλοντική Χημεία.
- Τα στραγγίσματα είναι μια σημαντική πηγή αναδυόμενων ρύπων, γι' αυτό τον λόγο θα πρέπει να επεξεργάζονται με σκοπό την απομάκρυνση των ρύπων πρώτου γυρίσμου πίσω στο περιβάλλον για να αποφευχθούν τυχόν επιπτώσεις προς αυτό.
- Συνολικά 25 δείγματα στραγγισμάτων, χωρίς επεξεργασία και επεξεργασμένα, αναλύθηκαν για τον προσδιορισμό αναδυόμενων ρύπων από μια βάση δεδομένων που περιέχει πάνω από 2.100 αναδυόμενους ρύπους.
- 58 συνολικά αναδυόμενοι ρύποι ανιχνεύθηκαν στα δείγματα στραγγισμάτων από ΧΥΤΑ τη Ελλάδος, ανάμεσα σε αυτά φαρμακευτικές ενώσεις, φυτοφάρμακα, προϊόντα καθημερινής χρήσης, ναρκωτικά, εθιστικές ουσίες, γλυκαντικά και βιομηχανικά κατάλοιπα.
- Η 2-OH benzothiazole και το perfluorooctanoic acid (PFOA) ανιχνεύθηκαν με την μεγαλύτερη συχνότητα.
- Οι ενώσεις Bisphenol A, Valsartan, nicotine ήταν οι πλέον άφθονες σε δείγματα εισόδου, βιολογικής επεξεργασίας και σε δείγματα επεξεργασμένα με αντίστροφη ώσμωση.
- Οι βιομηχανικές χημικές ουσίες είχαν την μεγαλύτερη τους συγκέντρωση σε δείγματα εισόδου και δείγματα επεξεργασμένα με αντίστροφη ώσμωση, ενώ οι φαρμακευτικές ενώσεις βρέθηκαν με την μεγαλύτερή τους συγκέντρωση σε δείγματα επεξεργασμένα με βιολογικές διαδικασίες.
- Ο συνδυασμός βιολογικής επεξεργασίας και αντίστροφης ώσμωσης (τριτοταγής ή προχωρημένη επεξεργασία) μας δίνει ικανοποιητικά αποτελέσματα ως μέθοδος επεξεργασίας.



## ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ – ΑΚΡΟΝΥΜΙΑ

bbCID	broad band Collision Induced Dissociation
COD	Chemical Oxygen Demand
EI	Electron Impact
EP's	Emerging Pollutants
ESI	Electrospray Ionization
FAB	Fast Atom Bombardment
GC	Gas Chromatography
GC-MS/MS	Gas Chromatography Coupled to Tandem Mass Spectrometry
HILIC	hydrophilic interaction liquid chromatography
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
IS	Internal Standard
IT	Ion Trap
LC	Liquid Chromatography
LC-MS/MS	Liquid Chromatography Coupled to Tandem Mass Spectrometry
LOD	Limit of Detection
LOQ	Limit of Quantification
LR	Low Resolution
MALDI	Matrix Assisted Desorption Ionization
MS	Mass Spectrometry
PCPs	Personal Care Products
PFBuS	Perfluorobutane sulfonic acid
PFCs	Perfluorinated Compounds
PFDeA	Perfluorodecanoic acid
PFHpA	Perfluoro-N-Heptanoate
PFHxA	Perfluoro-N-Hexanoate
PFHxS	Perfluoro-N-Hexane Sulfonate

PFOA	Perfluoro-N-Octanoate
PFPeA	Perfluoropentanoic acid
RP	Reversed Phase
RT	Retention Time
S/N	Signal/Noise
SIM	Selected Ion Monitoring
SPE	Solid Phase Extraction
SRM	Selected Reaction Monitoring
ToF MS	Time of Flight Mass Spectrometry
TP's	Transformation Pollutants
TSQ	Triple Quadrupole
TSS	Total Suspended Solids
UHPLC	Ultra High Performance Liquid Chromatography
UV	Ultraviolet
ΚΕΛ	Κέντρα Επεξεργασίας Λυμάτων
ΧΥΤΑ	Χώρος Υγειονομικής Ταφής

## 9. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [1] Y. Peng, W. Fang, M. Krauss, W. Brack, Z. Wang, F. Li, X. Zhang, Screening hundreds of emerging organic pollutants (EOPs) in surface water from the Yangtze River Delta (YRD): Occurrence, distribution, ecological risk, *Environ. Pollut.* 241 (2018) 484–493. doi:10.1016/j.envpol.2018.05.061.
- [2] A.A. Bletsou, J. Jeon, J. Hollender, E. Archontaki, N.S. Thomaidis, Targeted and non-targeted liquid chromatography-mass spectrometric workflows for identification of transformation products of emerging pollutants in the aquatic environment, *TrAC - Trends Anal. Chem.* 66 (2015) 32–44. doi:10.1016/j.trac.2014.11.009.
- [3] J. Staehelin, R.E. Buehler, J. Hoigne, Ozone decomposition in water studied by pulse radiolysis. 2. Hydroxyl and hydrogen tetroxide (HO<sub>4</sub>) as chain intermediates, *J. Phys. Chem.* 88 (1984) 5999–6004. doi:10.1021/j150668a051.
- [4] A.C. Hogenboom, J.A. van Leerdam, P. de Voogt, Accurate mass screening and identification of emerging contaminants in environmental samples by liquid chromatography-hybrid linear ion trap Orbitrap mass spectrometry, *J. Chromatogr. A.* 1216 (2009) 510–519. doi:10.1016/j.chroma.2008.08.053.
- [5] B.O. Clarke, S.R. Smith, Review of “emerging” organic contaminants in biosolids and assessment of international research priorities for the agricultural use of biosolids, *Environ. Int.* 37 (2011) 226–247. doi:10.1016/j.envint.2010.06.004.
- [6] S. Montesdeoca-Esponda, L. Checchini, M. Del Bubba, Z. Sosa-Ferrera, J.J. Santana-Rodriguez, Analytical approaches for the determination of personal care products and evaluation of their occurrence in marine organisms, *Sci. Total Environ.* 633 (2018) 405–425. doi:10.1016/j.scitotenv.2018.03.182.
- [7] M. Scheurer, H.J. Brauch, F.T. Lange, Analysis and occurrence of seven artificial sweeteners in German waste water and surface water and in soil

- aquifer treatment (SAT), *Anal. Bioanal. Chem.* 394 (2009) 1585–1594. doi:10.1007/s00216-009-2881-y.
- [8] I.J. Buerge, H.R. Buser, M. Kahle, M.D. Müller, T. Poiger, Ubiquitous occurrence of the artificial sweetener acesulfame in the aquatic environment: An ideal chemical marker of domestic wastewater in groundwater, *Environ. Sci. Technol.* 43 (2009) 4381–4385. doi:10.1021/es900126x.
- [9] S. Renou, J.G. Givaudan, S. Poulain, F. Dirassouyan, P. Moulin, Landfill leachate treatment: Review and opportunity, *J. Hazard. Mater.* 150 (2008) 468–493. doi:10.1016/j.jhazmat.2007.09.077.
- [10] B.O. Clarke, T. Anumol, M. Barlaz, S.A. Snyder, Investigating landfill leachate as a source of trace organic pollutants, *Chemosphere.* 127 (2015) 269–275. doi:10.1016/j.chemosphere.2015.02.030.
- [11] E.P. Agency, *Landfill Bioreactor Performance*, (2006) 138.
- [12] D.A. Vallero, G. Blight, *The Municipal Landfill*, in: *Waste*, 2019. doi:10.1016/b978-0-12-815060-3.00012-8.
- [13] I. Environmental Protection Agency, *Environmental Protection Agency landfill manuals: Landfill site design*, (2000) 1–154. www.epa.ie.
- [14] Ελληνική Δημοκρατία, ΕΦΗΜΕΡΙΣ ΤΗΣ ΚΥΒΕΡΝΗΣΕΩΣ, Αρ Φύλλου 168, Δεύτερο Τεύχος. (2006) 24.
- [15] C.M. Moody, T.G. Townsend, A comparison of landfill leachates based on waste composition, *Waste Manag.* 63 (2017) 267–274. doi:10.1016/j.wasman.2016.09.020.
- [16] L. Miao, G. Yang, T. Tao, Y. Peng, Recent advances in nitrogen removal from landfill leachate using biological treatments – A review, *J. Environ. Manage.* 235 (2019) 178–185. doi:10.1016/j.jenvman.2019.01.057.
- [17] P. Kjeldsen, M.A. Barlaz, A.P. Rooker, A. Baun, A. Ledin, T.H. Christensen,



Schlumberger Water Services, R. Zheng, Chunmiao; Hill, Mary C.; Cao, Guoliang; Ma, F. Simon, T. Meggyes, T. Tünnermeier, J. Nolan, S. Watts, B. Proctor, A.C. Cárdenas Sánchez, Contraloría General de la República, J.A. Cárdenas León, ASTM, M. Andr, Z. Hoyos, A. Bagchi, T.H. Christensen, P.L.P.L. Bjerg, P. Kjeldsen, G. Slavinskienė, A. Jurevičius, J.F. Devlin, A. Brookfield, B. Huang, P.C. Schillig, Y. Zhang, M. Aucott, A. Lobo García de Cortázar, Amaya, T.H. Christensen, P. Kjeldsen, P.L.P.L. Bjerg, D.L. Jensen, J.B. Christensen, A. Baun, H.-J. Albrechtsen, G. Heron, J.J. Márquez Molina, Waterloo Hydrogeologic Inc., O.A. Rosales, M.V. Vélez, L.M. Vásquez, C.S.C.C. Chen, C.H. Tu, S.J. Chen, C.S.C.C. Chen, Principles Contaminat Transport, Ground Water Monit. Remediat. 32 (2004) 65. doi:10.1111/j.1745-6592.2000.tb00253.x.

- [18] D.J.L. Thomas, S.F. Tyrrel, R. Smith, S. Farrow, Bioassays for the evaluation of landfill leachate toxicity, *J. Toxicol. Environ. Heal. - Part B Crit. Rev.* 12 (2009) 83–105. doi:10.1080/10937400802545292.
- [19] C.N. Sawyer, P.L. McCarty, G.F. Parkin, *Chemistry for Environmental Engineering and Science*, 2003.
- [20] K.B. Armitage, *Introduction to Environmental Science*. Joseph M. Moran, Michael D. Morgan, James H. Wiersma, *Q. Rev. Biol.* (2004). doi:10.1086/415225.
- [21] T. Manios, E.I. Stentiford, P.A. Millner, The removal of NH<sub>3</sub>-N from primary treated wastewater in subsurface reed beds using different substrates, *J. Environ. Sci. Heal. - Part A Toxic/Hazardous Subst. Environ. Eng.* 37 (2002) 297–308. doi:10.1081/ESE-120002829.
- [22] A. Rodayan, P.A. Segura, V. Yargeau, Ozonation of wastewater: Removal and transformation products of drugs of abuse, *Sci. Total Environ.* 487 (2014) 763–770. doi:10.1016/j.scitotenv.2013.11.023.
- [23] C. Chahal, B. van den Akker, F. Young, C. Franco, J. Blackbeard, P. Monis,

Pathogen and Particle Associations in Wastewater: Significance and Implications for Treatment and Disinfection Processes, Elsevier Ltd, 2016. doi:10.1016/bs.aambs.2016.08.001.

- [24] Q. Chai, A. Hu, Y. Qian, X. Ao, W. Liu, H. Yang, Y.F. Xie, A comparison of genotoxicity change in reclaimed wastewater from different disinfection processes, *Chemosphere*. 191 (2018) 335–341. doi:10.1016/j.chemosphere.2017.10.024.
- [25] R. Gehr, M. Wagner, P. Veerasubramanian, P. Payment, Disinfection efficiency of peracetic acid, UV and ozone after enhanced primary treatment of municipal wastewater, *Water Res.* 37 (2003) 4573–4586. doi:10.1016/S0043-1354(03)00394-4.
- [26] S.G. Zimmermann, M. Wittenwiler, J. Hollender, M. Krauss, C. Ort, H. Siegrist, U. von Gunten, Kinetic assessment and modeling of an ozonation step for full-scale municipal wastewater treatment: Micropollutant oxidation, by-product formation and disinfection, *Water Res.* 45 (2011) 605–617. doi:10.1016/j.watres.2010.07.080.
- [27] D. Nasuhoglu, S. Isazadeh, P. Westlund, S. Neamatallah, V. Yargeau, Chemical, microbial and toxicological assessment of wastewater treatment plant effluents during disinfection by ozonation, *Chem. Eng. J.* 346 (2018) 466–476. doi:10.1016/j.cej.2018.04.037.
- [28] J. Wiszniewski, D. Robert, J. Surmacz-Gorska, K. Miksch, J. V. Weber, Landfill leachate treatment methods: A review, *Environ. Chem. Lett.* 4 (2006) 51–61. doi:10.1007/s10311-005-0016-z.
- [29] P. Guerra, M. Kim, A. Shah, M. Alaei, S.A. Smyth, Occurrence and fate of antibiotic, analgesic/anti-inflammatory, and antifungal compounds in five wastewater treatment processes, *Sci. Total Environ.* 473–474 (2014) 235–243. doi:10.1016/j.scitotenv.2013.12.008.
- [30] V.S. Thomaidi, A.S. Stasinakis, V.L. Borova, N.S. Thomaidis, Assessing the

risk associated with the presence of emerging organic contaminants in sludge-amended soil: A country-level analysis, *Sci. Total Environ.* 548–549 (2016) 280–288. doi:10.1016/j.scitotenv.2016.01.043.

- [31] L. Gonzalez-Gil, D. Krah, A.K. Ghattas, M. Carballa, A. Wick, L. Helmholz, J.M. Lema, T.A. Ternes, Biotransformation of organic micropollutants by anaerobic sludge enzymes, *Water Res.* 152 (2019) 202–214. doi:10.1016/j.watres.2018.12.064.
- [32] C. Schoeman, M. Dlamini, O.J. Okonkwo, The impact of a Wastewater Treatment Works in Southern Gauteng, South Africa on efavirenz and nevirapine discharges into the aquatic environment, *Emerg. Contam.* 3 (2017) 95–106. doi:10.1016/j.emcon.2017.09.001.
- [33] A. Shraim, A. Diab, A. Alsuhaime, E. Niazy, M. Metwally, M. Amad, S. Sioud, A. Dawoud, Analysis of some pharmaceuticals in municipal wastewater of Almadinah Almunawarah, *Arab. J. Chem.* 10 (2017) S719–S729. doi:10.1016/j.arabjc.2012.11.014.
- [34] O.A. Abafe, J. Späth, J. Fick, S. Jansson, C. Buckley, A. Stark, B. Pietruschka, B.S. Martincigh, LC-MS/MS determination of antiretroviral drugs in influents and effluents from wastewater treatment plants in KwaZulu-Natal, South Africa, *Chemosphere.* 200 (2018) 660–670. doi:10.1016/j.chemosphere.2018.02.105.
- [35] L.M. Madikizela, N.T. Tavengwa, L. Chimuka, Status of pharmaceuticals in African water bodies: Occurrence, removal and analytical methods, *J. Environ. Manage.* 193 (2017) 211–220. doi:10.1016/j.jenvman.2017.02.022.
- [36] R. Mirzaei, M. Yunesian, S. Nasser, M. Gholami, E. Jalilzadeh, S. Shoeibi, H.S. Bidshahi, A. Mesdaghinia, An optimized SPE-LC-MS / MS method for antibiotics residue analysis in ground , surface and treated water samples by response surface methodology- central composite design, (2017) 1–16. doi:10.1186/s40201-017-0282-2.

- [37] J.B. Arsand, R.B. Hoff, L. Jank, A. Dallegrave, C. Galeazzi, F. Barreto, T.M. Pizzolato, Wide-Scope Determination of Pharmaceuticals and Pesticides in Water Samples: Qualitative and Confirmatory Screening Method Using LC-qTOF-MS, *Water. Air. Soil Pollut.* 229 (2018). doi:10.1007/s11270-018-4036-2.
- [38] C. Hao, P.A. Helm, D. Morse, E.J. Reiner, Liquid chromatography-tandem mass spectrometry direct injection analysis of organophosphorus flame retardants in Ontario surface water and wastewater effluent, *Chemosphere.* 191 (2018) 288–295. doi:10.1016/j.chemosphere.2017.10.060.
- [39] R. Wang, F. Feng, Y. Chai, X. Meng, Q. Sui, M. Chen, Y. Wei, K. Qi, Screening and quantitation of residual antibiotics in two different swine wastewater treatment systems during warm and cold seasons, *Sci. Total Environ.* 660 (2019) 1542–1554. doi:10.1016/j.scitotenv.2019.01.127.
- [40] W.L. Chen, J.Y. Cheng, X.Q. Lin, Systematic screening and identification of the chlorinated transformation products of aromatic pharmaceuticals and personal care products using high-resolution mass spectrometry, *Sci. Total Environ.* 637–638 (2018) 253–263. doi:10.1016/j.scitotenv.2018.05.011.
- [41] I. Pugajeva, J. Rusko, I. Perkons, E. Lundanes, V. Bartkevics, Determination of pharmaceutical residues in wastewater using high performance liquid chromatography coupled to quadrupole-Orbitrap mass spectrometry, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 133 (2017) 64–74. doi:10.1016/j.jpba.2016.11.008.
- [42] M. Chiarello, L. Minetto, S.V.D. Giustina, L.L. Beal, S. Moura, Popular pharmaceutical residues in hospital wastewater: quantification and qualification of degradation products by mass spectroscopy after treatment with membrane bioreactor, *Environ. Sci. Pollut. Res.* 23 (2016) 16079–16089. doi:10.1007/s11356-016-6766-2.
- [43] F. Wode, P. van Baar, U. Dünnbier, F. Hecht, T. Taute, M. Jekel, T. Reemtsma, Search for over 2000 current and legacy micropollutants on a

- wastewater infiltration site with a UPLC-high resolution MS target screening method., *Water Res.* 69 (2015) 274–283. doi:10.1016/j.watres.2014.11.034.
- [44] R. Bade, L. Bijlsma, T.H. Miller, L.P. Barron, J.V. Sancho, F. Hernández, Suspect screening of large numbers of emerging contaminants in environmental waters using artificial neural networks for chromatographic retention time prediction and high resolution mass spectrometry data analysis, *Sci. Total Environ.* 538 (2015) 934–941. doi:10.1016/j.scitotenv.2015.08.078.
- [45] Z. Tousova, J. Froment, P. Oswald, J. Slobodník, K. Hilscherova, K. V. Thomas, K.E. Tollefsen, M. Reid, K. Langford, L. Blaha, Identification of algal growth inhibitors in treated waste water using effect-directed analysis based on non-target screening techniques, *J. Hazard. Mater.* 358 (2018) 494–502. doi:10.1016/j.jhazmat.2018.05.031.
- [46] M. Llorca, D. Lucas, L. Ferrando-Climent, M. Badia-Fabregat, C. Cruz-Morató, D. Barceló, S. Rodríguez-Mozaz, Suspect screening of emerging pollutants and their major transformation products in wastewaters treated with fungi by liquid chromatography coupled to a high resolution mass spectrometry., *J. Chromatogr. A.* 1439 (2016) 124–136. doi:10.1016/j.chroma.2015.10.077.
- [47] J.R. Masoner, D.W. Kolpin, E.T. Furlong, I.M. Cozzarelli, J.L. Gray, E.A. Schwab, Contaminants of emerging concern in fresh leachate from landfills in the conterminous United States, *Environ. Sci. Process. Impacts.* (2014). doi:10.1039/c4em00124a.
- [48] X. Gu, G. Yu, Z. Qiu, X. Cao, Q. Sui, W. Zhao, S. Lu, Pharmaceuticals and personal care products in the leachates from a typical landfill reservoir of municipal solid waste in Shanghai, China: Occurrence and removal by a full-scale membrane bioreactor, *J. Hazard. Mater.* 323 (2016) 99–108. doi:10.1016/j.jhazmat.2016.03.047.

- [49] Y. Picó, D. Barceló, Transformation products of emerging contaminants in the environment and high-resolution mass spectrometry: A new horizon, *Anal. Bioanal. Chem.* 407 (2015) 6257–6273. doi:10.1007/s00216-015-8739-6.
- [50] F.J. Santos, M.T. Galceran, Modern developments in gas chromatography-mass spectrometry-based environmental analysis., *J. Chromatogr. A.* 1000 (2003) 125–51. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12877169>.
- [51] M. Ibáñez, V. Borova, C. Boix, R. Aalizadeh, R. Bade, N.S. Thomaidis, F. Hernández, UHPLC-QTOF MS screening of pharmaceuticals and their metabolites in treated wastewater samples from Athens, *J. Hazard. Mater.* 323 (2017) 26–35. doi:10.1016/j.jhazmat.2016.03.078.
- [52] V.L. Borova, P. Gago-Ferrero, C. Pistos, N.S. Thomaidis, Multi-residue determination of 10 selected new psychoactive substances in wastewater samples by liquid chromatography-tandem mass spectrometry, *Talanta.* 144 (2015) 592–603. doi:10.1016/j.talanta.2015.06.080.
- [53] P. Gago-Ferrero, E.L. Schymanski, A.A. Bletsou, R. Aalizadeh, J. Hollender, N.S. Thomaidis, Extended Suspect and Non-Target Strategies to Characterize Emerging Polar Organic Contaminants in Raw Wastewater with LC-HRMS/MS, *Environ. Sci. Technol.* 49 (2015) 12333–12341. doi:10.1021/acs.est.5b03454.
- [54] K.P. Jewell, J.T. Wilson, Water level monitoring pressure transducers : a need for industry-wide standards, *Ground Water Monit. Remediat.* 31 (2016) 82–94. doi:10.1111/j1745.
- [55] T. Eggen, M. Moeder, A. Arukwe, Municipal landfill leachates: A significant source for new and emerging pollutants, *Sci. Total Environ.* 408 (2010) 5147–5157. doi:10.1016/j.scitotenv.2010.07.049.
- [56] A. Ramakrishnan, L. Blaney, J. Kao, R.D. Tyagi, T.C. Zhang, R.Y. Surampalli, Emerging contaminants in landfill leachate and their sustainable

- management, *Environ. Earth Sci.* 73 (2015) 1357–1368. doi:10.1007/s12665-014-3489-x.
- [57] P. Kjeldsen, M.A. Barlaz, A.P. Rooker, A. Baun, A. Ledin, T.H. Christensen, Present and long-term composition of MSW landfill leachate: A review, *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* 32 (2002) 297–336. doi:10.1080/10643380290813462.
- [58] X. Peng, W. Ou, C. Wang, Z. Wang, Q. Huang, J. Jin, J. Tan, Occurrence and ecological potential of pharmaceuticals and personal care products in groundwater and reservoirs in the vicinity of municipal landfills in China, *Sci. Total Environ.* 490 (2014) 889–898. doi:10.1016/j.scitotenv.2014.05.068.
- [59] F. Hernández, M. Ibáñez, T. Portolés, M.I. Cervera, J. V. Sancho, F.J. López, Advancing towards universal screening for organic pollutants in waters, *J. Hazard. Mater.* 282 (2015) 86–95. doi:10.1016/j.jhazmat.2014.08.006.
- [60] M. Krauss, H. Singer, J. Hollender, LC-high resolution MS in environmental analysis: from target screening to the identification of unknowns., *Anal. Bioanal. Chem.* 397 (2010) 943–51. doi:10.1007/s00216-010-3608-9.
- [61] E.L. Schymanski, H.P. Singer, P. Longrée, M. Loos, M. Ruff, M.A. Stravs, C. Ripollés Vidal, J. Hollender, Strategies to characterize polar organic contamination in wastewater: Exploring the capability of high resolution mass spectrometry, *Environ. Sci. Technol.* 48 (2014) 1811–1818. doi:10.1021/es4044374.
- [62] E.L. Schymanski, J. Jeon, R. Gulde, K. Fenner, M. Ruff, H.P. Singer, J. Hollender, Identifying small molecules via high resolution mass spectrometry: Communicating confidence, *Environ. Sci. Technol.* 48 (2014) 2097–2098. doi:10.1021/es5002105.
- [63] S.D. Richardson, T.A. Ternes, Water Analysis: Emerging Contaminants and Current Issues, *Anal. Chem.* 90 (2018) 398–428.

doi:10.1021/acs.analchem.7b04577.

- [64] A.R. Fernandez-Alba, TOF-MS within Food and Environmental Analysis, in: *Compr. Anal. Chem.* (Vol 58), 2012.
- [65] V. Leendert, H. Van Langenhove, K. Demeestere, Trends in liquid chromatography coupled to high-resolution mass spectrometry for multi-residue analysis of organic micropollutants in aquatic environments, *TrAC - Trends Anal. Chem.* 67 (2015) 192–208. doi:10.1016/j.trac.2015.01.010.
- [66] Νικόλαος Θωμαΐδης, "Φασματομετρία Μαζών", Μέρος Α, Διαλέξεις μαθήματος "Φασματομετρικές Τεχνικές" του Μεταπτυχιακού Προγράμματος "Χημική ανάλυση - Έλεγχος ποιότητας", του Τμήματος Χημείας, ΕΚΠΑ
- [67] Νικόλαος Θωμαΐδης, "Φασματομετρία Μαζών", Μέρος Β, Διαλέξεις μαθήματος "Φασματομετρικές Τεχνικές" του Μεταπτυχιακού Προγράμματος "Χημική ανάλυση - Έλεγχος ποιότητας", του Τμήματος Χημείας, ΕΚΠΑ