



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ  
Δ.Π.Μ.Σ. «ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ ΚΑΙ ΑΓΡΟΔΙΑΤΡΟΦΗ»

Προσδιορισμός αναδυόμενων οργανικών  
ρύπων σε ιλύ βιολογικού καθαρισμού και  
απομάκρυνση τους με υδροθερμική  
κατεργασία

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ  
ΝΑΣΤΟΠΟΥΛΟΥ ΑΜΑΛΙΑ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2022



UNIVERSITY OF IOANNINA

Interdepartmental Program of Graduate studies "Environment and rural dietary"

# Determination of emerging organic pollutants in sewage sludge and their removal degree by hydrothermal treatment

MASTER THESIS  
NASTOPOULOU AMALIA

IOANNINA 2022

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ  
Δ.Π.Μ.Σ. «ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ ΚΑΙ ΑΓΡΟΔΙΑΤΡΟΦΗ»

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΔΙΑΤΜΗΜΑΤΙΚΩΝ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ ΤΜΗΜΑΤΩΝ ΧΗΜΕΙΑΣ, ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ  
ΕΦΑΡΜΟΓΩΝ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΩΝ, ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΤΟΥ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ  
« ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ ΚΑΙ ΑΓΡΟΔΙΑΤΡΟΦΗ»

Προσδιορισμός αναδυόμενων οργανικών  
ρύπων σε ιλύ βιολογικού καθαρισμού και  
απομάκρυνση τους με υδροθερμική  
κατεργασία

**ΝΑΣΤΟΠΟΥΛΟΥ ΑΜΑΛΙΑ**  
**ΜΗΧΑΝΙΚΟΣ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ**

**ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ**

1. Κωνσταντίνου Ιωάννης (επιβλέπων): Καθηγητής, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων
2. Αλμπάνης Τριαντάφυλλος, Καθηγητής, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων
3. Πατακιούτας Γεώργιος, Αναπληρωτής Καθηγητής, Τμήμα Γεωπονίας, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων

**ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2022**

## Πρόλογος

Η παρούσα Διπλωματική Εργασία εκπονήθηκε τα πλαίσια του Διατμηματικού Προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών «Περιβάλλον και Αγροδιατροφή» του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων και η εκπόνηση των πειραμάτων διεξήχθη στο εργαστήριο «Βιομηχανικής Χημείας» του τμήματος Χημείας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.

Στο σημείο αυτό, καθώς ολοκληρώθηκε η παρούσα μεταπτυχιακή διατριβή, θα ήθελα να ευχαριστήσω τους ανθρώπους που με το δικό τους τρόπο με στήριξαν σε όλη αυτήν την πορεία. Πιο συγκεκριμένα, οφείλω να εκφράσω τις θερμές μου ευχαριστίες, προς τον επιβλέποντα της εργασίας, τον Καθηγητή του Τμήματος Χημείας, κ. Ιωάννη Κωνσταντίνου, επιβλέποντα της μεταπτυχιακής μου διατριβής για την πολύτιμη καθοδήγηση, εμπιστοσύνη, υποστήριξή του και την πολύτιμη βοήθεια που προσέφερε σε κάθε στάδιο εκπόνησης της εργασίας μου.

Τα μέλη της τριμελούς εξεταστικής επιτροπής κ. Κωνσταντίνου Ιωάννη, κ. Αλμπάνη Τριαντάφυλλο και κ. Πατακιούτα Γεώργιο για την αποδοχή να αξιολογήσουν τη Μεταπτυχιακή μου Διατριβή, το χρόνο που αφιέρωσαν και τις χρήσιμες συμβουλές και παρατηρήσεις τους κατά τη διόρθωση της διπλωματικής εργασίας

Την Δρ. Χριστίνα Κοσμά για την συμβολή της και τη βοήθειά της στην χρήση του συστήματος υγρής χρωματογραφίας – υπερ-ψηλής πίεσης UHPLC-MS/MS-LTQ ORBITRAP.

Την συνάδελφο και υποψήφια Διδάκτορα του Τμήματος Χημείας Κλεοπάτρα Μισερλή για την εκμάθηση και τη συνεργασία μας στην τεχνική εκχύλισης Quecher's και για όλη τη βοήθεια και στήριξη που μου έδωσε απλόχερα.

Όλα τα παιδιά του εργαστηρίου «Βιομηχανικής Χημείας» του Τμήματος Χημείας Μπαϊράμη Φειδία, Ράπτη Ιλάιρα, Κολόκα Ράνια, Μανώλη Νότα, Λύκο Χρήστο, και Μάνο Δονάτο, Γιώργο Καλογήρου και Σωτήρη Σιούλα για την συνεργασία μας και για το φιλικό κλίμα που αναπτύχθηκε μεταξύ μας καθ' όλη τη διάρκεια της φοίτησής μου στο μεταπτυχιακό πρόγραμμα σπουδών.

Ναστοπούλου Αμαλία

Ιωάννινα

Δεκέμβριος 2022

## Περίληψη

Η ρύπανση από χιλιάδες χημικές ενώσεις ανθρωπογενούς ή φυσικής προέλευσης στο περιβάλλον δημιουργεί σημαντικά οικολογικά προβλήματα και συνιστά θέμα αυξανόμενης ανησυχίας σε όλο σχεδόν τον κόσμο. Πληθώρα αναδυόμενων ρύπωνέχουν κάνει την εμφάνισή τους την τελευταία δεκαετία και έχουν προσδιοριστεί στο περιβάλλον. Κατηγορίες ενώσεων όπως τα φυτοφάρμακα, οι φθαλικοί εστέρες και τα οργανοφωσφορικά επιβραδυντικά φλόγας μπορούν να καταλήξουν στο περιβάλλον κυρίως μέσω των αποχετευτικών συστημάτων στις μονάδες επεξεργασίας αποβλήτων και στη συνέχεια σε υδάτινους αποδέκτες με αποτέλεσμα να αποτελούν ρύπους του υδάτινου οικοσυστήματος.

Η παρούσα μεταπτυχιακή εργασία έχει ως στόχο την ανάπτυξη και την επικύρωση μιας αναλυτικής μεθόδου για τον ταυτόχρονο προσδιορισμό ενώσεων φυτοφαρμάκων, φθαλικών εστέρων και οργανοφωσφορικών επιβραδυντικών φλόγας σε δείγματα λυματολάσπης και παράλληλα η εφαρμογή της υδροθερμικής επεξεργασίας της λυματολάσπης για τον προσδιορισμό του ποσοστού απομάκρυνσης των υπολειμμάτων των ουσιών από αυτή. Για την εκχύλιση των ενώσεων από το υπόστρωμα λυματολάσπης εφαρμόστηκε η τεχνική εκχύλισης Quechers ενώ παράλληλα ο προσδιορισμός των ενώσεων πραγματοποιήθηκε με σύστημα υγρής χρωματογραφίας υπέρ-υψηλής πίεσης συζευγμένης με φασματομετρία μάζας υψηλής διακριτικής ικανότητας και συγκεκριμένα με τον υβριδικό αναλυτή μαζών LTQ/Orbitrap MS. Η μέθοδος επικυρώθηκε τόσο στο υπόστρωμα της λυματολάσπης όσο και στο υπόστρωμα του υδροεξανθρακώματος ως προς τους όρους της γραμμικότητας, ανάκτησης, αποτελεσματικότητας, επαναληψιμότητας, ορίων ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης και επίδρασης του υποστρώματος.

Η υδροθερμική κατεργασία σε συγκεκριμένες συνθήκες πραγματοποιήθηκε για τον υπολογισμό της επί τοις εκατό απομάκρυνσης του συνόλου των ενώσεων. Τέλος, η μέθοδος Quechers εφαρμόστηκε σε πραγματικά δείγματα λυματολάσπης και υδροεξανθρακώματος για την ανίχνευση, τον προσδιορισμό των ενώσεων και τον υπολογισμό του ποσοστού απομάκρυνσής τους από τα δύο υποστρώματα.

**Λέξεις-Κλειδιά:** φυτοφάρμακα, φθαλικοί εστέρες, οργανοφωσφορικά επιβραδυντικά φλόγας, ενεργός ιλύς, υδροθερμική επεξεργασία, υδροεξανθράκωμα, LC-MS/MS, εκχύλιση Quechers

## Summary

Pollution from thousands of man-made or naturally occurring chemical compounds in the environment creates major ecological problems and is a matter of growing concern almost everywhere in the world. A plethora of emerging pollutants have emerged in the last decade and have been identified in the environment. Classes of compounds such as pesticides, phthalates and organophosphate flame retardants can end up in the environment mainly through sewage systems in waste treatment plants and subsequently in aquatic environment, thus becoming pollutants of the aquatic ecosystem.

The aim of this present postgraduate thesis is to develop and validate an analytical method for the simultaneous determination of pesticide compounds, phthalates and organophosphate flame retardants compounds in sewage sludge samples and in parallel the application of hydrothermal treatment of sewage sludge to determine the rate of removal of residues of the substances from it. For the extraction of compounds from the sewage sludge substrate, the Quechers extraction technique was applied while the determination of compounds was carried out with an ultra-high pressure liquid chromatography system coupled with high resolution mass spectrometry and specifically with the LTQ/Orbitrap MS hybrid mass analyzer. The method was validated on both the sewage sludge substrate and the hydrochar substrate as well in terms of linearity, recovery, efficiency, repeatability, limits of detection and quantification and matrix effect. The hydrothermal treatment was carried out at specified conditions to calculate the percent removal of all compounds. Finally, the Quechers method was applied to real samples of sewage sludge and hydrochar as well to detect, identify the compounds and calculate their removal percentage from the two substrates.

**Keywords:** pesticides, phthalates, organophosphate flame retardants sewage sludge, hydrothermal treatment, hydrochar, LC-MS/MS, Quechersextraction

## Περιεχόμενα

Περίληψη .....	5
Summary .....	6

## I. Θεωρητικό Μέρος

### Κεφάλαιο 1

#### Οι αναδυόμενοι οργανικοί ρύποι στο περιβάλλον

1.1 Εισαγωγή .....	13
1.2 Είσοδος και συμπεριφορά των οργανικών ρύπων στο περιβάλλον .....	15
1.3. Κατηγορίες οργανικών ρύπων με σημαντική παρουσία στην λυματολάσπη	
I. Φυτοφάρμακα .....	17
II. Φθαλικοί εστέρες .....	25
III. Οργανοφωσφορικά επιβραδυντικά φλόγας (OPFRs) .....	27

### Κεφάλαιο 2

#### Μέθοδοι και Στάδια Επεξεργασίας Αποβλήτων

2.1 Μέθοδοι και στάδια επεξεργασίας αποβλήτων στις μονάδες βιολογικού καθαρισμού .....	34
I. Πρωτοβάθμια επεξεργασία ή μηχανικός καθαρισμός.....	34
II. Δευτεροβάθμια επεξεργασία ή βιολογικός καθαρισμός.....	35
III. Τριτοβάθμια επεξεργασία ή χημικός καθαρισμός .....	36
2.2 Ιλύς βιολογικών καθαρισμών (Λυματολάσπη) .....	37
2.2.1 Κατηγορίες ιλύος .....	38
2.2.3. Σύσταση της ιλύος .....	41
2.2.4 Ποιοτικά χαρακτηριστικά ιλύος .....	43
2.3 Επεξεργασία ιλύος .....	45
2.4 Εφαρμογές και μέθοδοι διαχείρισης της ιλύος .....	53

### Κεφάλαιο 3

#### Υδροθερμική επεξεργασία λυματολάσπης

3.1. Εισαγωγή .....	56
3.2 Παράμετροι που επηρεάζουν την Υδροθερμική Ανθρακοποίηση .....	58
3.3 Υδροεξανθράκωμα .....	62
3.4 Εφαρμογές Υδροθερμικής Ανθρακοποίησης.....	64

### Κεφάλαιο 4

#### Τεχνικές εκχύλισης και ανάλυσης μικρορύπων από περιβαλλοντικά υποστρώματα

4.1 Εισαγωγή .....	66
4.2 Προκατεργασία δείγματος .....	67
4.3 Τεχνικές εκχύλισης δείγματος.....	68

4.3.1 Εκχύλιση στερεού – υγρού (εκχύλιση Soxhlet) .....	69
4.3.2 Εκχύλιση στερεάς φάσης (Solid-phase extraction (SPE)) .....	70
4.3.3 Εκχύλιση με χρήση υγρών διαλυτών υπό πίεση (Pressurized Liquid Extraction, PLE) .....	71
4.3.4 Εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα (Microwave-assisted extraction, MAE) .....	71
4.3.5 Μικροεκχύλιση Στερεάς Φάσης (Solid phase microextraction, SPME) .....	71
4.3.6 Εκχύλιση υποβοηθούμενη με υπέρηχους (Ultrasound-assisted extraction) .....	72
4.3.7 Εκχύλιση με διασπορά του υποστρώματος σε στερεά φάση (MSPD) .....	73
4.3.8 Εκχύλιση QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe) .....	74
4.4 Τεχνικές ανάλυσης ρύπων σε ιλύ λυμάτων .....	79
4.4.1 Ιοντισμός με ηλεκτροψεκασμό (Electrospray Ionization, ESI) .....	81
4.4.2 Υβριδικός αναλυτής Orbitrap .....	82
<b>II. Σκοπός και Αντικείμενο της Έρευνας .....</b>	<b>84</b>

### III. Πειραματικό Μέρος

#### Κεφάλαιο 5

##### 5.1 Πρότυπες ενώσεις – Διαλύτες – Αντιδραστήρια – Αέρια – Υλικά

5.1.1 Πρότυπες Οργανικές ενώσεις .....	86
5.1.2 Διαλύτες .....	86
5.1.3 Αντιδραστήρια.....	86
5.1.4 Αέρια.....	87
5.1.5 Υλικά .....	87
5.2 Σκεύη – Συσκευές – Αναλυτικά όργανα .....	87
5.2.1 Σκεύη .....	87
5.2.2 Συσκευές.....	87
5.2.3 Αναλυτικά όργανα.....	88



## Κεφάλαιο 6

### Πειραματική Διαδικασία προσδιορισμού αναδύμενων οργανικών ρύπων σε υπόστρωμα λυματολάσπης

6.1 Παρασκευή πρότυπων διαλυμάτων .....	88
6.2 Δειγματοληψία και Προ-κατεργασία της λυματολάσπης	
6.2.1 Δειγματοληψία της λυματολάσπης .....	89
6.2.2 Προ-κατεργασία του δείγματος .....	89
6.3. Εκχύλιση με τη μέθοδο QuEChERS αναδύμενων οργανικών ρύπων από υπόστρωμα λυματολάσπης.....	90
6. 4. Πειραματική διαδικασία υδροθερμικής ανθρακοποίησης (HTC)	
6.4.1 Σχεδιασμός και εκτέλεση υδροθερμικής ανθρακοποίησης .....	93
6.4 Χρωματογραφικές συνθήκες και επικύρωση μεθόδου	
6.4.1 Σύστημα υγρής χρωματογραφίας υπερυψηλής πίεσης UHPLC (LTQ) Orbitrap.....	95

## Κεφάλαιο 7

7.1 Επικύρωση μεθόδου .....	97
7.2 Επίδραση του υποστρώματος.....	99

## IV. Αποτελέσματα – Συζήτηση

### Κεφάλαιο 8

8.1 Εισαγωγή .....	100
Επικύρωση μεθόδου για τον προσδιορισμό αναδύμενων μικρορύπων στη λυματολάσπη	
8.2 Αναλυτικά χαρακτηριστικά της μεθόδου QuEChERS.....	100
8.3 Επίδραση του υποστρώματος.....	106
Υδροθερμική κατεργασία λυματολάσπης για την απομάκρυνση υπολειμμάτων αναδύμενων μικρορύπων.....	108

### Κεφάλαιο 9

Συμπεράσματα.....	110
-------------------	-----

### Κεφάλαιο 10

#### Βιβλιογραφία

Ξενόγλωσση βιβλιογραφία .....	112
Ελληνική Βιβλιογραφία.....	119

## Περιεχόμενα εικόνων

Εικόνα 1.1: Μονοπάτια μεταφοράς και αποδόμησης οργανικών ρύπων στο έδαφος .....	17
Εικόνα 1.2: Η κίνηση των OCPs από τις θερμές στις ψυχρότερες περιοχές (The Grasshopper effect).....	19
Εικόνα 1.3: Οι δύο τύποι πυρεθροειδών σύμφωνα με τη γενική τους δομή.....	21
Εικόνα 1.4: Ζιζανιοκτόνα τριαζίνης που βρέθηκαν στα υπόγεια ύδατα σε χώρες της Ευρώπης σε τουλάχιστον μία περίπτωση δειγματοληψίας μεταξύ 2003 και 2007, σε συγκεντρώσεις μεγαλύτερες από 0,1 µg/L .....	24
Εικόνα 1.5: Γενική δομή των φθαλικών ενώσεων, όπου R και R' είναι ομάδες αλκυλίου (συνήθως με 4, 8, 9, ή 10 άτομα άνθρακα) ή ομάδες αρυλίου .....	26
Εικόνα 2.1: Διάγραμμα ροής ΜΕΥΑ ενεργού ιλύος, με όλα τα στάδια επεξεργασίας λυμάτων.....	36
Εικόνα 2.2: Οι τέσσερις τύποι νερού στην ιλύ .....	41
Εικόνα 3.1: Διάγραμμα φάσεων του νερού στα 25 MPa σε συνάρτηση με τη θερμοκρασία (SCW: υπερκρίσιμο νερό) .....	59
Εικόνα 3.2: Εικόνες ηλεκτρονιακής μικροσκοπίας SEM (α) λυματολάσπης, (β) παραγόμενο υδροεξανθράκωμα στους 180 °C, (γ) 215 °C, (δ) 250 °C.....	64
Εικόνα 4.1: Σχηματική απεικόνιση του αναλυτή LTQ Orbitrap.....	83
Εικόνα 4.2: Σχηματική απεικόνιση του τροχιακού αναλυτή μάζας Orbitrap .....	84
Εικόνα 6.1:Εργαστηριακά κόσκινα των 500 και 250 µm που χρησιμοποιήθηκαν για την κατανομή μεγέθους σωματιδίων των δειγμάτων ιλύος που αναλύθηκαν .....	90
Εικόνα 6.2: Πειραματική διάταξη υδροθερμικής ανθρακοποίησης λυματολάσπης: (α) μεταλλικός αντιδραστήρας - αυτόκλειστο, (β) κεφαλή, (γ) κυλινδρικό θερμαντικό σώμα που περιέχει το αυτόκλειστο, (δ) ηλεκτρονικός ρυθμιστής θερμοκρασίας και λειτουργίας .....	93
Εικόνα 6.3: (α) σωματίδια λυματολάσπης πριν την υδροθερμική κατεργασία και (β) σωματίδια υδροεξανθρακώματος εκπλυμένων με νερό.....	94
Εικόνα 8.1: Χρωματογράφημα επιλεγμένων ιόντων UHPLC/LTQ-Orbitrap εκχυλισμένου προτύπου μίγματος λυματολάσπης (500 µg/L) φυτοφαρμάκων .....	105
Εικόνα 8.2: Χρωματογράφημα επιλεγμένων ιόντων UHPLC/LTQ-Orbitrap εκχυλισμένου προτύπου μίγματος λυματολάσπης (500 µg/L) οργανοφωσφορικών επιβραδυντικών φλόγας (OPFRs) .....	105
Εικόνα 8.3: Χρωματογράφημα επιλεγμένων ιόντων UHPLC/LTQ-Orbitrap εκχυλισμένου προτύπου μίγματος λυματολάσπης (500 µg/L) φθαλικών εστέρων .....	106

## Περιεχόμενα σχημάτων

Σχήμα 2.1: Πηγές και τύποι λύων .....	41
Σχήμα 3.1: Διάγραμμα φάσεων υδροθερμικών διεργασιών .....	57
Σχήμα 3.2: Μηχανισμός αντιδράσεων σχηματισμού υδροξυανθρακώματος από αλυματολάσπη κατά τη διάρκεια υδροθερμικής ανθρακοποίησης (HTC) .....	63
Σχήμα 4.1: Βασικά βήματα αναλυτικής διαδικασίας για τον προσδιορισμό αναδυόμενων ρύπων σε λυματολάσπη .....	69
Σχήμα 4.2: Σχηματική αναπαράσταση εκχύλισης στερεής φάσης (SPE) .....	70
Σχήμα 4.3: Σχηματική απεικόνιση της μικροεκχύλισης στερεάς φάσης (SPME) .....	72
Σχήμα 4.4: Σχηματική απεικόνιση της αρχής της σπηλαίωσης υπερήχων. Οι φυσαλίδες μεγαλώνουν λόγω της εξάτμισης και τελικά φτάνουν σε κρίσιμο μέγεθος όταν μεγαλώνουν γρήγορα και έπειτα καταρρέουν βίαια .....	73
Σχήμα 4.5: Στάδια της εκχύλισης με διασπορά του υποστρώματος σε στερεά φάση (MSPD) .....	74
Σχήμα 4.6: Βήματα της μεθόδου εκχύλισης QuEChERS .....	76
Σχήμα 4.7: Σχηματική απεικόνιση των τριών κύριων εκδοχών της μεθόδου QuEChERS (Original QuEChERS Method, AOAC Official Method 2007.01, CEN Standard Method EN 15662) .....	78
Σχήμα 4.8: Κύρια τμήματα ενός φασματογράφου μάζας .....	81
Σχήμα 6.1: Πρωτόκολλο εκχύλισης QuEChERS σε λυματολάσπη .....	92
Σχήμα 8.1: Επίδραση υποστρώματος (%) για τις ενώσεις φυτοφαρμάκων .....	107
Σχήμα 8.2: Επίδραση υποστρώματος (%) για τις ενώσεις φθαλικών εστέρων .....	107
Σχήμα 8.3: Επίδραση υποστρώματος (%) για τις ενώσεις οργανοφωσφορικών επιβραδυντικών φλόγας .....	108

## Περιεχόμενα πινάκων

Πίνακας 1.1: Ιδιότητες των επιλεγμένων φυτοφαρμάκων που επιλέχθηκαν να μελετηθούν στην παρούσα διατριβή .....	28
Πίνακας 1.2: Ιδιότητες των επιλεγμένων φθαλικών εστέρων που επιλέχθηκαν να μελετηθούν στην παρούσα διατριβή .....	31
Πίνακας 1.3: Ιδιότητες των επιλεγμένων οργανοφωσφορικών επιβραδυντικών φλόγας που επιλέχθηκαν να μελετηθούν στην παρούσα διατριβή .....	33
Πίνακας 2.1: Αναλυτική περιγραφή των θερμοχημικών τεχνολογιών αξιοποίησης λυματολάσπης (Hu et al., 2021) .....	54
Πίνακας 4.1: Πλεονεκτήματα – μειονεκτήματα χρήσης αναλυτή Orbitrap .....	84
Πίνακας 6.1: Πρόγραμμα βαθμωτής έκλουσης για τον θετικό ιοντισμό στο σύστημα UHPLC/LTQ-ORBITRAP .....	95

Πίνακας 6.2: Δεδομένα από την ανάλυση στο σύστημα UHPLC/LTQ-Orbitrap MS/MS για τις ενώσεις φυτοφαρμάκων .....	96
Πίνακας 6.3: Δεδομένα από την ανάλυση στο σύστημα UHPLC/LTQ-Orbitrap MS/MS για τις ενώσεις φθαλικών εστέρων .....	96
Πίνακας 6.4: Δεδομένα από την ανάλυση στο σύστημα UHPLC/LTQ-Orbitrap MS/MS για τις ενώσεις οργανοφωσφορικών επιβραδυντικών φλόγας.....	97
Πίνακας 8.1: Αναλυτικά χαρακτηριστικά επικύρωσης μεθόδου για τον προσδιορισμό των ενώσεων φυτοφαρμάκων σε υπόστρωμα λυματολάσπης.....	102
Πίνακας 8.2: Αναλυτικά χαρακτηριστικά επικύρωσης μεθόδου για τον προσδιορισμό των φθαλικών ενώσεων σε υπόστρωμα λυματολάσπης.....	103
Πίνακας 8.3: Αναλυτικά χαρακτηριστικά επικύρωσης μεθόδου για τον προσδιορισμό των οργανοφωσφορικών επιβραδυντικών φλόγας σε υπόστρωμα λυματολάσπης.....	104
Πίνακας 8.4: Επίπεδα συγκεντρώσεων των μελετώμενων ενώσεων που ανιχνεύθηκαν στη λυματολάσπη. .....	108

# I. Θεωρητικό Μέρος

## Κεφάλαιο 1

### Οι αναδυόμενοι οργανικοί ρύποι στο περιβάλλον

#### 1.1 Εισαγωγή

Η συνεχόμενη αύξηση και κατανάλωση χημικών προϊόντων καθώς και η συνεχόμενη αύξηση ρυπαντών έχει οδηγήσει σε παγκόσμιο επίπεδο στην αύξηση της ρύπανσης, με σημαντικές επιπτώσεις στο οικοσύστημα, στον άνθρωπο και στα έμβια όντα και αποτελεί ένα παγκόσμιο πρόβλημα που εγείρει περιβαλλοντική ανησυχία. Στις σύγχρονες κοινωνίες, η μέση ανθρώπινη δραστηριότητα έχει αυξηθεί, ενώ ο ανθρώπινος πληθυσμός έχει πολλαπλασιαστεί. Ταυτόχρονα, εκτιμάται, ότι η βιομηχανία στις μέρες μας παράγει χιλιάδες διαφορετικά χημικά προϊόντα, με εκτιμώμενη παγκόσμια αξία δισεκατομμυρίων πωλήσεων.

Η ρύπανση από χιλιάδες χημικές ενώσεις ανθρωπογενούς ή φυσικής προέλευσης στο περιβάλλον δημιουργεί σημαντικά οικολογικά προβλήματα και συνιστά θέμα αυξανόμενης ανησυχίας σε όλο σχεδόν τον κόσμο. Λόγω των μικρών συγκεντρώσεων τους οι ρύποι αυτοί συνήθως εμφανίζονται σε ίχνη συγκεντρώσεων που κυμαίνονται από μέρη ανά τρισεκατομμύριο (ppt ή ng/L) ή ακόμη και σε μέρη ανά δισεκατομμύριο (ppb ή μg/L). Οι ενώσεις αυτές αναφέρονται ως «αναδυόμενοι ρύποι» (Rout et.al, 2021) ή ως «μικρορύποι» (micropollutants). Οι Chèvre και Erkman, ορίζουν τους μικρορύπους ως «χημικές ενώσεις που υπάρχουν σε εξαιρετικά χαμηλές συγκεντρώσεις (π.χ. νανο-έως μικρογραμμάρια ανά λίτρο) στο περιβάλλον και οι οποίοι παρά τις χαμηλές συγκεντρώσεις τους, μπορούν να προκαλέσουν δυσμενείς επιπτώσεις στους ζώντες οργανισμούς» (Chèvre and Erkman, 2011).

Πολλές κατηγορίες αναδυόμενων ρύπων προέρχονται κυρίως από το αστικό περιβάλλον και χρησιμοποιούνται καθημερινά. Στις μέρες μας αυξάνονται ολοένα και περισσότερο οι κατηγορίες των αναδυόμενων ρύπων που περιλαμβάνουν ουσίες όπως φυτοφάρμακα, φαρμακευτικές ενώσεις και προϊόντα προσωπικής φροντίδας, αρώματα, πλαστικοποιητές, ορμόνες, επιβραδυντικά φλόγας, νανοσωματίδια, τοξίνες από φύκη, διάφορα ιχνοστοιχεία κ.α. Πολλές από τις ενώσεις αυτές παρακολουθούνται συστηματικά στο περιβάλλον, όπως για παράδειγμα τα πολυχλωριωμένα διφαινύλια (PCBs) λόγω της σημαντικής βιομηχανικής ανάπτυξης και των εφαρμογών που είχαν κατά τη διάρκεια του προηγούμενου αιώνα.

Πολλές ουσίες μπορεί να απελευθερωθούν στο περιβάλλον είτε κατά την επεξεργασία τους είτε κατά τη χρήση τους, ενώ προϊόντα μετασχηματισμού των ουσιών αυτών μπορεί να παρουσιάζουν μια άγνωστη δομή και ιδιότητες. Η τύχη, η συμπεριφορά και οι επιπτώσεις των ρύπων αυτών στο περιβάλλον, έχει αρχίσει να μελετάται σχετικά πρόσφατα αφού ορισμένες από αυτές τις ουσίες απεκκρίνονται μη μεταβολισμένες ή ως δραστικοί μεταβολίτες, οι οποίοι δεν αποδομούνται στις εγκαταστάσεις επεξεργασίας αποβλήτων και εισέρχονται στο περιβάλλον (Lillenberg, 2011, Halling-Sorensen et.al, 1998).

Η ανεξέλεγκτη χρήση και παρουσία στο περιβάλλον των οργανικών ρύπων όπως τα φυτοφάρμακα και οι πλαστικοποιητές αποτελεί ένα φλέγον ζήτημα σήμερα. Η εισαγωγή τους στο περιβάλλον είναι συνάρτηση συνδυασμού πολλών παραγόντων: της ποσότητας που παράγεται, της δοσολογίας (ποσότητα, συχνότητα και διάρκεια), της αποτελεσματικότητας απέκκρισης της μητρικής ένωσης και των μεταβολιτών της, της ικανότητας προσρόφησης / εκρόφησης στο έδαφος και της μεταβολικής αποσύνθεσης στην επεξεργασία των λυμάτων (Buser et.al, 1998) ενώ η απομείωση των μικρορύπων στις εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων εξαρτάται από φυσικές παραμέτρους, όπως η διαλυτότητα, ο συντελεστής κατανομής οκτανόλης – νερού, η σταθερά Henry κ.α..

Στην Ευρωπαϊκή Ένωση οι συνολικές ποσότητες λυματολάσπης υπολογίζονται περίπου στους 10 εκατομμύρια τόνους (ξηρού βάρους – dry weight) σύμφωνα με στοιχεία του 2014 της Ευρωπαϊκής Επιτροπής. Οι Οδηγίες που έχουν θεσπιστεί για την ολοκληρωμένη πρόληψη της Ρύπανσης και Ελέγχου, η πρόληψη των επιβλαβών επιπτώσεων στο έδαφος και στο οικοσύστημα από την υπολειμματική λυματολάσπη και η ανάγκη για την μετέπειτα ορθή επαναχρησιμοποίηση της, έχει παρακινήσει ένα τεράστιο επιστημονικό κοινό να ασχοληθεί για την καλύτερη κατανόηση της τύχης και της συμπεριφοράς των πιο συχνά εμφανιζόμενων οργανικών ρύπων στην λυματολάσπη. Έρευνες ανά τον κόσμο διεξάγονται σε διάφορους τύπους λυματολάσπης για την μελέτη της συμπεριφοράς και της αποδόμησης των ρύπων αυτών. Στην Ελλάδα, πολύ λίγα στοιχεία αφορούν των εμφάνιση των ρύπων στα λύματα, με τις μελέτες να εστιάζονται σε ένα μικρό αριθμό στοχευμένων ενώσεων σε τοπικές περιοχές, χωρίς εκτιμήσεις σχετικά με την αποτελεσματικότητα των μονάδων επεξεργασίας λυμάτων (MEA) (Botitsi et.al, 2007).

Μια σειρά από χημικές ουσίες που χρησιμοποιούνται συχνά είναι οι φυτοπροστατευτικές ενώσεις, οι φθαλικές ενώσεις και τα επιβραδυντικά φλόγας. Οι φθαλικές ενώσεις είναι μέτρια ανθεκτικές και, ως συνέπεια της ευρείας χρήσης τους, είναι από τα πιο άφθονα ανθρωπογενή χημικά στο περιβάλλον (Jobling et al., 1995). Αντιπροσωπεύουν το 69% της χρήσης πλαστικοποιητών στις ΗΠΑ, το 92% στη Δυτική Ευρώπη και το 81% στην Ιαπωνία ενώ συνολικά, αντιπροσωπεύουν το 82% των 2,5 εκατομμυρίων τόνων χρήσης πλαστικοποιητών σε αυτές τις τρεις περιοχές (Bizzari et al., 1996). Τα ζιζανιοκτόνα κατακτούν το μεγαλύτερο μερίδιο στην αγορά φυτοφαρμάκων, ενώ ακολουθούν τα εντομοκτόνα και τα μυκητοκτόνα αντίστοιχα. Στην Ευρωπαϊκή Ένωση υπάρχουν περίπου 500 εγκεκριμένες δραστικές ουσίες και οι πωλήσεις ανέρχονται στους 374000 τόνους με την Ισπανία, τη Γαλλία, την Ιταλία και τη Γερμανία να αντιπροσωπεύουν το 79% των συνολικών πωλήσεων φυτοφαρμάκων για το 2016 (Eurostat, 2016). Στην ελληνική αγορά, το μεγαλύτερο μερίδιο κατακτούν τα εντομοκτόνα με ποσοστό 33%, ακολουθούν τα μυκητοκτόνα με 27% και τα ζιζανιοκτόνα με 24%. Τέλος, τα οργανοφωσφορικά επιβραδυντικά φλόγας (OPFRs) χρησιμοποιήθηκαν, μεταξύ των άλλων ως πλαστικοποιητές ή λιπαντικά, ως αντικατάσταση των βρωμιούχων επιβραδυντικών φλόγας. Τα OPFRs είναι η δεύτερη μεγαλύτερη κατηγορία επιβραδυντικών φλόγας που χρησιμοποιούνται στην Ευρώπη, μετά το τριυδροξείδιο του αργιλίου ( $Al(OH)_3$ ). Στην Ευρώπη, η συνολική κατανάλωση επιβραδυντικών φλόγας το 2015 ήταν περίπου 550.000 τόνοι, εκ των οποίων το 18% ήταν οργανοφωσφορικά επιβραδυντικά φλόγας.

## 1.2 Είσοδος και συμπεριφορά των οργανικών ρύπων στο περιβάλλον

Μεγάλες ποσότητες οργανικών ενώσεων παρασκευάζονται κάθε χρόνο και με την κατανάλωση ή την ακατάλληλη απόρριψή τους καταλήγουν στα λύματα. Συχνά οι εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων δεν μπορούν να απομακρύνουν πλήρως αυτές τις ουσίες με αποτέλεσμα να καταλήγουν πολλά προϊόντα στο περιβάλλον. Οι οργανικοί ρύποι είναι κυρίως ανθρωπογενείς και παράγονται βιομηχανικά. Σήμερα τους συναντάμε σε συστήματα ύδατος, απορροής, στο έδαφος και στα τρόφιμα (Ternan et al., 1998). Υπάρχει αυξανόμενη ανησυχία για τον εντοπισμό και την κατανόηση των μηχανισμών που ελέγχουν την τύχη των χημικών ουσιών που αποτελούν απειλή για οργανισμούς μη στόχους και πηγή περιβαλλοντικής ρύπανσης, ιδιαίτερα των πηγών νερού.

Τα επεξεργασμένα λύματα μπορούν να απορριφθούν σε αποδέκτες όπως τα επιφανειακά ύδατα (π.χ. ποτάμια, λίμνες) ή, κατά προτίμηση από τα τέλη του περασμένου αιώνα σε ορισμένες περιοχές, στα θαλάσσια ύδατα. Κατά συνέπεια, πολλές ενώσεις που βρίσκονται στα λύματα ή/και μεταβολίτες, προϊόντα μετασχηματισμού τους, ανιχνεύονται στα επιφανειακά ύδατα και, προς μεγάλη ανησυχία μπορούν να καταλήξουν στο θαλάσσιο περιβάλλον. Μερικές μόνο ουσίες που βρίσκονται συνήθως στο περιβάλλον σε σημαντικά επίπεδα συγκέντρωσης και ταυτόχρονα αποτελούν απειλή για το περιβάλλον ή/και την ανθρώπινη υγεία καλύπτονται από νομικούς κανόνες. Μεταξύ των μη ρυθμιζόμενων από το νόμο ενώσεων, διακρίνονται ενώσεις που μπορούν να αναμένονται στα λύματα λόγω των σημαντικών εκπομπών τους στο περιβάλλον όπως είναι κυρίως τα φαρμακευτικά προϊόντα. Επιπλέον, τα προϊόντα αποδόμησης και μετατροπής ορισμένων ουσιών στο περιβάλλον μπορεί να έχουν άγνωστη δομή και ιδιότητες. Τα αναδυόμενα προϊόντα μετασχηματισμού ενδέχεται να αποτελούν μεγαλύτερη απειλή για το περιβάλλον (και τους οργανισμούς που ζουν σε αυτό) από τις μητρικές ενώσεις (Garnaga 2012).

Οι ενώσεις αυτές, είναι δυνατόν να προσληφθούν από το ριζικό σύστημα των φυτών και μπορεί να προκαλέσουν μεταξύ άλλων, χλώρωση, μειωμένη συγκέντρωση θρεπτικών συστατικών, μικρή ανάπτυξη του ριζικού συστήματος, νέκρωση των φύλλων και μειωμένη ανάπτυξη των φυτών (Valavanidis, 2018). Ταυτόχρονα επηρεάζουν και το ζωικό οικοσύστημα, καθώς μπορούν να προκαλέσουν σοβαρές βλάβες στους μικρούς ασπόνδυλους οργανισμούς, στους οργανισμούς της υδάτινης τροφικής αλυσίδας καθώς και στον άνθρωπο. Οι επιπτώσεις τους είναι έμμεσες καθώς μπορούν να βιοσυσσωρεύονται μέσω του πεπτικού και αναπνευστικού συστήματος καθώς και όταν έρχονται σε επαφή με τους πόρους του δέρματος (Dong, 2014, Borga, 2013). Ακόμη βιοσυγκεντρώνονται στη χλωρίδα και μέσω της τροφικής αλυσίδας μπορούν να μεταφερθούν και στους ζωικούς οργανισμούς, στα ανώτερα επίπεδα της τροφικής αλυσίδας και στη συνέχεια και στον άνθρωπο. Η βιοσυσσώρευση τους εξαρτάται από διάφορους περιβαλλοντικούς παράγοντες όπως το είδος και η συγκέντρωση του ρύπου και ο χρόνος έκθεσης τους σε αυτόν, αλλά και από βιολογικούς παράγοντες όπως το είδος, το φύλο, η ηλικία, ο ιστός/ το όργανο και ο βιολογικός κύκλος (Borga, 2013).

Η διασπορά οργανικών ρύπων γενικά διέπεται από διαφορετικές φυσικές, χημικές και βιολογικές διεργασίες, συμπεριλαμβανομένης της προσρόφησης-εκρόφησης, της εξάτμισης, της χημικής και βιολογικής αποδόμησης, της πρόσληψης από τα φυτά, της απορροής και της έκπλυσης. Η προσρόφηση από τα στερεά του εδάφους χαρακτηρίζεται από έναν αριθμό μηχανισμών όπως υδρόφοβη αλληλεπίδραση, υδατοδιαλυτότητα, ανταλλαγή υποκαταστατών, μεταφορά φορτίου,

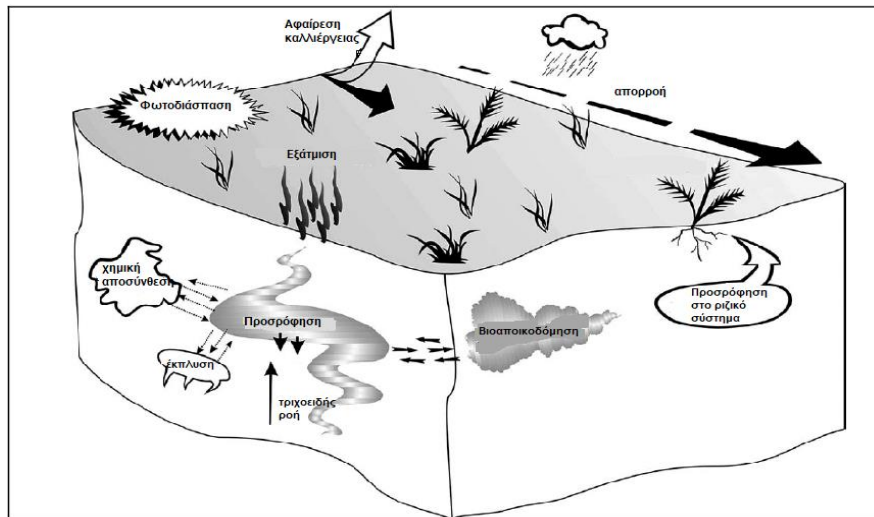
δεσμούς υδρογόνου, ανταλλαγή ιόντων (Pitter & Chudoba, 1990, Schwarzbauer2005). Η κατανομή (οριζόντια και κάθετα) των οργανικών ρύπων στα εδάφη εξαρτάται από την κίνηση και την αποδόμησή τους. Η κίνηση και η αποδόμηση των οργανικών ρύπων με τη σειρά τους εξαρτώνται από τρεις γενικούς παράγοντες:

- ✓ Φυσικοχημικές ιδιότητες του ρύπου
- ✓ Χημικές, βιολογικές και υδραυλικές ιδιότητες του εδάφους
- ✓ Περιβαλλοντικές συνθήκες

Οι τρόποι διάχυσης των ρύπων εξαρτώνται επίσης από το χρόνο (π.χ. διαφορετικές φάσεις βιοαποικοδόμησης, έκπλυση και κίνδυνος επιφανειακής απορροής) (Nicholls, 1991, Schwarzbauer, 2005). Η εξασθένηση της συγκέντρωσης τοξικών ρύπων στα εδάφη διέπεται από διεργασίες, προσρόφησης και ακινητοποίησης, αποδόμησης και μεταφοράς. Λόγω αυτών των διαδικασιών, συγκεκριμένα συστατικά του εδάφους μπορούν να μειώσουν τον κίνδυνο ρύπανσης του νερού, του αέρα και των τροφίμων με οργανικούς ρύπους.

Οι οργανικοί ρύποι στη λυματολάσπη μπορεί να είναι εξαιρετικά ετερογενείς όσον αφορά τις φυσικοχημικές τους ιδιότητες, όπως το μοριακό βάρος, η διαλυτότητα, η υδροφοβικότητα και η βιοαποικοδόμηση ενώ συνήθως, μια υψηλή συγκέντρωση αυτών των ουσιών στα αστικά λύματα αντιστοιχεί σε αυξημένη περιεκτικότητά τους στην αντίστοιχη λυματολάσπη (Fijalkowski et al., 2017). Τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά της λάσπης, συμπεριλαμβανομένου του pH, της ηλεκτρικής αγωγιμότητας (EC), των στοιχειακών συγκεντρώσεων, και των μικροβιακών φορτίων, μπορεί σε τελικό στάδιο να επηρεάσει τη μοίρα, την κινητικότητα και τον μετασχηματισμό των ρύπων μετά την εφαρμογή της λάσπης στο έδαφος.





**Εικόνα 1.1:** Μονοπάτια μεταφοράς και αποδόμησης οργανικών ρύπων στο έδαφος (Andreu and Pico, 2004).

### 1.3. Κατηγορίες οργανικών ρύπων με σημαντική παρουσία στην λυματολάσπη

#### 1. Φυτοφάρμακα

Τα φυτοφάρμακα (pesticides) είναι χημικές ουσίες που στοχεύουν στη καταπολέμηση ασθενειών των φυτών και παίζουν σημαντικό ρόλο στην αύξηση της αγροτικής παραγωγικότητας και στη ποιοτική βελτίωση της παραγωγής. Σύμφωνα με την ορολογία της Ευρωπαϊκής Ένωσης τα φυτοφάρμακα χωρίζονται στις φυτοπροσταυτικές ενώσεις (προϊόντα που χρησιμοποιούμε στις καλλιέργειες και στη γεωργία) και στα βιοκτόνα.

Μπορούν να εφαρμοστούν μεμονωμένα, ανάλογα με τις φυσικοχημικές τους ιδιότητες, ή σε συνδυασμό με άλλες ουσίες. Η ομαδοποίηση τους βασίζεται στη φύση τους, στη δραστική ουσία που περιέχουν, στον τρόπο παρασκευής τους, στο φάσμα και στον τρόπο δράσης τους (Καψή Μ., 2013). Ανάλογα με τον τρόπο παρασκευής τους μπορεί να διακριθούν στις φυσικώς παραγόμενες και στις χημικώς συντιθέμενες δραστικές ουσίες. Μια πολύ σημαντική διάκριση των γεωργικών φαρμάκων είναι αυτή που γίνεται με βάση τον σκοπό για τον οποίο χρησιμοποιούνται και τους οργανισμούς που σκοπεύουν να καταπολεμήσουν. Έτσι, οι σημαντικότερες κατηγορίες που προκύπτουν είναι οι εξής: εντομοκτόνα (insecticides), ζιζανιοκτόνα (herbicides), μυκητοκτόνα (fungicides). Μία άλλη διάκριση που γίνεται στα φυτοφάρμακα είναι αυτή που βασίζεται στη χημική τους δομή αποτελώντας έναν δείκτη των φυσικοχημικών ιδιοτήτων του εκάστοτε φυτοφαρμάκου.

Το μερίδιο αγοράς των μυκητοκτόνων κατ' όγκο είναι το υψηλότερο, ενώ η χρήση εντομοκτόνων με τα χρόνια έχει μειωθεί. Τα επίπεδα χρήσης ποικίλλουν μεταξύ των χωρών με τη Γαλλία, την Ισπανία, την Ιταλία και τη Γερμανία να είναι, μακράν, οι μεγαλύτερες αγορές στην ΕΕ. Η χρήση φυτοφαρμάκων στην Ελλάδα σχετίζεται στενά με τα πρότυπα καλλιέργειας και υπόκειται επίσης σε εποχιακές διακυμάνσεις ανάλογα με τις κλιματολογικές συνθήκες που επικρατούν σε κάθε περιοχή. Κατά κύριο λόγο, η χρήση που γίνεται αφορά στις μεγαλύτερες ποσότητες μυκητοκτόνα

και ακολουθούν τα ζιζανιοκτόνα μαζί με τα εντομοκτόνα. Στη χώρα μας, οι αυστηρές πολιτικές που έχει θεσπίσει η ΕΕ για τη βιώσιμη χρήση φυτοφαρμάκων, συμπεριλαμβανομένων των πρακτικών μείωσης των φυτοφαρμάκων και της εισαγωγής φυτοφαρμάκων χαμηλής δόσης σε συνδυασμό με την οικονομική κρίση μπορεί να θεωρηθούν ως οι βασικοί κινητήριοι μοχλοί της μειωμένης χρήσης φυτοπροστατευτικών προϊόντων που παρατηρείται τα τελευταία χρόνια (Lambropoulou D., 2015).

Τα φυτοπροστατευτικά προϊόντα, εντούτοις, αποτελούν σημαντικούς περιβαλλοντικούς ρύπους λόγω της ανθεκτικότητας και της τοξικότητας τους. Αν και οι γεωργικές πρακτικές θεωρούνται ως η κύρια πηγή ρύπανσης κυρίως του υδάτινου περιβάλλοντος, τα τελευταία χρόνια, ωστόσο, το ενδιαφέρον έχει στραφεί και σε άλλες μη γεωργικές πηγές, όπως οι εγκαταστάσεις επεξεργασίας αστικών λυμάτων (WWTPs). Ο κίνδυνος διασποράς των φυτοφαρμάκων στα επεξεργασμένα λύματα είναι σημαντικός κυρίως για τη διασπορά τους στο υδάτινο περιβάλλον. Παρόλα αυτά ορισμένα φυτοφάρμακα τείνουν να συσσωρεύονται στην λυματολάσπη κάτι που αποτελεί και μια πρόσθετη πηγή ρύπανσης για τη γεωργική γη όταν η λυματολάσπη χρησιμοποιείται για την παραγωγή εδαφοβελτιωτικών.

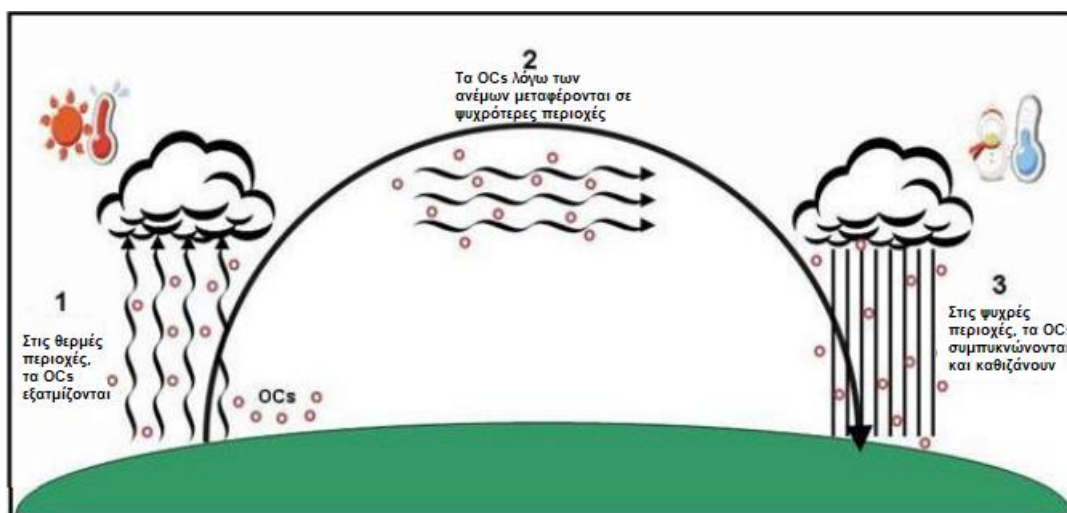
Οι διαθέσιμες πληροφορίες για τον προσδιορισμό και την εμφάνισή τους στη λυματολάσπη επικεντρώνονται, κυρίως, στα οργανοχλωριωμένα φυτοφάρμακα, μία κατηγορία φυτοφαρμάκων που είχε απαγορευτεί πριν από περίπου 30 χρόνια.

Παρακάτω παρουσιάζονται οι σημαντικότερες κατηγορίες φυτοφαρμάκων που έχουν ανιχνευθεί στη λυματολάσπη:

#### ❖ Οργανοχλωριωμένα φυτοφάρμακα

Τα οργανοχλωριωμένα φυτοφάρμακα (Organochlorine pesticides (OCPs)) (ή χλωριωμένοι υδρογονάνθρακες) χαρακτηρίζονται από υψηλή τοξικότητα, υψηλή ανθεκτικότητα στο περιβάλλον, υψηλή λιποφιλία, είναι πολύ σταθερές και έχουν την τάση να συσσωρεύονται στους ζωντανούς οργανισμούς και στο λιπώδη ιστό των οργανισμών και να οδηγούνται στα υψηλότερα τροφικά επίπεδα. Τα OCPs θεωρούνται ότι είναι η δεύτερη γενιά φυτοφαρμάκων που ακολούθησαν τα πρώτης γενιάς εντομοκτόνα που παράγονταν τη δεκαετία του 1940 από ανόργανες ενώσεις (αρσενικό, μόλυβδο, χαλκό, θείο) (Chenier, 2002).

Οι παραπάνω ιδιότητες τους, τα κατέστησαν επικίνδυνες χημικές ουσίες ενώ η χρήση τους στη γεωργία που γινόταν για χρόνια ήταν ευρεία, οδηγώντας τελικά στην απαγόρευση τους στην Ευρώπη, τις Ηνωμένες Πολιτείες και άλλες χώρες. Ωστόσο, ορισμένα OCPs εξακολουθούν να παράγονται για άλλα πεδία (π.χ. το DDT για προγράμματα ελέγχου της ελονοσίας στην Αφρική) και λόγω του έμμονου χαρακτήρα τους μπορούν να μεταφερθούν σε μεγάλες αποστάσεις. Ο λόγος της απαγόρευσής τους είναι η διαπίστωση ότι οι ενώσεις αυτές δεν αποικοδομούνται εύκολα στο περιβάλλον και γι' αυτό χαρακτηρίζονται ως παραμένοντες ή ανθεκτικοί οργανικοί ρύποι (Persistent Organic Pollutants, POPs). Ως εκ τούτου, η ανάλυση OCPs στο έδαφος εξακολουθεί να έχει ενδιαφέρον λόγω της παρουσίας των μεταβολιτών τους στο περιβάλλον. Η τοξικότητα, η βιοσυσσώρευση και περισσότερο οι χρόνοι ημιζωής των ενώσεων παρουσιάζουν υψηλά επίπεδα κινδύνου στο περιβάλλον ενώ παράλληλα κινούνται στο περιβάλλον μέσω μη σημειακών πηγών όπως η γεωργική απορροή και η εξάτμιση τους μετά την εφαρμογή τους στο πεδίο (Εικόνα 1.2). Λόγω της λιποφιλίας τους τα OCPs τείνουν να προσροφούνται σε αυτά, στερεά σωματίδια λυμάτων από τις εγκαταστάσεις επεξεργασίας υγρών αποβλήτων (WWTP).



**Εικόνα 2.2:** Η κίνηση των OCPs από τις θερμές στις ψυχρότερες περιοχές (The Grasshopper effect) (πηγή εικόνας: <https://www.enr.gov.nt.ca/>).

Οι κυριότερες κατηγορίες των οργανοχλωριωμένων εντομοκτόνων που χρησιμοποιήθηκαν σε μεγάλη κλίμακα στο παρελθόν είναι κατά κύριο λόγο:

- το DDT και ανάλογα χλωριωμένα παράγωγα, όπως DDD, DDE,
- το εξαχλωροκυκλοεξάνιο (HCH και 8 ισομερή, εκ των οποίων το πιο γνωστό είναι το Lindane (BHC),
- η ομάδα των χλωριωμένων κυκλοδιενίων που περιλαμβάνει τα aldrin, endrin, isodrin, dieldrin, heptachlor, chlordane, endosulfan
- και το toxaphene που αποτελεί μίγμα ενώσεων.

Το DDT, το πιο διαδεδομένο από τα οργανοχλωριωμένα εντομοκτόνα, βρέθηκε ότι είναι εξαιρετικά δραστικό έναντι ενός αριθμού εντομοπαράσιτων κυρίως λόγω της αποτελεσματικότητας του ενάντια στα κουνούπια. Κατά ειρωνικό τρόπο, μια από τις πολύτιμες ιδιότητες του DDT ήταν η επιμονή του, μειώνοντας την ανάγκη για συχνές εφαρμογές. Η συγκέντρωση των OCPs μειώνεται σε χώρες όπου έχουν θεσπιστεί περιορισμοί στη χρήση τους με τα DDE, διελτρίνη και το λινδάνιο να είναι τα πιο κοινά ανιχνευμένα OCPs. Ενώ τα περισσότερα φαίνεται να είναι κάτω από τα τρέχοντα όρια ανίχνευσης στη λυματολάσπη, τα DDE και dieldrin φαίνεται να έχουν πολύ μεγαλύτερο χρόνο ημιζωής αφού εξακολουθούν να ανιχνεύονται τακτικά σε ίχνη για πολλά χρόνια μετά την απαγόρευση τους.

#### ❖ Οργανοφωσφορικά φυτοφάρμακα

Τα οργανοφωσφορικά φυτοφάρμακα (Organophosphoruspesticides (OPPs)) είναι μια κατηγορία εντομοκτόνων δεύτερης γενιάς που συντέθηκαν και χρησιμοποιήθηκαν μετά την απαγόρευση στη αγορά των οργανοχλωριωμένων εντομοκτόνων πρώτης γενιάς. Η κατηγορία OPPs περιλαμβάνει ενώσεις με πολύ διαφορετικά δομικά χαρακτηριστικά, στις οποίες το κοινό τμήμα μπορεί να θεωρηθεί η ομάδα εστέρα φωσφορικού οξέος. Χρησιμοποιούνται κυρίως ως γεωργικά φυτοφάρμακα και δομικά περιέχουν μια χημικά δραστική πλευρική αλυσίδα φωσφορικού εστέρα, η οποία αποτελείται από ένα κεντρικό άτομο φωσφόρου διπλά συνδεδεμένο είτε με ένα άτομο οξυγόνου είτε με ένα άτομο θείου και απλά συνδεδεμένο με συνήθως δύο μεθοξυ (-OCH<sub>3</sub>) ή αιθοξυ (-OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>) ομάδες.

Συγκριτικά με τα OCPs, υφίστανται ταχεία βιοαποδόμηση στο έδαφος και το νερό, ωστόσο είναι τοξικά και κάποια από αυτά μπορούν να βιοσυσσωρευτούν (Zhang et al., 2010). Μπορούν να αποικοδομηθούν γρήγορα με φωτο – υδρόλυση σε νερά, στον αέρα και στο έδαφος και να βιοδιασπαστούν από τα βακτήρια του εδάφους, αν και μικρές ποσότητες μπορεί να παραμείνουν στα τρόφιμα και στο πόσιμο νερό.

Ο τρόπος δράσης τους προσβάλλει το νευρικό σύστημα των εντόμων. Ορισμένα νεύρα των εντόμων λειτουργούν απελευθερώνοντας μια χημική ουσία που ονομάζεται ακετυλοχολίνη (ACh) στον ενδοκυττάριο χώρο όπου το νευρικό κύτταρο έρχεται σε επαφή με ένα μυϊκό κύτταρο (ή ένα άλλο νευρικό κύτταρο). Η ακετυλοχολίνη διεγείρει το μυϊκό κύτταρο να συσπαστεί και η συστολή διακόπτεται από ένα ένζυμο που ονομάζεται ακετυλοχολινεστεράση και καταστρέφει τα απελευθερωμένα μόρια σήματος ACh. Τα οργανοφωσφορικά παρουσιάζουν οξεία τοξικότητα επειδή δεσμεύουν χημικά το ένζυμο ακετυλοχολινεστεράση με τέτοιο τρόπο ώστε να μην μπορεί να καταστρέψει την ACh και το έντομο πεθαίνει με τους μύες του σε παρατεταμένη κατάσταση συστολής και το νευρικό του σύστημα σε κατάσταση διαρκούς διέγερσης. Πρέπει να τονιστεί ότι η ACh είναι ένας νευροδιαβιβαστής όχι μόνο στα έντομα, αλλά και στα περισσότερα ζωικά είδη. Κατά συνέπεια, τα οργανοφωσφορικά φυτοφάρμακα είναι δυνητικά τοξικά, για είδη μη-στόχους, συμπεριλαμβανομένου του ανθρώπου.

Ορισμένα OPPs μετά από πολύχρονη χρήση είναι πλέον απαγορευμένα (parathion, chlorfenvinphos, methidathion, triazophon, (diazinon, dichlorvos, malathion, fenitrothion ) και η χρήση ορισμένων από αυτά είναι περιορισμένη στην Ευρώπη (chlorpyrifos, dimethoate, phosmet, pirimiphos-methyl κ.α.).

#### ❖ Καρβαμιδικά παράγωγα

Τα παράγωγα του καρβαμικού οξέος (Carbamic acid derivatives) είναι φυτοφάρμακα που χρησιμοποιούνται κυρίως ως εντομοκτόνα, δεδομένου ότι δρουν ως αναστολείς του ενζύμου της ακετυλοχολινεστεράσης, με αποτέλεσμα τη δημιουργία προβλημάτων στη λειτουργία του νευρικού συστήματος των εντόμων, όπως και τα OPPs (Santalad et al., 2010). Τα καρβαμιδικά φυτοφάρμακα είναι εστέρες ή οξίμες του καρβαμικού οξέος. Ο υποκαταστάτης R2 είναι αρωματική ή αλειφατική ομάδα. Στα καρβαμιδικά εντομοκτόνα ο υποκαταστάτης R, είναι μεθυλομάδα, στα ζιζανιοκτόνα αρωματική ομάδα και στα μυκητοκτόνα βενζιμιδαζόλιο.

Οι κύριες φυσικοχημικές τους ιδιότητες είναι η χαμηλή πτητικότητα και η αυξημένη ταχύτητα υδρόλυσης σε αλκαλικά διαλύματα και υψηλές θερμοκρασίες, γι' αυτό λόγω της μικρής υπολειμματικότητάς τους αντικατέστησαν τα χλωριωμένα εντομοκτόνα. Παρουσιάζουν οξεία τοξικότητα στα θηλαστικά και προς τον άνθρωπο και ως εκ τούτου ορισμένα από αυτά (π.χ. carbofuran και carbaryl) έχουν απαγορευτεί στην Ευρώπη. Η πλειονότητα των καρβαμιδικών ενώσεων απορροφάται εύκολα μέσω των βλεννογόνων μεμβρανών και της αναπνευστικής και γαστρεντερικής οδού. Επομένως, οι καρβαμιδικές ενώσεις μπορούν όχι μόνο να απορροφηθούν μέσω του δέρματος (δερματική έκθεση) και των πνευμόνων (έκθεση μέσω εισπνοής), αλλά και μέσω των τροφίμων που έχουν υποστεί επεξεργασία με καρβαμιδικές ενώσεις (έκθεση από το στόμα). Τα περισσότερα επεισόδια οξείας δηλητηρίασης στον άνθρωπο συνέβησαν μέσω της δερματικής ή της εισπνευστικής οδού. Αν και τα δεδομένα είναι περιορισμένα, ο χρόνος ημιζωής επιλεγμένων καρβαμιδικών φυτοφαρμάκων είναι μικρός στα θηλαστικά, για παράδειγμα, της τάξης των 8 ωρών σε ενήλικο αρουραίο (Moser et al., 2012).

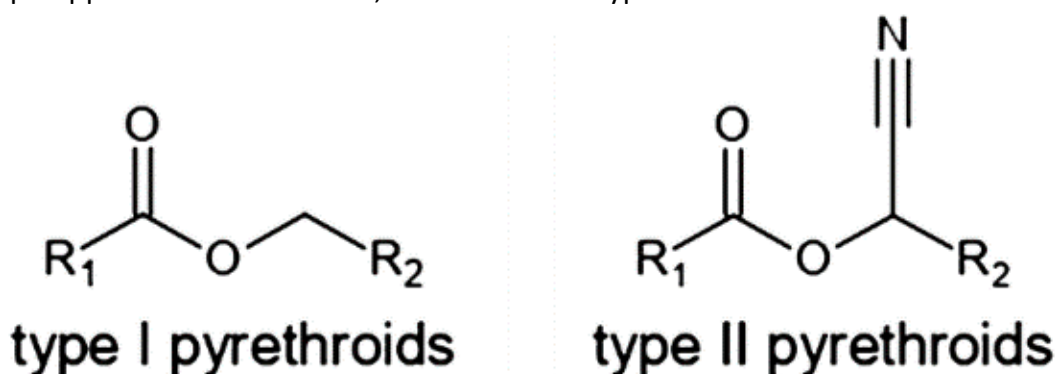
Εννέα καρβαμιδικά παράγωγα (π.χ. carbaryl, carbofuran, isoprocarb, methiocarb, methomyl, phenmedipham, promecarb, propoxur και prosulfocarb) έχουν ερευνηθεί σε επανυδατωμένα δείγματα υλός, χρησιμοποιώντας την τροποποιημένη μέθοδο QuEChERS (Shi et al., 2010).

❖ Πυρεθροειδή

Τα πυρεθροειδή φυτοφάρμακα (Pyrethroid pesticides (PPs)) αναπτύχθηκαν ως συνθετικά εντομοκτόνα των φυσικών πυρεθρινών που παράγονται από τα άνθη χρυσανθέμων (*Chrysanthemum cinerariaefolium*). Όπως και με τις πυρεθρίνες, τα πυρεθροειδή χαρακτηρίζονται από πολύ χαμηλότερη οξεία τοξικότητα για τα θηλαστικά και τα πτηνά σε σχέση με τα οργανοφωσφορικά και γι' αυτό έχει επισημανθεί η χρήση τους. Εντούτοις, είναι εξαιρετικά τοξικά για τα ψάρια και άλλα έντομα. Χαρακτηρίζονται ως λιπόφιλες ενώσεις με χαμηλή υδατοδιαλυτότητα, χαμηλή πτητικότητα ενώ υδρολύονται σε αλκαλικά διαλύματα. Οι φυσικές πυρεθρίνες περιλαμβάνουν τρεις εστέρες του χρυσανθεμικού οξέος (Pyrethrin I, Cinerin I και Jasmolin I) και τρεις εστέρες του πυρεθρικού οξέος (Pyrethrin II, Cinerin II και Jasmolin II).

Ανάλογα με τη δομή τους διακρίνονται σε δύο ομάδες, οι οποίες προκαλούν διαφορετικά συμπτώματα δηλητηρίασης:

- A. Πυρεθροειδή τύπου I, τα οποία δεν περιέχουν κυανομάδα στο μόριο τους. Οι πιο αντιπροσωπευτικές ενώσεις αυτής της ομάδας είναι τα φυτοφάρμακα permethrin, allethrin, tetramethrin, and D-phenothrin.
- B. Πυρεθροειδή τύπου II, τα οποία περιέχουν κυανομάδα στη θέση του α-άνθρακα και περιλαμβάνει τα deltamethrin, fenvalerate και cypermethrin.



**Εικόνα 1.3:** Οι δύο τύποι πυρεθροειδών σύμφωνα με τη γενική τους δομή (Aznar-Alemaný Ò and Eljarrat, 2020).

Τα πυρεθροειδή τροποποιούν τα κανάλια νατρίου στις νευρωνικές μεμβράνες και έτσι διαταράσσουν την ηλεκτρική σηματοδότηση στο νευρικό σύστημα. Το φαινόμενο αυτό μπορεί να προκαλέσει νευρωνική υπερδιέγερση (Perry, 1974). Γενικά, τα πυρεθροειδή είναι μέτριας οξείας τοξικότητας και δεν παρουσιάζουν στοιχεία για μακροχρόνια τοξικότητα ή αναπαραγωγική τοξικότητα στον άνθρωπο.

❖ Παράγωγα αζόλης

Τα παράγωγα αζόλης (Azole derivatives), έχουν χρησιμοποιηθεί σε μεγάλο βαθμό ως συστηματικά μυκητοκτόνα λόγω της ανασταλτικής τους δράσης έναντι των ενζύμων που εμπλέκονται στη βιοσύνθεση των στεροειδών ορμονών. Ταυτόχρονα χρήση τους γίνεται για τη θεραπεία

ανθρώπινης και κτηνιατρικής μυκητίασης λόγω της αντιμυκητιακής δράσης ευρέως φάσματος και της υψηλής σταθερότητάς τους.

Οι αζόλες με βάση τη δομή τους μπορούν να ταξινομηθούν στις ιμιδαζόλες (imidazoles) με δύο άτομα αζώτου και στις τριαζόλες (triazoles) με τρία άτομα αζώτου. Αρχικά, για πρώτη φορά το 1944 συντέθηκαν οι ιμιδαζόλες (IMZ) (Woolley, 1944) και στη συνέχεια εγκρίθηκαν για εμπορική χρήση τη δεκαετία του 1960. Η μικοναζόλη (miconazole - MCZ) ήταν η πρώτη αντιμυκητιακή ένωση που χρησιμοποιήθηκε για παρεντερική ένεση (Heel et al., 1980). Έπειτα, λόγω των παρενεργειών και της τοξικότητας του IMZ, έγινε η αντικατάσταση του από τριαζόλες πρώτης γενιάς. Τη δεκαετία του 1990, η φλουκοναζόλη (fluconazole - FCZ) και η ιτρακοναζόλη (itraconazole - ITZ) έγιναν δημοφιλή φάρμακα εγκεκριμένα από τον FDA που χρησιμοποιούνταν για την ανθρώπινη μυκητίαση, το AIDS και σε ασθενείς με καρκίνο που λαμβάνουν χημειοθεραπεία για την πρόληψη μυκητιασικών λοιμώξεων (Barone et al., 1998).

Οι ενώσεις αυτές καταλαμβάνουν μεγάλες ποσότητες της ετήσιας παγκόσμιας χρήσης μυκητοκτόνων που ανέρχεται σε περίπου 300.000 τόνους (De et al., 2014). Έχουν μεγάλο χρόνο ημιζωής και μπορούν να παραμείνουν στο περιβάλλον για μήνες. Έχουν ισχυρή βακτηριοκτόνο δράση και είναι ανθεκτικές στη βιοαποικοδόμηση. Η αζόλη αναστέλλει το ένζυμο λανοστερόλη 14α-διμεθυλάση (CYP51A1), ένα ένζυμο του κυτοχρώματος P450 (CYP) που μετατρέπει τη λανοστερόλη σε εργοστερόλη, η οποία απαιτείται για να μείνει ακεραία η κυτταρική μεμβράνη. Ως εκ τούτου, η απώλεια της κυτταρικής μεμβράνης και η αναστολή της είναι ένας από τους κύριους μηχανισμούς πίσω από την αντιμυκητιακή φύση των ενώσεων αζόλης.

Παρουσιάζουν αυξημένη ανθεκτικότητα στο περιβάλλον, ενώ οι περισσότερες από αυτές (πιο συγκεκριμένα: carbendazim, difeconazole, eroxiconazole, fenbuconazole, propiconazole, tebuconazol, triadimefon) εγείρουν περιβαλλοντικές ανησυχίες και για τον λόγο αυτό περιλαμβάνονται στον κατάλογο της ΕΕ που αφορά ενώσεις που προκαλούν ενδοκρινικές διαταραχές. Σε οικιακά λύματα και σε λύματα νοσοκομείων έχουν ανιχνευθεί ότι υψηλά επίπεδα συγκεντρώσεων ενώσεων αζόλης (Peng et al., 2012). Οι εγκαταστάσεις επεξεργασίας υγρών αποβλήτων (WWTP) έχουν βρεθεί να είναι αναποτελεσματικές στην απομάκρυνση των αζολών. Λόγω των διαφορών μεταξύ των ενώσεων αυτών ως προς την υδροφιλικότητα και την βιοαποικοδόμηση, οι ρυθμοί απομάκρυνσής τους στα WWTP μπορεί να ποικίλουν. Η λυματολάσπη αναγνωρίζεται ως η κύρια δεξαμενή λιπόφιλων αντιμυκητιασικών στις εγκαταστάσεις επεξεργασίας υγρών λυμάτων. Ενώσεις όπως η κλιμπαζόλη, η κλοτριμαζόλη, η μικοναζόλη και η κετοκοναζόλη έχουν ανιχνευθεί σε υποστρώματα λυματολάσπης σε συγκεντρώσεις που κυμαίνονται σε υψηλά επίπεδα ng/g ή ακόμη και σε επίπεδα μg/g (Casado et al., 2015).

#### ❖ Ενώσεις της ομάδας των ουρίων

Τα παράγωγα ουρίας (Urea derivatives) είναι από τις σημαντικές ομάδες γεωργικών ζιζανιοκτόνων. Τα παράγωγα ουρίας είναι τυπικά ζιζανιοκτόνα που εφαρμόζονται συνήθως ως υδατικά γαλακτώματα στην επιφάνεια του εδάφους. Χρησιμοποιούνται για τον έλεγχο των ζιζανίων (π.χ. σουλφονουλουρίες (sulphonylureas) και φαινυλουρίες (phenylureas)) λόγω της ικανότητάς τους να διακόπτουν την αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων στη φωτοσύνθεση ή ως ρυθμιστές ανάπτυξης εντόμων (π.χ. βενζοϋλουρίες (benzoylureas)) που δρουν στα προνυμφικά στάδια των περισσότερων εντόμων καθώς αναστέλλουν ή εμποδίζουν τη σύνθεση της χιτίνης, ενός ζωτικού

τμήματος του εξωσκελετού του εντόμου κατά το στάδιο της ωρίμανσης. Ως εκ τούτου, η αποτυχία του εντόμου να απορρίψει με επιτυχία τον παλιό εξωσκελετό οδηγεί στον τελικό θάνατο των προνυμφών.

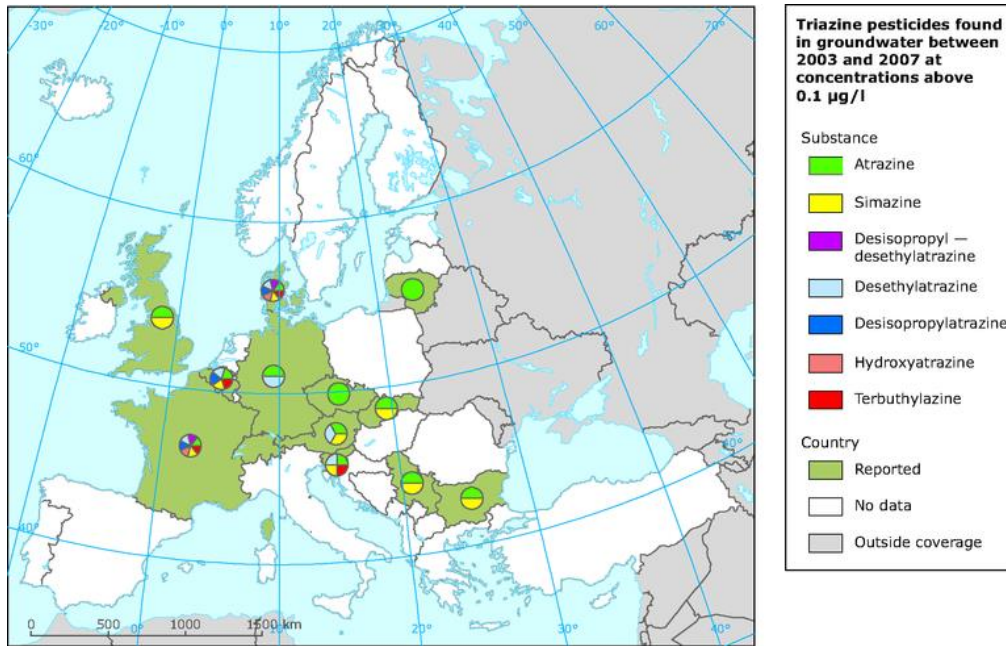
Οι βενζοϋλουρίες υφίσταται ταχεία αποικοδόμηση τόσο στο έδαφος όσο και στο νερό (Zhou et al., 2009). Οι σουλφονουλουρίες, είναι ζιζανιοκτόνα χαμηλής δόσης που χρησιμοποιούνται για τον έλεγχο πλατύφυλλων ζιζανίων στα δημητριακά και μπορεί να προκαλέσουν πολύ χαμηλές οξείες και χρόνιες τοξικότητες στα θηλαστικά (Wang Y. S. et al., 2010). Οι ενώσεις αυτές μέσα από φυσικές αντιδράσεις αποικοδόμησης στο περιβάλλον μπορεί να οδηγήσουν σε ανοργανοποίηση ή/και σε σχηματισμό νέων ειδών δυνητικά πιο τοξικών και σταθερών από τις πρόδρομες ενώσεις. Αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι η αποικοδόμηση εξαρτάται κυρίως από το pH του εδάφους, την περιεκτικότητα σε υγρασία και τη μικροβιολογική δραστηριότητα. Ωστόσο, τα υπολείμματα μπορούν να φτάσουν στους πληθυσμούς μέσω της τροφικής αλυσίδας προκαλώντας χρόνια έκθεση και μακροχρόνιες επιδράσεις τοξικότητας.

#### ❖ Παράγωγα διαζίνης – τριαζίνης

Τα ζιζανιοκτόνα διαζίνης (diazine) και τριαζίνης (triazine) χρησιμοποιούνται ευρέως καθώς αναστέλλουν το σύστημα μεταφοράς ηλεκτρονίων στα ανώτερα φυτά και έτσι καταστέλλουν τη φωτοσύνθεση. Ως ζιζανιοκτόνα, οι τριαζίνες μπορούν να χρησιμοποιηθούν μόνες ή σε συνδυασμό με άλλα δραστικά συστατικά για την αύξηση του φάσματος ελέγχου των ζιζανίων. Οι τριαζίνες είναι μερικά από τα παλαιότερα ζιζανιοκτόνα, με έρευνα που ξεκίνησε για τις ιδιότητες ελέγχου των ζιζανίων στις αρχές της δεκαετίας του 1950.

Ως οικογένεια ενώσεων, οι χημικές τους δομές είναι ετεροκυκλικές, που αποτελούνται από άνθρακα και άζωτο στους δακτυλίους τους. Τα περισσότερα είναι συμμετρικά με εναλασσόμενα άτομα άνθρακα και αζώτου σε αρωματικούς δακτύλιους. Στην οικογένεια αυτή των ζιζανιοκτόνων περιλαμβάνονται η ατραζίνη (atrazine), η εξαζινόνη (hexazinone), η μετριβουζίνη (metribuzin), η προμετόνη (prometon), η προμετρύνη (prometryn) και η σιμαζίνη (simazine). Η ατραζίνη χρησιμοποιήθηκε ευρέως στο καλαμπόκι και εκτιμήθηκε ότι ήταν το πιο συχνά χρησιμοποιούμενο φυτοφάρμακο στις ΗΠΑ στα τέλη της δεκαετίας του 1990.





**Εικόνα 1.4:** Ζιζανιοκτόνα τριαζίνης που βρέθηκαν στα υπόγεια ύδατα σε χώρες της Ευρώπης σε τουλάχιστον μία περίπτωση δειγματοληψίας μεταξύ 2003 και 2007, σε συγκεντρώσεις μεγαλύτερες από 0,1 µg/L (European Environment Agency (EEA)).

Όλα τα ζιζανιοκτόνα τριαζίνης μπορούν να απελευθερωθούν στο περιβάλλον μέσω της απόρριψης υγρών αποβλήτων από τις εγκαταστάσεις και μέσω της χρήσης τους ως ζιζανιοκτόνα. Λόγω της υδατοδιαλυτότητάς τους, μπορούν να εκπλυθούν στα υπόγεια ύδατα, καθώς και να μεταφερθούν με την επιφανειακή απορροή (Grover, 1988). Στις Ηνωμένες Πολιτείες, μελέτες παρακολούθησης των επιφανειακών αλλά και των υπόγειων υδάτων έχουν δείξει ευρεία ανίχνευση αυτών των ζιζανιοκτόνων (Wilson et al., 2000). Η U.S. EPA θεωρεί την ατραζίνη ως συστηματικό τοξικό παράγοντα που έχει τη δυνατότητα να προκαλέσει ποικίλες οξείες επιπτώσεις στην υγεία, ενώ οι ενώσεις τριαζίνης ταξινομούνται στην ομάδα C και, ως εκ τούτου, θεωρούνται πιθανές καρκινογόνες ουσίες για τον άνθρωπο.

#### ❖ Νεονικοτιοειδή

Τα νεονικοτινοειδή (neonicotinoids) είναι μια κατηγορία συνθετικών εντομοκτόνων που έγιναν εμπορικά διαθέσιμα τη δεκαετία του 1990. Αυτά τα φυτοφάρμακα νέας γενιάς έχουν τη δυνατότητα να αντικαταστήσουν ορισμένα από τα πιο τοξικά εντομοκτόνα όπως είναι τα οργανοφωσφορικά. Τα κύρια νεονικοτινοειδή που διατίθενται στην αγορά είναι τα imidacloprid, thiamethoxam, clothianidin, thiacloprid, dinotefuran, acetamiprid, nitenpyram and sulfoxaflor.

Το όνομά τους προέρχεται από την ομοιότητα της χημικής τους δομής με εκείνη της νικοτίνης. Εφαρμόζονται κυρίως στο έδαφος και μεταφέρονται σε όλο το φυτό προσφέροντας προστασία από μυζητικά έντομα. Τα νεονικοτινοειδή, όπως η νικοτίνη, συνδέονται με τους νικοτινικούς υποδοχείς ακετυλοχολίνης (nAChRs) ενός κυττάρου και πυροδοτούν μια απόκριση από αυτό το κύτταρο. Στα έντομα αυτοί οι υποδοχείς βρίσκονται στο κεντρικό νευρικό σύστημα. Οι νικοτινικοί υποδοχείς ακετυλοχολίνης ενεργοποιούνται από τον νευροδιαβιβαστή ακετυλοχολίνη. Ενώ η χαμηλή έως μέτρια ενεργοποίηση αυτών των υποδοχέων προκαλεί νευρική διέγερση, τα υψηλά επίπεδα υπερδιεγείρουν και μπλοκάρουν τους υποδοχείς προκαλώντας παράλυση και θάνατο.



Στο περιβάλλον, τα νεονικοτινοειδή είναι διαλυτά στο νερό και ανθεκτικά με το clothianidin να έχει τον μεγαλύτερο χρόνο ημιζωής στο έδαφος. Έτσι, τα νεονικοτινοειδή μπορούν να μεταφερθούν μακριά από την περιοχή αρχικής εφαρμογής στα επιφανειακά και υπόγεια ύδατα. Έχουν επίσης μεγάλο χρόνο ημιζωής στο έδαφος και στο νερό, όπου είναι ανθεκτικά στην υδρόλυση σε ουδέτερο ή όξινο pH και σε αναερόβιες συνθήκες. Τα λύματα αντιπροσωπεύουν μια πιθανή πηγή νεονικοτινοειδών εντομοκτόνων στο περιβάλλον που δεν έχει λάβει ακόμη τη δέουσα προσοχή. Στην Ισπανία, το imidacloprid ανιχνεύθηκε σε δείγματα εισροής και εκροών λυμάτων σε συγκεντρώσεις που κυμαίνονται από 1,4-165,7 ng/L (Campo et al, 2013) ενώ στο Όρεγκον των ΗΠΑ, το imidacloprid ανιχνεύθηκε στο 9,8% των δειγμάτων υγρών αποβλήτων με μέση συγκέντρωση 270 ng/L (Hope, 2012).

Η νευροτοξικότητα που αφορά τα νεονικοτινοειδή αναλύθηκε για είδη στόχους (έντομα) και είδη μη-στόχους (έντομα επικονιαστές). Από μελέτες που πραγματοποιήθηκαν για την οξεία νευροτοξικότητα των imidacloprid, acetamiprid, thiamethoxam και thiacloprid, έχει αναφερθεί πιθανή τοξικότητα για τις μέλισσες και άλλα ωφέλιμα έντομα ακόμη και με χαμηλά επίπεδα έκθεσης (Tosi S., 2017). Σε εργαστηριακές μελέτες, τα νεονικοτινοειδή αποδείχθηκε ότι αυξάνουν τα ποσοστά θνησιμότητας και μπορεί να προκαλέσουν πολλαπλές επιδράσεις σε εκτεθειμένες μέλισσες, συμπεριλαμβανομένης της ικανότητας να πετούν και να αναζητούν τροφή. Από έκθεση του European Academies' Science Advisory Council (EASAC) που πραγματοποιήθηκε τον Απρίλιο του 2015 αναφέρονται οι πιθανές επιπτώσεις στους οργανισμούς - μη στόχους, όπως είναι οι μέλισσες και προκύπτει το συμπέρασμα ότι «υπάρχει ένας αυξανόμενος όγκος αποδεικτικών στοιχείων ότι η ευρεία χρήση νεονικοτινοειδών έχει σοβαρές αρνητικές επιπτώσεις σε οργανισμούς - μη στόχους που παρέχουν στο οικοσύστημα λειτουργίες, συμπεριλαμβανομένης της επικονίασης και του φυσικού ελέγχου παρασίτων».

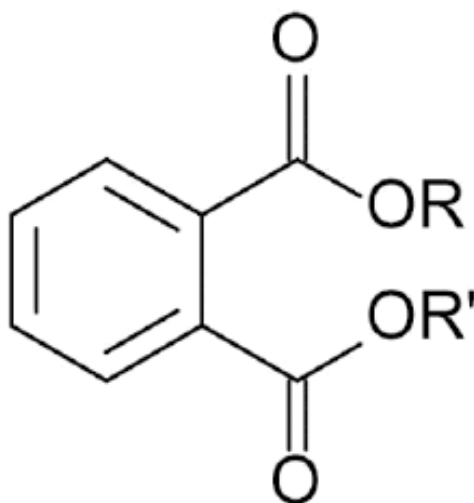
Το 2013, η Ευρωπαϊκή Ένωση επέβαλε περιορισμούς για τη χρήση των τριών νεονικοτινοειδών, imidacloprid, clothianidin και thiamethoxam ενώ το 2018 συμφωνήθηκε η πλήρης απαγόρευση της χρήσης τους σε εξωτερικούς χώρους, εκτός από τα κλειστά θερμοκήπια.

## II. Φθαλικοί εστέρες

Οι φθαλικοί εστέρες (phthalate esters) είναι εστέρες φθαλικού οξέος (δηλαδή, 1,2-βενζολοδικαρβοξυλικό οξύ) και αποτελούν μια ποικιλόμορφη οικογένεια βιομηχανικών ενώσεων που είναι μακράν οι πιο ευρέως παραγόμενοι πλαστικοποιητές μέχρι σήμερα (Εικόνα 1.5). Είναι άχρωμα, άοσμα υγρά που παράγονται από την αντίδραση ενός φθαλικού ανυδρίτη με μία κατάλληλη αλκοόλη παρουσία ενός καταλύτη. Το χαμηλό σημείο τήξεως και το υψηλό σημείο βρασμού τους, τους καθιστούν επίσης πολύ χρήσιμους ως ρευστά μεταφοράς θερμότητας. Σε ορισμένα πλαστικά, οι φθαλικές ενώσεις αποτελούν έως και το 50% του συνολικού βάρους ενώ ταυτόχρονα τους συναντάμε σε μια ποικιλία καταναλωτικών προϊόντων και προϊόντων προσωπικής φροντίδας.

Για παράδειγμα, οι φθαλικές ενώσεις υψηλού μοριακού βάρους όπως ο φθαλικός δι-(2-αιθυλοεξυλο) εστέρας [Di-(2-ethyl-hexyl) phthalate (DEHP)] και ο φθαλικός βενζυλεστέρας [(Benzyl butyl phthalate (BBP)], χρησιμοποιούνται κυρίως για την παραγωγή διογκωμένου πολυβινυλοχλωριδίου (PVC), το οποίο χρησιμοποιείται κυρίως σε επιστρώσεις δαπέδων. Οι ενώσεις χαμηλού μοριακού βάρους, όπως ο φθαλικός διαιθυλεστέρας (diethyl phthalate - DEP) και

ο φθαλικός διβουτυλεστέρας (dibutyl phthalate - DBP) χρησιμοποιούνται συνήθως σε προϊόντα προσωπικής φροντίδας, καλλυντικά κ.α. και ως διαλύτες και πλαστικοποιητές για χρώματα, καθώς και ορισμένα φαρμακευτικά προϊόντα.



**Εικόνα 1.5:** Γενική δομή των φθαλικών ενώσεων, όπου  $R$  και  $R'$  είναι ομάδες αλκυλίου (συνήθως με 4, 8, 9, ή 10 άτομα άνθρακα) ή ομάδες αρυλίου (Xu-Liang Cao, 2010).

Οι πλαστικοποιητές προστίθενται σε πολυμερή όπως είναι το πολυβινυλοχλωρίδιο (PVC), το πολυχλωροπρένιο, το χλωριωμένο πολυαιθυλένιο κλπ. σε αναλογίες 1%-50% για να μειώσουν τη θερμοκρασία υαλώδους μεταπτώσεως ( $T_g$ ), καθιστώντας τα πολυμερή πιο μαλακά και εύκαμπτα παρέχοντας την δυνατότητα καλύτερης επεξεργασίας. Έτσι, παρεμβάλλονται ανάμεσα στις μοριακές αλυσίδες του πολυμερούς (πλαστικού, ελαστομερούς υλικού), απομακρύνοντας τις μεταξύ τους και διευκολύνοντας κατά αυτό τον τρόπο την ευκαμψία τους. Έτσι το πολυμερές αποκτά ελαστικότητα, ευκαμψία, αντοχή στην κρούση και καθίσταται ευκολότερη η κατεργασία του. Τα μόρια των φθαλικών εστέρων δεν συνδέονται ομοιοπολικά στο πολυμερές και επομένως είναι σε θέση να μετακινούνται στην επιφάνεια και στο εσωτερικό της μήτρας του πολυμερούς. Έτσι μπορεί να μεταναστεύσουν από μια ποικιλία φυσικών διεργασιών, αν και διάφορες ελκτικές δυνάμεις συγκρατούν τους εστέρες ισχυρά μέσα στη μήτρα, έτσι ώστε η μετακίνηση να γίνεται με αργό ρυθμό. Ωστόσο, ο κίνδυνος σταδιακής μετανάστευσης στο περιβάλλον είναι σημαντικός.

Η παραγωγή φθαλικών ενώσεων αυξάνεται εκθετικά, με ταχείς ρυθμούς, παράγοντας 1,8 εκατομμύρια τόνους το 1975, 6,2 εκατομμύρια τόνους το 2009 και περισσότερους από 8 εκατομμύρια τόνους το 2011 (PeijnenburgandStruijs, 2006; Mengetal., 2014; Netetal., 2015β), εκ των οποίων η κατανάλωση στην Ευρώπη φτάνει περίπου στο 1 εκατομμύριο τόνους (Mackintosh et al., 2006). Απελευθερώνονται σταδιακά από τα βιομηχανικά προϊόντα κατά το στάδιο της κατασκευής, της αποθήκευσης, της χρήσης και της απόρριψης (Staples, 2003; Clausen et al., 2012). Οι ρυθμοί φωτοαποδόμησης και υδρόλυσης αυτών των ρύπων είναι πολύ αργοί υπό φυσικές συνθήκες. Υδρολύονται με αμελητέους ρυθμούς σε ουδέτερο pH, με χρόνο ημιζωής που κυμαίνεται από περίπου 3 χρόνια για τον φθαλικό διμεθυλεστέρα (DMP) έως 2000 χρόνια για το DEHP (Gledhill et al., 1980; Staples et al., 1997). Έτσι, μπορούν να συσσωρευτούν με την πάροδο του χρόνου στον αέρα, στα ύδατα, στα ιζήματα, στο έδαφος και στα λύματα ενώ παράλληλα οι πληροφορίες σχετικά με τα επίπεδα φθαλικών ενώσεων ακόμη και στα τρόφιμα είναι σημαντικές για την αξιολόγηση της έκθεσης στον άνθρωπο .

Όταν οι φθαλικοί εστέρες απελευθερώνονται στο περιβάλλον, τείνουν να συγκεντρώνονται μέσω του νερού στο έδαφος και στα ιζήματα λόγω της χαμηλής υδατοδιαλυτότητάς τους. Το DEHP είναι ο ρύπος που επικρατεί στα περισσότερα εδάφη. Λόγω της μακρίας πλευρικής αλυσίδας αλκυλίου είναι ανθεκτικό απέναντι στους μικροοργανισμούς και είναι δύσκολο να αποικοδομηθεί. Αυτός ίσως είναι και ένας από τους λόγους για την επικράτηση του DEHP.

Η λυματολάσπη που χρησιμοποιείται ως βελτιωτικό του εδάφους αποτελεί μια σημαντική πηγή φθαλικών εστέρων στο έδαφος (Net et al., 2015b, Vikesoe et al., 2002). Οι φθαλικοί εστέρες στη λυματολάσπη μπορεί να κυμανθούν από 12 έως 1250 mg/kg (Staples et al., 1997, Fu et al., 2013) και βιοδιασπώνται ευνοϊκότερα με κομποστοποίηση. Τα συνολικά ποσοστά απομάκρυνσης 6 φθαλικών εστέρων σε λυματολάσπη κυμάνθηκε από 58,30% έως 90,60% σε 3 αερόβια κομπόστ (Cai et al., 2012). Παράλληλα κατά τη διάρκεια ορισμένων διεργασιών σε μια μονάδα επεξεργασίας λυμάτων [για παράδειγμα στο βιοαντιδραστήρα μεμβρανών (MBR), διεργασία τεχνητών υγροτόπων (Constructed Wetlands, CWs)] μπορούν να αφαιρεθούν από τη λυματολάσπη ορισμένες ενώσεις.

### III. Οργανοφωσφορικά επιβραδυντικά φλόγας (OPFRs)

Οι οργανοφωσφορικές ενώσεις (OPs) είναι εστέρες του φωσφορικού οξέος που περιέχουν είτε αλκυλικές αλυσίδες είτε ομάδες αρυλίου, μπορεί να είναι αλογονωμένοι ή μη αλογονωμένοι και χρησιμοποιούνται όλο και περισσότερο από τη βιομηχανία ως επιβραδυντικά φλόγας. Τα επιβραδυντικά φλόγας (flame retardants) προστίθενται σε καταναλωτικά προϊόντα και δομικά υλικά για τη μείωση του κινδύνου πυρκαγιάς. Χωρίζονται σε τρεις μεγάλες κατηγορίες ανάλογα με τη χημική τους σύσταση: α) ανόργανα, β) αλογονωμένα (βρωμιούχα και χλωριωμένα FRs), γ) οργανοφωσφορικά (Van der Veen και De Boer, 2012).

Μετά την επισήμανση τους ως «έμμονοι οργανικοί ρύποι (POPs) από την Σύμβαση της Στοκχόλμης το 2008 και τη σταδιακή κατάργηση των πολυβρωμιωμένων διφαινυλαιθέρων (PBDEs), λόγω της ανθεκτικότητας, των βιοσυσσωρευτικών και τοξικών ιδιοτήτων τους, η χρήση αναδυόμενων ενώσεων όπως π.χ. είναι τα νέα βρωμιωμένα FR και τα οργανοφωσφορικά FRs (OPFRs) εισάχθηκε στην αγορά. Τα OPs χρησιμοποιούνται όλο και περισσότερο σε πολλά προϊόντα. Τα περισσότερα OPFRs έχουν θεωρηθεί ως χημικές ουσίες μεγάλου όγκου παραγωγής, υπερβαίνοντας τους 1000 τόνους ετησίως στην Ευρώπη (EKT, 2008). Εκτός από τη χρήση τους ως επιβραδυντικά φλόγας, χρησιμοποιούνται ως πλαστικοποιητές σε καταναλωτικά προϊόντα και δομικά υλικά. Έτσι, τα συναντάμε ως πρόσθετα σε έπιπλα, επιστρώσεις υφασμάτων, ταπετσαρίες, ηλεκτρονικά, χρώματα, πλαστικά από πολυβινυλοχλωρίδιο (PVC), λιπαντικά κ.α.

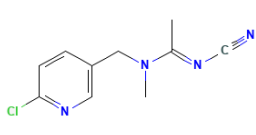
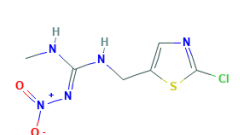
Ενώσεις όπως τα TBOEP, TEHP, TNBP και TRHP χρησιμοποιούνται κυρίως ως πλαστικοποιητές, λιπαντικά, πρόσθετα σε υδραυλικά υγρά ή σε δάπεδα ενώ ενώσεις, όπως τα TCEP, TCPP και TDCIPP είναι πρόσθετα επιβραδυντικά φλόγας που εφαρμόζονται κυρίως σε πολυμερή για χρήση σε έπιπλα, κατασκευές, κλωστοϋφαντουργία και ηλεκτρονικό εξοπλισμό (EURAR, 2009a; EURAR, 2009b, WHO, 2000).

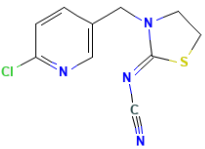
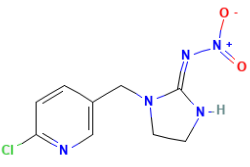
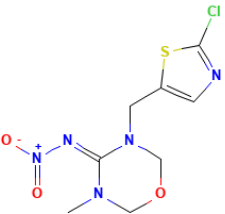
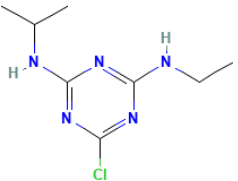
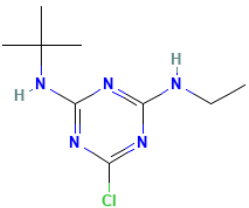
Η εκτεταμένη εμπορική εφαρμογή των OPs οδήγησε στην ευρεία εμφάνισή τους στο περιβάλλον, συμπεριλαμβανομένων του αέρα, των υδάτων, του πόσιμου νερού, των βιολογικών οργανισμών, του εδάφους, των λυμάτων και αλλού. Στις περισσότερες περιπτώσεις, αυτές οι χημικές ουσίες διασπείρονται στο υλικό, δεν δεσμεύονται χημικά και μπορούν να απελευθερωθούν από το υλικό

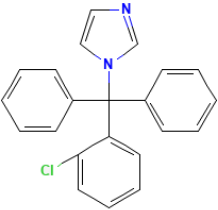
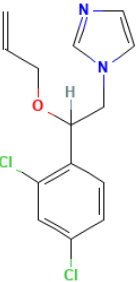
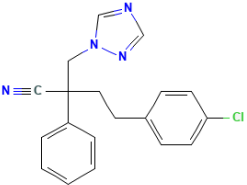
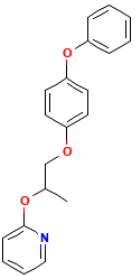
κατευθείαν στο περιβάλλον. Όπως ορίζεται από τη Σύμβαση της Στοκχόλμης δεν θεωρούνται έμμονοι οργανικοί ρύποι διότι αποικοδομούνται εύκολα στο ηλιακό φως, ιδιαίτερα μέσω διεργασιών δημιουργίας ριζών υδροξυλίου και συνάμα έχουν μικρό χρόνο ημιζωής. Ωστόσο η παρουσία OPFRs σε απομακρυσμένες/πολικές περιοχές μπορεί να συνεπάγεται με πιθανή ατμοσφαιρική μεταφορά τους (Möller et al., 2012).

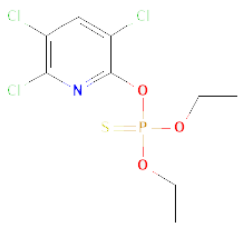
Η παρουσία OPFRs στα λύματα θα μπορούσε να οφείλεται στην ευρεία χρήση τους σε διάφορα προϊόντα και στην εμμονή τους κατά τις διαδικασίες επεξεργασίας. Τα πιο συχνά OPFRs που συναντάμε στα λύματα είναι τα TBOEP, TCPP, TCEP και TNBP. Σήμερα, το TCPP είναι πιο εμφανές στα λύματα από το TCEP, λόγω της σταδιακή κατάργηση του τελευταίου. Τα χλωριωμένα OPFRs δύσκολα αφαιρούνται στα WWTP. Σε μελέτη που διεξήχθη για 29 υπολειμματικούς μικρορρύπους, το TCPP ήταν μεταξύ των 10 ρύπων που δε έχουν υποστεί σημαντική απομάκρυνση σε μονάδες επεξεργασίας υγρών αποβλήτων, ενώ το TCEP έδειξε ελαφρά απομάκρυνση (μόνο 20%) (Reemtsma et al., 2006). Γενικότερα, τα TCEP και TCPP ανιχνεύονται τακτικά στα λύματα, με μέσες συγκεντρώσεις 200 και 600 ngL<sup>-1</sup> αντίστοιχα.

**Πίνακας 1.1:** Ιδιότητες των επιλεγμένων φυτοφαρμάκων που επιλέχθηκαν να μελετηθούν στην παρούσα διατριβή

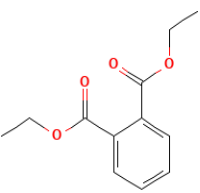
Κατηγορία	Οργανικοί ρύποι	Δομή	Χημικός Τύπος	Μοριακό Βάρος (g/mol)	pKa	logKow	ψευδομοριακό ιόν
Νεονικοτινοειδή	Acetamiprid		C <sub>10</sub> H <sub>11</sub> ClN <sub>4</sub>	222,64	0,7	0,80	223,0745 [M+H] <sup>+</sup>
	Clothianidin		C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> ClN <sub>5</sub> O <sub>2</sub> S	249,68	11,09	0,7	250,0160 [M+H] <sup>+</sup>

Thiocluprid		C10H9ClN4S	253,0309 [M+H] <sup>+</sup>	1,26 1,62 252,72
Imidacloprid		C9H10ClN5O2	256,0596 [M+H] <sup>+</sup>	0,57 1,56 255,66
Thiamethoxam		C8H10ClN5O3S	292,0266 [M+H] <sup>+</sup>	0,80 0,99 291,72
Atrazine		C8H14ClN5	216,1010 [M+H] <sup>+</sup>	2,61 1,60 215,68
Terbutylazine		C9H16ClN5	230,1167 [M+H] <sup>+</sup>	3,40 2,0 229,71

Αζόλες		Clotrimazole	345,1153 [M+H] <sup>+</sup>	4,1	5,21	344,8
Imazalil		Imazalil	297,0556 [M+H] <sup>+</sup>	3,82	6,53	297,2
Fenbuconazole		Fenbuconazole	337,1215 [M+H] <sup>+</sup>	3,23	2,34	336,8
Πυρεθρινοειδή		Pyriproxyfen	322,1438 [M+H] <sup>+</sup>	5,37	6,87	321,4

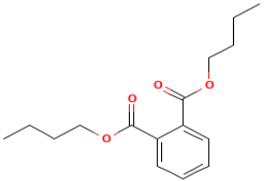
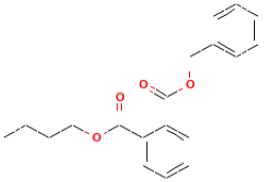
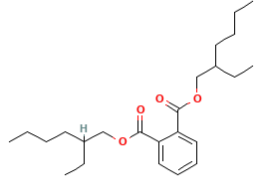
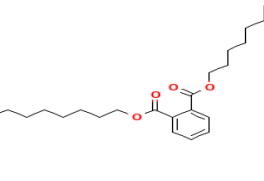
351,9306 [M+H] <sup>+</sup>	4,96	n.a.	350,6	C <sub>9</sub> H <sub>11</sub> Cl <sub>3</sub> NO <sub>3</sub> PS <sub>2</sub>		Chlorpyrifos	Οργανοφωσφορικά
--------------------------------	------	------	-------	--	---	--------------	-----------------

**Πίνακας 1.2:** Ιδιότητες των επιλεγμένων φθαλικών εστέρων που επιλέχθηκαν να μελετηθούν στην παρούσα διατριβή

Ψευδομοριακό ιόν	logK <sub>ow</sub>	pK <sub>a</sub>	Μοριακό Βάρος (g/mol)	Μοριακός Τύπος	Δομή	Οργανικοί ρύποι
217,0471 [M+Na] <sup>+</sup>	1,60	-6,6	194,18	C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>		Dimethyl phthalate (DMP)
245,0784 [M+Na] <sup>+</sup>	2,47	-6,7	222,24	C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> O <sub>4</sub>		Diethyl phthalate (DEP)

<sup>1</sup> Δεδομένα από <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>

<sup>2</sup> Δεδομένα από <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>

Dibutyl phthalate (DBP)		C16H22O4	278,34	-6.7	4,50	301,1410 [M+Na] <sup>+</sup>
Benzyl butyl phthalate (BBP)		C19H20O4	312,4	n.a	4,73	335,1254 [M+Na] <sup>+</sup>
Bis(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP)		C24H38O4	390,6	n.a	7,60	413,2662 [M+Na] <sup>+</sup>
Di-n-octyl phthalate (DnOP)		C24H38O4 <sup>4</sup>	390,6	n.a	8,10	413,2662 [M+Na] <sup>+</sup>

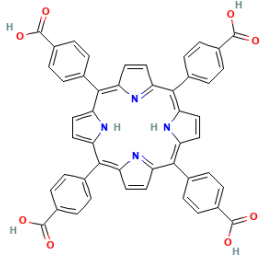
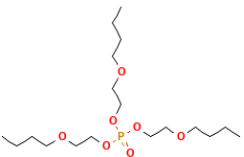
3

<sup>3</sup> Δεδομένα από <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>

<sup>4</sup> Δεδομένα από <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>



**Πίνακας 1.3:** Ιδιότητες των επιλεγμένων οργανοφωσφορικών επιβραδυντικών φλόγας που επιλέχθηκαν να μελετηθούν στην παρούσα διατριβή

Οργανικοί ρύποι	Δομή	Χημικός Τύπος	Μοριακό Βάρος (g/mol)	pKa	logK <sub>ow</sub>	Ψευδομοριακό ιόν
Tris(1-chloro-2-propyl) phosphate (TCPP)		C <sub>9</sub> H <sub>18</sub> Cl <sub>3</sub> O <sub>4</sub> P	327,6	4,2	2,59	329,0052 [M+H] <sup>+</sup>
Tris(2-butoxyethyl) phosphate (TBEP)		C <sub>18</sub> H <sub>39</sub> O <sub>7</sub> P <sup>5</sup>	398,5	n.a. <sup>7</sup>	3,75 <sup>8</sup>	399,2506 [M+H] <sup>+</sup>

<sup>5</sup> Δεδομένα από <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>

<sup>6</sup> Δεδομένα από <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>

<sup>7</sup> McMurry (2000) In: Organic Chemistry, 5th edition, Brooks/Cole, Pacific Grove, pp. 607, 821, 824, 660

n.a= not. available

<sup>8</sup> Indicates experimental value from EPIsuite

## Κεφάλαιο 2

### Μέθοδοι και Στάδια Επεξεργασίας Αποβλήτων

#### 2.1 Μέθοδοι και στάδια επεξεργασίας αποβλήτων στις μονάδες βιολογικού καθαρισμού

Οι μονάδες επεξεργασίας υγρών αποβλήτων (WWTP) παράγουν μια σημαντική ποσότητα ιλύος που προκύπτει από την απομάκρυνση των συνολικών στερεών (TSS) και την ανάπτυξη μικροοργανισμών μέσα στις μονάδες βιολογικής επεξεργασίας των λυμάτων. Οι κυριότερες κατηγορίες λυμάτων που συναντάμε τοξικές ουσίες είναι: τα οικιακά λύματα, τα βιομηχανικά απόβλητα, τα όμβρια νερά και τα αστικά λύματα που αποτελούν μίγμα των παραπάνω περιπτώσεων. Οι αναφορές για την ρύπανση της ιλύος από μικρορύπους είναι αρκετές για πολλά χρόνια. Αυτό προκύπτει από την προσρόφηση ρύπων κατά τη διάρκεια πρωτογενών και βιολογικών κατεργασιών λόγω της υδροφοβικότητάς τους ή της τάσης τους να προσροφηθούν σε σωματίδια (Byrns, 2001). Δεδομένου ότι η ιλύς μπορεί να καταλήξει κυρίως στο έδαφος, αυτή η ρύπανση είναι ανησυχητική, ιδίως λαμβάνοντας υπόψη τη συσσώρευση μερικών μικρορύπων στη λάσπη και τη μεταφορά τους στο περιβάλλον. Έτσι, η βασική επιδίωξη της επεξεργασίας λυμάτων είναι η απομάκρυνση όλων των ανεπιθύμητων ουσιών και η προστασία του περιβάλλοντος από τις αρνητικές επιπτώσεις των αστικών λυμάτων και τις απορρίψεις των βιομηχανικών αποβλήτων. Οι στόχοι για ένα επιτυχημένο σύστημα επεξεργασίας λυμάτων είναι:

- A. η επίτευξη της απομάκρυνσης των ρυπαντικών ουσιών,
- B. η διευκόλυνση της διαχείρισης των παραγόμενων παραπροϊόντων και
- C. η τήρηση των νομοθετικών προτύπων σχετικά με την ποιότητα του νερού που οδηγείται στην απορροή (Raheema et al., 2018).

Οι διαδικασίες επεξεργασίας λυμάτων ομαδοποιούνται σε υποσυστήματα ενώ στις μέρες μας όλες οι σύγχρονες ΜΕΥΑ περιλαμβάνουν τρία στάδια κατεργασίας: i) την πρωτοβάθμια, ii) τη δευτεροβάθμια και iii) τη τριτοβάθμια επεξεργασία που περιγράφονται αναλυτικά στη συνέχεια και είναι ικανές να συνεισφέρουν σημαντικά στην απομάκρυνση των οργανικών ρύπων από τα λύματα (Wang et al., 2011).

#### I. Πρωτοβάθμια επεξεργασία ή μηχανικός καθαρισμός

Ο πρωτοβάθμιος καθαρισμός σε μια εγκατάσταση επεξεργασίας υγρών αποβλήτων στοχεύει στην απομάκρυνση των στερεών με μεγάλο μέγεθος και των σωματιδίων με μεγαλύτερο ειδικό βάρος. Στην πρωτοβάθμια καθίζηση, η ιλύς περιέχει ανόργανα και οργανικά συστατικά (>70%), είναι αρκετά πυκνή και εύκολα αφυδατούμενη με έντονη οσμή. Το στάδιο αυτό περιλαμβάνει φυσικές διεργασίες διαχωρισμού που στηρίζονται στις φυσικές ιδιότητες των ρύπων. Αφού συλληθούν στην εγκατάσταση όλα τα λύματα (αστικά, βιομηχανικά και βοθρολύματα), οδηγούνται στο αντλιοστάσιο για τοπική ανύψωση ώστε στη συνέχεια να οδηγηθούν στην κύρια γραμμή επεξεργασίας με βαρύτητα.

Κατά το πρώτο στάδιο καθαρισμού των λυμάτων περιλαμβάνονται μηχανικές διεργασίες καθαρισμού. Μερικές από αυτές είναι:

- Οι δεξαμενές ομογενοποίησης, για την ομογενοποίηση των λυμάτων και την προεργασία τους για την εισαγωγή τους στις μονάδες βιολογικού καθαρισμού.
- Οι εσχάρες διήθησης για την απομάκρυνση μεγάλου μεγέθους αιωρούμενων σωματιδίων από τα λύματα.
- Οι αμμοσυλλέκτες, οι οποίοι αποτελούνται από δεξαμενές καθίζησης συνεχούς ροής για να κατακρατούν υλικά με μεγάλο ειδικό βάρος όπως είναι η άμμος.
- Οι λιποσυλλέκτες, για τη συλλογή των λιπών και των ελαίων που περιέχονται στα λύματα.
- Οι δεξαμενές καθίζησης, όπου καθιζάνουν στον πυθμένα τα πιο βαριά αιωρούμενα σωματίδια λόγω της βαρύτητας.

Οι δεξαμενές καθίζησης αποτελούν μία από τις βασικές μονάδες καθαρισμού στις εγκαταστάσεις επεξεργασίας των λυμάτων και από εκεί λαμβάνεται η πρωτοβάθμια ιλύς. Μετά τις δεξαμενές καθίζησης η εγκατάσταση ακολουθεί δύο γραμμές λειτουργίας. Αφενός το πρωτογενώς επεξεργασμένο λύμα με υπερχειλίση οδηγείται στην αερόβια δεξαμενή βιολογικής απομάκρυνσης και αφετέρου η καθιζάνουσα ιλύς οδηγείται με βαρύτητα σε παχυντή πρωτοβάθμιας ιλύος. Η ποσότητα της πρωτοβάθμιας ιλύος είναι ανάλογη της συγκέντρωσης των αιωρούμενων σωματιδίων στα τροφοδοτούμενα λύματα (Τσώνης, 2004) ενώ το ρυπαντικό φορτίο (οργανικά, στερεά, μικρόβια) μετά τον πρωτοβάθμιο καθαρισμό μπορεί να ελαττωθεί κατά μέσο όρο από 35-60% (Λέκκα, 2013, Τζομάκα, 2015, Αλμπάνης, 1999).

## II. Δευτεροβάθμια επεξεργασία ή βιολογικός καθαρισμός

Μετά τον πρωτοβάθμιο καθαρισμό της ιλύος ακολουθεί ο δευτεροβάθμιος ή βιολογικός καθαρισμός όπου εδώ γίνεται χρήση ειδικών αποσυνθετικών μικροοργανισμών που διασπούν το οργανικό υλικό που έχει παραμείνει μετά το στάδιο της πρωτοβάθμιας επεξεργασίας. Η χρησιμοποίηση των διαλυμένων οργανικών ενώσεων χρησιμοποιείται σαν τροφή από τους μικροοργανισμούς μετατρέποντας τους σταδιακά σε σταθερή μορφή ανόργανων αλάτων και αερίων. Πιο συγκεκριμένα στο στάδιο αυτό περιλαμβάνονται:

- Μία Δεξαμενή Αερισμού (Aeration Tank), όπου οι μικροοργανισμοί καταναλώνουν τις οργανικές ουσίες χρησιμοποιώντας οξυγόνο μέσω των διατάξεων αερισμού.
- Τη Δεξαμενή Δευτεροβάθμιας Καθίζησης (Sedimentation Tank), όπου καθιζάνουν οι μικροοργανισμοί.
- Ένα Σύστημα ανακυκλοφορίας, για την επιστροφή της ενεργού ιλύος στην δεξαμενή αερισμού.

Η πιο συνηθισμένη μέθοδος επεξεργασίας ιλύος είναι η αερόβια σταθεροποίηση, κυρίως μέσω των συστημάτων παρατεταμένου αερισμού, που αντιστοιχούν στο 80% των μονάδων επεξεργασίας. Στην μονάδα των Ιωαννίνων τα λύματα οδηγούνται αρχικά στον αναερόβιο βιολογικό αντιδραστήρα όπου σε συνθήκες απουσίας οξυγόνου πραγματοποιείται η αποφωσφόρωση και η απονιτροποίηση. Με την απελευθέρωση του φωσφόρου έχουμε την ανάπτυξη των πολυφωσφορικών βακτηριδίων. Αυτά, στην δεξαμενή αερισμού υπό αερόβιες συνθήκες, επαναπροσλαμβάνουν τον φώσφορο και δημιουργούν την ιλύ πλούσια σε φώσφορο, με την απομάκρυνση της οποίας κατ' επέκταση επιτυγχάνεται η μείωση των συγκεντρώσεων φωσφόρου στα λύματα. Στη συνέχεια, οδηγούνται στη δεξαμενή απομάκρυνσης του αζώτου και στη δεξαμενή αερισμού όπου υφίστανται αερόβια και αναερόβια επεξεργασία. Η βιομάζα

καθιζάνει στις δεξαμενές δευτεροβάθμιας καθίζησης και με το σύστημα ανακυκλοφορίας η ιλύς επανακυκλοφορεί προς τους βιολογικούς αντιδραστήρες για τη διατήρηση σταθερού ποσοστού ενεργού ιλύος. Τα διαυγασμένα υγρά που υπερχειλίζουν οδηγούνται στη μονάδα απολύμανσης για την καταστροφή των παθογόνων μικροοργανισμών. Στο στάδιο αυτό η ελάττωση του ρυπαντικού φορτίου είναι της τάξης του 80-90%. Σε πολλές ΜΕΥΑ ακολουθείται και το στάδιο της τριτοβάθμιας επεξεργασίας για τον πλήρη καθαρισμό των λυμάτων και αποβλήτων, ώστε να είναι επιτρεπτή η ανακύκλωση του νερού για βιομηχανική ή αρδευτική χρήση.

### III. Τριτοβάθμια επεξεργασία ή χημικός καθαρισμός

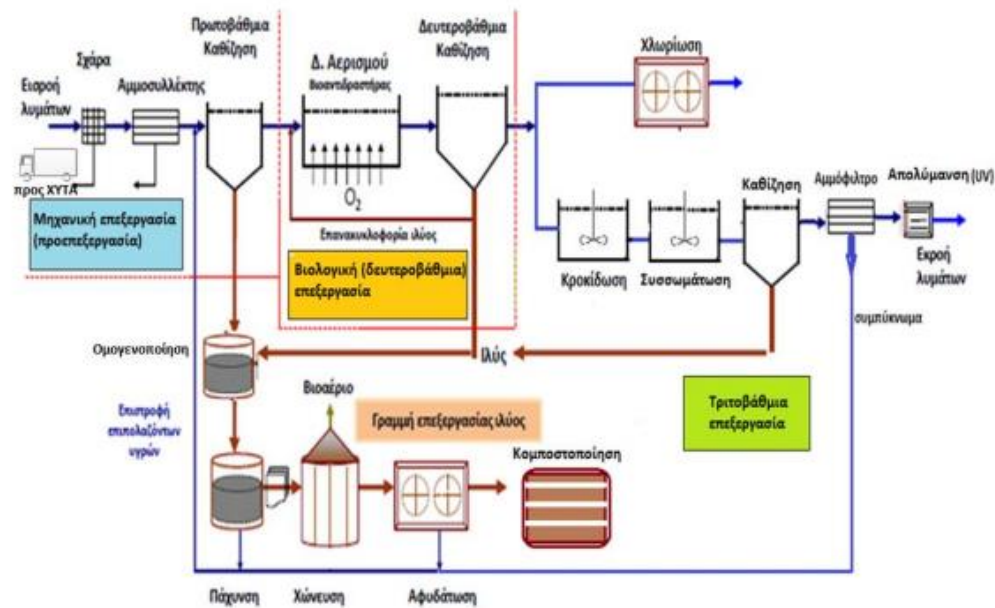
Στον τριτοβάθμιο καθαρισμό στόχος είναι η απομάκρυνση των θρεπτικών συστατικών (φώσφορο και άζωτο) και παθογόνων μικροοργανισμών (Στάμου, 2004, Τσώνης, 2004). Οι πιο συνηθισμένες διεργασίες που εφαρμόζονται είναι: Χημική κατακρήμνιση, Προσρόφηση, Ιονταναλλαγή, Οξειδωτικές διεργασίες (π.χ. UV/O<sub>3</sub>, UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> κ.α.), Απολύμανση, Διεργασίες μεμβρανών, Ηλεκτροδιάλυση, κ.ά. Η τριτοβάθμια επεξεργασία αποβλέπει στη βελτίωση των ποιοτικών χαρακτηριστικών των λυμάτων ώστε να είναι δυνατή η αποτελεσματική απολύμανσή τους και η απομάκρυνση υπολειμματικών οργανικών ενώσεων και εξασφαλίζει:

- ✓ Τη μείωση στο ελάχιστο των τιμών της συγκέντρωσης των αιωρούμενων στερεών (SS)
- ✓ Την πρόσθετη απομάκρυνση των οργανικών ενώσεων
- ✓ Την ποιοτική αναβάθμιση της οπτικής εμφάνισης των λυμάτων με τη μείωση της θολότητας
- ✓ Τη μείωση των παθογόνων μικροοργανισμών ώστε να πληρούνται τα απαιτούμενα όρια

Σε μια τυπική ΜΕΑ οι συνηθέστερες μέθοδοι που χρησιμοποιούνται:

- ❖ Προσθήκη κροκιδωτικών-συσσωμάτωση κροκιδωση
- ❖ Διύλιση-φιλτράρισμα σε αμμόφιλτρα
- ❖ Απολύμανση

Με την απολύμανση επιτυγχάνεται η καταστροφή ή αδρανοποίηση των παθογόνων μικροοργανισμών. Οι μέθοδοι απολύμανσης συνήθως είναι: χλωρίωση (Cl<sub>2</sub>, ClO<sub>2</sub>, NaOCl, NaOCl<sub>2</sub>)-οζόνωση (O<sub>3</sub>) και έκθεση σε υπεριώδη ακτινοβολία (UV). Συγκεκριμένα στην ΜΕΥΑ των Ιωαννίνων η απολύμανση των επεξεργασμένων λυμάτων γίνεται με τη χρήση υποχλωριώδους νατρίου (NaOCl) με ποσότητα 120 L/h ώστε να εξασφαλίζεται ότι το 90-95% περίπου της μάζας των υγρών αποβλήτων παραμένει στις δύο όμοιες δεξαμενές χλωρίωσης για τουλάχιστον 30 με 40 λεπτά και απομακρύνονται όλοι οι παθογόνοι μικροοργανισμοί που περιέχονται στα λύματα. Τέλος, ακολουθεί το στάδιο της αποχλωρίωσης που αποσκοπεί στη μείωση του υπολειμματικού χλωρίου και στην αποφυγή των παραπροϊόντων απολύμανσης και την εισαγωγή του νερού σε δύο κατακόρυφους επιφανειακούς αεριστήρες που εμπλουτίζουν τα λύματα με οξυγόνο (Εικόνα 2.1).



**Εικόνα 2.1:** Διάγραμμα ροής ΜΕΥΑ ενεργού ιλύος, με όλα τα στάδια επεξεργασίας λυμάτων (Κυπριωτάκης Εμμανουήλ, 2017)

## 2.2 Ιλύς βιολογικών καθαρισμών (Λυματολόαση)

Το αδιάλυτο στερεό ή ημι-στερεό υπόλειμμα που παραμένει μετά την επεξεργασία λυμάτων αναφέρεται ως λυματολόαση. Στη βιβλιογραφία αναφέρεται συχνά ως παραπροϊόν, ωστόσο το αντιμετωπίζουμε ως απόβλητο ως προς την περαιτέρω επεξεργασία. Συγκεκριμένα είναι ένα ετερογενές στερεό - υγρό υπόλειμμα που αποτελείται από την περίσσεια της βιομάζας που αναπτύσσεται μέσα από τα στάδια της βιολογικής επεξεργασίας, καθώς και από τα στερεά μικροσωματίδια, τα οποία έχουν διαχωριστεί από τα λύματα από την πρωτοβάθμια και δευτεροβάθμια καθίζηση (Ding et al., 2021). Η ασφαλής απόρριψη της λάσπης αυτής, είναι από τις σημαντικότερες προκλήσεις και εγείρει περιβαλλοντικές ανησυχίες ανά τον κόσμο.

Η ιλύς μπορεί να κατηγοριοποιηθεί σε τρεις κύριες κατηγορίες (DG-Environment, 2001):

- ❖ Η ιλύς που παράγεται από την επεξεργασία αστικών λυμάτων, τα οποία αποτελούνται από οικιακά λύματα ή μίγμα οικιακών με βιομηχανικά λύματα ή/και όμβρια ύδατα. Λύματα κυρίως από κατοικίες και υπηρεσίες, που προέρχονται από τον ανθρώπινο μεταβολισμό και εμπορικές δραστηριότητες.
- ❖ Η ιλύς που παράγεται από την επεξεργασία βιομηχανικών λυμάτων. Λύματα που προέρχονται από κάθε είδους εμπορική ή βιομηχανική δραστηριότητα.
- ❖ Η ιλύς από την επεξεργασία πόσιμου νερού πριν την κατανάλωσή του. Το ποσό της παραγόμενης ιλύος αυτού του είδους είναι σημαντικά μικρότερο από αυτό των δυο προηγούμενων κατηγοριών.

Η λυματολόαση περιλαμβάνει διάφορα θρεπτικά συστατικά όπως άζωτο (N), φώσφορο (P) και κάλιο (K) και επίσης περιέχει πολύτιμη οργανική ύλη. Γενικότερα, λόγω των παραπάνω χαρακτηριστικών της είναι πολύτιμη για τα φυτά και τα εδάφη και για τον λόγο αυτό έχει προσελκύσει μεγάλο ενδιαφέρον η χρήση της, μετά από επεξεργασία, ως λίπασμα στη γεωργία ή

ως υλικό αναγέννησης – βελτίωσης εδαφών (Yuan et al., 2011). Η κομποστοποίηση είναι ένας ακόμη τρόπος αξιοποίησης της ιλύος με έναν σημαντικό αριθμό Ε.Ε.Λ. στη Ε.Ε. να κομποστοποιεί αφυδατωμένη ιλύ υπό αερόβιες συνθήκες ή μέσω της ξήρανσης της (έως και 95% ξηρή μάζα) για χρήση ως λίπασμα ή καύσιμο (Fijalkowski et al., 2017). Συνάμα, μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως πόρος για την παραγωγή βιοκαυσίμων λόγω της υψηλής περιεκτικότητας σε βιοαποδομήσιμη οργανική ύλη (Gossen et al., 2016), ως πηγή ενέργειας (αναερόβια χώνευση, θερμική επεξεργασία) ή ακόμα ως πηγή εκχύλισης πολύτιμων συστατικών (ανάκτηση φωσφόρου).

Λόγω της παραγωγής της σε διαφορετικές εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων, η λυματολάσπη παρουσιάζει μια ετερογένεια, εποχικές διαφοροποιήσεις κ.α. που απαιτούν γνώση της χημικής σύνθεσης πριν την εφαρμογή της στο έδαφος. Τα λύματα μπορεί να περιέχουν ορισμένα ανεπιθύμητα συστατικά συμπεριλαμβανομένων των οργανικών, ανόργανων και τοξικών ουσιών καθώς και παθογόνων μικροοργανισμών.

Σε γενικές γραμμές, η λυματολάσπη αποτελείται από οργανικές ενώσεις, μακροθρεπτικά και μικροθρεπτικά συστατικά, διάφορα ιχνοστοιχεία, οργανικούς μικρορρύπους και μικροοργανισμούς (Kulling, 2001). Τα μακροθρεπτικά συστατικά στην ιλύ λυμάτων χρησιμεύουν ως πηγή πηγών θρεπτικών συστατικών και τα οργανικά συστατικά παρέχουν ευεργετικές ιδιότητες ρύθμισης του εδάφους (Logan και Harrison, 1995). Εκτός από οργανικές ενώσεις η λυματολάσπη μπορεί να περιέχει και πολλά τοξικά στοιχεία, εξαιτίας της απόρριψης στο σύστημα επεξεργασίας υγρών αποβλήτων πολλών τοξικών ενώσεων από βιομηχανικά απόβλητα. Στις τοξικές ουσίες ανήκουν κυρίως βαρέα μέταλλα που μπορεί να είναι επικίνδυνα τόσο για τα φυτά όσο και για τα ζώα. Από ανεπεξέργαστα λύματα μπορεί να προέλθουν και διάφοροι παθογόνοι μικροοργανισμοί που προκαλούν επιπτώσεις στον ανθρώπινο οργανισμό. Τα χαρακτηριστικά της λάσπης εξαρτώνται από το αρχικό ρυπαντικό φορτίο των λυμάτων και από τα τεχνικά χαρακτηριστικά των διαφόρων επεξεργασιών της. Κατά την επεξεργασία απομακρύνεται από τα λύματα το ρυπαντικό φορτίο και επομένως η λάσπη περιέχει μεγάλη ποικιλία ουσιών (DG-Environment, 2001).

## 2.2.1 Κατηγορίες ιλύος

Τα στάδια επεξεργασίας των στερεών στις μονάδες επεξεργασίας υγρών αποβλήτων είναι αυτά της πρωτοβάθμιας, δευτεροβάθμιας (βιολογικής) ή τριτοβάθμιας επεξεργασίας (Σχήμα 2.1). Κατ' αντιστοιχία η ιλύς ταξινομείται με βάση την διαδικασία κατά την οποία παράγεται. Έτσι, οι διάφοροι τύποι ιλύος που συναντάμε είναι:

### I. Πρωτοβάθμια ιλύς (primary sludge)

Η πρωτοβάθμια ιλύς παράγεται με μετα-μηχανική επεξεργασία μετά το πρωτογενές στάδιο επεξεργασίας των λυμάτων. Η ιλύς συλλέγεται από τον πυθμένα της δεξαμενής πρωτοβάθμιας καθίζησης όταν τα στερεά καθιζάνουν μέσω της βαρύτητας είτε από την επιφάνεια της δεξαμενής με κινούμενο ξέστρο μετά τη διεργασία της επίπλευσης. Αποτελείται κυρίως από αιωρούμενο οργανικό και ανόργανο υλικό (Τσώνης, 2004). Τα κύρια χαρακτηριστικά της πρωτοβάθμιας ιλύος είναι ότι είναι φαιόχρωμη και γλοιώδης, έχει δυσάρεστη οσμή και αποσυντίθεται πολύ εύκολα. Η κύρια αιτία της δυσοσμίας είναι ενώσεις που απελευθερώνονται όπως διμέθυλο-δισουλφίδιο (dimethyl disulphide (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>S<sub>2</sub>) και διμέθυλο-τρισουλφίδιο (dimethyl trisulphide (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>S<sub>3</sub>) (Hasit and Christensen, 1987). Σε μια τυπική Μ.Ε.Υ.Α. το βάρος της πρωτοβάθμιας ιλύος αποτελεί

περίπου το 50% κ.β. (επί ξηρού) της συνολικά παραγόμενης ιλύος και η συγκέντρωση των ολικών στερεών στην ανεπεξέργαστη πρωτοβάθμια ιλύ, κυμαίνεται μεταξύ 2 και 7% (Turonskiy, Mathai, 2006).

## **II. Δευτεροβάθμια ιλύς (secondary sludge)**

Η δευτεροβάθμια ή βιολογική ιλύς περιλαμβάνει γενικά στερεά που παρέμειναν μετά τη πρωτοβάθμια επεξεργασία και προκύπτει έπειτα από την διαδικασία βιολογικής επεξεργασίας των λυμάτων. Στο στάδιο αυτό, διασπώνται και απομακρύνονται οι περιεχόμενες πολύπλοκες οργανικές ουσίες. Μια μέθοδος στην δευτεροβάθμια επεξεργασία των λυμάτων που εφαρμόζεται περισσότερο είναι αυτή της «ενεργού ιλύος», όπου τα απόβλητα αναμειγνύονται με μικροοργανισμούς, κυρίως βακτήρια και αποσυνθέτουν μέσω οξείδωσης τις οργανικές ουσίες που παραμένουν σε αυτά μετά την πρωτοβάθμια επεξεργασία. Συνήθως στην πράξη εφαρμόζονται οι τεχνικές της αερόβιας βιοαποδόμησης και σε ειδικές περιπτώσεις χρησιμοποιούνται αναερόβια ή συνδυασμένη αερόβια-αναερόβια βιοαποδόμηση. Οι ποσότητες και τα χαρακτηριστικά της δευτεροβάθμιας ιλύος ποικίλλουν ανάλογα με το μεταβολισμό και την ταχύτητα ανάπτυξης των διάφορων μικροοργανισμών που περιέχει ενώ η μάζα της που παράγεται καθημερινά αντιπροσωπεύει την καθαρή ανάπτυξη της βιομάζας και σχετίζεται με το ρυθμό της βιολογικής επεξεργασίας. Τα κύρια χαρακτηριστικά της δευτεροβάθμιας ιλύος είναι το καστανό χρώμα και η γήινη οσμή, η ταχεία αποσύνθεση και η παρουσία στερεών που δεν απομακρύνθηκαν κατά την πρωτοβάθμια επεξεργασία, υπολείμματα της δράσης των μικροοργανισμών. Σε μια τυπική Ε.Ε.Λ. η ιλύς μετά το στάδιο βιολογικής επεξεργασίας περιέχει στερεά σε συγκέντρωση (επί ξηρού) 0,4-1,5% κ.β. ενώ παράλληλα είναι πιο δύσκολο να αφυδατωθεί και να παχυνθεί σε σχέση με την πρωτοβάθμια, εξαιτίας των ελαφρών βιοκροκίδων που ενυπάρχουν σε αυτή (Turonskiy, Mathai, 2006).

## **III. Μικτή ιλύς (Mixed sludge)**

Αποτελεί ένα μείγμα της πρωτοβάθμιας και της δευτεροβάθμιας ιλύος.

## **IV. Χημική ιλύς (Chemical sludge)**

Η χημική ιλύς προκύπτει μετά από την προσθήκη ασβέστη ή μεταλλικών αλάτων σε διάφορα σημεία κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας των αποβλήτων. Η χημική ιλύς περιλαμβάνει τα προϊόντα αντίδρασης των προστιθέμενων χημικών ουσιών και τα οργανικά στερεά. Συνήθως η προσθήκη τέτοιων ουσιών προσφέρουν έναν οικονομικότερο τρόπο για την απομάκρυνση του φωσφόρου. Ανάλογα με το σημείο εφαρμογής των χημικών ουσιών, στη πρωτοβάθμια ή στην τελική καθίζηση, προκύπτει και η ανάλογη ποσότητα ιλύος αντίστοιχα. Έτσι, όταν οι χημικές ουσίες εφαρμόζονται στα ακατέργαστα λύματα, η παραγόμενη ιλύς είναι ένα μείγμα χημικής ιλύος και οργανικής ακατέργαστης ιλύος ενώ αν προστεθούν μετά από πλήρη δευτεροβάθμια επεξεργασία υπάρχει σχετικά μικρή οργανική ρύπανση της ιλύος. Σε γενικές γραμμές, έχει παρατηρηθεί ότι με την προσθήκη ασβέστη κατά την επεξεργασία λυμάτων τα στερεά της ιλύος μπορεί να αυξηθούν μέχρι και 200%, ενώ με την προσθήκη μεταλλικών αλάτων ή υδροξειδίων η αντίστοιχη αύξηση κυμαίνεται από 25% έως 50%. Τα κύρια χαρακτηριστικά της χημικής ιλύος είναι το καφέ-γκρι χρώμα στην ιλύ ασβέστου και το σκούρο χρώμα στην ιλύ με μεταλλικά άλατα αντίστοιχα, η δυσάρεστη οσμή και ότι ο ρυθμός αποσύνθεσης είναι μικρότερος από αυτό της πρωτοβάθμιας ιλύος (Metcalf and Eddy, 2007).

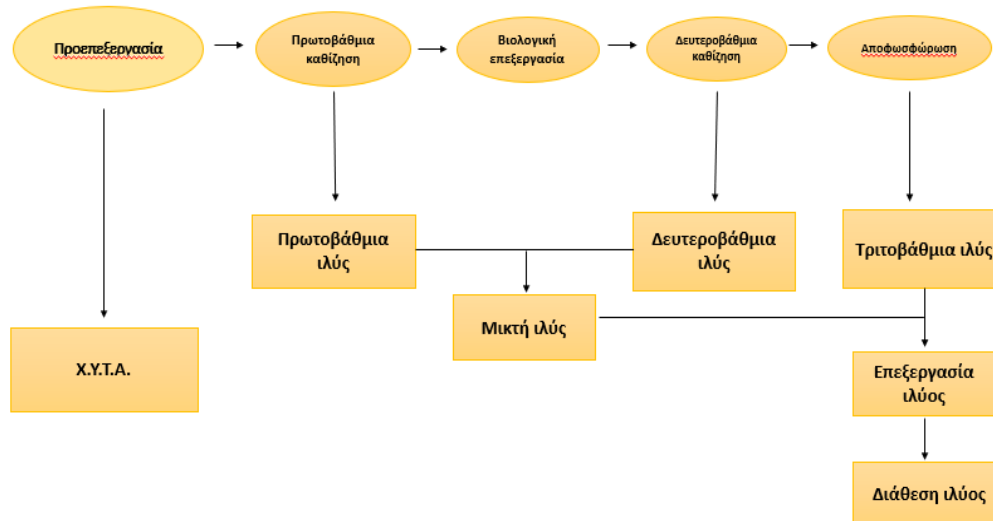
## **V. Χωνευμένη ιλύς (digested sludge)**

Είναι το προϊόν της περαιτέρω επεξεργασίας που υφίσταται η ιλύς έπειτα από αερόβια ή αναερόβια χώνευση με σκοπό τη μείωση της περιεκτικότητας της σε νερό, την σταθεροποίηση της οργανικής της ύλης, την μείωση των οσμών της και του όγκου της και τον αριθμό των παθογόνων μικροοργανισμών που περιέχονται σε αυτή. Κατά κύριο λόγο, η χωνευμένη ιλύς αποτελεί ένα σταθεροποιημένο υλικό που αναφέρεται και ως «βιο-στερεά» (biosolids). Σε γενικές γραμμές, τα κύρια χαρακτηριστικά των αερόβιων χωνευμένων βιοστερεών είναι το καφέ-σκούρο καφέ χρώμα, η οσμή μούχλας, η μορφή κροκίδων και η εύκολη αφυδάτωση σε κλίνες ξήρανσης. Επειδή είναι σταθεροποιημένη, διασπείρεται συχνά στη γεωργία ως λίπασμα. Από την άλλη, τα αναερόβια χωνευμένα βιοστερεά έχουν σκούρο καφέ προς μαύρο χρώμα, περιέχουν μεγάλες ποσότητες αερίων κυρίως CO<sub>2</sub> και CH<sub>4</sub> που περιέχονται σε αυτή, αναδύουν μία οσμή ζεστής πίσσας ενώ αφυδατώνονται εύκολα (Metcalf and Eddy, 2007). Μετά τη χώνευση της, δεν αναδίδει ενοχλητική οσμή.

## **VI. Σηπτική ιλύς (septic sludge)**

Προέρχεται από την επεξεργασία λυμάτων σηπτικών βόθρων. Λόγω απουσίας δικτύων αποχέτευσης, σε διάφορα μέρη στην Ελλάδα η εξυπηρέτηση τμημάτων πόλεων και οικισμών πραγματοποιείται με σηπτικούς βόθρους. Η μεταφορά τους στις περισσότερες ΕΕΛ γίνεται μέσω βυτιοφόρων οχημάτων σε κατάλληλη υποδομή που έχει δημιουργηθεί στις μονάδες για να δεχθούν βοθρολύματα. Ανάλογα με τον τρόπο λειτουργίας των σηπτικών βόθρων, έχουμε τα βοθρολύματα στεγανών δεξαμενών τα οποία ως κύρια χαρακτηριστικά τους έχουν το μικρό ρυπαντικό φορτίο, ότι είναι σχετικά αραιά και ότι ο χειρισμός τους είναι παρόμοιος με τον χειρισμό των αστικών λυμάτων για αυτό και συχνά αναμειγνύονται. Παράλληλα υπάρχουν και τα βοθρολύματα σηπτικών δεξαμενών όπου παρουσιάζουν μεγάλη περιεκτικότητα σε στερεά και υψηλό ρυπαντικό φορτίο. Ένας συνηθισμένος τρόπος χειρισμού τους είναι η συμπύκνωσή τους με προσθήκη ασβέστη και η τροφοδοσία τους στη συνέχεια προς τις δεξαμενές χώνευσης και αφυδάτωσης της ιλύος που προκύπτει από τα αστικά λύματα (Δεληαργύρης και Παπαγγελής, 2008, Ανδρεαδάκης κ.α., 2001).





**Σχήμα 2.1:** Πηγές και τύποι ιλύων (European Council, 2001).

### 2.2.3. Σύσταση της ιλύος

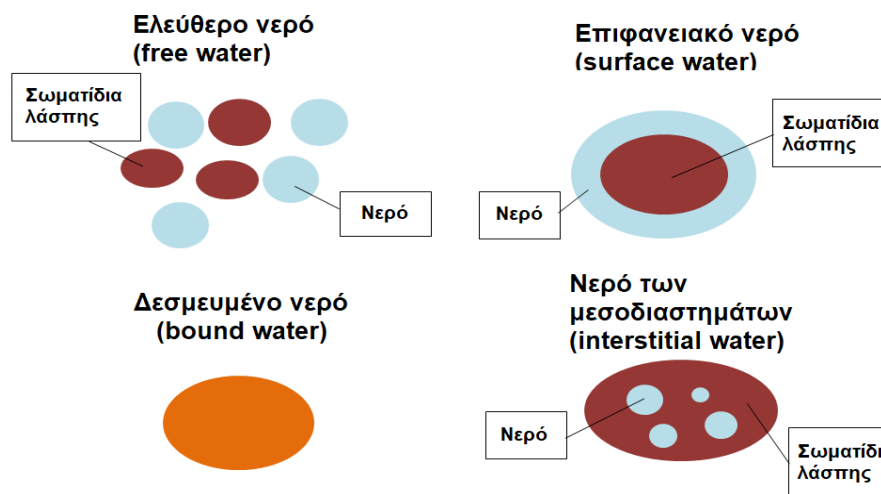
Οι διάφορες κατηγορίες της ιλύος που τελικά παράγονται εξαρτώνται από τα στερεά που περιέχονται στα απόβλητα, των οποίων η σύσταση δεν είναι πάντα γνωστή με ακρίβεια. Η σύσταση εξαρτάται από τα στάδια επεξεργασίας στα οποία υπόκεινται τα απόβλητα καθώς και από την απόδοση του κάθε σταδίου επεξεργασίας καθαρισμού. Καθώς περνάμε τα στάδια στην επεξεργασία των υγρών αποβλήτων, κάποια συστατικά που υπάρχουν ήδη σε αυτά είναι πιθανό να αυξήσουν τη συγκέντρωσή τους στην λυματολάσπη. Γι' αυτό, είναι απαραίτητο να κάνουμε ανάλυση στη σύσταση της ιλύος.

Η ιλύς αποτελείται από υγρά συστατικά, στερεά και μικροοργανισμούς. Γενικά η ιλύς που παράγεται από τις μονάδες επεξεργασίας λυμάτων αποτελείται κατά 20%-50% από βιομάζα, 10%-30% από ανόργανες ουσίες, και 20%-40% από άλλα οργανικά (EC, 2007). Σαν υγρό θεωρούμε το νερό, το οποίο αποτελεί και το μεγαλύτερο ποσοστό του βάρους της. Η λυματολάσπη, σε αντίθεση με την έννοια της «λάσπης» που έχουμε στο μυαλό μας ως στερεάς μορφής αιώρημα, είναι ένα υδαρές (παχύρευστο) υγρό, που παρότι περιέχει 40 περίπου φορές περισσότερες στερεές ουσίες από τα αστικά λύματα (5% έναντι 1,25), εξακολουθεί να έχει μορφή υγρού. Μετά τη δευτεροβάθμια επεξεργασία, η ιλύς περιέχει 98% περιεκτικότητα σε νερό ενώ το ποσοστό υγρασίας μπορεί να μειωθεί με την αφυδάτωση της (στην αφυδατωμένη ιλύ αγγίζει το 75%) και ακόμη περισσότερο με διάφορες μορφές ξήρανσης (τιμές που αγγίζουν το 10%) (Μαρκαντωνάτος, 1986).

Υπάρχουν οι εξής «τύποι» νερού στην ιλύ (Εικόνα 2.2):

- ❖ Το ελεύθερο νερό (freewater), που δε συνδέεται με τα μόρια της ιλύος.
- ❖ Το δεσμευμένο νερό (bound water), που συνδυάζεται χημικά με τα μόρια των οποίων αποτελεί τμήμα.
- ❖ Το νερό των μεσοδιαστημάτων (interstitial water), που συλλαμβάνεται από τα μεγαλομόρια ιλύος και κινείται με αυτά.

- ❖ Το επιφανειακό νερό (surface water) που περικλείει τα μεγαλομόρια και συμπεριφέρεται ως τμήμα των στερεών.



**Εικόνα 2.2:** Οι τέσσερις τύποι νερού στην ιλύ

Η απομάκρυνση των παραπάνω τύπων νερού από τα στερεά, γίνεται με εξάτμιση, αρχικά, του ελεύθερου νερού, μετά του νερού των μεσοδιαστημάτων και τέλος του επιφανειακού νερού. Το δεσμευμένο νερό απομακρύνεται μόνο κατά τη διάρκεια χημικής αφυδάτωσης. (Chen et al, 2002).

Τα στερεά που βρίσκονται στην ιλύ χωρίζονται σε δυο βασικές κατηγορίες:

- ❖ Στα αιωρούμενα στερεά (Suspended Solids-SS), που προσδιορίζεται κατά την εξάτμιση του υπολείμματος και αποτελούν μέτρο ελέγχου του βαθμού απόδοσης των μονάδων επεξεργασίας.
- ❖ Στα διαλυμένα στερεά (Dissolved Solids-DS), που προσδιορίζεται κατά την εξάτμιση του αντίστοιχου διηθήματος.

Τόσο τα αιωρούμενα στερεά όσο και τα διαλυμένα αποτελούνται από σταθερά και πτητικά στερεά, με τα πτητικά να παίζουν σημαντικό ρόλο σαν δείκτης σταθεροποίησης της ιλύος. Ανάλογα με τη χημική σύσταση τα στερεά διακρίνονται σε οργανικά και ανόργανα. Στα οργανικά στερεά συγκαταλέγονται οι πρωτεΐνες, οι υδρογονάνθρακες, τα λιπίδια και διάφοροι άλλοι αναδυόμενοι ρύποι, όπως ενεργές ουσίες από διάφορα απορρυπαντικά, οι φαινόλες που δεν διασπώνται σε μεγάλες συγκεντρώσεις, φυτοφάρμακα και άλλοι μικρορύποι που θα αναφερθούμε παρακάτω. Στα ανόργανα συστατικά περιλαμβάνονται το αμμωνιακό άζωτο, ο ανόργανος φώσφορος σαν ορθοφωσφορικά, τα χλωριούχα, ενώσεις του θείου και τα βαρέα μέταλλα. Αν και η ιλύς περιέχει θρεπτικά συστατικά και οργανική ύλη που είναι ευεργετικά για την εφαρμογή της σε εδάφη, τα βαρέα μέταλλα, οι οργανικές ενώσεις και οι παθογόνοι μικροοργανισμοί που βρίσκονται σε αυτή αποτελούν ρυπαντικές ουσίες επικίνδυνες για το έδαφος.

Ειδικότερα για τα μέταλλα, οι κύριες πηγές τους αποτελούν οι βιομηχανίες που έχουν να κάνουν με χημικές διεργασίες (δημιουργία οργανικών ενώσεων σε βιομηχανίες βυρσοδεψίας, φαρμάκων και δημιουργίας ανόργανων ενώσεων σε βιομηχανίες καθαρισμού, πετρελαίου, βαφών) και

μεταλλικών διεργασιών (χυτήρια). Άλλες πηγές των βαρέων μετάλλων στην ιλύ είναι οι αστικές χρήσεις (οικιακά λύματα, νοσοκομειακά λύματα κ.α) αλλά και οι αγροτικές χρήσεις. Κάποια από τα συστατικά της ιλύος είναι μεγάλης αγροτικής σημασίας όπως το άζωτο (N), ο φώσφορος (P), το ασβέστιο (Ca) και είναι σημαντικά για την ανάπτυξη των φυτών.

Τα βαρέα μέταλλα όπως ο ψευδάργυρος (Zn), ο χαλκός (Cu), ο μόλυβδος (Pb), το κάδμιο (Cd) και το χρώμιο (Cr) περιλαμβάνονται στην κατηγορία των τοξικών ουσιών που μπορεί να περιέχονται στη λυματολάσπη και για το λόγο αυτό έχουν θεσμοθετηθεί σαφή όρια των συγκεντρώσεων τους στην ιλύ που πρόκειται να διατεθεί για εφαρμογή στο έδαφος και απαγορεύουν την εφαρμογή της. Ένα ποσοστό περίπου 10% της ποσότητάς τους συσσωρεύεται στην ιλύ με τη μορφή αδιάλυτων θειούχων ή ανθρακικών αλάτων, σύμπλοκων ιόντων ενώ σε κάποιες περιπτώσεις μπορεί να έχει ενσωματωθεί σε μικροοργανισμούς.

Η βιοδιαθεσιμότητα των μετάλλων επηρεάζεται περαιτέρω από τις ιδιότητες του εδάφους όπως το pH, το δυναμικό οξειδοαναγωγής (Eh), η περιεκτικότητα σε οργανική ύλη κ.α. (HueandRanjith, 1994). Το pH ίσως αποτελεί τον πιο σημαντικό παράγοντα. Γενικώς για την διάθεση ιλύος στο έδαφος προτιμάται το pH του εδάφους να είναι ουδέτερο ή αλκαλικό διότι σε αυτό το εύρος τα περισσότερα μέταλλα είναι λιγότερο διαλυτά και περιορίζεται η πρόσληψη τους από τα φυτά (Ανδρεαδάκης, 2001). Γενικότερα, η παρουσία και η απομάκρυνση των βαρέων μετάλλων στην λυματολάσπη έχει αποτελέσει αντικείμενο πολλών ερευνών με τη συνηθέστερη μέθοδο που εφαρμόζεται για την τους να είναι η εκχύλιση (Couillard and Mercier, 1992), με διάφορες τεχνικές εκχύλισης να έχουν μελετηθεί κατά καιρούς.

Η ιλύς, μετά την επεξεργασία των λυμάτων, περιέχει κι ένα πλήθος παθογόνων μικροοργανισμών, ο αριθμός και ο τύπος των οποίων ποικίλει. Τα κυριότερα είδη που απαντώνται είναι τα βακτηρίδια, οι μύκητες, τα πρωτόζωα, τα άλγη, τα μαλακόστρακα και οι ιοί. Η συγκέντρωση των παθογόνων στα λύματα και συνεπώς στη λυματολάσπη εξαρτάται από διάφορους παράγοντες, που σχετίζονται κυρίως από τον ανθρώπινο πληθυσμό που προέρχονται τα λύματα όπως είναι η ηλικία και η υγεία του πληθυσμού, η πυκνότητα του πληθυσμού, οι υγειονομικές συνήθειες, η εποχή του έτους (Αγγελάκης κ.α., 2005) αλλά και το είδος βιομηχανίας που υπάρχει στην περιοχή (DG-Environment, 2001).

## 2.2.4 Ποιοτικά χαρακτηριστικά ιλύος

Τα ποιοτικά χαρακτηριστικά αποτελούν απαραίτητο στοιχείο για τον καθορισμό ενός σχεδίου διαχείρισης της ιλύος, καθώς επηρεάζουν σημαντικά τις εναλλακτικές μεθόδους επεξεργασίας, διάθεσης και επαναχρησιμοποίησης της. Τα χαρακτηριστικά καθορίζονται κυρίως από το σημείο και τη διαδικασία δημιουργίας των στερεών ενώ η σύσταση της ιλύος εξαρτάται από το ρυπαντικό φορτίο των προς επεξεργασία λυμάτων, από το είδος της επεξεργασίας των λυμάτων, καθώς επίσης και από την επεξεργασία της ιλύος (Κάρτσωνας, 2005).

Τα κύρια ποιοτικά χαρακτηριστικά σύστασης της ιλύος είναι:

- ❖ Συγκέντρωση ιόντων υδρογόνου, pH (οξύτητα): Το pH αποτελεί έναν πολύ καλό δείκτη για την παρακολούθηση της ζύμωσης της ιλύος στους αντιδραστήρες. Η αλκαλική ή όξινη προεπεξεργασία σε συγκεκριμένο pH έχει αναφερθεί ότι επηρεάζει τα συσσωματώματα που

υπάρχουν με αποτέλεσμα τη μείωση του μεγέθους των σωματιδίων (Liao et al. 2002). Στην προεπεξεργασία σε αλκαλικές συνθήκες, είναι σύνηθες να χρησιμοποιούνται αλκάλια όπως υδροξείδιο του νατρίου (NaOH), υδροξείδιο του καλίου (KOH), υδροξείδιο του μαγνησίου ( $Mg(OH)_2$ ) και υδροξείδιο του ασβεστίου ( $Ca(OH)_2$ ). Αντιθέτως, το υδροχλωρικό οξύ (HCl), το θειικό οξύ ( $H_2SO_4$ ), το φωσφορικό οξύ ( $H_3PO_4$ ) και το νιτρικό οξύ ( $HNO_3$ ) χρησιμοποιούνται συνήθως για προεπεξεργασία σε όξινες συνθήκες. Η διακύμανση του pH μπορεί να επηρεάσει σημαντικά τη ροή των συστατικών στην ιλύ, τη δέσμευση μετάλλων, τις ικανότητες προσρόφησης οργανικών ενώσεων, και τη διεργασία της κροκίδωσης (Sheng et al. 2005).

- ❖ Πτητικά οξέα: Ως πτητικά οξέα χαρακτηρίζονται τα μικρομοριακά οργανικά οξέα όπως το οξικό οξύ ( $CH_3COOH$ ) και άλλα τα οποία έχουν χαμηλό σημείο ζέσεως και συνεπώς είναι εύκολο να διαχωριστούν με απόσταξη. Χρησιμεύουν σαν ενδεικτική παράμετρος για να εκτιμηθεί εάν η ζύμωση είναι όξινη, αλκαλική ή ουδέτερη. Στις διαδικασίες επεξεργασίας παίζουν σημαντικό ρόλο καθώς χρησιμοποιούνται ως μέτρο του οργανικού μέρους και ιδιαίτερα στην επεξεργασία της λάσπης δείχνουν το βαθμό σταθεροποίησης της (Στάμος, 1994). Εάν η συγκέντρωσή τους υπερβεί τα 2000 ppm τότε η όξινη ζύμωση υπερσχύει της αλκαλικής.
- ❖ Υγρασία: Πρόκειται για παράμετρο πρωταρχικής σημασίας η οποία προσδιορίζεται με τη μέτρηση της απώλειας του βάρους της ιλύος μετά από ξήρανση. Η υγρασία της ιλύος πρέπει να κυμαίνεται από 60%-70%. Αν η υγρασία της ιλύος είναι χαμηλή υπάρχει κίνδυνος να παρεμποδιστούν διεργασίες επεξεργασίας της όπως είναι για παράδειγμα η κομποστοποίηση (Zessneretal., 1999). Παράλληλα περιορίζεται η κινητικότητα των βακτηρίων. Αντίθετα τα υψηλά επίπεδα υγρασίας καταλαμβάνουν με νερό τους θύλακες αέρα που βρίσκονται μεταξύ των σωματιδίων με αποτέλεσμα να δημιουργούνται αναερόβιες συνθήκες.
- ❖ Οργανικός άνθρακας, οργανική ύλη: Βοηθούν στην εκτίμηση της ποσότητας του βιοαερίου που θα παραχθεί κατά τη ζύμωση της ιλύος, αλλά και στην περαιτέρω χρήση της ιλύος ως εδαφοβελτιωτικό. Η τυπική παραγωγή βιοαερίου είναι 1 L / g οργανικής ύλης που αποδομείται.
- ❖ Χρώμα: Αναφέρεται ότι το χρώμα είναι ενδεικτικό της ηλικίας και της προέλευσης. Απόβλητα που δεν έχουν υποστεί επεξεργασία έχουν γκριζο έως κιτρινωπό χρώμα ενώ εκείνα που έχουν υποστεί σήψη έχουν μαύρο χρώμα λόγω της παρουσίας θειικού σιδήρου.
- ❖ Οσμή: Η οσμή είναι ενδεικτικό στοιχείο της κατάστασής των αποβλήτων. Έτσι, η ακατέργαστη ιλύς είναι αρκετά δύσοσμη, η αδρανοποιηθείσα αναερόβια παρουσιάζει οσμή πίσσας ενώ η αδρανοποιηθείσα αερόβια μια οσμή χύματος.
- ❖ Θερμογόνος δύναμη: Η θερμότητα που μπορεί να παραχθεί στην μονάδα από την καύση της ιλύος. Η θερμική ενέργεια που παράγεται κατά την καύση της ιλύος συνυπολογίζεται στο σύνολο της θερμότητας στις εγκαταστάσεις της μονάδας.
- ❖ Αναλογία C:N:P: Οι βιολογικές δραστηριότητες βελτιστοποιούνται όταν στην τροφή των βακτηρίων της ιλύος υπάρχει σωστή αναλογία μεταξύ των στοιχείων C, N και P.
- ❖ Ικανότητα αφυδάτωσης: Παράμετρος που μας δείχνει πόσο εύκολα μπορεί να αφυδατωθεί η ιλύς.
- ❖ Ικανότητα βιοαποικοδόμησης: Παράμετρος που μας δείχνει πόσο γρήγορα μπορεί να πραγματοποιηθεί η αποικοδόμηση των οργανικών ουσιών που περιέχονται στην ιλύ. Οι

βιολογικές διεργασίες σχετίζονται με την ποσότητα του παραγόμενου βιοαερίου που παράγεται.

## 2.3 Επεξεργασία ιλύος

Όταν αναφερόμαστε στην επεξεργασία της ιλύος κάνουμε λόγο για την επεξεργασία που λαμβάνει χώρα στους χώρους παραγωγής της και στις μονάδες επεξεργασίας υγρών αποβλήτων. Έτσι, τα βασικά στάδια της επεξεργασίας της ιλύος θα λέγαμε ότι είναι:

- I. Η προσωρινή αποθήκευση
- II. Η βελτίωση της ιλύος
- III. Η συμπύκνωση και πάχυνση
- IV. Η σταθεροποίηση
- V. Η αφυδάτωση – ξήρανση

### I. Προσωρινή αποθήκευση

Στην δεξαμενή καθίζησης στο στάδιο της δευτεροβάθμιας επεξεργασίας η ιλύς που παραμένει στον πυθμένα συλλέγεται και αποθηκεύεται προσωρινά μέχρι να υποστεί την κατάλληλη επεξεργασία. Παράλληλα μπορεί να γίνει και ανάμειξη της πρωτοβάθμιας με τη δευτεροβάθμια ιλύ.

### II. Βελτίωση ιλύος

Για να βελτιωθεί καλύτερα η σύσταση της πριν από τα στάδια της αφυδάτωσης και ξήρανσης και για τον καλύτερο διαχωρισμό του νερού από τα στερεά γίνεται μια προεργασία της ιλύος (sludge conditioning), είτε θερμική είτε χημική. Έτσι, στην πράξη προσφέρεται η απαραίτητη ενέργεια συσσωματώσεως, προκειμένου να τροποποιηθούν οι εσωτερικές δυνάμεις συνοχής της ιλύος, να διασπαστεί η κολλοειδής σταθερότητα και να «ελευθερωθεί» ποσοστό από το «συνδεδεμένο» νερό, ώστε να απομακρυνθεί εύκολα με μηχανικά μέσα (Odegaard, 1998). Αυτός ακριβώς είναι και ο στόχος της βελτίωσης της ιλύος.

Στη χημική προετοιμασία της ιλύος γίνεται χρήση αντιδραστηρίων πτητικών όπως άλατα σιδήρου και αργιλίου, ασβέστης ή οργανικά κροκιδωτικά (ή πολυμερή), όπως οι συνθετικοί πολυηλεκτρολύτες. Η χημική επεξεργασία έχει σχεδιαστεί για να συσσωματώνει τα μικρότερα σωματίδια ιλύος (1-10 μm) και για να μειώσει το περιεχόμενο της σωματιδιακής ύλης. Ταυτόχρονα, αυτό έχει ως αποτέλεσμα την διευκόλυνση του διαχωρισμού του νερού (Αγγελάκης κ.α., 2005). Έτσι, το περιεχόμενο υγρασίας μπορεί να μειωθεί από 90 έως 99% στο 65-85%. (MetcalfandEddy, 1997). Πριν από τη χημική επεξεργασία, μπορεί να γίνει συμπληρωματικά έκπλυση της ιλύος (elutriation). Στο στάδιο αυτό γίνεται προσθήκη νερού, ανάμειξη και καθίζηση. Με τον τρόπο αυτό, ελαττώνουμε τη χρήση των απαιτούμενων χημικών ουσιών και της αλκαλικότητας και βελτιώνουμε τις χημικές και φυσικές ιδιότητες με την απομάκρυνση των λεπτών και κολλοειδών ουσιών.

Η θερμική προεπεργασία από τη άλλη έχει ως στόχο τη βελτίωση τόσο της αφυδάτωσης όσο και της αναερόβιας χώνευσης της ιλύος. Με την θερμότητα αλλάζει η φυσική δομή της ιλύος, βοηθώντας έπειτα την περαιτέρω αφυδάτωση της. Με τη θερμική επεξεργασία παράγεται μια πιο

εύκολα αφυδατώσιμη ιλύς σε σύγκριση με την χημική προετοιμασία. Συνήθως, η θερμική προετοιμασία της ιλύος συνίσταται στην θέρμανση της ιλύος στους 160-210 °C για 30-90 λεπτά και υπό πίεση 10-15atm.

Η διαδικασία θερμικής επεξεργασίας μπορεί να σπάσει τα κυτταρικά τοιχώματα των βιολογικών οργανισμών, απελευθερώνοντας όχι μόνο το νερό αλλά και κάποια δεσμευμένη οργανική ύλη. Ένα μέρος της οργανικής ύλης μπορεί να υποστεί υδρόλυση κατά την διάρκεια της παραπάνω διεργασίας, αυξάνοντας τα ρυπαντικά φορτία της υγρής φάσης. Η διαδικασία αυτή μπορεί να οδηγήσει στην ανακυκλοφορία κάποιου οργανικού υλικού που προηγουμένως είχε μετατραπεί σε συσσωμάτωμα και να δημιουργήσει άλλα λεπτότερα σωματίδια. Η διάσπαση, λοιπόν, των βιολογικών κυττάρων λόγω της θερμικής επεξεργασίας μετατρέπει αυτά τα προηγουμένως σωματιδιακά κύτταρα σε νερό και λεπτά στερεά. Αυτό βοηθά στη διαδικασία αφυδάτωσης ωστόσο δημιουργεί ένα ξεχωριστό πρόβλημα επεξεργασίας αυτού του νερού με υψηλό οργανικό φορτίο και γι' αυτό η επεξεργασία του απαιτεί προσεκτική εξέταση στο σχεδιασμό. Η μερική θερμική προετοιμασία μπορεί να αποτελέσει μια λύση καθώς μπορεί να πραγματοποιηθεί και σε χαμηλότερες θερμοκρασίες (40°C έως 50°C). Με αυτό το τρόπο αντιμετωπίζονται τα προβλήματα από το αυξημένο ρυπαντικό φορτίο της υγρής φάσης (Αγγελάκης κ.α., 2005).

### III. Πάχυνση

Ο στόχος σε αυτή την επεξεργασία είναι η αύξηση της περιεκτικότητας στερεών στην ιλύ, η πάχυνση της δραστικής κυρίως ιλύος, που είναι πολύ υδαρής (περίπου 99% περιεκτικότητα σε υγρασία έναντι 95% της πρωτοβάθμιας ιλύος) και η απομάκρυνση κάποιας ποσότητας υγρού κλάσματος. Για την ακρίβεια, αν η ιλύς από τη δευτεροβάθμια καθίζηση έχει περιεκτικότητα στερεών 0,8%, μπορεί με πάχυνση να αποκτήσει περιεκτικότητα στερεών 4,0%, επιτυγχάνεται δηλαδή πενταπλάσια μείωση του όγκου της ιλύος (Metcalf & Eddy, 2007). Με τη διαδικασία της πάχυνσης της ιλύος βελτιώνουμε τις μετέπειτα διαδικασίες της χώνευσης, της αφυδάτωσης και της ξήρανσης.

Οι πιο συχνά χρησιμοποιούμενες διαδικασίες πάχυνσης περιλαμβάνουν πάχυνση βαρύτητας, πάχυνση με επίπλευση, πάχυνση περιστροφικού τυμπάνου. Η πάχυνση με φυγοκέντριση γίνεται επίσης συχνότερη. Γενικότερα, η διαδικασία πάχυνσης που θα επιλέξουμε καθορίζεται συνήθως από το μέγεθος μιας εγκατάστασης λυμάτων, τους φυσικούς περιορισμούς της και την κατάντη διαδικασία.

#### ➤ Πάχυνση με βαρύτητα

Η πάχυνση με βαρύτητα περιλαμβάνει τη χρήση ειδικά σχεδιασμένων δεξαμενών που θυμίζουν αρκετά τις δεξαμενές δευτεροβάθμιας καθίζησης και συγκεντρώνουν την λεπτόκοκκη ιλύ σε ένα πιο πυκνό προϊόν ιλύος. Η ιλύς τροφοδοτείται συνεχώς και αναμιγνύεται ελαφρά. Η δεξαμενή πάχυνσης έχει χαμηλό ρυθμό υπερχειλίσης, έτσι ώστε η περίσσεια νερού να υπερχειλίζει και τα στερεά της ιλύος να συγκεντρώνονται στον πυθμένα. Το στρώμα ιλύος κοντά στον πυθμένα (sludge blanket), μπορεί να υποστεί συμπίεση και συμπύκνωση. Η δεξαμενή εδώ είναι παρόμοια με μία συμβατική δεξαμενή καθίζησης στο σχεδιασμό, αλλά έχει μια πιο απότομη κλίση. Το κόστος κατασκευής και λειτουργίας της συγκεκριμένης εγκατάστασης είναι χαμηλό διότι γίνεται χρήση ελάχιστης ηλεκτρικής ενέργειας (Αγγελάκης κ.α., 2005).

#### ➤ Πάχυνση με επίπλευση

Εδώ γίνεται χρήση πεπιεσμένου αέρα που εισάγεται στον πυθμένα και παρασύρει την εισερχόμενη ιλύ. Τα στερεά σωματίδια που βρίσκονται σε αιώρηση προσκολλώνται πάνω στις φυσαλίδες αέρα. Δημιουργούνται έτσι ευνοϊκότερες συνθήκες διαχωρισμού από την υγρή φάση και ενώνονται με άλλα σωματίδια σχηματίζοντας ένα στρώμα μάζας που στη συνέχεια αφαιρείται μηχανικά. Όσο οι φυσαλίδες είναι μικρότερες, τόσο αποδοτικότερη είναι η μέθοδος της επίπλευσης καθώς λόγω της μικρής ανοδικής ταχύτητας διασκορπίζονται με την οριζόντια κίνηση σε ολόκληρη την έκταση της δεξαμενής και προσκολλώνται σε άλλα αιωρούμενα σωματίδια. Οι φυσαλίδες μπορούν να δημιουργηθούν με μία από τις παρακάτω μεθόδους: i) εμβολή αέρα καθώς το υγρό βρίσκεται υπό πίεση και ακολούθως εκτόνωση σε ατμοσφαιρική πίεση (Dissolved Air Flotation), ii) αερισμός σε ατμοσφαιρική πίεση (Induced Air Flotation) και iii) κορεσμός με αέρα σε ατμοσφαιρική πίεση και ακολούθως εφαρμογή κενού στο υγρό (Vacuum Flotation).

#### ➤ Πάχυνση περιστρεφόμενου τυμπάνου

Η πάχυνση με περιστρεφόμενο τύμπανο κάνει χρήση υλικών από ανοξείδωτο χάλυβα με σπείρες και ενός συστήματος ροής που χρησιμοποιείται για την επεξεργασία στερεών. Πιο συγκεκριμένα, αποτελείται από ένα δομικό πλαίσιο από ανοξείδωτο χάλυβα, σύστημα διανομής ιλύος, ένα τύμπανο φιλτραρίσματος, ένα σύστημα πλύσης τυμπάνων κι ένα σύστημα μετάδοσης κίνησης του τυμπάνου. Το τύμπανο αναμειγνύει την ιλύ για να μειώσει την περιεκτικότητα σε νερό, τη μεταφέρει μέσω σπειρών μέσα στο τύμπανο. Η σπειροειδής κίνηση μεταφέρει την ιλύ κατά μήκος του τυμπάνου και τελικά έξω από αυτό. Το νερό ρέει από τον τύμπανο για επαναχρησιμοποίηση. Στην πάχυνση περιστρεφόμενου τυμπάνου χρησιμοποιείται κλειστή και συμπαγής κατασκευή, γεγονός που καθιστά εύκολη την εγκατάσταση του εξοπλισμού και την αποφυγή όχλησης από οσμές.

#### ➤ Πάχυνση με φυγοκέντριση

Στην πάχυνση με φυγοκέντριση γίνεται χρήση φυγόκεντρων δυνάμεων για την επιτάχυνση της καθίζησης. Συνήθως απαιτείται λιγότερος χώρος από άλλες μεθόδους πάχυνσης της ιλύος, λιγότερες απαιτήσεις καθαριότητας και λιγότερες οσμές, ωστόσο παρουσιάζει μειονεκτήματα όσον αφορά την πρωτοβάθμια ιλύ λόγω της περιεκτικότητας της σε λειαντικό υλικό. Με τη φυγοκέντριση αυξάνει πολλαπλάσια (100-600-1000 φορές) η δύναμη της βαρύτητας και εξασφαλίζεται ικανοποιητική συμπύκνωση των στερεών (20%-25%), με απομάκρυνση 50%-80% των εισερχομένων στερεών, που μπορεί να αυξηθούν σε 80%-95% με χρησιμοποίηση και κροκιδωτικών υλικών, όπως χλωριούχος σίδηρος, ασβέστης ή οργανικοί πολυηλεκτρολύτες.

### **IV. Σταθεροποίηση**

Η σταθεροποίηση (stabilization) είναι μια διαδικασία που εφαρμόζεται στην ιλύ για να απομακρύνει τις δυσάρεστες οσμές και να μειώσει ή να εξαλείψει τη σήψη και τα επίπεδα των παθογόνων μικροοργανισμών. Παράλληλα, μειώνει τις οργανικές ουσίες, εμποδίζοντας τη μελλοντική αποσύνθεση τους. Στα απόβλητα οι οργανικές ενώσεις μπορούν να εισέλθουν από φυσικές πηγές ή ανθρώπινες δραστηριότητες, πολλές μπορεί να είναι βιοαποδομήσιμες ή όχι. Με τον όρο «βιοαποδομήσιμες» εννοούμε τις ουσίες εκείνες που μπορούν να αποδομηθούν με βιολογικές διεργασίες και λειτουργούν ως τροφή από φυσικά ευρισκόμενους μικροοργανισμούς. Αντίθετα, αυτές που δεν βιοαποδομούνται ή η βιοαποδόμηση τους είναι πολύ αργή αποτελούν ενώσεις όπως οι φαινόλες, φυτοφάρμακα, βαρέα μέταλλα, διάφορα βιομηχανικά χημικά κ.α.

Λόγω της τοξικότητας των ενώσεων αυτών κρίνεται απαραίτητη η μετατροπή τους και η αποδόμηση τους πριν τη τελική διάθεση της ιλύος. Για τον λόγο αυτό η σταθεροποίηση της ιλύος είναι ένα σημαντικό στάδιο στην επεξεργασία της.

Αυτό μπορεί να επιτευχθεί είτε με χημικούς είτε με βιολογικούς τρόπους. Η βιολογική σταθεροποίηση (αερόβια ή αναερόβια χώνευση) εφαρμόζεται σε μεγάλη έκταση σε συνδυασμό με προηγούμενη πύκνωση και ακόλουθη μηχανική αφυδάτωση. Η αναερόβια χώνευση πραγματοποιείται σε συμβατικές μονάδες με πρωτοβάθμια και δευτεροβάθμια καθίζηση ενώ όταν δεν έχουμε παραγωγή πρωτοβάθμιας ιλύος εφαρμόζουμε αερόβιες διαδικασίες. Παράλληλα, είναι δυνατόν να έχουμε την παραγωγή βιοαερίου και τη βελτίωση της αφυδάτωσης. Στην σταθεροποίηση με χημικά μέσα γίνεται συνήθως χρήση υδρασβέστου ( $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ) για να μεταβληθεί η τιμή του pH σε υψηλό επίπεδο ( $> 11$ ) ώστε κανένας μικροοργανισμός να μην μπορεί να επιβιώσει. Οι βασικές διαφορές στην επιλογή της μεθόδου αφορά κατά βάση τον ρυθμό της βιοαποδομής και τα τελικά προϊόντα. Έτσι, οι συνηθέστεροι τρόποι σταθεροποίησης της ιλύος είναι:

#### ➤ Αναερόβια χώνευση

Η αναερόβια χώνευση αποτελεί μια από τις βασικές και πιο παραδοσιακές μεθόδους επεξεργασίας της ιλύος που παράγεται κατά την πρωτοβάθμια και δευτεροβάθμια επεξεργασία των αστικών αποβλήτων. Οι αναερόβιες διεργασίες χρησιμοποιούνται για την επεξεργασία υγρών αποβλήτων πάνω από έναν αιώνα, και αρχικά, χρησιμοποιούνταν για να σταθεροποιήσουν τα στερεά που παράγονταν (Grady, 1999). Ως αναερόβια χώνευση μπορεί να οριστεί η βιολογική διεργασία κατά την οποία οργανικό υλικό, απουσία οξυγόνου, μετατρέπεται σε μεθάνιο και διοξείδιο του άνθρακα. Ταυτόχρονα παράγονται κάποια αχρησιμοποίητα οργανικά και κυτταρικό πρωτόπλασμα μαζί με ορισμένα δύσοσμα αέρια (Knezevic et al., 1995). Οι διεργασίες που λαμβάνουν χώρα κατά την αναερόβια χώνευσης είναι οι παρακάτω:

1. Στο πρώτο στάδιο, αυτό της υδρόλυσης, διάφορα είδη βακτηρίων (acid-forming bacteria) υδρολύουν μεγαλομοριακές οργανικές ενώσεις (υδατάνθρακες, λίπη, πρωτεΐνες) μετατρέποντας τις σε διαλυτά οργανικά μικρομόρια (λιπαρά οξέα, αμινοξέα, σάκχαρα κτλ.).
2. Στο δεύτερο στάδιο, αυτό της οξεογένεσης, τα οργανικά μικρομόρια οξειδώνονται αναερόβια και μετατρέπονται σε απλά οργανικά οξέα (πτητικά λιπαρά οξέα, αλκοόλες, διοξείδιο του άνθρακα κτλ.).
3. Στο τρίτο στάδιο, το στάδιο της οξικογένεσης, τα απλά οργανικά οξέα μετατρέπονται σε οξικό οξύ ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ), υδρογόνο ( $\text{H}_2$ ) και διοξείδιο του άνθρακα ( $\text{CO}_2$ ).
4. Ακολούθως, και σχεδόν ταυτόχρονα γίνεται και η μεθανογένεση όπου λαμβάνει χώρα η μετατροπή των παραπάνω προϊόντων σε μεθάνιο ( $\text{CH}_4$ ) και η διάσπαση τους από μεθανογενή βακτήρια (methane-forming bacteria).

Γενικότερα, στην αναερόβια χώνευση σημαντικό ρόλο παίζουν οι μικροοργανισμοί και η σχέση της κυτταρικής τους λειτουργίας με το οξυγόνο (Gerardi, 2003). Τα μεθανογενή βακτήρια είναι αμιγώς αναερόβια και η ευαισθησία τους μπορεί να απορυθμίσει εύκολα την ισορροπία του βιολογικού συστήματος και τον κανονικό ρυθμό αποδομής της ιλύος. Για τον λόγο αυτό, οι συνθήκες που



πρέπει να επικρατούν στο περιβάλλον (θερμοκρασία, pH και αλκαλικότητα, θρεπτικά, τοξικά μέταλλα κλπ.) πρέπει να είναι ελεγχόμενες κατά τη διάρκεια της χώνευσης της ύλης.

Η επιλογή κατάλληλου βιοαντιδραστήρα παίζει σημαντικό ρόλο και εξαρτάται τόσο από το κόστος λειτουργίας όσο και από τα χαρακτηριστικά του διαθέσιμου υλικού όπως για παράδειγμα είναι η παρουσία διάφορων τοξικών ουσιών, η συγκέντρωση στερεών κλπ. Έτσι, συναντάμε συστήματα όπου η ανάπτυξη αιωρούμενων μικροοργανισμών γίνεται σε υγρό μέσο (συμβατική αναερόβια χώνευση), συστήματα, στα οποία οι μικροοργανισμοί προσκολλώνται σε κάποιο στερεό πληρωτικό υλικό (ταχύρρυθμη αναερόβια χώνευση) ή υβριδικά αναερόβια συστήματα που συνδυάζουν τις προηγούμενες λειτουργίες. Γενικότερα, η αναερόβια χώνευση χρησιμοποιείται ως μέθοδος επεξεργασίας σχεδόν κάθε είδους αποβλήτου.

#### ➤ Αερόβια χώνευση

Η αερόβια χώνευση είναι η βιολογική μετατροπή της οργανικής ύλης παρουσία οξυγόνου και η παραγωγή τελικών προϊόντων όπως  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$  και  $\text{NO}_3$  μαζί με ορισμένα μη διασπάσιμα οργανικά και υπολειμματικό κυτταρικό υλικό (Mason et al., 1992). Λαμβάνει χώρα συνήθως σε ανοιχτές δεξαμενές που λειτουργούν όπως οι δεξαμενές αερισμού των λυμάτων. Η ύλη που χρησιμοποιείται είναι αυτή που προέρχεται από την δευτεροβάθμια καθίζηση, λόγω της παρουσίας αερόβιων μικροοργανισμών που υπάρχουν εκεί ωστόσο η χρήση μίγματος ύλης από πρωτοβάθμια και δευτεροβάθμια καθίζηση είναι κάτι που εφαρμόζεται.

Παράλληλα γίνονται και δύο βιολογικές διεργασίες, αυτή της άμεσης οξειδωσης των οργανικών ουσιών της πρωτοβάθμιας ύλης και αυτή της ενδογενούς οξειδωσης του κυτταρικού υλικού της δευτεροβάθμιας οξειδωσης. Το απαραίτητο οξυγόνο παρέχεται συνήθως με παροχή αέρα και σπανιότερα με την παροχή καθαρού οξυγόνου. Ο παρατεταμένος αερισμός βοηθά να συνεχιστεί η βιολογική δράση των αερόβιων μικροοργανισμών μέχρι το στάδιο της αυτοοξειδωσης. Η δράση των αερόβιων βακτηρίων είναι ταχύτερη συγκριτικά με αυτή των μεθανοβακτηρίων λόγω της έκλυσης περισσότερης θερμικής ενέργειας κατά την οξειδωση.

Το κόστος λειτουργίας λόγω του αερισμού και οι μικρές τιμές απομάκρυνσης πτητικών στερεών είναι μερικοί από τους περιοριστικούς παράγοντες εφαρμογής της αερόβιας χώνευσης. Παρόλα αυτά, έχει παρατηρηθεί ότι όταν πραγματοποιείται σε μεσόφιλες ή θερμόφιλες συνθήκες, μπορεί να επιτύχει υψηλές απομακρύνσεις των πτητικών στερεών σε μικρούς χρόνους παραμονής. Στα μεσόφιλα και θερμόφιλα συστήματα, οι μικροί χρόνοι παραμονής μειώνουν και το αρχικό κόστος της μονάδας, καθώς μειώνεται ο αιτούμενος όγκος των δεξαμενών.

#### ➤ Αλκαλική σταθεροποίηση

Η αλκαλική σταθεροποίηση ανήκει στις μεθόδους επεξεργασίας της ύλης που κάνουν χρήση χημικών μέσων, κυρίως ασβέστη ή άλλου αλκαλικού μέσου και στόχος είναι η αύξηση του pH και η μείωση των παθογόνων μικροοργανισμών και άλλων. Στην ύλη συνίσταται κυρίως η προσθήκη άνυδρου οξειδίου του ασβεστίου ( $\text{CaO}$ ) ή σβησμένου ασβέστη  $\text{Ca(OH)}_2$  και η αύξηση του pH σε τιμή 12. Στην περίπτωση που χρησιμοποιηθεί  $\text{CaO}$  ο απαιτούμενος χρόνος διατήρησης του pH είναι 2 ώρες, και η σημαντική αύξηση της θερμοκρασίας ( $52^\circ\text{C}$  περίπου) λόγω της εξώθερμης αντίδρασης του  $\text{CaO}$  με το νερό της ύλης, η οποία συμβάλλει στην καταστροφή των παθογόνων μικροοργανισμών. Στην περίπτωση του  $\text{Ca(OH)}_2$  ο απαιτούμενος χρόνος διατήρησης του pH σε υψηλά επίπεδα είναι λίγες εβδομάδες έως 3 μήνες ενώ το πλεονέκτημα της αυξημένης

θερμοκρασίας δεν υπάρχει. Η σταθεροποίηση με αλκαλικά μέσα και η διατήρηση του pH σε υψηλά επίπεδα πετυχαίνει την αναστολή ή διακοπή της δράσης των μικροοργανισμών. Κατά συνέπεια, αποφεύγεται η σήψη και δε παράγονται οσμές. Ταυτόχρονα, γίνεται απολύμανση της ιλύος καθώς αδρανοποιούνται ιοί, μικροοργανισμοί και βακτήρια. Έτσι το τελικό προϊόν παρουσιάζει υψηλή περιεκτικότητα σε ξηρή ύλη, μοιάζει με έδαφος και έχει μικρή περιεκτικότητα σε παθογόνους μικροοργανισμούς (Στάμος κ.α.,1994). Εντούτοις, αντισταθμιστικός παράγοντας της μεθόδου αυτής είναι η αύξηση των στερεών που παράγονται λόγω της προσθήκης του αλκαλικού υλικού και η εξάρτηση από τις επαρκείς ποσότητες αλκαλικού μέσου για τη διατήρηση του pH σε υψηλά επίπεδα επομένως η οικονομική πρακτικότητά της αμφισβητείται.

#### ➤ Κομποστοποίηση

Η κομποστοποίηση είναι μια κατάλληλη μέθοδος ανακύκλωσης της ιλύος που προέρχεται μετά την επεξεργασία λυμάτων. Αποτελεί μια βιολογική διαδικασία σταθεροποίησης της ιλύος που μέσω φυσικών μικροοργανισμών, μετατρέπει τη βιοδιασπώμενη οργανική ύλη σε προϊόν που μοιάζει με χούμο. Επί της ουσίας και μέσω ελεγχόμενων μικροβιακών δράσεων και με τις βιολογικές μεθόδους σταθεροποίησης προκαλείται, η ελάττωση της περιεκτικότητας της ιλύος σε ταχέως αποδομήσιμη οργανική ουσία.

Η διαδικασία κομποστοποίησης καταστρέφει παθογόνα, μετατρέπει το άζωτο από ασταθή αμμωνία σε σταθερές, οργανικές μορφές αζώτου και μειώνει τον όγκο των αποβλήτων (Zhu, 2006). Μετά τη διαδικασία του βιολογικού καθαρισμού η ιλύς περιέχει συνήθως 5-10% στερεά υλικά με μεγάλη περιεκτικότητα σε άζωτο (περίπου 10%). Ταυτόχρονα, λόγω της υψηλής υγρασίας και της χαμηλής περιεκτικότητας σε άνθρακα, η ιλύς πρέπει να αναμιχθεί με ξηρά υλικά για κομποστοποίηση. Η χρήση και η πρόσμιξη λιγνοκυτταρινούχων υλικών (οργανικά κλάσματα αστικών στερεών αποβλήτων, λεπτοτεμαχισμένα φυτικά απορρίμματα, άχυρα και άλλα φυτικά υπολείμματα, αγροτικά ή αγροβιομηχανικά απόβλητα, πριονίδι κλπ.), είναι απαραίτητη για τη διόγκωση στο μίγμα ενώ σε δεδομένη αναλογία συντείνουν καθοριστικά στη δημιουργία ικανοποιητικών συνθηκών αερισμού και συγκέντρωσης άνθρακα και αζώτου. Η ομογενοποίηση του μίγματος και υλικών κρίνεται απαραίτητη για την εξασφάλιση κατάλληλων συνθηκών αερισμού. Με τον αερισμό και την αποτροπή αναερόβιων συνθηκών μπορούμε να επιταχύνουμε τη πορεία της διαδικασίας και να αποφύγουμε την πρόκληση δυσάρεστων οσμών.

Γενικότερα, η διαδικασία της κομποστοποίησης πραγματοποιείται ως εξής: Στη μάζα του υλικού αναπτύσσονται θερμοκρασίες μέχρι 65-70°C περίπου για την απολύμανση της ιλύος και την απαλλαγή από τα παθογόνα. Για να μειωθούν σημαντικά τα παθογόνα, τα απόβλητα πρέπει να διατηρούνται στους 40 °C για τουλάχιστον 5 ημέρες. Επιπλέον, η θερμοκρασία πρέπει να αυξηθεί σε μεγαλύτερα από 55 °C για τουλάχιστον 4 ώρες (USEPA, 1993). Η επίτευξη της ενδεδειγμένης σχέσης θερμοκρασίας και χρόνου διάρκειας αυτής έχει καθοριστική σημασία για την επίτευξη ιδανικών συνθηκών απολύμανσης του υλικού.

Το πρώτο στάδιο της κομποστοποίησης, η θερμοφιλική φάση, διαρκεί περίπου 2-4 εβδομάδες. Σε αυτό το στάδιο είναι απαραίτητος ο αερισμός του μίγματος για την αποφυγή δυσάρεστων οσμών. Συνήθως οι οσμές προκαλούνται λόγω έλλειψης οξυγόνου στη μάζα που ζυμώνεται και μπορεί να οφείλονται λόγω κακής ανάμειξης, περίσσειας υγρασίας, δυσαναλογίες στις πρώτες ύλες κ.α. Έπειτα, ακολουθεί το στάδιο όπου επικρατούν χαμηλότερες θερμοκρασίες για 30-90 ημέρες. Το

στάδιο της ωρίμανσης είναι και αυτό που συντελείται η σταθεροποίηση της μίγματος κυρίως σε στεγασμένους χώρους για την προστασία των υλικών από τις καιρικές συνθήκες.

Η διαδικασία της κομποστοποίησης μπορεί να πραγματοποιηθεί με διάφορους τρόπους:

1. Κομποστοποίηση σε επιμήκεις ανοικτούς σωρούς (σειράδια - windows), με τη δημιουργία επιμήκων σωρών τα οποία αναμοχλεύονται ανά τακτά χρονικά διαστήματα για την επίτευξη των ενδεδειγμένων συνθηκών αερισμού.
2. Κομποστοποίηση σε αεριζόμενους σταθερούς ή εκτεταμένους σωρούς, σε μη αναστρεφόμενα στατικά συστήματα (aeratedstaticpilesystems) όπου ο αερισμός γίνεται με αναρρόφηση ή εμφύσηση.
3. Κομποστοποίηση σε βιοαντιδραστήρες (κλειστά συστήματα), με τη χρήση κάθετων ή οριζόντιων αντιδραστήρων διαφόρων διαστάσεων, διατάξεων και μορφών [invesssystem, containers, rotten-boxes, rotten-drums, tunnels, enclosedhalls, agitatedbays κλπ.]

Σε γενικές γραμμές, το κομπόστ λυματολάσπης μπορεί να βελτιώσει σημαντικά τις φυσικές ιδιότητες του εδάφους, όπως αποδεικνύεται για παράδειγμα από την αυξημένη ικανότητα κατακράτησης νερού, τον αυξημένο αερισμό και διαπερατότητα, τη χαμηλότερη φαινομενική πυκνότητα κ.α. Η κομποστοποίηση αποτελεί μία πιο εύχρηστη, αξιόπιστη και οικονομική μέθοδος σταθεροποίησης της ιλύος.

## V. Αφυδάτωση

Η αφυδάτωση (dewatering) είναι η διαδικασία που ως στόχο έχει τη μείωση του ποσοστού υγρασίας στην ιλύ, τη μείωση του όγκου της και την αύξηση των στερεών της. Σκοπός είναι η καλύτερη διακίνηση, μεταφορά και τελική διάθεση της σταθεροποιημένης ιλύος ενώ παράλληλα μειώνεται το κόστος διαχείρισης της λόγω της μείωσης του όγκου της. Ακόμη παρατηρείται λόγω της μείωσης της υγρασίας, αύξηση της θερμαντικής της αξίας, μείωση των εκλυόμενων οσμών και μείωση της ποσότητας των στραγγισμάτων. Η διαδικασία επιτυγχάνεται με τη χρήση μηχανικών και θερμικών μεθόδων. Ανάλογα με το σύστημα αφυδάτωσης το τελικό προϊόν μπορεί να περιέχει ξηρά στερεά μέχρι και 45% ( $450\text{kg/m}^3$ ) (Αγγελάκης κ.α., 2005) ενώ το τελικό προϊόν περιέχει υγρασία 55%-70% εκτός από τη θερμική ξήρανση, που ελαττώνει την υγρασία κάτω του 10% (Gruter et al., 1990). Οι μέθοδοι της αφυδάτωσης της ιλύος είναι:

### ➤ Κλίνες ξήρανσης (drying beds)

Είναι μια απλή τεχνική αφυδάτωσης της ιλύος που χρησιμοποιείται κυρίως σε μικρές εγκαταστάσεις. Αποτελείται από δεξαμενές που στο πυθμένα τους είναι ειδικά σχεδιασμένες για τη συλλογή στραγγισμάτων το οποίο επικαλύπτεται από άμμο (20cm) και στρώμα χαλικιών. Η αφυδάτωση της ιλύος πραγματοποιείται με την διήθηση του νερού στον πυθμένα της κλίνης και την εξάτμιση του από την εκτεθειμένη στον αέρα επιφάνεια (Αγγελάκης κ.α., 2005). Με τις κλίνες ξήρανσης μπορεί να επιτύχουμε συγκέντρωση ξηρών στερεών μέχρι και 40% ( $400\text{kg/m}^3$ ), ανάλογα με την διάρκεια της ξήρανσης και τις επικρατούσες κλιματολογικές συνθήκες, ενώ ο χρόνος ξήρανσης κυμαίνεται από τρεις εβδομάδες μέχρι ενάμιση μήνα (Μαρκαντωνάτος, 1990).

Οι βασικοί μηχανισμοί αφυδάτωσης στις κλίνες ξήρανσης είναι δύο:

1. Διήθηση του νερού της ιλύος μέσα στις κλίνες που διαρκεί περίπου 1-3 ημέρες και έχει ως αποτέλεσμα συγκεντρώσεις στερεών 15-25%. Το ποσοστό του νερού που απομακρύνεται

με διήθηση είναι 20-55% του συνολικού και εξαρτάται από τα χαρακτηριστικά της ιλύος και κυρίως τη συγκέντρωσή της.

2. Εξάτμιση του νερού, που εξαρτάται από τη θερμοκρασία, τη σχετική υγρασία και την ταχύτητα των ανέμων της περιοχής και αποτελεί μια διαδικασία με ρυθμό μικρότερο από αυτόν της διήθησης.

Γενικότερα, οι κλίνες ξήρασης αποτελούν μια οικονομική μέθοδο αφυδάτωσης της ιλύος, προσφέρει ευκολία στη χρήση και μεγάλη περιεκτικότητα στερεών. Ωστόσο, απαιτείται μεγάλος χώρος για την εγκατάσταση και πιθανόν να εκλύονται οσμές.

#### ➤ Φυγοκέντριση

Στη διεργασία της φυγοκέντρισης γίνεται ο διαχωρισμός της ιλύος, που προέρχεται μετά από τη διαδικασία της πάχυνσης, από τα στραγγίσματα μέσω φυγόκεντρων δυνάμεων. Το τελικό προϊόν που επιτυγχάνεται έχει συγκέντρωση στερεών μέχρι και 30% (300 kg/m<sup>3</sup>). Σε γενικές γραμμές, οι φυγοκεντριτές έχουν σημαντικές απαιτήσεις σε ενέργεια (από 30 έως 80kWh/t DS) ενώ είναι απαραίτητη και η προσθήκη κροκιδωτικών. Ωστόσο, είναι απλοί στη λειτουργία τους και παρουσιάζουν υψηλή παραγωγική δυνατότητα.

#### ➤ Ταινιοφιλτρόπρεσες (belt filters press)

Στα συστήματα με ταινιοφιλτρόπρεσες αρχικά η ιλύς στραγγίζεται και στη συνέχεια τροφοδοτείται στην ταινία διήθησης. Στο δεύτερο στάδιο, συμπιέζεται από την ταινία συμπίεσης ενώ στο τρίτο στάδιο εφαρμόζεται διάτμηση για την περαιτέρω αφυδάτωση και τη θραύση του πλακούντα που έχει δημιουργηθεί. Η μέθοδος αυτή είναι ιδανική για κάθε τύπο ιλύος επιτυγχάνοντας αύξηση στη συγκέντρωση των στερεών από 10-20%, ενώ παράλληλα προσφέρει συνεχή λειτουργία στο σύστημα. Ωστόσο, σαν μειονεκτήματα θα μπορούσαν να αναφερθούν η αυξημένη απαίτηση σε νερό για πλύση του συστήματος, η απαίτηση χρήσης κροκιδωτικών και η απαίτηση για συνεχή παρακολούθηση του συστήματος (Αγγελάκης κ.α., 2005).

#### ➤ Φιλτρόπρεσες (filters press)

Οι φιλτρόπρεσες αποτελούνται από επάλληλες κατακόρυφες πλάκες, που σχηματίζουν εσωτερικές κοιλότητες και καλύπτονται από πορώδες ύφασμα, το οποίο αποτελεί το διηθητικό μέσο. Η ιλύς τροφοδοτείται στη κοιλότητα κάθε πλάκας και με την ασκούμενη πίεση επιτυγχάνεται η απομάκρυνση του νερού μέσω του πορώδους υλικού. Η αφυδάτωση με φιλτρόπρεσες έχει υψηλές αποδόσεις καθώς επιτυγχάνεται συγκέντρωση ιλύος έως 45%. Στα πλεονεκτήματα της μεθόδου εκτός από την υψηλή απόδοση του συστήματος, έχουμε τη μεγάλη μείωση υγρασίας στην ιλύ αλλά και τη δυνατότητα αυτοματοποίησης στο σύστημα. Ωστόσο, χρειάζεται συνεχής παρακολούθηση καθώς είναι μια μη συνεχής λειτουργία ενώ συχνά για την καλύτερη αφυδάτωση απαιτείται προεπεξεργασία της ιλύος με τη χρήση ανόργανων χημικών κάτι που αυξάνει το κόστος της επένδυσης.

#### ➤ Φίλτρα κενού (vacuum filters)

Στη διεργασία αυτή με τη βοήθεια ενός περιστρεφόμενου τυμπάνου που είναι μερικώς βυθισμένο στη ιλύ, επιτυγχάνεται η αφυδάτωση. Με τη δημιουργία κενού τα στερεά της ιλύος προσκολλώνται στο τύμπανο, το νερό διηθείται ενώ με την περιστροφή επέρχεται παραπέρα αφυδάτωση και ακολουθεί απομάκρυνση των στερεών με ξέστρο (Μαρκαντωνάτος, 1990). Γενικότερα, για τη μέθοδο αυτή, δεν απαιτείται ειδικευμένο προσωπικό για τον χειρισμό, η συντήρησή τους είναι περιορισμένη ενώ το διήθημα παρουσιάζει χαμηλή συγκέντρωση στερεών.

Στα κύρια μειονεκτήματα των φίλτρων κενού είναι η ανάγκη για συνεχή παρακολούθηση και η υψηλή κατανάλωση ενέργειας ανά μονάδα όγκου ιλύος (Τσώνης, 2004).

## 2.4 Εφαρμογές και μέθοδοι διαχείρισης της ιλύος

Για την σωστή διάθεση και αξιοποίηση της ιλύος είναι απαραίτητη η εξυγίανση και η βελτίωση των ποιοτικών χαρακτηριστικών της αλλά και η σταθεροποίηση και απομάκρυνση διάφορων τοξικών ουσιών που τυχόν περιέχονται σε αυτή, όπως είναι τα βαρέα μέταλλα και ποικίλοι μικρορύποι. Ο κύριος στόχος των διεργασιών επεξεργασίας της ιλύος είναι η ελαχιστοποίηση της μάζας και του όγκου της προκειμένου να μειωθούν οι δαπάνες διάθεσης και να ελαχιστοποιηθούν οι κίνδυνοι που σχετίζονται με τη διάθεση (Barry et al., 2019). Καθοριστικής σημασίας στόχος γενικά στη διαχείριση της ιλύος είναι η επαναχρησιμοποίησή της ως πρώτη ύλη ή/και ως ενεργειακή πηγή. Ο στόχος αυτός μπορεί να επιτευχθεί με την εφαρμογή των παρακάτω επεξεργασιών:

### ❖ Θερμική επεξεργασία και ανάκτηση ενέργειας

Η θερμική επεξεργασία της ιλύος έχει υιοθετηθεί από πολλές χώρες ως μέθοδος αξιοποίησης της λόγω και της αυστηρότερης νομοθεσίας που υπάρχει για τη χρήση της ιλύος στο έδαφος. Η ενέργεια που περιέχεται στην ιλύ μπορεί να ανακτηθεί και να αξιοποιηθεί και να υπάρχουν έτσι θετικές επιπτώσεις όχι μόνο στην περιβαλλοντικά ορθή διαχείριση της ιλύος αλλά και στις οικονομικές απαιτήσεις της όλης διαδικασίας (Cheremisinoff and Morresi, 1976). Ένας περιοριστικός παράγοντας ωστόσο που πρέπει να ελέγχεται είναι η παρουσία βαρέων μετάλλων και μικρορύπων που μπορεί να διαφύγουν στην ατμόσφαιρα και εγκυμονούν κινδύνους για το περιβάλλον. Ακόμη, με την καύση της λυματολάσπης εκπέμπονται διοξίνες και φουράνια (PCDD/PCDF), που μπορεί να αποτελέσουν κίνδυνο για τη δημόσια υγεία (Kacprzak et al., 2017). Γενικότερα η θερμική επεξεργασία της ιλύος παρουσιάζει διάφορες παραλλαγές ανάλογα και με τις παραμέτρους όπως είναι η θερμοκρασία, η πίεση, το pH κ.α.. αλλά και τις τεχνολογίες διαχείρισης όπως η καύση, η θερμική υδρόλυση, η αεριοποίηση και η υγρή οξείδωση (Murakami et al., 1991). Η θερμική επεξεργασία που περιλαμβάνει ως κυριότερες μεθόδους την πυρόλυση, τη ξήρανση και την αεριοποίηση είναι μια βιώσιμη εμπορική επιλογή. Συνάμα άλλες παλαιότερες μέθοδοι όπως η καύση της λυματολάσπης έχουν εκλείψει, κατά κύριο λόγο, εξαιτίας της χαμηλής ενεργειακής απόδοσης και του υψηλού κόστους λειτουργίας, ενώ πιο σύγχρονες μέθοδοι όπως η υδροθερμική επεξεργασία δείχνουν να επικρατούν λόγω της ευκολότερης αξιοποίησης των προϊόντων που παράγονται και του χαμηλότερου κόστους (Πίνακας 2.1). Οι κυριότερες μέθοδοι όπως η πυρόλυση, η ξήρανση και η αεριοποίηση είναι κατάλληλες για το χειρισμό οργανικών αποβλήτων διότι:

- ✓ Με την πυρόλυση πετυχαίνουμε χημική αποσύνθεση της ιλύος σε ένα εύρος θερμοκρασιών από 300-650 °C απουσία οξυγόνου. Σχηματίζεται το βιοεξανθράκωμα, ένα πλούσιο σε άνθρακα στερεού προϊόντος, μια πτητική ύλη που μπορεί να είναι εν μέρει συμπυκνωμένη σε υγρή φάση (βιο-έλαιο) και μία αέρια φάση, η οποία συνήθως περιλαμβάνει CO, CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub> και H<sub>2</sub> (Mohan et al., 2017).
- ✓ Με την ξήρανση έχουμε μια ήπια διαδικασία πυρόλυσης που διεξάγεται σε αδρανή ατμόσφαιρα σε θερμοκρασίες 200-300 °C και χρόνο παραμονής περίπου 0,5-2 h που μπορεί να βελτιώσει τις φυσικοχημικές ιδιότητες της ιλύος.

- ✓ Με την αεριοποίηση η ιλύς μπορεί να θερμανθεί μερικώς σε πολύ υψηλές θερμοκρασίες (600-1200 °C) και σε πολύ μικρό χρόνο παραμονής (10-20 δευτερόλεπτα), λαμβάνοντας ένα μίγμα αερίων (CO, H<sub>2</sub>, και CO<sub>2</sub>).

**Πίνακας 2.1:** Αναλυτική περιγραφή των θερμοχημικών τεχνολογιών αξιοποίησης λυματολάσπης (Hu et al., 2021)

Τεχνολογίες αξιοποίησης	Περιγραφή λειτουργίας	Προϊόντα	Παραπροϊόντα	Πλεονεκτήματα	Μειονεκτήματα
<b>Καύση</b>	<p>Θερμοκρασία: 800-900°C</p> <p>Ατμοσφαιρική πίεση</p> <p>Κατάλληλο για ξηρή λάσπη</p>	Παραγωγή θερμότητας	Τέφρα	<p>Μείωση όγκου &amp;</p> <p>Σχεδόν πλήρης εξάλειψη των οργανικών και παθογόνων παραγόντων.</p>	<p>Εκπομπές αερίων ρύπων (GHG, NO<sub>x</sub>, SO<sub>x</sub>) &amp;</p> <p>Χαμηλή ενεργειακή απόδοση &amp;</p> <p>Απαιτείται αφυδάτωση λυμάτων 41–65 wt% περιεκτικότητας σε στερεά &amp;</p> <p>Υψηλό κόστος λόγω ξήρανσης, καθαρισμού αερίων και διάθεσης της τέφρας</p>
<b>Πυρόλυση</b>	<p>Θερμοκρασία: 500-600°C</p> <p>Ατμοσφαιρική πίεση</p> <p>Κατάλληλο για ξηρή λάσπη</p>	Βιο-έλαιο	<p>Πυρολυτικά πτητικά (περιλαμβάνονται κυρίως H<sub>2</sub>O, CO<sub>2</sub>, CO, H<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub>, άλλοι μη συμπυκνωμένοι υδρογονάνθρακες και συμπυκνωμένες οργανικές ενώσεις (δηλαδή πίσσα)</p>	<p>Δυνατότητα μείωσης όγκου &amp;</p> <p>Χαμηλότερες εκπομπές αερίων θερμοκηπίου &amp;</p> <p>Απομάκρυνση βιοδραστικών ενώσεων &amp;</p> <p>Αξιοποίηση βιοεξανθρακώματος και αερίων που παράγονται</p>	<p>Απαιτείται αφυδάτωση/ξήρανση &amp;</p> <p>Οι ατμοσφαιρικές εκπομπές (NO<sub>x</sub>, SO<sub>x</sub>) και τα βαρέα μέταλλα μπορεί να παραμείνουν στο βιοεξανθράκωμα &amp;</p> <p>Υψηλό επενδυτικό κόστος</p>

<b>Αεριοποίηση</b>	Θερμοκρασία: >700°C & Ατμοσφαιρική πίεση & Κατάλληλο για ξηρή έως ημίξηρη λάσπη	Αέριο σύνθεσης (syngas)	Παραπροϊόντα αερίων και εξανθρακωμάτων	Υψηλή θερμική απόδοση & Αξιοποίηση βιοεξανθρακώματος, πίσσας και αερίου σύνθεσης για σύνθεση καυσίμου & Αποφυγή εκπομπών SOx, NOx	Απαιτείται αφυδάτωση/ξήρανση >50 wt% περιεκτικότητας σε στερεά & Απαιτείται εκτεταμένος καθαρισμός με αέριο σύνθεσης & Υψηλός κόστος επένδυσης/λειτουργίας
<b>Υδροθερμική επεξεργασία</b>	Θερμοκρασία: 180-250 °C, χρόνος: 5-240 min, πίεση: 2-10 MPa & Υδροθερμική υγροποίηση: Θερμοκρασία 280-370 °C & Υδροθερμική αεριοποίηση: Θερμοκρασία >350 °C & Κατάλληλο και για υγροποιημένη λάσπη	Βιο-έλαιο	Παραπροϊόντα αερίων και εξανθρακωμάτων	Άμεση χρήση λυματολάσπης με υψηλή υγρασία & Πολύ χαμηλότερες θερμοκρασίες λειτουργίας & Απομάκρυνση βιοδραστικών ενώσεων	Χρήση ειδικού αντιδραστήρα και συστήματος τροφοδοσίας & Απώλεια οργανικών ουσιών που χάνονται σε υδατικά υποπροϊόντα.

❖ Χρησιμοποίηση της ιλύος στη γεωργία και στο έδαφος

Η χρήση της ιλύος στο έδαφος ως εδαφοβελτιωτικό ή λίπασμα συναντάται σε πολλές χώρες. Εκτός από γεωργικές εκτάσεις, η ιλύς μπορεί να εφαρμοστεί σε βοσκότοπους, δασικές εκτάσεις, δημόσιους χώρους αναψυχής, όπως γήπεδα, πάρκα, κλπ. ή εκτάσεις που χρήζουν αποκατάστασης όπως παλιά λατομεία, μεταλλεία, κλπ., ρυπασμένες εκτάσεις για φυτοαποκατάσταση κ.α. Στην Ελλάδα, η διάθεση της ιλύος που παράγεται από τις εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων σε χώρους υγειονομικής ταφής (Χ.Υ.Τ.Α) αποτελεί την πιο διαδεδομένη μέθοδο διαχείρισης της ιλύος. Για την σωστή εφαρμογή της, στο έδαφος η ιλύς πρέπει να υποστεί την κατάλληλη επεξεργασία. Έτσι, η επεξεργασία της είναι απαραίτητο να αποβλέπει στον έλεγχο των βαρέων μετάλλων που περιέχονται σε αυτή, των μικροβιακών πληθυσμών και θρεπτικών συστατικών και άλλων μικρορύπων. Η νομοθεσία έχει θεσπίσει κάποια όρια για τα επίπεδα των παραπάνω για την περιβαλλοντικά ορθή απόρριψη της ιλύος στο έδαφος αλλά και την οικονομική και κοινωνική αποδοχή του νέου προϊόντος.

#### ❖ Βιομηχανική χρήση της ιλύος

Η μέθοδος της βιομηχανικής επεξεργασίας της ιλύος, που βρίσκει εφαρμογή σε πολλές χώρες, κάνει χρήση της ιλύος ως πρώτη ύλη για την παραγωγή χρήσιμων προϊόντων. Η χρήση της γίνεται κυρίως ως καύσιμο σε ατμοηλεκτρικό σταθμό (ΑΗΣ) και τσιμεντοβιομηχανία, στην παραγωγή φωσφορικών λιπασμάτων, οικοδομικών υλικών (κεραμικά υλικά, ασφαλτικά μίγματα, κλπ.), βιοκαυσίμων, υδρογόνου, κροκιδωτικών και διάφορων προσροφητικών υλικών. Με αυτόν τον τρόπο, στόχος είναι η μείωση της ποσότητας της ιλύος που προορίζεται να διατεθεί στο έδαφος αλλά και η μείωση των επικίνδυνων συστατικών της.

## Κεφάλαιο 3

### Υδροθερμική επεξεργασία λυματολάσπης

#### 3.1. Εισαγωγή

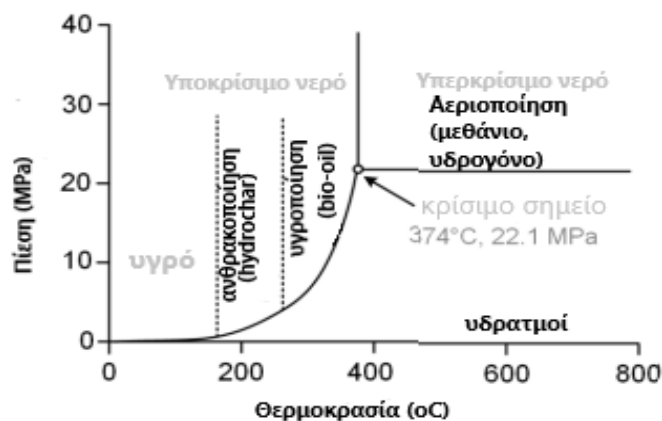
Η περιεκτικότητα της λυματολάσπης σε οργανικούς ρύπους (φαρμακευτικά προϊόντα, φθαλικές ενώσεις, φυτοφάρμακα κ.α.), βαρέα μέταλλα, παθογόνους μικροοργανισμούς κ.α. αλλά και η πιθανή αξιοποίηση της για παραγωγή ενέργειας, οδήγησε τα τελευταία χρόνια στην ανάπτυξη νέων τεχνολογιών επεξεργασίας της ιλύς λυμάτων. Οι συμβατικές ΜΕΑ δεν είναι πάντα σε θέση να απομακρύνουν τέτοιες τοξικές ουσίες, συμπεριλαμβανομένων των μεταβολιτών τους, και ως εκ τούτου, χαμηλές συγκεντρώσεις υπολειμμάτων και παραπροϊόντων μπορεί να εξακολουθούν να υπάρχουν στη λάσπη και τα λύματα (Lindholm-Lehto et al., 2017). Η θερμοχημική επεξεργασία της λυματολάσπης τα τελευταία χρόνια έχει μελετηθεί ευρέως λόγω της ανάκτησης και αξιοποίησης των πόρων και των προϊόντων που προκύπτουν. Οι μέθοδοι θερμοχημικής επεξεργασίας της ιλύος παρά την απαίτησή τους σε πιο πολύπλοκο εξοπλισμό και διαδικασίες, παρουσιάζουν υψηλότερη απόδοση, πιο εμφανή μείωση όγκου και καλύτερες οικονομικές επιδόσεις (Gao et al., 2020; Chanaka Udayanga et al., 2018; Huang and Yuan, 2015; Syed-Hassan et al., 2017).

Η υδροθερμική ανθρακοποίηση (HTC) αποτελεί μια πολλά υποσχόμενη μέθοδο θερμοχημικής επεξεργασίας οργανικών αποβλήτων. Θεωρείται ότι εισήχθη για πρώτη φορά από τον Bergius, τον νικητή του βραβείου Νόμπελ το 1931, ο οποίος βραβεύτηκε για την ανάπτυξη χημικών μεθόδων υψηλής πίεσης με στόχο την κατανόηση του μηχανισμού της φυσικής ανθρακοποίησης με υδροθερμική μετατροπή της κυτταρίνης σε υλικά παρόμοια με τον άνθρακα. Έκτοτε, έχουν πραγματοποιηθεί μελέτες για τη διερεύνηση των εμπλεκόμενων μηχανισμών με μοντέλα ενώσεων βιομάζας όπως η κυτταρίνη, η λιγνίνη, η γλυκόζη, η σακχαρόζη, το άμυλο κλπ. Επί της ουσίας, θα μπορούσε να οριστεί ως συνδυασμένη αφυδάτωση και αποκαρβοξυλίωση ενός καυσίμου, για να αυξηθεί η περιεκτικότητά του σε άνθρακα και να αποκτήσει έτσι, υψηλότερη θερμιδική αξία.

Γενικά, στην υδροθερμική ανθρακοποίηση δεν απαιτείται προηγούμενη ξήρανση ενώ μπορεί να μειώσει τους όγκους των αποβλήτων, μετατρέποντας την ιλύ λυμάτων σε πολύτιμα προϊόντα και παράγωγα. Επί της ουσίας, μετατρέπει τη λυματολάσπη σε ανθρακικό προϊόν, το λεγόμενο υδροεξανθράκωμα (hydrochar), ένα υδατοδιαλυτό οργανικό κλάσμα (από σάκχαρα, οξικό οξύ και άλλα οργανικά οξέα) και κλάσμα αερίου (κυρίως CO<sub>2</sub>). Οι βασικές παράμετροι αυτής της



διαδικασίας αφορούν χαμηλές θερμοκρασίες (180-250 °C) και χρόνου (5-240 λεπτά). Η πίεση είναι συχνά αυτογενής και μπορεί να κυμαίνεται από 2 MPa έως 10 MPa. Οι υψηλότερες θερμοκρασίες και πιέσεις αποδίδουν μικρότερες ποσότητες στερεών προϊόντων καθώς ένα υψηλότερο κλάσμα υγρών και αέριων προϊόντων σχηματίζεται ως αποτέλεσμα της υδροθερμικής υγροποίησης (περίπου 280-370 °C) και της υδροθερμικής αεριοποίησης (> 350 °C), αντίστοιχα (Σχήμα 3.1).



**Σχήμα 3.1:** Διάγραμμα φάσεων υδροθερμικών διεργασιών (Kumar, 2010).

Η περιεκτικότητα σε κυτταρίνη της πρωτογενούς ύλης από την επεξεργασία λυμάτων είναι περίπου 20%, με βάση τα αιωρούμενα στερεά (Honda et al., 2002). Κατά την υδροθερμική διαδικασία, η ακατέργαστη βιομάζα μετατρέπεται σε ένα στερεό προϊόν που επηρεάζεται σημαντικά από το μέσο της αντίδρασης. Ως κύριος διαλύτης χρησιμοποιείται το νερό, καθώς αποτελεί ένα οικονομικό και φιλικό προς το περιβάλλον μέσο. Οι κύριοι μετασχηματισμοί που συμβαίνουν κατά τη διάρκεια της HTC βασίζονται στην υδρόλυση και αφυδάτωση της κυτταρίνης, της ημικυτταρίνης και της λιγνίνης σε μονοσακχαρίτες και δισακχαρίτες, οι οποίοι, με τη σειρά τους, αφυδατώνονται, υδρολύονται και αποκαρβοξυλιώνονται για να δώσουν ενδιάμεσα θραύσματα, τα οποία επανασυμπυκνώνονται και οδηγούν στο σχηματισμό του υδροεξανθρακώματος. Για να διασφαλιστεί ότι οι αντιδράσεις θα πραγματοποιηθούν παρόμοια σε όλο τον όγκο του αντιδραστήρα χρησιμοποιείται συνήθως ένας ενσωματωμένος αναδευτήρας. Η εφαρμογή αυξημένης θερμοκρασίας και πίεσης διασφαλίζει ότι λαμβάνει χώρα η υδρόλυση, η αφυδάτωση, η αποκαρβοξυλίωση, η πολυμερική συμπύκνωση και η αρωματοποίηση. Αυτές οι αντιδράσεις δεν εκτελούνται χωριστά, αλλά μάλλον συνδυάζονται μεταξύ τους.

Σε γενικές γραμμές, τα κυριότερα πλεονεκτήματα της υδροθερμικής ανθρακοποίησης είναι (Funke & Ziegler 2010, Villamil et al., 2019, T. Liu et al., 2017):

- ✓ δεν απαιτείται ξήρανση της βιομάζας,
- ✓ αξιοποιεί ως πρώτη ύλη, πολλά είδη βιομάζας,
- ✓ παρέχει υψηλή σταθερότητα της κατεργασμένης πρώτης ύλης,
- ✓ μειώνει τους όγκους των αποβλήτων στους χώρους υγειονομικής ταφής,
- ✓ μειώνει την περιεκτικότητα σε άζωτο έως 50%, μειώνοντας έτσι τις εκπομπές NOx,
- ✓ παρέχει ένα παραπροϊόν με υψηλή ενεργειακή πυκνότητα,
- ✓ βελτιώνει τη σχέση κόστους-αποτελεσματικότητας σε σύγκριση με άλλες συμβατικές μεθόδους θερμικής ξήρανσης.

Η μετατροπή της λυματολάσπης μέσω της υδροθερμικής επεξεργασίας σε ένα υψηλής αξίας παράγωγο ή σε βιοκαύσιμο έχει προσελκύει τελευταία ιδιαίτερη προσοχή όχι μόνο γιατί αποτελεί λύση για την διάθεση και αξιοποίηση της λυματολάσπης λόγω της ανακύκλωσης των πόρων αλλά διότι συμβάλει και στο διαχωρισμό αερίων του θερμοκηπίου, προσφέροντας παράλληλα και κοινωνικοοικονομικά οφέλη. Ανάλογα τα διάφορα είδη βιομάζας που χρησιμοποιούνται, το παραγόμενο προϊόν εφαρμόζεται ευρέως για τη δέσμευση άνθρακα, τη βελτίωση του εδάφους, την παραγωγή βιοενέργειας και την αποκατάσταση της ρύπανσης των λυμάτων (Saidur et al., 2011).

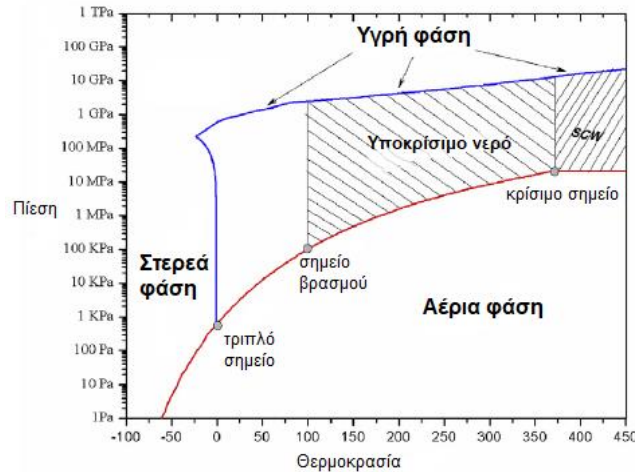
### 3.2 Παράμετροι που επηρεάζουν την Υδροθερμική Ανθρακοποίηση

Η διεργασία ρυθμίζεται από υδροθερμικές παραμέτρους. Παρακάτω αναφέρονται μερικές από αυτές που παίζουν σημαντικότερο ρόλο στη διεργασία:

#### ❖ Περιεχόμενη υγρασία

Η παρουσία υγρασίας είναι πολύ σημαντική παράμετρος για τον μηχανισμό αντίδρασης της υδροθερμικής ανθρακοποίησης καθώς η διαδικασία επιταχύνεται παρουσία νερού. Το νερό αποτελεί ένα καλό μέσο μεταφοράς και αποθήκευσης θερμότητας, το οποίο όχι μόνο ενισχύει την απόδοση της μεταφοράς θερμότητας στη διαδικασία προθέρμανσης αλλά και παρουσία αυτού αποτρέπεται η τοπική υπερθέρμανση λόγω των εξώθερμων αντιδράσεων κατά τη διάρκεια της διαδικασίας (Wangetal., 2019). Πολύ λίγο νερό μπορεί να οδηγήσει σε τοπική υπερθέρμανση του αντιδραστήρα και ανομοιόμορφα κατανεμημένες θερμοκρασίες στον αντιδραστήρα ενώ μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε νερό επηρεάζει την επιτάχυνση της αντίδρασης και πιο συγκεκριμένα τις αντιδράσεις αποκαρβοξυλίωσης και υδρόλυσης (He et al., 2015).

Προκειμένου να κατασταλεί η εμφάνιση υγροποίησης και αεριοποίησης αλλά να προωθηθεί η διαδικασία ανθρακοποίησης, η διαδικασία της υδροθερμικής επεξεργασίας θα πρέπει να περιορίζεται σε υποκρίσιμες συνθήκες νερού, καθώς στις συνθήκες αυτές η θερμοκρασία και η πίεση έχουν μεγαλύτερη επίδραση στις ιδιότητες του νερού (Εικόνα 3.1). Οι χημικές αντιδράσεις που συμβαίνουν σε νερό υψηλής θερμοκρασίας σε συνδυασμό με υψηλή πυκνότητα αυξάνει τα ιοντικά προϊόντα ενώ το νερό χαμηλής πυκνότητας ευνοεί τις αντιδράσεις ελεύθερων ριζών (Kritzer P. Et al, 2004). Έτσι, το νερό υπό συνθήκες υδροθερμικής ανθρακοποίησης παρέχει ένα ευνοϊκό μέσο για ιοντικές αντιδράσεις μη πολικών οργανικών ενώσεων.



**Εικόνα 3.1:** Διάγραμμα φάσεων του νερού στα 25 MPa σε συνάρτηση με τη θερμοκρασία (SCW: υπερκρίσιμο νερό) (Möller et al., 2011).

Από την άλλη πλευρά, τα μόρια του νερού μπορεί να συμμετέχουν στα στάδια της αντίδρασης λειτουργώντας ως αντιδρώντα ή προϊόντα, διευκολύνοντας την υδρόλυση, την ανταλλαγή υδρογόνου, τη συμπύκνωση και τη διάσπαση, αν και η ποσότητα νερού που είναι απαραίτητη για να διατηρηθούν αυτές οι επιδράσεις είναι πολύ μικρή. Σε γενικές γραμμές, έχει διαπιστωθεί ότι η περιεκτικότητα σε υγρασία επηρεάζει τη διαδικασία υδροθερμικής ανθρακοποίησης κυρίως επηρεάζοντας την κατανομή προϊόντων και τις αντιδράσεις που λαμβάνουν χώρα.

Στη διαθέσιμη βιβλιογραφία, η περιεκτικότητα σε υγρασία κυμαινόταν μεταξύ 82 και 95% που φαίνεται να είναι το πιο ευνοϊκό ποσοστό για την υδροθερμική ανθρακοποίηση. Έχει διαπιστωθεί ότι η λυματολάσπη που περιείχε μεγαλύτερα ποσοστά υγρασίας στην αρχική φάση, έχει ως αποτέλεσμα χαμηλότερη απόδοση του υδροεξανθρακώματος, καθώς και παραγωγή υδροεξανθρακώματος με χαμηλότερη θερμογόνο δύναμη. Αυτό το φαινόμενο οφειλόταν στη χαμηλότερη περιεκτικότητα σε στερεά της αρχικής λάσπης, η οποία επέτρεψε στα οργανικά να διαλυθούν πιο εύκολα στην υγρή φάση και να σχηματίσουν μικρές ποσότητες στερεών υπολειμμάτων.

Οι αντιδράσεις ανθρακοποίησης κάτω από συνθήκες υποκρίσιμου νερού αυξήθηκαν σημαντικά όταν μειώθηκε η περιεκτικότητα σε υγρασία, οδηγώντας παράλληλα στον ταχύτερο σχηματισμό υδροεξανθρακώματος από τη λάσπη (Gongetal, 2014). Προκειμένου να μεγιστοποιηθεί η παραγωγή υδροεξανθρακώματος, η φόρτιση του αντιδραστήρα με λάσπη θα πρέπει να είναι όσο το δυνατόν υψηλότερη, αλλά η παραγωγή των προϊόντων αποδόμησης που παράγονται αρχικά με υδρόλυση από τη μήτρα της λάσπης να είναι πιθανώς περιορισμένη (Hashaikeh R. etal, 2007) και οι συνθήκες του αντιδραστήρα να είναι ειδικά προσαρμοσμένες (δηλαδή στην ικανότητα ανάμειξης του υλικού).

#### ❖ Θερμοκρασία

Η θερμοκρασία είναι μια κρίσιμη παράμετρος της διαδικασίας της υδροθερμικής ανθρακοποίησης καθώς οι αντιδράσεις, η κατανομή των προϊόντων και τα χαρακτηριστικά τους επηρεάζονται σε μεγάλο βαθμό από αυτή. Ο βασικός ρόλος της θερμοκρασίας είναι να προσφέρει επαρκή θερμότητα για τη διάσπαση των οργανικών μακρομορίων για κατακερματισμό και ανασυνδυασμό

των χημικών δεσμών. Έτσι, οι υψηλότερες θερμοκρασίες επιταχύνουν σημαντικά την αποικοδόμηση και τον πολυμερισμό της λυματολάσπης, οδηγώντας και στο σχηματισμό του υδροεξανθρακώματος, ενώ σε χαμηλότερες θερμοκρασίες έχουμε την ενεργοποίηση της διαδικασίας αποπολυμερισμού.

Η διαδικασία ανθρακοποίησης ευνοείται για θερμοκρασίες έως 250 °C, ενώ έχει παρατηρηθεί ότι σε θερμοκρασίες πάνω από 375 °C έχουμε τον σχηματισμό αερίων (Zhai et al., 2016). Υπάρχουν τρία χαρακτηριστικά εύρη θερμοκρασίας που επηρεάζουν τις αλλαγές της πρώτης ύλης:

- ✓ ήπια θερμοκρασία (200-240 °C),
- ✓ μέτρια θερμοκρασία (240-340 °C)
- ✓ σχεδόν κρίσιμη θερμοκρασία (340-380 °C)

Υπό ήπιες συνθήκες, οι αναλογίες H/C και O/C επηρεάζονται αρκετά. Στο δεύτερο εύρος θερμοκρασίας, αυτές οι παράμετροι μεταβάλλονται σταδιακά, ενώ οι κρίσιμες συνθήκες προκαλούν απότομη πτώση αυτών των δεικτών.

Πράγματι, η αύξηση της θερμοκρασίας της αντίδρασης έχει κάποια ουσιαστικά οφέλη στα χαρακτηριστικά της διεργασίας και την παραγωγή των τελικών προϊόντων, για παράδειγμα, αυξάνει τον ρυθμό αντίδρασης, επηρεάζει το ρυθμό μετατροπής, ενισχύει την περιεκτικότητα σε άνθρακα και ενέργεια στον υδροεξανθράκωμα και βελτιώνει τη διαδικασία της αφυδάτωσης. Ωστόσο, η μείωση της απόδοσης σε υψηλότερες θερμοκρασίες σχετίζεται με τη συμπυκνωμένη ενέργεια στο προϊόν και την απελευθέρωση οργανικών ουσιών στο νερό διεργασίας και απελευθέρωση του δεσμευμένου νερού (Gao N., Li Z., 2019), κάτι που δυσκολεύει την επεξεργασία.

Η θερμοκρασία επηρεάζει τη διαδικασία διάσπασης των κύριων μακρομοριακών συστατικών της λυματολάσπης. Οι πολυσακχαρίτες είναι πολύ πιο εύκολο να υδρολυθούν από τις πρωτεΐνες και από τα λιπίδια. Ωστόσο, όταν η υδροθερμική ανθρακοποίηση της ιλύος όταν διεξάγεται σε θερμοκρασία άνω των 150 °C, ο ρυθμός αποσύνθεσης των πρωτεϊνών φαίνεται να είναι υψηλότερος από αυτόν των πολυσακχαριτών, υποδηλώνοντας ότι οι πρωτεΐνες στη λυματολάσπη είναι πιο ευαίσθητες στη θερμοκρασία (HiiK., et al, 2014). Αυτό το γεγονός, οφείλεται πιθανώς στο ότι η λυματολάσπη είναι ένα πολύπλοκο μείγμα, και οι ρυθμοί αντίδρασης κάθε μεμονωμένου συστατικού που υπάρχει στη λυματολάσπη επηρεάζει το ένα το άλλο και περαιτέρω και τη κινητική της συνολικής διαδικασίας.

Επομένως, κατά κύριο λόγο το αποδεκτό εύρος τιμών είναι η περιοχή θερμοκρασιών από 160-250 °C για να πραγματοποιηθεί η υδροθερμική ανθρακοποίηση της λυματολάσπης. Οι παραπάνω τιμές οδηγούν την παραγωγή προϊόντων που μοιάζουν με άνθρακα ή/και για τη λήψη βιοενέργειας από τα υγρά παραπροϊόντα με επακόλουθη αναερόβια χώνευση.

#### ❖ Πίεση

Η πίεση είναι σημαντική για τη λειτουργία του αντιδραστήρα. Γενικά, η διεργασία υδροθερμικής ανθρακοποίησης πραγματοποιείται σε εύρος πίεσης μεταξύ 2 και 6 MPa, ανάλογα με τις ιδιότητες του διαλύτη που χρησιμοποιείται. Σε αυτό το εύρος πίεσης, οι ιδιότητες του υδροεξανθρακώματος που θα προκύψει παραμένουν ουσιαστικά αμετάβλητες. Η θετική επίδραση υψηλότερων

θερμοκρασιών στη διεργασία μπορεί να μην οφείλονται μόνο στην αύξηση της θερμοκρασίας αλλά και στην αύξηση πίεσης στον αντιδραστήρα.

Στη υδροθερμική επεξεργασία χρησιμοποιείται αυτογενής πίεση, ωστόσο λίγοι ερευνητές έχουν μελετήσει την επίδραση της πίεσης και τις μεταβολές της. Όταν η εσωτερική πίεση αυξήθηκε με έγχυση  $N_2$ , διατηρώντας παράλληλα σταθερή τη θερμοκρασία της διεργασίας και τον χρόνο παραμονής παρατηρήθηκε θετική επίδραση στις ιδιότητες και χαμηλότερη περιεκτικότητα σε υγρασία. Ωστόσο, η υψηλότερη πίεση είχε αρνητική επίδραση στη θερμογόνο δύναμη του υδροεξανθρακώματος που προέκυψε (Yan et al, 2018).

#### ❖ Χρόνος παραμονής

Ο χρόνος παραμονής είναι ένας πολύ σημαντικός παράγοντας στη διεργασία της υδροθερμικής ανθρακοποίησης καθώς επηρεάζει το ενεργειακό ισοζύγιο, το κόστος διεργασίας και λειτουργίας των συστημάτων αλλά και τη διανομή των προϊόντων που προκύπτουν, τα χαρακτηριστικά τους και τη χημική τους σύνθεση. Στη βιβλιογραφία αναφέρεται ότι μικρότερη χρονική περίοδος ήταν τα 15 λεπτά, ενώ η μεγαλύτερη ήταν τα 1440 λεπτά. Ο συνηθέστερος χρόνος παραμονής ήταν 60 λεπτά.

Οι μεγαλύτεροι χρόνοι παραμονής γενικά αυξάνουν τη δριμύτητα της ανθρακοποίησης. Το γεγονός αυτό εξηγείται από τον πολυμερισμό των θραυσμάτων που διαλυτοποιήθηκαν στην υγρή φάση και οδηγούν στην καθίζηση των αδιάλυτων στερεών σχηματίζοντας ένα δευτερεύων υδροεξανθράκωμα με πολυαρωματική δομή (He et al., 2013). Ωστόσο, οι χρόνοι που χρησιμοποιούνται είναι σχετικά μικροί κάτι που επηρεάζει τη διαδικασία καθώς η υδροθερμική ανθρακοποίηση της λυματολάσπης αναφέρεται ότι είναι μια σχετικά αργή διαδικασία όπου ο συνολικός ρυθμός των αντιδράσεων πιθανότατα ελέγχεται από τους μηχανισμούς διάχυσης των οργανικών που αποσυντίθεται και τον αποπολυμερισμό των βιομακρομορίων στη λυματολάσπη. Έχει αναφερθεί ότι μεγαλύτερη ποσότητα υδροεξανθρακώματος λαμβάνεται από την ιλύ σε μικρότερο χρόνο αντίδρασης (Saetea P, 2013) ενώ σε εργαστηριακή κλίμακα οι σύντομοι χρόνοι αντίδρασης οδηγούν σε υδροεξανθράκωμα που παράγεται με αξιοσημείωτα υψηλότερη θερμαντική αξία από την αρχική ιλύ λόγω της αφαίρεσης ενώσεων πλούσιων σε οξυγόνο (Peng C, 2016).

#### ❖ pH

Ένα ουδέτερο έως ασθενές όξινο περιβάλλον φαίνεται να είναι η ιδανικότερη συνθήκη. Παρατηρήθηκε ότι σε θερμοκρασίες έως  $180\text{ }^{\circ}\text{C}$ , το pH του υγρού κλάσματος έγινε περισσότερο όξινο, ενώ σε θερμοκρασίες άνω των  $180\text{ }^{\circ}\text{C}$  έγινε πιο βασικό λόγω του επαναπολυμερισμού των σχηματισμένων οργανικών οξέων σε υψηλότερες θερμοκρασίες και χρόνους παραμονής (Lucian et al., 2018). Σε πειράματα έχουν εφαρμοστεί διαφορετικά οξέα και βάσεις και έχει παρατηρηθεί σημαντική επίδραση στο ρυθμό αντίδρασης και στα χαρακτηριστικά/κατανομή του προϊόντος. Σε αλκαλικό pH του περιεχόμενου νερού, επηρεάστηκε η παρουσία διαφόρων βαρέων μετάλλων με καθίζηση αδιάλυτων υδροξειδίων ενώ σε όξινο περιβάλλον υπήρξε διαφορετική επίδραση, για παράδειγμα, μείωση της περιεκτικότητας σε φώσφορο (Zhai et al., 2016).

#### ❖ Παρουσία καταλύτη

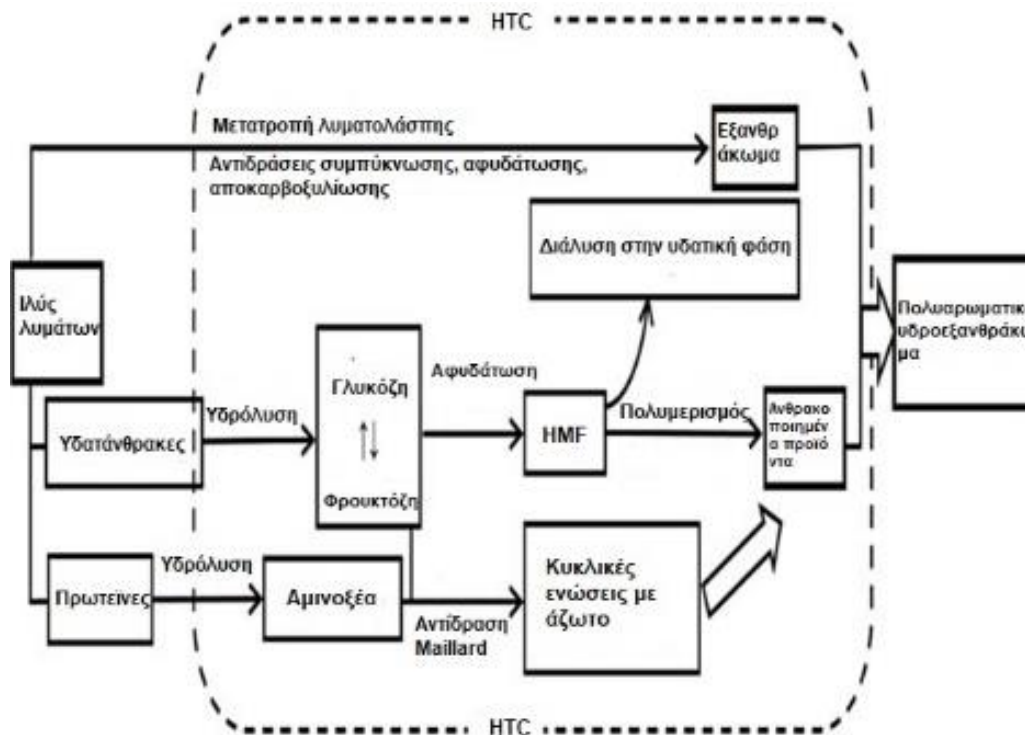
Σε σύγκριση με την άμεση υδροθερμική ανθρακοποίηση, η παρουσία καταλύτη συχνά μπορεί να βελτιώσει την απόδοση και την ποιότητα του υδροεξανθρακώματος, να προωθήσει την

αποοξυγόνωση και την απονιτροποίηση και να παράγει λειτουργικά ανθρακούχα υλικά. Σε πολλές διεργασίες, επομένως, συχνή είναι η χρήση διάφορων οξέων, αλκαλίων και καταλύτων μεταλλικών αλάτων. Για παράδειγμα, η χρήση κιτρικού οξέος ως καταλύτη σε επεξεργασία σταθεροποιημένης λάσπης παρατηρήθηκε ότι επιτάχυνε τις αντιδράσεις ανθρακοποίησης, οδηγώντας σε υδροεξανθράκωμα με υψηλότερη θερμαντική αξία. Το θειικό οξύ χρησιμοποιείται γενικά για την επιτάχυνση των αντιδράσεων αφυδάτωσης και το οξικό οξύ, το οποίο ως πρωτογενές όξινο προϊόν συμβάλλει στη μείωση της ενέργειας ενεργοποίησης της αποσύνθεσης των βιοπολυμερών και έχει μελετηθεί ότι έχει καταλυτικό ρόλο στην υδροθερμική ανθρακοποίηση (LiY. et al., 2009).

Δεδομένων των σημαντικών ποσοτήτων βαρέων μετάλλων και αλάτων που περιέχονται στη λυματολάσπη, είναι σημαντικό να κατανοήσουμε τον μηχανισμό κατάλυσης των οργανικών οξέων που σχηματίζονται στη διαδικασία υδροθερμικής ανθρακοποίησης και των πιθανών καταλυτικών επιδράσεών τους στην υδροθερμική ανθρακοποίηση λόγω των σημαντικού ρόλου τους στις αντιδράσεις. Οι λεπτομερείς γνώσεις σχετικά με τις αυτοκαταλυτικές επιδράσεις τέτοιων οργανικών οξέων στην υδροθερμική ανθρακοποίηση είναι περιορισμένες. Ωστόσο, μεγάλη προσοχή έχει επικεντρωθεί στην καταλυόμενη υδροθερμική ανθρακοποίηση των υδατανθράκων παρουσία μεταλλικών ιόντων, τα οποία μπορούν να επιταχύνουν αποτελεσματικά τη διαδικασία και να προκαλέσουν το σχηματισμό σύνθετων υλικών άνθρακα-μετάλλου.

### 3.3 Υδροεξανθράκωμα

Μετά τη διαδικασία της υδροθερμικής επεξεργασίας λαμβάνεται το υδροεξανθράκωμα που παρουσιάζει διαφορετικά χαρακτηριστικά από την αρχική πρώτη ύλη της λυματολάσπης. Ένα από τα πλεονεκτήματα του υδροεξανθρακώματος που παράγεται από τη λυματολάσπη είναι ότι παρουσιάζει περιορισμένο πορώδες και επιφάνεια. Το παραγόμενο υδροεξανθράκωμα είναι ένα στερεό με καφέ χρώμα, αδιάλυτο στο νερό και κονιοποιείται εύκολα σε σκόνη. Σε σύγκριση με τη λυματολάσπη το υδροεξανθράκωμα πλεονεκτεί σε ότι αφορά τον χειρισμό, την αποθήκευση και τη μεταφορά του ενώ ταυτόχρονα παρουσιάζει σημαντική διαφορετική στοιχειακή σύνθεση καθώς επιτυγχάνεται αύξηση όχι μόνο της περιεκτικότητας σε άνθρακα αλλά και τη μείωση της περιεκτικότητας σε οξυγόνο, άζωτο και υδρογόνο. Έτσι, δημιουργείται μια μήτρα περισσότερο πλούσια σε άνθρακα σε σύγκριση με την αρχική πρώτη ύλη, η οποία ωστόσο επιδέχεται ανάλογη στη βιολογική δραστηριότητα (Wiedner et al., 2013) (Σχήμα 3.2).



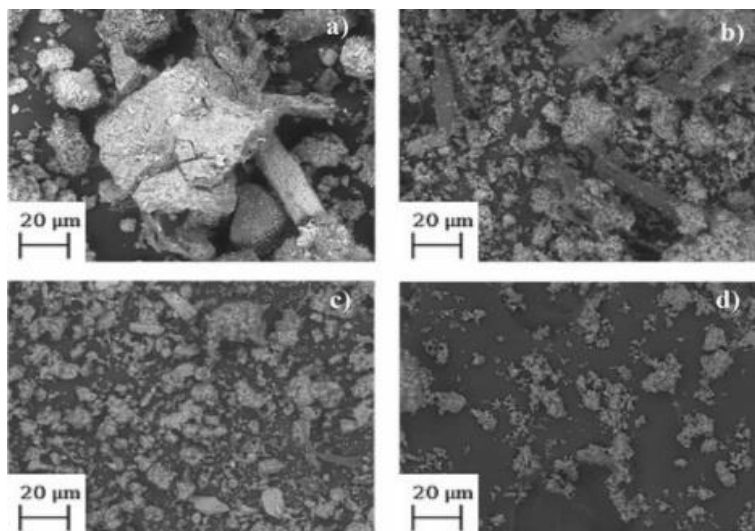
**Σχήμα 3.2:** Μηχανισμός αντιδράσεων σχηματισμού υδροεξανθρακώματος από λυματολάσπη κατά τη διάρκεια υδροθερμικής ανθρακοποίησης (HTC) (Nizamuddin et al., 2018).

Το κατά πόσο θα ενισχυθεί η περιεκτικότητα σε άνθρακα εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τη σύνθεση της λυματολάσπης και τις υδροθερμικές συνθήκες. Κατά κύριο λόγο, όπως φαίνεται, η μέτρια θερμοκρασία και ο σύντομος χρόνος αντίδρασης φαίνεται ότι βοηθούν για να απομονωθεί περισσότερος άνθρακας στον υδροεξανθράκωμα. Στις περισσότερες δημοσιεύσεις, φαίνεται ότι υπό κανονικές συνθήκες το μεγαλύτερο ποσοστό άνθρακα (άνω του 60%) εξακολουθεί να διατηρείται όπως αναμενόταν, μαζί με περίπου λιγότερο από 40% να μεταφέρεται στην υγρή φάση και περίπου 2-5% να μεταφέρεται στην αέρια φάση.

Όσον αφορά τις αναλογίες H/C και O/C, η υδροθερμική ανθρακοποίηση προκαλεί μια εμφανή μείωση των αναλογιών H/C όσο και O/C λόγω αφυδάτωσης και αποκαρβοξυλίωσης. Μεγαλύτερη μείωση έχουμε στις αναλογίες O/C σε σχέση με τις αναλογίες H/C, γεγονός που υποδεικνύει ότι η υδροθερμική επεξεργασία είναι μια διαδικασία αποβολής οξυγόνου. Λόγω των αντιδράσεων αφυδάτωσης και αποκαρβοξυλίωσης παρατηρείται και μείωση στην ποσότητα των πτητικών καθώς η θερμοκρασία αυξανόταν.

Η λυματολάσπη θα μπορούσε να παίξει σημαντικό ρόλο στη γεωργία και στη χρήση της ως εδαφοβελτιωτικό καθώς η πλειονότητα των N, Ca και Mg παραμένει ενσωματωμένη εντός της στερεάς φάσης. Ταυτόχρονα, η ανακύκλωση του P μέσω της εφαρμογής υδροεξανθρακωμάτων στο πεδίο θα μπορούσε να είναι μια πολλά υποσχόμενη επιλογή ενώ πιθανή είναι και η ενίσχυση της ικανότητας συγκράτησης νερού του εδάφους. Η εφαρμογή στη γεωργία έχει αποδειχθεί ότι ακινητοποιεί και αργότερα απελευθερώνει το άζωτο του εδάφους, μειώνοντας τη δυνατότητα έκπλυσης αυτού του στοιχείου στα υπόγεια ύδατα και βελτιώνει τη διαθεσιμότητά του στην καλλιέργεια (Bargmann et al., 2014).

Η χρήση των ΗC ως εδαφοβελτιωτικά απαιτεί περισσότερη μελέτη στις μονάδες επεξεργασίας λυμάτων, καθώς και βελτιστοποίηση των παραμέτρων της διαδικασίας ΗΤC (Huang and Yuan, 2016). Σε αντίθεση με τις οργανικές ουσίες, για παράδειγμα, τα βαρέα μέταλλα στη λυματολάσπη δεν μπορεί να αποικοδομηθούν κατά την υδροθερμική επεξεργασία, τα περισσότερα από τα οποία συσσωρεύονται στο υδροεξανθράκωμα ως σχετικά πιο σταθερές μορφές. Χρειάζεται περαιτέρω διερεύνηση σχετικά με τα μέταλλα που απελευθερώνονται από τις εφαρμογές υδροεξανθρακωμάτων όσον αφορά την κινητικότητα τους στα εδάφη και τη βιοδιαθεσιμότητα, ενώ οι επιπτώσεις στα εδάφη και στις καλλιέργειες πρέπει να αξιολογούνται προσεκτικά πριν από την εφαρμογή στο χωράφι.



**Εικόνα 3.2:** Εικόνες ηλεκτρονιακής μικροσκοπίας SEM (α) λυματολάσπης, (β) παραγόμενο υδροεξανθράκωμα στους 180 °C, (γ) 215 °C, (δ) 250 °C (Pérez et al., 2021).

### 3.4 Εφαρμογές Υδροθερμικής Ανθρακοποίησης

Ένα ευρύ φάσμα εφαρμογών του υδροεξανθρακώματος χρησιμοποιείται σε διαφορετικά πεδία όπως είναι η παραγωγή ενέργειας, η δέσμευση και μείωση των εκπομπών αερίων του θερμοκηπίου, η παραγωγή πολύτιμων προϊόντων, η χρήση του ως εδαφοβελτιωτικό και η μείωση του όγκου των απορριμμάτων κ.α.. Η απόδοση της υδροθερμικής επεξεργασίας μπορεί επίσης να βελτιωθεί σημαντικά, όπως για παράδειγμα με την ανακυκλοφορία του νερού της διεργασίας. Η εμπορική ανάπτυξη της ΗΤC απαιτεί υψηλές επενδύσεις κεφαλαίου, λόγω της υψηλής θερμοκρασίας και πίεσης που απαιτείται. Απαιτείται περαιτέρω έρευνα στον σχεδιασμό του αντιδραστήρα, για τη βελτίωση της εσωτερικής ανάκτησης θερμότητας, καθώς και για τους καταλύτες και την ανακύκλωση του νερού επεξεργασίας, προκειμένου να ξεπεραστούν τα τεχνολογικά κενά και οι οικονομικοί περιορισμοί (Masoumi et al., 2021). Τα διαφορετικά πεδία εφαρμογής παρουσιάζονται συνοπτικά:

#### **I. Παραγωγή ενέργειας**

Η απόδοση του υδροεξανθρακώματος μειώνεται απότομα σε υψηλότερες θερμοκρασίες, ενώ όσον αφορά το ενεργειακό ισοζύγιο, η ΥΑ χαμηλής θερμοκρασίας συνιστάται ως η πιο συμφέρουσα. Η



παραγωγή βιοκαυσίμου μπορεί να είναι οικονομικά αποδεκτή συγκριτικά με άλλες συμβατικές μεθόδους επεξεργασίας. Έτσι, για ανάκτηση ενέργειας σε ποσοστό 50%, προτάθηκε μία μέτρια θερμοκρασία (200 °C) και χρόνος παραμονής 30 λεπτών για την παραγωγή στερεών βιοκαυσίμων από λυματολάσπη. Παράλληλα, έχει επίσης προταθεί να βελτιωθεί η ένταση του μηχανικής αφυδάτωσης προκειμένου να ενισχυθεί η θερμική απόδοση της διαδικασίας (Zhao et al., 2014b). Υψηλή περιεκτικότητα σε άνθρακα και χαμηλή περιεκτικότητα σε τέφρα προτιμώνται εάν το υδροξείδιο άνθρακα καίγεται με σκοπό την παραγωγή ενέργειας (Zhao et al., 2014). Η διεργασία της ΥΑ παράγει μόνο μικρές ποσότητες επιβλαβών αερίων σε σύγκριση με τις διεργασίες πυρόλυσης. Τέλος, η ΥΑ μετατρέπει την ακατέργαστη λάσπη σε στερεό καύσιμο με μακρύτερη καύση, αλλά πιο σταθερή φλόγα (He et al., 2013).

## **II. Εδαφοβελτιωτικό**

Αν και τα υδροξείδια άνθρακα, ειδικά αυτά που προέρχονται από φυτική βιομάζα, έχουν χαμηλά επίπεδα θρεπτικών συστατικών, μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως εδαφοβελτιωτικά. Η ανάκτηση μακροθρεπτικών συστατικών από την ιλύ λυμάτων μέσω ΥΑ θα μπορούσε να παίξει σημαντικό ρόλο καθώς η πλειονότητα των N, Ca και Mg παραμένει ενσωματωμένη εντός της στερεάς φάσης (Idowu et al., 2017). Η ανακύκλωση του P μέσω της εφαρμογής των HCs στο πεδίο θα μπορούσε να είναι μια πολλά υποσχόμενη επιλογή ενώ η συγγένεια αυτού του προϊόντος με το νερό υποδηλώνει μια πιθανή ενίσχυση της ικανότητας συγκράτησης νερού του εδάφους (Sevilla and Fuertes, 2011). Η εφαρμογή υδροξείδιου άνθρακα έδειξε να ακινητοποιεί και αργότερα να απελευθερώνει το άζωτο του εδάφους, μειώνοντας το δυναμικό έκπλυσης αυτού του στοιχείου στα υπόγεια ύδατα με αποτέλεσμα τη διαθεσιμότητά του όταν η καλλιέργεια είναι παρούσα στο έδαφος (Bargmann et al., 2014). Η χρήση των HC ως εδαφοβελτιωτικό απαιτεί περισσότερη βελτιστοποίηση των παραμέτρων της διαδικασίας HTC (Huang and Yuan, 2016). Θα πρέπει να μελετηθεί περαιτέρω η απελευθέρωση μετάλλων, η κινητικότητα τους και η βιοδιαθεσιμότητα στο έδαφος, καθώς και οι επιδράσεις στη βιολογία του εδάφους και στις καλλιέργειες πριν από την εφαρμογή στο πεδίο.

## **III. Προσροφητικό υλικό**

Μια εναλλακτική εφαρμογή του υδροξείδιου άνθρακα είναι η χρήση του ως προσροφητικό υλικό. Είναι ένα σχετικά φθινό υλικό και μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε υδατικά διαλύματα. Έχει ένα ευρύ φάσμα ιδιοτήτων προσρόφησης ανάλογα με την πρώτη ύλη και τις συνθήκες παραγωγής. Διαθέτει μικρή επιφάνεια, με χαμηλή ανάπτυξη πόρων και αρνητικό επιφανειακό φορτίο λόγω των επιφανειακών πολικών λειτουργικών ομάδων. Ωστόσο, παρουσιάζει κάποια σημαντικά μειονεκτήματα καθώς έχει μικρότερη ικανότητα προσρόφησης σε σύγκριση με άλλους προσροφητές και αυτό διότι έχει μεγάλη ποσότητα πτητικών συστατικών που μπορούν να περάσουν στο νερό, μικρή ειδική επιφάνεια και πορώδες. Παρόλα αυτά μελέτες επιβεβαιώνουν τις ιδιότητες προσρόφησης για πολικούς και μη πολικούς ρύπους.

## **IV. Δέσμευση άνθρακα**

Λόγω της σταθερότητας και της ανθεκτικότητας στο νερό το υδροξείδιο άνθρακα που παράγεται, όταν εφαρμόζεται στο έδαφος, αποσυντίθενται σε μεγαλύτερα χρονικά διαστήματα. Για τον λόγο αυτό, χρησιμοποιείται συχνά για την τροποποίηση του εδάφους ή για δέσμευση άνθρακα στα εδάφη. Αυτή η διαδικασία αποτελεί μια μέθοδο μείωσης της ποσότητας διοξειδίου του άνθρακα στην ατμόσφαιρα και μπορεί να αντισταθμίσει τις ανθρωπογενείς εκπομπές CO<sub>2</sub>. Η εφαρμογή HCs

στο έδαφος από λυματολάσπη για την τροποποίηση ή για την δέσμευση άνθρακα συχνά συνίσταται λόγω των υψηλών αναλογιών H:C και της ικανότητας αποικοδόμησης του άνθρακα σε HC. Ο ρυθμιζόμενος πορώδης χαρακτήρας αυτών των υλικών και η βιώσιμη πηγή που χρησιμοποιείται για την παραγωγή τους αποτελούν υποσχόμενα χαρακτηριστικά για τη χρήση τους ως προσροφητές CO<sub>2</sub> (Malghani et al., 2013).

## V. Καταλύτης

Το υδροξανθράκωμα μπορεί να εφαρμοστεί σε πολλές περιπτώσεις ως καταλυτικό υλικό. Μπορεί να γίνει προσθήκη λειτουργικών ομάδων στην επιφάνειά του με σκοπό την ενίσχυση του φαινομένου της προσρόφησης, να εφαρμοστεί σε ενζυμικές και ετερογενείς καταλυτικές αντιδράσεις αλλά και σε βιοτεχνολογικές διεργασίες όπως η ακινητοποίηση ενζύμων. Οι Castroetal. (2017), έκαναν χρήση υδροξανθρακώματος για την ακινητοποίηση πρωτεϊνών λεκτίνης μέσω ηλεκτροστατικής αλληλεπίδρασης μεταξύ των ομάδων COO στην επιφάνεια του υδροξανθρακώματος και των ομάδων NH<sub>2</sub> και NH<sub>3</sub><sup>+</sup> της πρωτεΐνης (Castroetal., 2017). Σε άλλη εφαρμογή, μελετήθηκε η μετατροπή της λυματολάσπης σε αέριο σύνθεσης πλούσιο σε υδρογόνο μέσω σύνθετων υλικών που προέρχονται από υδροξανθράκωμα. Παρασκευάστηκε μέσω ΥΑ, υδροξανθράκωμα που προέρχεται από λυματολάσπη στο οποίο υποστηρίχθηκαν με νανοσωματίδια NiO. Έτσι, δημιουργήθηκαν in situ ομοιόμορφα διεσπαρμένα νανοσωματίδια NiO κατά τη διαδικασία καταλυτικής αεριοποίησης τα οποία παρείχαν τις ενεργές θέσεις για την προσρόφηση μορίων πίσσας για την καταλυτική μετατροπή της. Λόγω των ισχυρών αλληλεπιδράσεων μεταξύ των μεταλλικών κατιόντων και του άνθρακα, το σύστημα NiO.1-HC παρουσίασε την υψηλότερη καταλυτική δραστηριότητα στην παραγωγή υδρογόνου, με 72,5% εκλεκτικότητα στο υδρογόνο, και στη μείωση της πίσσας υπό ήπιες συνθήκες (Gai et al., 2017).

## Κεφάλαιο 4

### Τεχνικές εκχύλισης και ανάλυσης μικρορύπων από περιβαλλοντικά υποστρώματα

#### 4.1 Εισαγωγή

Τα περιβαλλοντικά δείγματα και πιο συγκεκριμένα τα δείγματα λυματολάσπης είναι αρκετά περίπλοκα και παρουσιάζουν ορισμένες ιδιαιτερότητες όσον αφορά τον προσδιορισμό μικρορύπων και πιθανών προϊόντων μετασχηματισμού τους. Χαρακτηρίζονται ως πολύπλοκα υποστρώματα κυρίως γιατί:

1. Η ομάδα ενώσεων προς ανάλυση περιλαμβάνει ενώσεις με διαφορετικές φυσικοχημικές ιδιότητες (πηκτικότητα, πολικότητα, διαλυτότητα στο νερό, οξύτητα, κ.ά.).
2. Στο υπόστρωμα μπορεί να συνυπάρχουν και άλλες ανόργανες ή οργανικές ενώσεις που να παρεμποδίζουν την ανάλυση και τον προσδιορισμό των ενώσεων που επιθυμούμε.
3. Οι μικρορύποι συναντώνται σε συγκεντρώσεις χαμηλότερες συγκριτικά με άλλους οργανικούς ρύπους.

4. Τις περισσότερες φορές το ιστορικό των δειγμάτων προς ανάλυση είναι άγνωστο (Köck-Schulmeyer M. et al., 2013).

Οι αναλυτικές μέθοδοι προσδιορισμού υπολειμμάτων διακρίνονται σε μονοδύναμες (single-residue) όταν προσδιορίζεται ένας ρύπος, και πολύ-υπολειμματικές (multi-residue) όταν προσδιορίζονται ταυτόχρονα πολλοί ρύποι ή ομάδες ρύπων. Για να είναι αποτελεσματική η πολύ-υπολειμματική ανάλυση απαιτείται η κατάλληλη προκατεργασία του δείγματος.

## 4.2 Προκατεργασία δείγματος

Τα δείγματα λυματολάσπης χαρακτηρίζονται αρκετά περίπλοκα, τόσο όσον αφορά την εξαγωγή των αποτελεσμάτων όσο και των βημάτων καθαρισμού πριν από την ανάλυση. Για τον λόγο αυτό απαιτούνται κατάλληλες διαδικασίες προετοιμασίας των δειγμάτων για την επίτευξη βέλτιστων αναλυτικών αποτελεσμάτων και για την παροχή γρήγορων αναλυτικών διαδικασιών.

Οι κύριοι στόχοι της προετοιμασίας του δείγματος είναι:

- ❖ τροποποίηση του υποστρώματος του δείγματος
- ❖ απομάκρυνση τυχόν ενώσεων που παρεμποδίζουν και δυσχεραίνουν την ανάλυση
- ❖ εκλεκτική προσυγκέντρωση των προσδιοριζόμενων ενώσεων, ώστε να βελτιωθεί η ευαισθησία της μεθόδου.

Η προκατεργασία – εκχύλιση του δείγματος αποτελεί την πιο βασική διαδικασία που καθορίζει την χρωματογραφική ανάλυση, με απώτερο σκοπό την παραλαβή ενός κλάσματος από το συνολικό δείγμα, σχετικά απαλλαγμένο από παρεμποδίζουσες - συνεκχυλιζόμενες ουσίες που οφείλονται στη μήτρα, κατάλληλο για έγχυση στη χρωματογραφική στήλη. Η προκατεργασία του δείγματος είναι ένα ουσιαστικό βήμα της αναλυτικής μεθόδου για την απομόνωση και τον καθαρισμό των αναλυτών-στόχων από τα

συστατικά της μήτρας και πρόκειται για ένα χρονοβόρο και απαιτητικό στάδιο, καθώς αποτελεί το 60%–80% του συνολικού χρόνου κάθε ανάλυσης. Τα τυπικά στάδια της προκατεργασίας του δείγματος είναι τα εξής:

- δειγματοληψία και ομογενοποίηση, ώστε το δείγμα να είναι αντιπροσωπευτικό
- εκχύλιση, για την απομόνωση των επιθυμητών ενώσεων
- καθαρισμός δείγματος, για την απομάκρυνση των παρεμποδισουσών ουσιών
- συμπύκνωση, αν κρίνεται απαραίτητη για να επιτευχθεί προσυγκέντρωση
- διαχωρισμός, ταυτοποίηση και ποσοτικοποίηση με ενόργανες διατάξεις

Σε πολύπλοκα υποστρώματα όπως η λυματολάσπη οι διαδικασίες εκχύλισης και καθαρισμού πριν από τη χρωματογραφική ανάλυση είναι απαραίτητες. Το πρώτο βήμα πριν την εκχύλιση είναι η απομάκρυνση του νερού, καθώς διασφαλίζει τη σωστή επαφή μεταξύ του διαλύτη και του υποστρώματος στη διαδικασία εκχύλισης. Συνήθως περιλαμβάνεται ένα στάδιο φυγοκέντρωσης και ένα στάδιο ξήρασης για την απομάκρυνση του υδατικού κλάσματος. Η λάσπη μπορεί να στεγνώσει σε πυριαντήριο, ωστόσο υπάρχει κίνδυνος απώλειας της αναλυόμενης ουσίας. Έτσι, η λυοφιλοποίηση είναι η προτιμώμενη εναλλακτική στην οποία αφαιρείται το νερό καθώς είναι μια απλή, χρονικά αποτελεσματική μέθοδος στην οποία οι αναλυόμενες ουσίες δεν εξατμίζονται ή

αποικοδομούνται. Επίσης, η χρήση ξηραντικών παραγόντων, όπως το θειικό νάτριο, είναι μια άλλη διαδικασία για τη λήψη ξηρού δείγματος για την επακόλουθη εκχύλισή του. Για την ομογενοποίηση της αποξηραμένης λάσπης ακολουθεί η άλεση του δείγματος. Προκειμένου να εξασφαλιστεί παρόμοιο μέγεθος σωματιδίων, στο τελικό στάδιο προεπεξεργασίας συνίσταται το κοσκίνισμα. Ανάλογα με την ακόλουθη μέθοδο εκχύλισης, είναι επιθυμητό ένα συγκεκριμένο μέγεθος σωματιδίων.

Η επιλογή της κατάλληλης μεθόδου εκχύλισης εξαρτάται από ορισμένες προϋποθέσεις όπως είναι το είδος του δείγματος, τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των ενώσεων που θέλουμε να προσδιορίσουμε και άλλα. Εκτός από τις κλασικές τεχνικές εκχύλισης τα τελευταία χρόνια έχουν αναπτυχθεί και άλλες πιο σύγχρονες μέθοδοι καθώς κρίνεται επιτακτική η ανάγκη ανάπτυξης μεθόδων απλών, γρήγορων, χαμηλού κόστους και φιλικών προς το περιβάλλον.

### 4.3 Τεχνικές εκχύλισης δείγματος

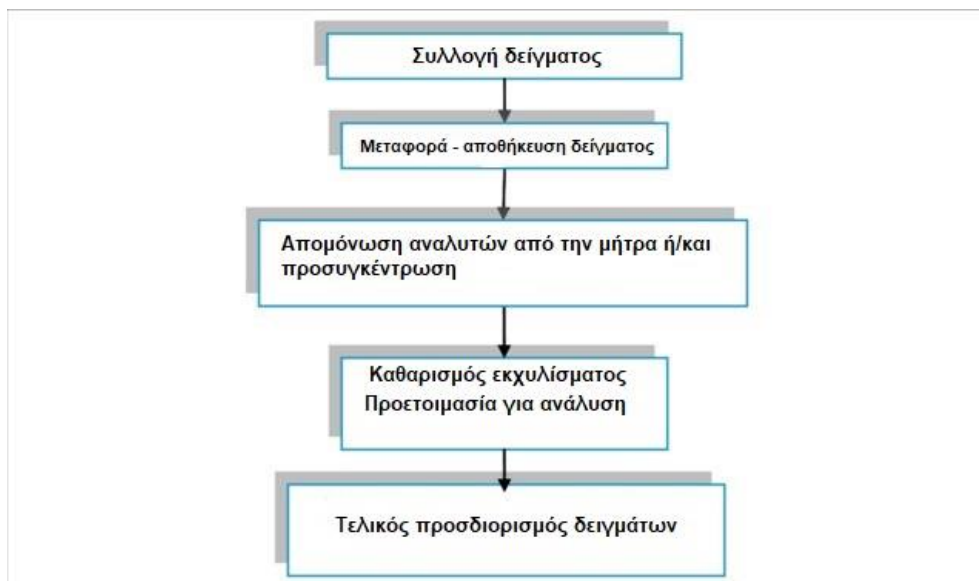
Ως εκχύλιση ορίζεται η μεταφορά ενός συγκεκριμένου συστατικού από μια φάση (διάλυμα ή αιώρημα) σε μια άλλη (υγρή) και χρησιμοποιείται για το διαχωρισμό, την απομόνωση και την παραλαβή ενός συστατικού από ένα χημικό σύστημα. Στα υγρά και στερεά υποστρώματα, η εκχύλιση βασίζεται στην κατανομή των ενώσεων μεταξύ ενός μη αναμίξιμου με το νερό διαλύτη και της υδατικής φάσης ή “παγίδευση” των ενώσεων πάνω σε μια στήλη, ή σε στερεάς φάσης υπόστρωμα.

Μια αποτελεσματική εκχύλιση είναι σημαντική προκειμένου να επιτευχθεί καλός καθαρισμός και απομόνωση των αναλυτών-στόχων από το υπόστρωμα. Έτσι, το πρώτο στάδιο σε μια τεχνική εκχύλισης είναι αυτό της εκχύλισης των αναλυτών από το υπόστρωμα με τη χρήση οργανικού διαλύτη και το δεύτερο στάδιο που είναι αυτό του καθαρισμού. Οι βέλτιστες συνθήκες εκχύλισης είναι προφανές ότι διαφέρουν, ανάλογα με τις φυσικοχημικές ιδιότητες των αναλυτών, όπως η πολικότητα-λιποφιλία τους και η σταθερά διάστασης τους ( $\rho K_a$ ), και του υποστρώματος (π.χ. ποσοστό περιεχόμενου νερού, λίπους, ύπαρξη χρωστικών κ.τ.λ).

Ένα από τα κύρια και κρίσιμα βήματα για την ανάλυση λυματολάσπης είναι η εκχύλιση με τη χρήση κατάλληλου διαλύτη και η τεχνική εκχύλισης για να επιτευχθούν αποδεκτές ανακτήσεις για τις ενώσεις που μας ενδιαφέρουν. Οι τρέχουσες τάσεις της Αναλυτικής Χημείας περιλαμβάνουν τη μετάβαση προς απλά, γρήγορα, οικονομικά αποδοτικά και υψηλής απόδοσης πρωτόκολλα χωρίς να διακυβεύονται έννοιες όπως η αναπαραγωγικότητα (reproducibility), η αντιπροσωπευτικότητα (representativeness), η ακρίβεια (accuracy), η επαναληψιμότητα (precision), η επιλεκτικότητα (selectivity), η ευαισθησία (sensitivity) και το όριο ανίχνευσης (limit of detection) (Gałuszka et al., 2013).

Κύριος στόχος για τη μείωση της περιβαλλοντικής ρύπανσης είναι η ελάττωση των οργανικών διαλυτών και των αντιδρώντων που καταναλώνονται, η ελαχιστοποίηση του μεγέθους και του αριθμού των δειγμάτων που χρειάζονται και η χρήση όσο το δυνατόν περισσότερο αυτοματοποιημένων τεχνικών. Η τροποποίηση προκειμένου να ληφθούν φιλικές προς το περιβάλλον μέθοδοι καθώς και η κατανάλωση υψηλών ποσοτήτων πόρων (διαλύτες, χημικές ουσίες, ενέργεια, χρόνος, κ.λπ.) για την προετοιμασία του δείγματος, οδήγησε στην ανάπτυξη αποτελεσματικότερων μεθόδων εκχύλισης. Τα βήματα της αναλυτικής διαδικασίας για τον

προσδιορισμό αναδυόμενων ρύπων σε λυματολάσπη παρουσιάζονται στο παρακάτω διάγραμμα (Σχήμα 4.1).



**Σχήμα 4.1:** Βασικά βήματα αναλυτικής διαδικασίας για τον προσδιορισμό αναδυόμενων ρύπων σε λυματολάσπη (Biziuk M., 2011)

#### 4.3.1 Εκχύλιση στερεού – υγρού (εκχύλιση Soxhlet)

Η εκχύλιση στερεών δειγμάτων με διαλύτη, κοινώς γνωστή ως εκχύλιση στερεού-υγρού, είναι μια από τις παλαιότερες τεχνικές εκχύλισης στερεών δειγμάτων. Η τεχνική αυτή χρησιμοποιείται για τον διαχωρισμό των ενώσεων από αδιάλυτα κλάσματα μεγάλου μοριακού βάρους και άλλες ενώσεις που ενδεχομένως θα επηρεάσουν τα επόμενα στάδια της αναλυτικής διαδικασίας. Αποτελεί μια φυσική διεργασία μεταφοράς μάζας και το επιθυμητό συστατικό απομακρύνεται από το στερεό με χρήση οργανικού διαλύτη. Η ικανότητα ανάκτησης των βασικών ενώσεων-στόχων εξαρτάται από την διαλυτότητα των ενώσεων στον επιλεγμένο διαλύτη, την αλληλεπίδρασή τους, την επίδραση επί του πορώδους του μείγματος και την κατανομή αυτών των ενώσεων στη μάζα του στερεού. Ως εκ τούτου, η επιλογή του διαλύτη και τα δομικά χαρακτηριστικά του στερεού δείγματος που υπόκειται εκχύλιση είναι μείζονος σημασίας. Η εκχύλιση Soxhlet αποτελεί μία τέτοια τεχνική συνεχούς λειτουργίας όπου ο διαλύτης τοποθετείται σε μια σφαιρική φιάλη. Με τη παροχή θερμότητας ο διαλύτης εξατμίζεται και στη συνέχεια συμπυκνώνεται. Το δείγμα μας βρίσκεται σε ειδικό δειγματοφορέα με τέτοιο πορώδες όπου η μετακίνηση του είναι εμποδίζεται. Η εκχύλιση πραγματοποιείται όταν το δείγμα έρθει σε επαφή με τον διαλύτη σε θερμοκρασία κοντά στη θερμοκρασία συμπύκνωσης. Στη συνέχεια ο διαλύτης συσσωρεύεται με το δείγμα στο θάλαμο μέχρι να φτάσει στη κορυφή του σιφωνίου όπου αναρροφάται και επιστρέφει στην αρχική φιάλη απόσταξης. Στη διαδικασία αυτή τα δείγματα έρχονται επανειλημμένα σε επαφή με τον διαλύτη, ενώ η διήθηση δεν είναι απαραίτητη μετά την έκπλυση, γεγονός που αυξάνει την απόδοση του δείγματος. Παράλληλα, ο εξοπλισμός που απαιτείται είναι χαμηλού κόστους κάτι που μας επιτρέπει πολλές και ταυτόχρονες εκχυλίσεις. Ωστόσο, η εκχύλιση Soxhlet έχει κάποιες ελλείψεις: είναι χρονοβόρα διαδικασία, απαιτεί εντατική εργασία και απαιτεί επίσης τη χρήση μεγάλων όγκων οργανικών διαλυτών (300-500 mL) και μεγάλων δειγμάτων (10-30 g). Για τον λόγο

αυτό τα τελευταία χρόνια η μέθοδος αυτή έχει αντικατασταθεί από άλλες που απαιτούν λιγότερο χρόνο και μικρότερες ποσότητες διαλυτών.

### 4.3.2 Εκχύλιση στερεάς φάσης (Solid-phase extraction (SPE))

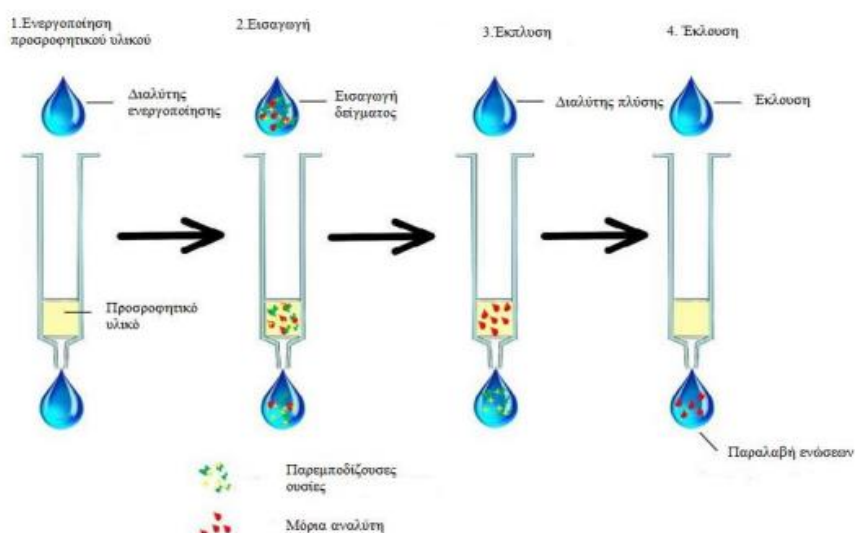
Η τεχνική εκχύλισης δια στερεάς φάσης βασίζεται στην προσρόφηση (δέσμευση) των προσδιοριζόμενων ενώσεων και συστατικών του δείγματος με ανάλογη πολικότητα σε ένα στερεό προσροφητικό υλικό (π.χ. C8, C18, SDB, κ.α.). Η διαδικασία της SPE επιτρέπει πολλαπλές αναλύσεις υπολειμμάτων για ενώσεις με ευρύ φάσμα φυσικοχημικών ιδιοτήτων και πολικοτήτων, ενώ επιτρέπει την καλή αποθήκευσή τους. Στη λυματολάσπη, λόγω της πολυπλοκότητας της μήτρας, χρησιμοποιείται συνήθως ως επακόλουθη επεξεργασία για τον καθαρισμό (clean-up). Κατά συνέπεια, η SPE σε συνδυασμό με ένα προηγούμενο βήμα εκχύλισης, έχει γίνει η πιο ευρέως χρησιμοποιούμενη επιλογή για τον καθαρισμό των διάφορων μικρορρύπων προς ανάλυση.

Η αρχή της διαδικασίας περιλαμβάνει την κατανομή των εκχυλιζόμενων συστατικών ανάμεσα σε δύο φάσεις:

- τη στερεή φάση που αποτελεί το προσροφητικό υλικό και
- την υγρή που αποτελεί το υπόστρωμα με όλες τις παρεμποδίσσεις

Η διαδικασία έχει ως εξής (Σχήμα 4.2):

- Εισάγεται ο διαλύτης (CH<sub>3</sub>OH, CH<sub>3</sub>CN, H<sub>2</sub>O, κ.α.) και κατ' επέκταση γίνεται η ενεργοποίηση - έκπλυση του προσροφητικού υλικού.
- Εισάγεται το δείγμα.
- Γίνεται έκπλυση του προσροφητικού υλικού με διάφορους διαλύτες πλύσης για να απομακρυνθούν τυχόν παρεμποδίζουσες ενώσεις.
- Γίνεται έκλυση του διαλύτη για την παραλαβή των ενώσεων.



**Σχήμα 4.2:** Σχηματική αναπαράσταση εκχύλισης στερεάς φάσης (SPE) (Sandoval, 2017)

Οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ ενώσεων, στατικής φάσης και διαλυτών βασίζονται συνήθως σε δυνάμεις van der Waals (διπόλου-δίπολου) δεσμών υδρογόνου, ηλεκτροστατικής φύσεως

δυνάμεις και συνδυασμών μεταξύ τους (Wells and Yu, 2000), ενώ ο μηχανισμός συγκράτησης των ενώσεων στο προσροφητικό υλικό, είναι ο ίδιος με εκείνο της υγρής χρωματογραφίας.

### 4.3.3 Εκχύλιση με χρήση υγρών διαλυτών υπό πίεση (Pressurized Liquid Extraction, PLE)

Η εκχύλιση υπό πίεση υγρού (PLE) είναι μια δημοφιλής τεχνική κατεργασίας δειγμάτων για στερεά υποστρώματα. Γίνεται χρήση υγρών διαλυτών και εφαρμόζεται υψηλή θερμοκρασία και πίεση, η οποία παράγει ταχύτερες και αποδοτικότερες εκχυλίσεις, καθώς αυτοί οι παράγοντες έχουν σημαντικό αντίκτυπο στη διαλυτότητα των αναλυόμενων ουσιών, τη μεταφορά μάζας και τη διάσπαση της αλληλεπίδρασης υποστρώματος-αναλύτη (Rodil et al., 2008). Έτσι, επιτυγχάνουμε μικρότερους χρόνους εκχύλισης με μικρότερη ποσότητα διαλύτη και παράλληλα πετυχαίνουμε υψηλό επίπεδο αυτοματισμού και ικανότητα εκτέλεσης πολλαπλών εξαγωγών παράλληλα. Η εκχύλιση PLE έχει αποδειχθεί πολύ αποτελεσματική για την εξαγωγή αναλυτών – στόχων σε λυματολάσπη, ωστόσο, τα εκχυλίσματα συνήθως περιέχουν επίσης μια σύνθετη μήτρα. Για τον λόγο αυτό, είναι αναγκαία μια διαδικασία καθαρισμού μετά την εξαγωγή για την απομάκρυνση των παρεμβολών. Η εκχύλιση στερεάς φάσης (SPE) με μεγάλη ποικιλία διαλυτών ήταν η πιο κοινή τεχνική καθαρισμού σε ανάλυση μικρορύπων (Blanch et al., 2015).

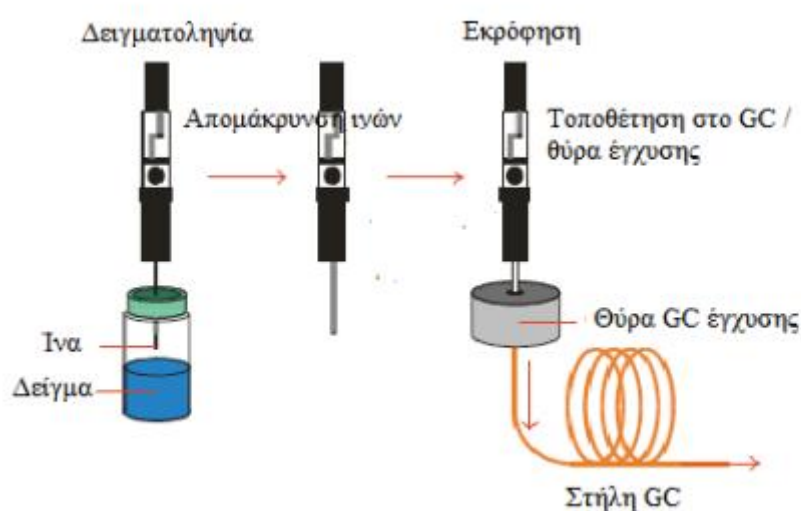
### 4.3.4 Εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα (Microwave-assisted extraction, MAE)

Η μέθοδος εκχύλισης με μικροκύματα έχει ήδη ερευνηθεί και πολλές αναφορές δείχνουν πως υπάρχει εφαρμογή της σε αναλύσεις τροφίμων και περιβαλλοντικών υποστρωμάτων (Mandal et al., 2007). Γενικότερα με τη διαδικασία αυτή χρησιμοποιείται η ενέργεια των μικροκυμάτων για να θερμάνει απευθείας τον διαλύτη και να γίνει η εκχύλιση των ενώσεων που μας ενδιαφέρουν, επιταχύνοντας έτσι την ταχύτητα εκχύλισης. Τα κυριότερα οφέλη της μεθόδου αυτής είναι η χρήση μικρών ποσοτήτων διαλύτη, μικρότεροι χρόνοι εκχύλισης, δυνατότητα εκχύλισης μεγάλου αριθμού δειγμάτων ταυτόχρονα και προσφέρει προστασία για τα θερμικά ασταθή συστατικά. Παρόλα αυτά, απαιτείται ένα στάδιο διήθησης μετά την εκχύλιση, χρειάζονται οργανικοί διαλύτες που να απορροφούν τα μικροκύματα που ως εκ τούτου είναι περιορισμένοι και χρειάζεται ένα επόμενο βήμα καθαρισμού του εκχυλίσματος. Επιπλέον, ο εξοπλισμός για τη MAE είναι σχετικά ακριβός.

### 4.3.5 Μικροεκχύλιση Στερεάς Φάσης (Solid phase microextraction, SPME)

Η μικροεκχύλιση στερεάς φάσης (SPME) (Σχήμα 4.3) αποτελεί μια γρήγορη, ευαίσθητη, εύκολα αυτοματοποιούμενη, οικονομική και χωρίς χρήση διαλυτών (solvent-free), διαχωριστική τεχνική. Ως κύριο χαρακτηριστικό της είναι η χρήση μικρής ποσότητας δείγματος και διαφέρει από την εκχύλιση στερεάς φάσης ως προς το προσροφητικό υλικό το οποίο βρίσκεται στην επιφάνεια ίνας και όχι πακεταρισμένο σε στήλη ή τοποθετημένο πάνω σε δίσκο εκχύλισης ενώ μπορεί να χρησιμοποιείται για υγρά, αέρια και στερεά δείγματα.

Η διαδικασία περιλαμβάνει ταυτόχρονη εκχύλιση και προσυγκέντρωση των αναλυτών από το υπόστρωμα των δειγμάτων. Αρχικά, με τη χρήση μιας ίνας τετηγμένου διοξειδίου του πυριτίου (SiO<sub>2</sub>) η οποία είναι επικαλυμμένη με μια στατική φάση (coating) από πολυμερές υλικό, εκτίθεται το φιαλίδιο με το δείγμα. Έπειτα, η ίνα με τα επιθυμητά συστατικά μεταφέρεται στον εισαγωγέα του αναλυτικού οργάνου για εκρόφηση, διαχωρισμό και ποσοτικοποίηση. Η εκχύλιση αυτή βασίζεται στην κατανομή του επιθυμητού συστατικού μεταξύ της υδατικής φάσης και της στατικής φάσης του πολυμερούς ενώ τυπικά θεωρείται ότι έχει ολοκληρωθεί, όταν η συγκέντρωση του επιθυμητού συστατικού έχει φτάσει σε ισορροπία μεταξύ του υποστρώματος του δείγματος και του πολυμερούς της ίνας.

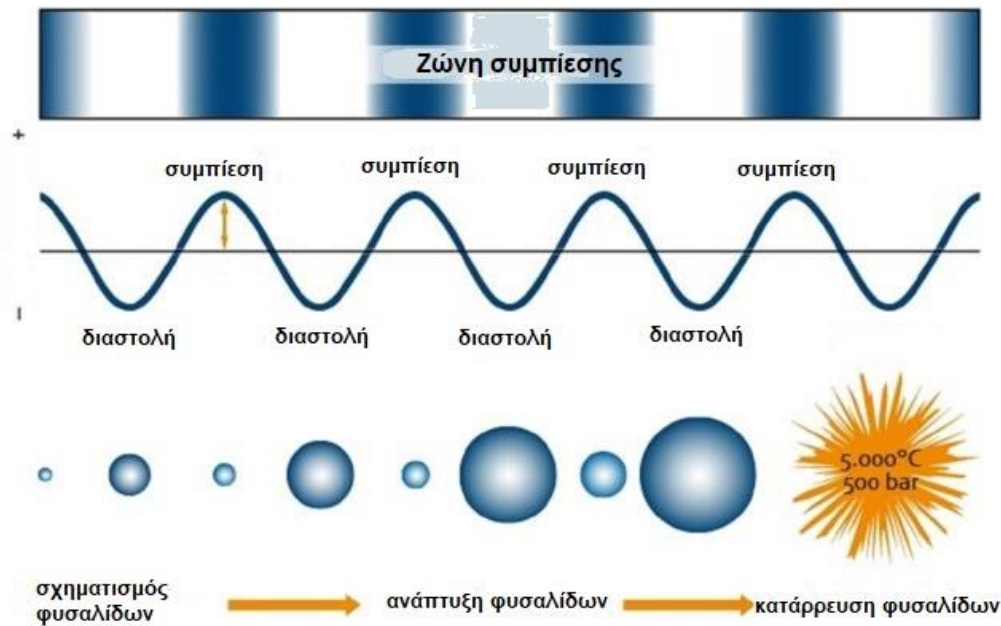


**Σχήμα 4.3:** Σχηματική απεικόνιση της μικροεκχύλισης στερεάς φάσης (SPME) (Schmidt and Podmore, 2015)

#### 4.3.6 Εκχύλιση υποβοηθούμενη με υπέρηχους (Ultrasound-assisted extraction)

Η εκχύλιση με υπερήχους είναι μια εναλλακτική λύση εκχύλισης για στερεές μήτρες και έχει εφαρμοσθεί αποτελεσματικά σε διάφορες διεργασίες στη βιομηχανία. Τα πλεονεκτήματα από τη χρήση τους περιλαμβάνουν αποτελεσματικότερη ανάμιξη, ταχύτερη μεταφορά μάζας, μειωμένη θερμοκρασία εκχύλισης, εκλεκτική εκχύλιση, μικρό μέγεθος εξοπλισμού και αυξημένη παραγωγή (Chemat et al., 2011). Στη μέθοδο αυτή, προκαλείται κίνηση του υγρού λόγω συμπίεσης και αραιώσης. Η αποτελεσματικότερη εκχύλιση σχετίζεται με το φαινόμενο που ονομάζεται ακουστική σπηλαίωση (Στρατή, 2014), δηλαδή δημιουργία κενών εντός του μέσου (φουσαλίδες σπηλαίωσης) (Σχήμα 4.4).





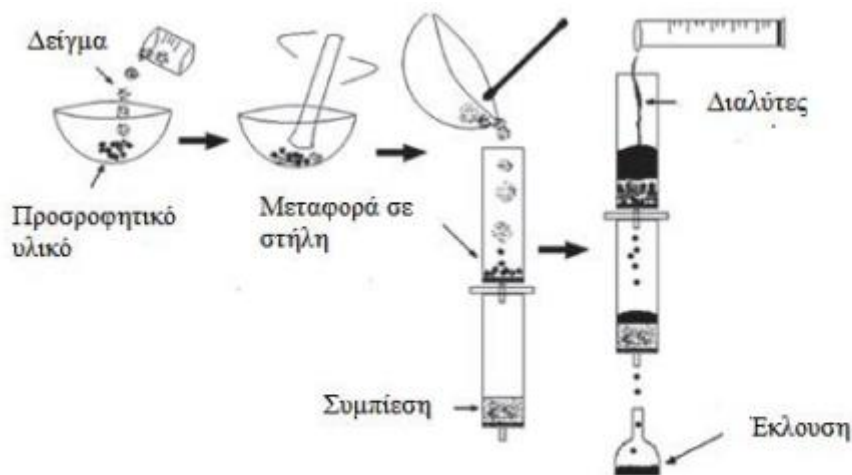
**Σχήμα 4.4:** Σχηματική απεικόνιση της αρχής της σπηλαιώσης υπερήχων. Οι φυσαλίδες μεγαλώνουν λόγω της εξάτμισης και τελικά φτάνουν σε κρίσιμο μέγεθος όταν μεγαλώνουν γρήγορα και έπειτα καταρρέουν βίαια (Johansson O., 2017).

Αυτές οι φυσαλίδες αυξάνονται κατά τη διάρκεια των φάσεων της αραιώσης, ενώ το μέγεθός τους μειώνεται κατά τη διάρκεια της φάσης της συμπίεσης. Όταν αυτές φθάσουν στο κρίσιμο σημείο, απελευθερώνουν μεγάλες ποσότητες ενέργειας. Με την υψηλή πίεση και θερμοκρασία που απελευθερώνονται παράγονται μικροπίδακες, οι οποίοι κατευθύνονται προς τη στερεή επιφάνεια του υλικού, με αποτέλεσμα την εκχύλιση των ενώσεων από διάφορα μίγματα. Ο διαλύτης επιλέγεται με βάση κριτήρια όπως το ιξώδες, η επιφανειακή τάση και η πίεση ατμών. Όλες αυτές οι παράμετροι θα επηρεάσουν το φαινόμενο της ακουστικής σπηλαιώσης.

#### 4.3.7 Εκχύλιση με διασπορά του υποστρώματος σε στερεά φάση(MSPD)

Η εκχύλιση με διασπορά του υποστρώματος σε στερεά φάση (MSPD) αναπτύχθηκε πρώτη φορά το 1989 (Barker, 1989; Kristenson, 2006). Σε σύνθετες μήτρες, όπως η λυματολάσπη, όχι μόνο διασφαλίζει την αποτελεσματική εκχύλιση των αναλυτών-στόχων αλλά ταυτόχρονα αποτρέπει την αύξηση πιθανών παρεμβολών. Επιτρέπει την ταυτόχρονη εκχύλιση και καθαρισμό ενώσεων με αξιοσημείωτη μείωση της κατανάλωσης διαλυτών, δεν απαιτεί ακριβά όργανα και είναι απλή στη χρήση.

Το ομογενοποιημένο δείγμα το οποίο βρίσκεται σε διασπορά πάνω σε ένα φέρον στερεό, όπως το πυριτικό μαγνήσιο (Florisil) ή οξείδιο του πυριτίου (Bogialli and Di Corda, 2007), τοποθετείται σε μια στήλη και οι ενώσεις εκκλύονται εκλεκτικά με τη χρήση οργανικών διαλυτών (Σχήμα 4.5). Η μέθοδος σχετίζεται σημαντικά με τον διαλύτη έκλουσης που χρησιμοποιείται και τη φύση των προσροφητικών υλικών. Λιπόφιλα προσροφητικά υλικά όπως το πυρίτιο με δεσμό C18 ή το πυρίτιο με δεσμό C8 χρησιμοποιούνται συχνά. Οι διαλύτες που επιλέγονται για έκλουση εξαρτώνται από τη φύση του στερεού υλικού.



**Σχήμα 4.5:** Στάδια της εκχύλισης με διασπορά του υποστρώματος σε στερεά φάση (MSPD) (Freitas et al., 2018).

Η εκχύλιση MSPD έχει πολλά οφέλη, όπως οι μειωμένες ποσότητες διαλυτών και δείγματος, οι χρόνοι εκχύλισης, το χαμηλό κόστος και η καλή απόδοση σε θερμοκρασία δωματίου και συνθήκες ατμοσφαιρικής πίεσης. Τέλος, η τεχνική είναι κατάλληλη για μεγάλη ποικιλία αναλυτών και περιβαλλοντικών υποστρωμάτων λόγω της ευελιξίας της. Ωστόσο, η αυτοματοποίηση της μεθόδου δεν είναι εύκολη και είναι αρκετά χρονοβόρα σε περιπτώσεις ανάλυσης μεγάλου αριθμού δειγμάτων ενώ συχνό είναι το φαινόμενο ενός επιπλέον βήματος καθαρισμού των εκχυλισμάτων ανάλογα με τη φύση των αναλυτών-στόχων και των οργάνων που χρησιμοποιούνται.

#### 4.3.8 Εκχύλιση QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe)

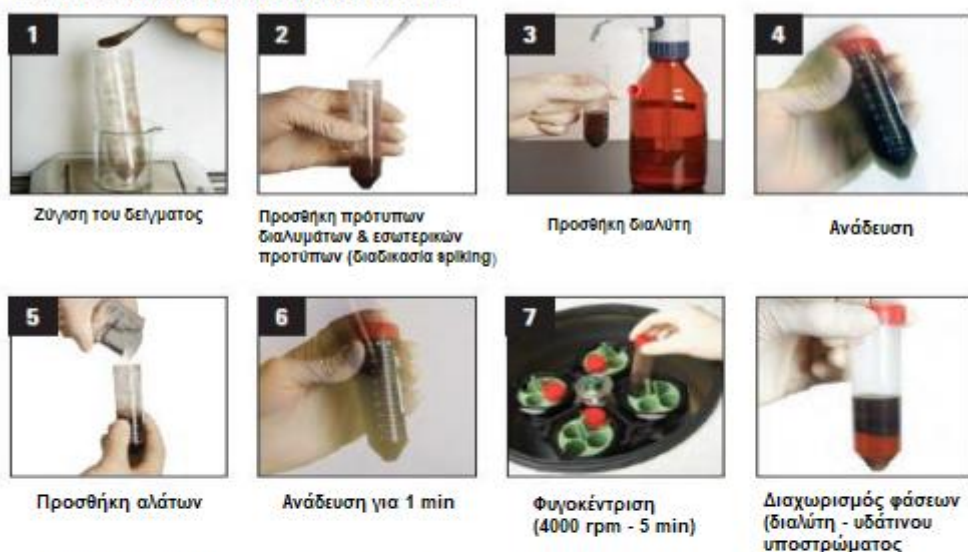
Η μέθοδος QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe) είναι μια σύγχρονη τεχνική εκχύλισης που αναπτύχθηκε εκτενέστερα τα τελευταία χρόνια. Αποτελεί ακρωνύμιο των λέξεων “Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe” δηλαδή, «γρήγορη, εύκολη, οικονομική, αποτελεσματική, ανθεκτική, ασφαλής» και δημοσιεύθηκε πρώτη φορά το 2003 από τους Anastassiades et al. για την ανάκτηση περισσότερων από 200 υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων από φρούτα και λαχανικά (Anastassiades et al., 2003). Εισήχθη ως μια φιλική προς τον χρήστη μέθοδος, με φθηνή προσέγγιση και συμβατή με τη σύγχρονη οργανική προσέγγιση για την κάλυψη των μεταβαλλόμενων αναγκών της ανάλυσης πολύ-υπολειμματικών πολικών φυτοφαρμάκων.

Αρχικά, η πρώτη προσέγγιση που δημοσιεύτηκε (original QuEChERS), συνδύαζε δύο διαφορετικές γνωστές διαδικασίες: μια εκχύλιση στερεού-υγρού (SLE)/ με την προσθήκη αλάτων (salting-out effect) και ένα βήμα καθαρισμού (clean-up process) μέσω της εκχύλισης διασποράς στερεάς φάσης (dispersive solid phase extraction, d-SPE), κάνοντας χρήση διαλυτών που εφαρμόζονται στην εκχύλιση στερεάς φάσης (SPE). Η αρχική προσέγγιση της QuEChERS εξελίχθηκε, βελτιστοποιήθηκε και τροποποιήθηκε με ποικίλους τρόπους ώστε να εφαρμόζεται, εκτός από τον προσδιορισμό υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων και στον προσδιορισμό και άλλων ενώσεων όπως είναι οι φαρμακευτικές ενώσεις, κτηνιατρικά φάρμακα και τα προϊόντα προσωπικής φροντίδας

(Pérez-Lemus, N., 2019), πλαστικοποιητές (Liu et al., 2017) κ.α. ενώ εφαρμόζεται και σε άλλα υποστρώματα τροφίμων όπως είναι το ψάρι, το γάλα, ο οίνος κ.α. αλλά και σε περιβαλλοντικά υποστρώματα όπως είναι τα ιζήματα, η λάσπη, το έδαφος, το νερό κ.α.

Η πειραματική πορεία είναι απλή και έχει ως εξής: το δείγμα ομογενοποιείται και εκχυλίζεται με χρήση οργανικού διαλύτη (συνήθως ακετονιτρίλιο - ACN) και με τη προσθήκη αλάτων (άνυδρου θειικού μαγνησίου ( $MgSO_4$ ) και χλωριούχου νατρίου ( $NaCl$ ) ή οξικού νατρίου ( $NaAcetate$ ) ή και κάποιου ρυθμιστικού διαλύματος όπως τα κιτρικά άλατα για τη ρύθμιση του pH). Ακολουθεί καλή ανάδευση του δείγματος και φυγοκέντριση για τον καλό διαχωρισμό των φάσεων. Έτσι, οι αναλύτες θα κατανεμηθούν μεταξύ του προστιθέμενου οργανικού διαλύτη και του υδατικού υποστρώματος. Αφού ολοκληρωθεί ο διαχωρισμός φάσεων, συλλέγεται το υπερκείμενο και ακολουθεί ο καθαρισμός με την τεχνική της εκχύλισης διασποράς στερεάς φάσεως (dispersive solid phase extraction, d-SPE) με τη χρήση αρκετών συνδυασμών προσροφητικών και αλάτων για την απομάκρυνση ουσιών που παρεμβαίνουν στη μήτρα (Rahman et al., 2017), (Islas et al., 2017). Σε αυτό το στάδιο γίνεται χρήση  $MgSO_4$  και υλικών όπως η πρωτοταγής-δευτεροταγής αμίνη (Primary Secondary Amine, PSA), η οκταδέκυλη πυριτία με C18 κ.α. Συνήθως μπορεί να γίνει προσθήκη μικρής ποσότητας φορμικού οξέος ή αμμωνίας για την εξισορρόπηση του pH και τη βελτίωση της σταθερότητας κατά την αποθήκευση των ευαίσθητων στο pH αναλυτών. Μετά το στάδιο του καθαρισμού, εάν είναι απαραίτητο, το τελικό εκχύλισμα συμπυκνώνεται και επαναδιαλύεται στον επιθυμητό διαλύτη πριν την τελική ανάλυση και την έγχυση του σε υγρό ή αέριο χρωματογράφο σε σύζευξη με φασματογράφο μάζας.

### Βήμα 1: Εκχύλιση με εισαγωγή αλάτων



### Βήμα 2: Εκχύλιση διασποράς στερεάς φάσης (d-SPE)



**Σχήμα 4.6:** Βήματα της μεθόδου εκχύλισης QuEChERS (πηγή: Agilent Technologies Inc.)

Ο διαλύτης που συνήθως χρησιμοποιείται είναι το ακετονιτρίλιο (ACN) καθώς απομονώνει αποτελεσματικά ένα ευρύ φάσμα ουσιών (μη πολικών και σχετικά πολικών αναλυτών), διαχωρίζεται εύκολα από την υδατική φάση, ελαχιστοποιεί την ποσότητα του λιπόφιλου συνεκχυλιζόμενων συστατικών ενώ παράλληλα τα εκχυλίσματα του είναι σχετικά απαλλαγμένα από παρεμποδίζουσες ενώσεις. Επιπλέον, μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως διαλύτης η ακετόνη ή ο οξικός αιθυλεστέρας. Ωστόσο, αποφεύγονται καθώς η ακετόνη δε βοηθά στον διαχωρισμό των φάσεων λόγω του ότι είναι εύκολα αναμειξίμη με το νερό, ενώ ο οξικός αιθυλεστέρας δεν παραλαμβάνει ποσοτικά τα πολικά φυτοφάρμακα.

Η χρήση αλάτων και πιο συγκεκριμένα ο συνδυασμός των αλάτων  $MgSO_4$  και  $NaCl$  επιτρέπει τον καλό διαχωρισμό των φάσεων, τον έλεγχο της πολικότητας του μέσου εκχύλισης και τη βελτίωση στο σχήμα των κορυφών ενώ φαίνεται να επηρεάζει και τις περισσότερες από τις πολικές συνεκχυλιζόμενες ενώσεις του υποστρώματος. Ωστόσο, τα ανθρακικά άλατα των αλκαλιμετάλλων είναι μη πτητικά λόγω της χαμηλής τάσης ατμών τους και μπορούν να εναποτεθούν στην πηγή του

φασματομέτρου μάζας και εντός του αναλυτή, μειώνοντας την απόδοση του αναλυτικού συστήματος. Για τον λόγο αυτό, έχουν προταθεί και άλλα άλατα για τον καλύτερο διαχωρισμό της οργανικής και υδατικής φάσης. Η προσθήκη αλάτων τεταρτοταγούς αμμωνίου (όπως τα χλωριούχο αμμώνιο, μυρμηκικό αμμώνιο ή οξικό αμμώνιο) προκαλούν καλό διαχωρισμό φάσεων ενώ ταυτόχρονα η παρουσία τους βελτιώνει στον ιονισμό με ηλεκτροψεκασμό τον σχηματισμό ιόντων  $[M-H]^+$  και, επιπλέον, ελαχιστοποιεί τον σχηματισμό ανεπιθύμητων παραγώγων αλκαλιμετάλλων (Santana-Mayor et al., 2019).

Η αρχική προσέγγιση της μεθόδου ήταν αρκετά αποτελεσματική στις ανακτήσεις για ενώσεις όπως τα φυτοφάρμακα, ωστόσο πραγματοποιήθηκαν αρκετές παραλλαγές για την καλύτερη απόδοση της μεθόδου με ορισμένους αναλύτες και υποστρώματα. Οι βελτιώσεις σχετίζονται τόσο με τα στάδια εκχύλισης όσο και με τα στάδια καθαρισμού. Στην πρώτη προσέγγιση, δεν πραγματοποιήθηκε έλεγχος του pH. Ως αποτέλεσμα αυτού, είχαμε περιορισμό της απόδοσης και της δυνατότητας εφαρμογής της μεθόδου σε ορισμένα φυτοφάρμακα, λόγω φαινομένων ιονισμού ή/και αποδόμησης (Bruzzone et al., 2014). Ως εκ τούτου, η χρήση ρυθμιστικών αλάτων ήταν χρήσιμη. Έτσι, δύο διαδικασίες με χρήση ρυθμιστικού διαλύματος ικανές να διατηρήσουν σταθερό το pH γύρω στο 5 και την επίτευξη ικανοποιητικών ανακτήσεων (συνήθως υψηλότερες από 70 %) για τα ευαίσθητα στα οξέα φυτοφάρμακα, προτάθηκαν με βάση τα ρυθμιστικά διαλύματα οξικών ή κιτρικών αλάτων (Lehotay et al., 2010). Οι δύο επίσημες μέθοδοι που προτάθηκαν βασίστηκαν στη συμπερίληψη ρυθμιστικών στο στάδιο της εκχύλισης. Η αρχική μέθοδος χρησιμοποιεί ακετονιτρίλιο (ACN) ως διαλύτη εκχύλισης, χλωριούχο νάτριο για ενίσχυση της κατανομής του διαλύτη και θειικό μαγνήσιο για αφαίρεση του νερού. Η άλλη προσέγγιση που αναπτύχθηκε (AOAC Official Method 2007.01) αφορά τη χρήση οξικού ρυθμιστικού διαλύματος και χρησιμοποιεί ακετονιτρίλιο που περιέχει 1% οξικό οξύ και άνυδρο οξικό νάτριο αντί για χλωριούχο νάτριο ενώ παράλληλα παρέχει υψηλές ανακτήσεις για ευαίσθητες ενώσεις. Τέλος, η μέθοδος CEN Standard Method EN 15662 χρησιμοποιεί ακετονιτρίλιο, χλωριούχο νάτριο και κιτρικό ρυθμιστικό διάλυμα (Σχήμα 4.6).

Στάδιο 1: Εκχύλιση / άλατα, διαλύτης που προστίθεται		
<p>Original Quechers Αναστασιάδης κ.α 2003</p> <p>Προσθήκη 10 ml MeCN σε 10 g ομογενοποιημένου δείγματος σε σωλήνα φυγοκέντρωσης των 50ml</p> <p>Προσθήκη ISTD</p> <p>Ανακίνηση με έντονο ρυθμό.</p>	<p>AOAC Quechers AOAC 2007.01</p> <p>Προσθήκη 15 ml από 1% HOAc σε MeCN σε 15 g ομογενοποιημένου δείγματος σε σωλήνα φυγοκέντρωσης των 50 ml</p> <p>Προσθήκη ISTD</p> <p>Ανακίνηση με έντονο ρυθμό.</p>	<p>Buffered Quechers EN 15662</p> <p>Προσθήκη 10 MeCN σε 10 g ομογενοποιημένου δείγματος σε σωλήνα φυγοκέντρωσης των 50 ml</p> <p>Προσθήκη ISTD</p> <p>Ανακίνηση με έντονο ρυθμό.</p>
<p>Προσθήκη 4 g MgSO<sub>4</sub> και 1 g NaCl</p> <p>Ανακίνηση με έντονο ρυθμό για 1 λεπτό</p> <p>Φυγοκέντρωση για 5 λεπτά σε 5000 rpm.</p>	<p>Προσθήκη 6 g MgSO<sub>4</sub> και 1.5 g NaOAc</p> <p>Ανακίνηση με έντονο ρυθμό για 1 λεπτό</p> <p>Φυγοκέντρωση για 1 λεπτό σε &gt; 1500 ref</p>	<p>Προσθήκη 4 g NaCl και 1 g Na<sub>2</sub>Citrate · 2H<sub>2</sub>O 0.5 g Na<sub>2</sub>HCitr · 1.5H<sub>2</sub>O</p> <p>Ανακίνηση με έντονο ρυθμό για 1 λεπτό</p> <p>Φυγοκέντρωση για 5 λεπτά σε 3000 U/min.</p>
Στάδιο 2: καθαρισμός d- SPE		
<p>Μεταφορά 1 ml σε σωλήνα φυγοκέντρωσης 15 ml που περιέχει 150mg MgSO<sub>4</sub> και 50 mg PSA</p> <p>Ανακίνηση για 1 λεπτό</p> <p>Φυγοκέντρωση για 1 λεπτό στις 6000 rpm.</p>	<p>Μεταφορά 1 ml σε σωλήνα φυγοκέντρωσης 15 ml που περιέχει MgSO<sub>4</sub>, PSA (C18, GCB ή ChloroFiltr μπορεί να προστεθεί για καλύτερο καθαρισμό )</p> <p>Ανακίνηση για 30 δευτερα</p> <p>Φυγοκέντρωση για 1 λεπτό στις &gt; 1500 ref.</p>	<p>Μεταφορά 1 ml σε σωλήνα φυγοκέντρωσης 15 ml που περιέχει 150 mg MgSO<sub>4</sub> και 25 mg PSA (συν 2.5 η 7.5 mg GCB για αφαίρεση χρωστικών.</p> <p>Ανακίνηση για 30 δευτερα</p> <p>Φυγοκέντρωση για 5 λεπτά στις 3000 στροφές U/min.</p>
<p>Μεταφορά 0.5 ml σε φιαλίδιο για γρήγη αέρια χρωματογραφία μάζας ανάλυση</p>	<p>Αλλαγή διαλύτη σε τολουόλιο για αέρια χρωματογραφία μάζας ή 6.7 mM φορμικό οξύ σε MeCN για γρήγη χρωματογραφία μάζας</p> <p>Προσθήκη εσωτερικού προτύπου</p>	<p>Αλλαγή διαλύτη σε 5% φορμικό οξύ σε ACN</p> <p>Μεταφορά 0.5 ml σε φιαλίδιο για γρήγη αέρια χρωματογραφία μάζας ανάλυση</p>
Στάδιο 3: Ανάλυση με γρήγη αέρια χρωματογραφία - φασματογραφία μάζας		

**Σχήμα 4.7:** Σχηματική απεικόνιση των τριών κύριων εκδοχών της μεθόδου QuEChERS (Original QuEChERS Method, AOAC Official Method 2007.01, CEN Standard Method EN 15662).

Η παρουσία ενώσεων μη-στόχων που συνεκλούνται στα εκχυλισμένα δείγματα μπορεί να προκαλέσει σοβαρή αναστολή ιονισμού ή ενισχυμένο ιονισμό της αναλυόμενης ουσίας. Αυτό το φαινόμενο, γνωστό ως φαινόμενο μήτρας (matrix effect), μπορεί να αυξήσει την αβεβαιότητα στην ποσοτική ανάλυση. Λόγω της χαμηλής επιλεκτικότητας στις τεχνικές εκχύλισης, είναι απαραίτητος ο καθαρισμός του υποστρώματος, μετά την εκχύλιση για να ελαχιστοποιηθούν οι παρεμβολές στα συστατικά του υποστρώματος.

Το βήμα του καθαρισμού (Clean-up process) βασίζεται στην εκχύλιση στερεάς φάσης σε διασπορά (dispersive SPE) και στην ταυτόχρονη δράση άνυδρου MgSO<sub>4</sub> και πρωτοταγούς δευτεροταγούς



αμίνης, PSA. Το MgSO<sub>4</sub> αφαιρεί την περιεκτικότητα σε νερό και υγρασία στο εκχύλισμα ενώ η πρωτοταγής δευτεροταγής αμίνη, PSA είναι ένας αδύναμος εναλλάκτης ανιόντων και αλληλοεπιδρά έντονα με όξινες ενώσεις που είχαν συνεκχυλιστεί προηγουμένως (π.χ. σάκχαρα, λιπαρά οξέα και οργανικά οξέα) για αυτό και χρησιμοποιείται για την απομάκρυνση τους. Λόγω της παρουσίας της πρωτοταγούς και δευτεροταγούς αμίνης, μπορεί να διατηρηθούν κάποιες πολικές παρεμβολές στη μήτρα (Ajibola et al., 2020). Η C18 χρησιμοποιείται ως ένα υδρόφοβο προσροφητικό για να αφαιρέσει συστατικά του δείγματος με υψηλή λιποφιλία (Varela-marti et al., 2019). Πιο πρόσφατα προσροφητικά υλικά που έχουν προταθεί είναι το προσροφητικό υλικό Z<sup>+</sup>-sep και ο γραφιτικός ενεργός άνθρακας (graphitized carbon black, GCB). Το προσροφητικό το Z<sup>+</sup>-sep βασίζεται σε οξείδιο του ζirkονίου και αποτελείται από ένα οξείδιο ζirkονίου και πυριτία C18 και προτείνεται για δείγματα που περιέχουν περισσότερο από 15% λιπαρές ουσίες (Rajski et al., 2013, Herrero et al., 2014). Ο γραφιτικός ενεργός άνθρακας (GCB) πρέπει να χρησιμοποιείται με ιδιαίτερη προσοχή γιατί ναί μεν είναι σε θέση να απομακρύνει αποτελεσματικά χρωστικές ουσίες που υπάρχουν στο δείγμα (π.χ. καρροτενοειδή και χλωροφύλλη), αλλά μπορεί να δεσμεύσει ισχυρά επίπεδες ενώσεις, προκαλώντας χαμηλά ποσοστά ανάκτησης (Hennion'laboratoire, 2000).

#### 4.4 Τεχνικές ανάλυσης ρύπων σε ιλύ λυμάτων

Ο προσδιορισμός των αναδυόμενων ρύπων στην ιλύ των λυμάτων βασίζεται στην ανάλυση με χρωματογραφικό διαχωρισμό σε συνδυασμό με φασματομετρία μάζας. Ως φασματομετρία μάζας (Mass Spectrometry, MS) καλείται η αναλυτική τεχνική κατά την οποία τα μόρια (συστατικά) ενός δείγματος μετατρέπονται σε ταχύτατα κινούμενα ιόντα και στη συνέχεια διαχωρίζονται σε σχέση με το λόγο της μάζας προς το φορτίο τους ( $m/z$ ). Πρόκειται για τον προσδιορισμό της δομής ή του ποσοτικού προσδιορισμού ενώσεων που βασίζεται στον ιοντισμό ατόμων ή μορίων, ή στην παραγωγή ιοντικών θραυσμάτων των μορίων και την καταγραφή της σχετικής έντασης του ιοντικού ρεύματος (Θεοδωρίδης Γ., 2015). Είναι από τις πλέον διαδεδομένες τεχνικές ανάλυσης καθώς προσφέρει πληροφορίες για την ποιοτική και ποσοτική σύσταση αγνώστων μιγμάτων, τη χημική δομή πολύ μεγάλου αριθμού ενώσεων, την παρουσία και το ποσοστό ισωτόπων και τη δομή και σύσταση επιφανειών με μορφή απεικόνισης (MS Imaging) (Δεληγιαννάκης κ.α., 2010). Μπορεί να συνδυαστεί με την αέρια χρωματογραφία (Gas Chromatography, GC) ή την υγρή χρωματογραφία (Liquid Chromatography, LC) παρέχοντας τις τεχνικές GC-MS ή LC-MS αλλά και τις συνδυασμένες τεχνικές αυτών GC-MS/MS ή LC-MS/MS (Chevalier et al., 1966).

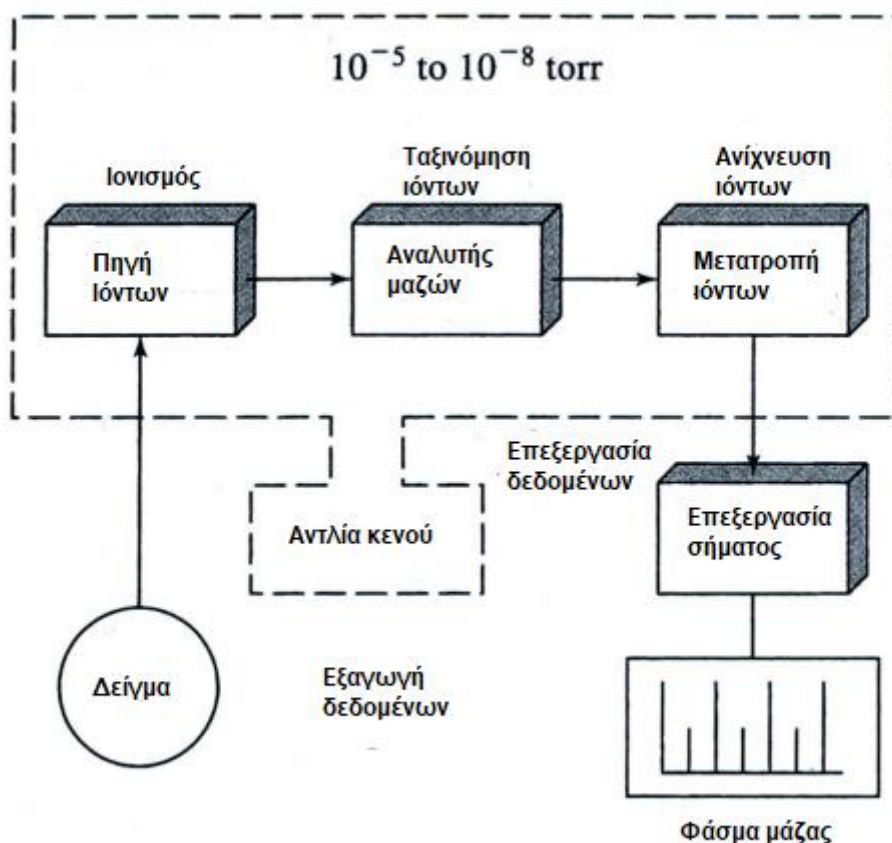
Οι πτητικές οργανικές ενώσεις συχνά διαχωρίζονται με αέρια χρωματογραφία (GC), ενώ η υγρή χρωματογραφία (LC) εφαρμόζεται γενικά για πολικές και λιγότερο πτητικές ενώσεις. Οι ενώσεις που μελετήθηκαν είναι ως επί το πλείστον πολικές ενώσεις πτητικότητας ή/και θερμικής σταθερότητας για την ανάλυσή τους στον αέριο χρωματογράφο (GC) (López-Serna et al., 2018). Ο αέριος χρωματογράφος μπορεί να συνδεθεί με ανιχνευτή φασματομετρίας μάζας (MS) είτε σε διαδοχικό συνδυασμό (MS/MS), συνδυάζοντας έτσι την υψηλή διαχωριστική ικανότητα της αέριας χρωματογραφίας με την υψηλή ευαισθησία, την καθολικότητα στην απόκριση, την εκλεκτικότητα και τη δυνατότητα προσδιορισμού της δομής ενώσεων της φασματομετρίας μάζας, ενώ συχνά χρησιμοποιείται και με ανιχνευτή σύλληψης ηλεκτρονίων (ECD). Σε γενικές γραμμές, η αέρια χρωματογραφία αποτελεί μια οικονομική τεχνική ανάλυσης λόγω της φθηνής οργανολογίας και του εργαστηριακού εξοπλισμού που απαιτείται.

Η υγρή χρωματογραφία (liquid chromatography, LC) είναι η πλέον διαδεδομένη τεχνική διαχωρισμού και προσδιορισμού ενώσεων σε ιλύ λυμάτων. Η ευρεία αποδοχή της οφείλεται στην υψηλή της ευαισθησία, στην εύκολη προσαρμογή σε ποσοτικούς προσδιορισμούς και κυρίως στην καταλληλότητα της για τον άμεσο προσδιορισμό θερμικά ασταθών και χαμηλής πτητικότητας ενώσεων που απαιτούν παραγωγοποίηση προκειμένου να προσδιοριστούν με αέρια χρωματογραφία (Δεληγιαννάκης κ.ά., 2010). Στη υγρή χρωματογραφία η κινητή φάση είναι υγρή, ενώ η στατική φάση είναι στερεή ή υγρή και βρίσκεται ακινητοποιημένη σε αδρανές υπόστρωμα. Κατά το στάδιο του διαχωρισμού, οι ενώσεις κατανέμονται μεταξύ της κινητής και στατικής φάσης ενώ παράλληλα μετακινούνται προς την έξοδο της στήλης λόγω της ροής του διαλύτη. Κατά αυτόν τον τρόπο, δημιουργείται μια μετακινούμενη ζώνη μέσα στη στήλη η οποία μεταφράζεται ως μία κορυφή στο χρωματογράφημα. Η ποσοτικοποίηση γίνεται με βάση το εμβαδό της επιφάνειας ή το ύψος της κορυφής. Η ικανότητα της υγρής χρωματογραφίας να διαχωρίζει τα συστατικά ενός μείγματος και η ικανότητα της φασματομετρίας μάζας να τα ταυτοποιεί συνδυάζονται με αποτέλεσμα τη σύζευξη της υγρής χρωματογραφίας με τη φασματομετρία μάζας (LC-MS). Στην παρούσα εργασία εφαρμόστηκε η υγρή χρωματογραφία υπερ-υψηλής πίεσης συζευγμένη με φασματομετρία μάζας υψηλής διακριτικής ικανότητας και ακρίβειας (UHPLC/LTQ-ORBITRAP XL).

Τα κύρια τμήματα του φασματογράφου μάζας είναι τα εξής:

- 1) Σύστημα εισαγωγής δείγματος, όπου αυτό εισάγεται σε υγρή ή αέρια μορφή.
- 2) Πηγή ιόντων, όπου τα εισερχόμενα συστατικά μετατρέπονται σε ιόντα.
- 3) Αναλυτής μαζών όπου πραγματοποιείται διαχωρισμός των μαζών ανάλογα με το λόγο μάζας / φορτίου ( $m/z$ ).
- 4) Ανιχνευτής, όπου τα ιόντα που διαχωρίστηκαν συλλέγονται και μετατρέπονται σε ηλεκτρικό σήμα.
- 5) Σύστημα κενού. Ο φασματογράφος βρίσκεται υπό κενό, κάτι που μας εξασφαλίζει χαμηλή πίεση. Με αυτόν τον τρόπο, αποτρέπεται η σύγκρουση των ιόντων με άλλα αέρια μόρια.
- 6) Επεξεργαστής σήματος – καταγραφή πληροφοριών. Το ηλεκτρικό σήμα μετατρέπεται σε ψηφιακό, τα δεδομένα αποθηκεύονται σε ηλεκτρικό υπολογιστή με εγκατεστημένο κατάλληλο λογισμικό και υποβάλλονται σε επεξεργασία.





**Σχήμα 4.8:** Κύρια τμήματα ενός φασματογράφου μάζας

#### 4.4.1 Ιοντισμός με ηλεκτροψεκάσμο (Electrospray Ionization, ESI)

Η διαδικασία λήψης του φάσματος μαζών για έναν αναλύτη, ξεκινά με την μετατροπή των μορίων του σε ιόντα. Αυτή η διαδικασία είναι πολύ σημαντική για την ανάλυση που ακολουθεί. Η τεχνική του Ηλεκτροψεκάσμου (ESI) αποτελεί την κυριότερη και πλέον διαδεδομένη μέθοδο σύζευξης υγρής χρωματογραφίας με φασματομετρία μάζας (LC-MS). Αποτελεί μία ήπια/μαλακή (soft) τεχνική ιονισμού για μια ποικιλία μορίων, από μετρίως πολικά και πολικά έως μεγάλων βιομορίων και θερμικά ασταθών. Παρουσιάζει καλή ευαισθησία, εύκολη ποσοτικοποίηση, υψηλή αναπαραγωγιμότητα και ευελιξία στη σύζευξη με άλλους τύπους φασματογράφων μάζας. Η τεχνική αυτή βασίζεται στο γεγονός όπου ένα υγρό ψεκάζεται μέσω ενός τριχοειδούς σωλήνα μέσα σε πεδίο μερικών χιλιάδων βολτ και το υγρό διασπείρεται σε ένα νέφος από πολύ μικρές φορτισμένες σταγόνες.

Αναλυτικότερα, έχουμε την εφαρμογή ενός ισχυρού ηλεκτρικού πεδίου υπό συνθήκες ατμοσφαιρικής πίεσης και θερμοκρασίας. Για την παραγωγή του ηλεκτρικού πεδίου απαιτείται εφαρμογή υψηλού δυναμικού (3-6 kV), μεταξύ του μεταλλικού τριχοειδούς και ενός παρακείμενου αντιηλεκτροδίου, τα οποία βρίσκονται σε απόσταση 0,3-2 cm. Για να δημιουργηθεί εκνέφωμα στην άκρη του τριχοειδούς διαβιβάζεται μέσω ενός εξωτερικού σωλήνα αέριο ξήρανσης, που συνήθως είναι θερμό άζωτο. Το διάλυμα του αναλύτη ψεκάζεται στο χώρο του ισχυρού

ηλεκτρικού πεδίου με αποτέλεσμα την εμφάνιση στην άκρη του τριχοειδούς ενός αερολύματος πολλαπλά φορτισμένων σταγόνων. Καθώς ο διαλύτης εξατμίζεται πάρα πολύ γρήγορα, το μέγεθος των σταγόνων ελαττώνεται και τα φορτισμένα σωματίδια αναγκάζονται να συνυπάρξουν σε όλο και μικρότερο χώρο, με αποτέλεσμα τη δημιουργία κλιμακούμενων απωστικών δυνάμεων μεταξύ τους. Οι δυνάμεις που καθορίζουν τη σταθερότητα των παραγόμενων σταγονιδίων κατά τον ηλεκτροψεκασμό είναι οι απωστικές δυνάμεις που αναπτύσσονται μεταξύ των ομοίως φορτισμένων ιόντων που τείνουν να «σπάσουν» τη σταγόνα και η επιφανειακή τάση της σταγόνας που τείνει να την κρατήσει σταθερή.

Η ενίσχυση του φορτίου των σταγονιδίων συνεχίζεται μέχρι ενός σημείου –το οποίο καλείται όριο σταθερότητας Rayleigh- κατά το οποίο τα σταγονίδια διασπώνται σε μικρότερα σταγονίδια αφού η ηλεκτροστατική άπωση (δυνάμεις Coulomb) είναι μεγαλύτερη της επιφανειακής τους τάσης. Όταν ξεπεραστεί αυτό το όριο, δηλαδή όταν οι απωστικές δυνάμεις μεταξύ των φορτίων στην επιφάνεια κάθε σταγόνας υπερσχύουν των συνεκτικών δυνάμεων της επιφανειακής τάσης, λαμβάνει χώρα η έκρηξη Coulomb με αποτέλεσμα το σχηματισμό πολλών μικρότερων σταγονιδίων. Τα ιόντα που προκύπτουν απωθούνται ('εξατμίζονται') από τα σταγονίδια λόγω των ηλεκτροστατικών δυνάμεων, ακολουθώντας μια αλληλουχία παρόμοιων εκρήξεων που τελικά οδηγούν στην παραγωγή αέριων ιόντων. Τα ιόντα, σε αέρια φάση, εισέρχονται στον αναλυτή μαζών. Όπως κατευθύνονται προς το φασματόμετρο μάζας, τα φορτισμένα σταγονίδια, περνούν μέσα από μια οπή δειγματοληψίας. Με αυτό το τρόπο απομακρύνονται και τα τελευταία μόρια διαλύτη, είτε μέσω θερμαινόμενου τριχοειδούς, είτε μέσω κουρτίνας θερμαινόμενου αδρανούς αερίου, το οποίο είναι συνήθως N<sub>2</sub> (Watson & Sparkman, 2007, Hoffmann & Stroobant, 2016, Θεοδωρίδης Γ., 2015). Στα μειονεκτήματα του ιονισμού με ηλεκτροψεκασμό είναι η περιορισμένη θραύση μεγάλων και θερμικά ασταθών βιομορίων και παρατηρείται απόσβεση του σήματος και ευαίσθητη στην παρουσία υψηλών συγκεντρώσεων άλατος και στην παρουσία μη πτητικών ρυθμιστικών διαλυμάτων καθώς και σε παρεμποδίσεις από ανταγωνιστική μήτρα.

#### 4.4.2 Υβριδικός αναλυτής Orbitrap

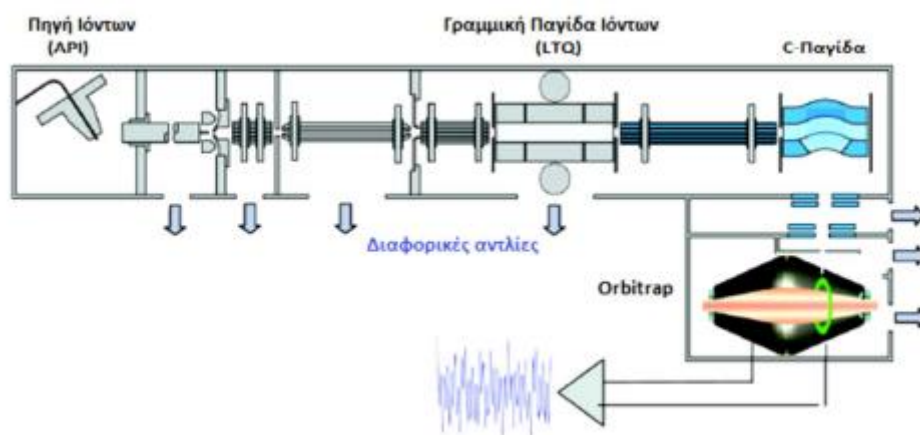
Μετά την παραγωγή ιόντων στη πηγή ιοντισμού, αυτά οδηγούνται προς τον αναλυτή μαζών, όπου διαχωρίζονται σύμφωνα με το λόγο μάζας προς φορτίο ( $m/z$ ). Ο διαχωρισμός μαζών αποτελεί το κρισιμότερο στάδιο στην πορεία μιας ανάλυσης και για το σκοπό αυτό έχουν αναπτυχθεί διάφοροι τύποι αναλυτών μαζών με διαφορετικά χαρακτηριστικά, δυνατότητες και περιορισμούς. Οι συνηθέστεροι αναλυτές μαζών είναι (De Hoffmann and Stroobant, 2007):

- ❖ Αναλυτές σάρωσης, όπως ο τετραπολικός αναλυτής μαζών (Q) και οι αναλυτές που περιλαμβάνουν μαγνητικό τομέα.
- ❖ Παλμικοί αναλυτές μαζών, όπως η τετραπολική παγίδα ιόντων (Ion trap, IT), οι αναλυτές χρόνου πτήσης (TOF).
- ❖ Υβριδικοί αναλυτές που περιλαμβάνουν συνδυασμό αναλυτών σε σειρά, όπως LIT - Orbitrap και Q-TOF.

Η επιλογή του αναλυτή μαζών εξαρτάται από διάφορους παράγοντες όπως είναι η διαχωριστική του ικανότητα (ο λόγος της μάζας ( $m$ ) που αντιστοιχεί στην πρώτη κορυφή ( $m/z$ ) προς τη διαφορά ( $\Delta m$ ) δύο διαδοχικών κορυφών), το εύρος των μαζών (μέγιστη τιμή  $m/z$ ), η ταχύτητα σάρωσης, η

απόδοση μεταφοράς ιόντων στον ανιχνευτή (αριθμός ιόντων που παράγονται και τελικά καταγράφονται) και τα όρια ανίχνευσης που απαιτούνται για μια ανάλυση.

Ο υβριδικός αναλυτής Orbitrap αποτελεί την τελευταία εξέλιξη στους αναλυτές παγίδας ιόντων που χρησιμοποιούνται για το διαχωρισμό  $m/z$ . Κατασκευάστηκε από τη Thermo Electron, εισάγοντας στην αγορά το σύστημα LTQ Orbitrap (linear ion trap quadrupole). Εφευρέθηκε από τον Makarov και η βάση για την κατασκευή του προήλθε από την παγίδα ιόντων Kingdon, που είχε συλληφθεί ως ιδέα αλλά δεν είχε κατασκευαστεί πρακτικά (European Commission, 2009). Η τεχνική του βασίζεται στην τροχιακή παγίδευση των ιόντων σε ηλεκτροστατικό πεδίο (Σχήμα 4.1).



**Εικόνα 4.1:** Σχηματική απεικόνιση του αναλυτή LTQ Orbitrap  $p$  (Watson & Sparkman, 2008).

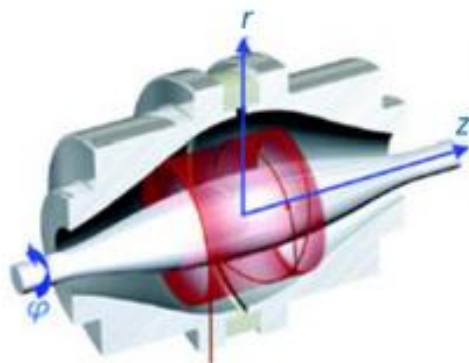
Ο αναλυτής αυτός αποτελείται από δύο ειδικά διαμορφωμένα κεντρικά και εξωτερικά ηλεκτρόδια, το κεντρικό ηλεκτρόδιο έχει σχήμα ατράκτου(αδράκτι) και το κυλινδρικό εξωτερικό ηλεκτρόδιο είναι ομοαξονικό με το κεντρικό. Καθώς τα ιόντα που παράχθηκαν, εισέρχονται και συσσωρεύονται στη γραμμική παγίδα ιόντων όπου αρχίζουν να επιταχύνονται για να οδηγηθούν τάχιστα στη C-παγίδα ιόντων (C-trap) ), όπου παγιδεύονται με απότομη άνοδο του δυναμικού στο κεντρικό ηλεκτρόδιο. Στη συνέχεια, συμπιέζονται και τελικά εισέρχονται στο Orbitrap (Thermo Fisher Scientific, 2012) (Εικόνα 4.2). Η διαφορά δυναμικού που εφαρμόζεται μεταξύ των δύο ηλεκτροδίων αναγκάζει τα ιόντα σε περιστροφική κίνηση γύρω από το κεντρικό ηλεκτρόδιο και ταυτόχρονα σε ταλάντωση κατά μήκος του άξονα ( $z$ ). Τα αξονικά ταλαντευόμενα ιόντα παράγουν ένα περιοδικό σήμα στα εξωτερικά ηλεκτρόδια, το οποίο ανιχνεύεται με ένα διαφοροποιημένο ενισχυτή ως αποτυπωμένο ρεύμα (image current). Τα σήματα του αποτυπωμένου ρεύματος (ιόντα συγκεκριμένης μάζας) μετατρέπονται σε φάσμα συχνοτήτων με χρήση του αλγορίθμου μετατροπής Fourier (FT algorithm).

Η συχνότητα ταλάντωσης ( $\omega$ ) σχετίζεται ευθέως με το λόγο μάζας/φορτίου ( $m/z$ ). Η κυκλική συχνότητα της ταλάντωσης δίνεται από τη σχέση:

$$\omega = \sqrt{\frac{kz}{m}}$$

Όπου,

$\omega$ : η συχνότητα της ταλάντωσης,  
 $k$ : η σταθερά του συστήματος και  
 $m/z$ : ο λόγος μάζα προς φορτίο.



**Εικόνα 4.2:** Σχηματική απεικόνιση του τροχιακού αναλυτή μάζας Orbitrap (Hu et al., 2005)

Από τον υπολογισμό της συχνότητας ταλάντωσης προκύπτει ο προσδιορισμός της μοριακής μάζας (Olsen et al., 2005, Watson & Sparkman, 2008), η οποία μπορεί να γίνει με δύο τρόπους: α) Fourier Transform (FT) mode, όπου πραγματοποιείται μέτρηση των συμφασικών ταλαντώσεων στην οριζόντια κατεύθυνση (image current detection) και β) Mass Selective Instability (MSI) mode, η οποία περιλαμβάνει την έγχυση ιόντων και τη συλλογή τους πάνω σε έναν ανιχνευτή.

**Πίνακας 4.1:** Πλεονεκτήματα – μειονεκτήματα χρήσης αναλυτή Orbitrap

Πλεονεκτήματα	Μειονεκτήματα
Υψηλή διακριτική ικανότητα (60000-100000) και ακρίβεια μάζας	Συνθήκες χαμηλής πίεσης
Μεγάλο γραμμικό δυναμικό εύρος	Υψηλό κόστος σε σύγκριση με τη γραμμική τετραπολική παγίδα ιόντων (QIT)
Δυνατότητα παράλληλης ανάλυσης MS/MS	Ανεπαρκής παγίδευση των παραγόμενων ιόντων
Σταθερότητα	

## II. Σκοπός και Αντικείμενο της Έρευνας

Λόγω της εκτεταμένης παρουσίας των αναδυόμενων ρύπων και διάφορων μικρορύπων, τα τελευταία χρόνια στο περιβάλλον ο προσδιορισμός τους αποτελεί ένα σύγχρονο πεδίο έρευνας που απασχολεί τους επιστήμονες. Η αύξηση ολοένα και περισσότερο κατηγοριών ρύπων που συναντώνται στο περιβάλλον όπως αυτές που περιλαμβάνουν φυτοφάρμακα, φθαλικές ενώσεις και επιβραδυντικά φλόγας είναι σημαντική. Για τον λόγο αυτό, δίνεται περισσότερη προσοχή στον

προσδιορισμό των ενώσεων αυτών με την ανάπτυξη γρήγορων και απλών μεθόδων με σκοπό την ανάλυση όσο των δυνατών περισσότερων δειγμάτων εύκολα και γρήγορα.

Οι μονάδες επεξεργασίας υγρών αποβλήτων παράγουν μια σημαντική ποσότητα ιλύος ενώ οι αναφορές για την ρύπανση από μικρορύπους είναι συχνές. Η βασική επιδίωξη της επεξεργασίας λυμάτων είναι η απομάκρυνση όλων των ανεπιθύμητων ουσιών και η προστασία του περιβάλλοντος από τις αρνητικές επιπτώσεις των αστικών λυμάτων και τις απορρίψεις των βιομηχανικών αποβλήτων. Αξίζει να σημειωθεί ότι οι μονάδες επεξεργασίας αποβλήτων αδυνατούν να απομακρύνουν πλήρως τις ενώσεις αυτές ενώ ένα σημαντικό ποσοστό προσροφάται στην παραγόμενη ιλύ. Λαμβάνοντας υπόψη ότι η ιλύς μπορεί να καταλήξει στο έδαφος, η πιθανότητα ρύπανσης είναι ανησυχητική, τόσο στην προστασία του περιβάλλοντος όσο και για την διασπορά τους. Επομένως, είναι απαραίτητη η περαιτέρω επεξεργασία της λυματολάσπης για την άμεση και μέγιστη δυνατή αξιοποίησή της.

Η περιεκτικότητα της λυματολάσπης σε μια πληθώρα οργανικών ρύπων και η πιθανή αξιοποίηση της για παραγωγή ενέργειας, οδήγησαν τα τελευταία χρόνια στην ανάπτυξη νέων τεχνολογιών επεξεργασίας της ιλύς λυμάτων. Η θερμοχημική επεξεργασία αποτελεί τα τελευταία χρόνια ένας από τους τρόπους επεξεργασίας της λυματολάσπης και έχει μελετηθεί ευρέως λόγω της ανάκτησης και αξιοποίησης των πόρων και των προϊόντων που προκύπτουν. Μία από αυτές τις μεθόδους είναι και η υδροθερμική ανθρακοποίηση (HTC), μια πολλά υποσχόμενη μέθοδος θερμοχημικής επεξεργασίας οργανικών αποβλήτων. Η υδροθερμική επεξεργασία της λυματολάσπης συμβάλλει στην μείωση της συγκέντρωσης των οργανικών ρύπων. Μετά το πέρας της επεξεργασίας και της απομάκρυνσης των ρύπων, προκύπτει το υδροεξανθράκωμα, ένα στερεό υπόλειμμα, το οποίο μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε διάφορους τομείς με κύριο τη χρήση του ως εδαφοβελτιωτικό στη γεωργία.

Στην παρούσα μεταπτυχιακή εργασία αρχικά αναπτύχθηκε μία μέθοδος για τον ταυτόχρονο προσδιορισμό οργανικών μικρορύπων που επιλέχθηκαν λόγω της συχνότητας ανίχνευσής τους σε λυματολάσπη από τον βιολογικό καθαρισμό της πόλης των Ιωαννίνων. Η πορεία εκχύλισης των ενώσεων από το υπόστρωμα της λυματολάσπης πραγματοποιήθηκε με τη τεχνική QuEChERS. Για τον προσδιορισμό τους χρησιμοποιήθηκε η τεχνική της υγρής χρωματογραφίας υπερ-ψηλής πίεσης συζευγμένη με φασματομετρία υψηλής ευκρίνειας και ακρίβειας μάζας, (LC-HRMS/MS).

Η επικύρωση της μεθόδου πραγματοποιήθηκε ως προς τα χαρακτηριστικά της γραμμικότητας, της ακρίβειας, της πιστότητας (υπό συνθήκες επαναληψιμότητας και ενδοεργαστηριακής αναπαραγωγιμότητας και ταυτόχρονα προσδιορίστηκαν τα όρια ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης και ο συντελεστής συνεισφοράς του υποστρώματος. Τέλος, για τον υπολογισμό του ποσοστού απομάκρυνσης των ενώσεων η μέθοδος εφαρμόστηκε σε πραγματικά δείγματα λυματολάσπης και υδροεξανθρακώματος.

### III. Πειραματικό Μέρος

#### Κεφάλαιο 5

##### 5.1 Πρότυπες ενώσεις – Διαλύτες – Αντιδραστήρια – Αέρια – Υλικά

###### 5.1.1 Πρότυπες Οργανικές ενώσεις

Χρησιμοποιήθηκαν αναλυτικά πρότυπα των οργανικών ενώσεων, i) φυτοφαρμάκων (Acetamiprid, Atrazine, Chlorpyrifos, Clothianidin, Clotrimazole, Febucomazole, Imazalil, Imidacloprid, Pyriproxyfen, Terbutylazine, Thiacloprid, Thiamethoxam), ii) φθαλικών εστέρων (Dimethyl Phthalate, DiethylPhthalate, DibutylPhthalate, BenzylButylPhthalate, Bis(2-Ethylhexyl) Phthalate, Di-n-octylPhthalate) και iii) οργανοφωσφορικών επιβραδυντικών φλόγας [Tris(1-chloro-2-propyl) phosphate (TCPP), Tris(2-butoxyethyl) phosphate (TBEP)] σε στερεά μορφή υψηλής καθαρότητας >98-99% του οίκου SigmaAldrich (Darmstadt, Germany). Όλες οι πρότυπες ουσίες συνοδεύονταν από πιστοποιητικό ανάλυσης και επισήμανση ημερομηνίας λήξης.

###### 5.1.2 Διαλύτες

- Υπερκάθαρο νερό (συσκευή παραγωγής υπερκάθαρου νερού της εταιρίας EVOQUA Water Technologies).
- Νερό χρωματογραφικής καθαρότητας > 99.99 % (LC-MS grade) του οίκου Fischer Chemical και Νερό (HPLC grade) καθαρότητας > 99.9%, του οίκου Fischer Chemical.
- Ακετονιτρίλιο (HPLC grade) καθαρότητας > 99.9%, του οίκου Fischer Chemical.
- Μεθανόλη χρωματογραφικής καθαρότητας > 99.99 % (LC-MS grade) του οίκου Fischer Chemical.
- Φορμικό (μυρμηκικό) οξύ καθαρότητας 98-100 %, του οίκου Merck KGaA (Darmstadt, Germany).
- Ακετοξικό οξύ καθαρότητας > 95 %, της εταιρίας Sigma-Aldrich.
- Αποσταγμένο Νερό

###### 5.1.3 Αντιδραστήρια

- Αιθυλενοδιαμινοτετραοξικό οξύ (EDTA) σε στερεή μορφή, του οίκου Sigma-Aldrich (Steinheim, Germany).
- Άνυδρο θειικό μαγνήσιο ( $MgSO_4$ ) σε στερεή μορφή, καθαρότητας 99,5%, του οίκου Thermo-Fischer (Kandel, Germany).
- Διένυδρο κιτρικό τρι-νάτριο ( $C_6H_5Na_3O_7 \cdot 2H_2O$ ) σε στερεή μορφή, καθαρότητας >99%, του οίκου Sigma-Aldrich (Steinheim, Germany).
- Σεσκιδρίτης διβασικού κιτρικού νατρίου σε στερεή μορφή, καθαρότητας >99%, του οίκου Sigma-Aldrich (Steinheim, Germany).
- Χλωριούχο νάτριο (NaCl) σε στερεή μορφή, του οίκου Merck (Darmstadt, Germany).
- Προσοφνητικό υλικό πρωτοταγής δευτεροταγής αμίνη (PSA,40-63 $\mu$ m) της εταιρείας Chromatific (Germany).

- Προσροφητικό υλικό Z<sup>+</sup>-sep Bulk της εταιρείας Chromatific (Germany).

#### 5.1.4 Αέρια

- Αέριο άζωτο (N<sub>2</sub>), βιομηχανικού τύπου

#### 5.1.5 Υλικά

- Λυματολάσπη η οποία συλλέχθηκε από τον Βιολογικό Καθαρισμό της πόλης των Ιωαννίνων.
- Υδροεξανθράκωμα, το οποίο παρασκευάστηκε με τη μέθοδο της υδροθερμικής ανθρακοποίησης (Hydrothermal Carbonization, HTC).
- Φίλτρα διήθησης με πληρωτικό υλικό πολυτετραφθοροαιθυλένιο PTFE (13 mm), με διάμετρο πόρων 0.22 μm.
- Φίλτρα διήθησης No 42 (90 mm), με διάμετρο πόρων 2.5 μm του οίκου Whatman TM (UK).
- Σύριγγες όγκου 1 ml της εταιρείας Soft care laboratories, China.
- Ταινία parafilm
- Διηθητικό χαρτί
- Αλουμινόχαρτο

### 5.2 Σκεύη – Συσκευές – Αναλυτικά όργανα

#### 5.2.1 Σκεύη

- Κόσκινα με άνοιγμα βροχίδων 500 και 250μm.
- Σωλήνες φυγοκέντρησης πολυπροπυλενίου τύπου falcon, των 15 και 50 mL.
- Γυάλινα φιαλίδια των 2 mL, 8 mL και 12 mL με βιδωτά πώματα.
- Μικρο-ένθετα των 100 μl.
- Γυάλινες φιάλες κενού, του 1 L.
- Ποτήρια ζέσεως των 50 και 250 mL.
- Γυάλινοι ογκομετρικοί κύλινδροι των 50 και 100 mL.
- Ύαλοι ωρολογίου.
- Γυάλινες ογκομετρικές φιάλες των 10 mL.
- Σιφώνια πληρώσεως ακριβείας των 10 mL.
- Γυάλινες πιπέτες Pasteur

#### 5.2.2 ΣΥΣΚΕΥΕΣ

- Αναλυτικός ζυγός, ακριβείας τεσσάρων δεκαδικών ψηφίων, KERN ABJ (Germany).
- Μαγνητικός αναδευτήρας
- Πειραματική διάταξη υδροθερμικής επεξεργασίας του οίκου Parr Instrument Company (Moline IL. USA), αποτελούμενη από: α) τον αυτόκλειστο αντιδραστήρα, χωρητικότητας 100 mL, β) την κεφαλή που αποτελείται από μανόμετρο, ηλεκτρικό αναδευτήρα, βαλβίδες εισαγωγής και εξαγωγής νερού για την ψύξη του αναδευτήρα, βαλβίδες εισαγωγής και εξαγωγής αερίων, βαλβίδα λήψης δείγματος υγρής φάσης και βαλβίδα ασφαλείας, γ) το κυλινδρικό θερμαντικό σώμα και δ) τον ηλεκτρονικό ρυθμιστή θερμοκρασίας και λειτουργίας (4848 Reactor Controller)
- Πυριαντήριο Memmert (Germany)
- Συσκευή ανάδευσης VORTEX (Velp, Italy).

- Συσκευή συμπύκνωσης δειγμάτων υπό ήπιο ρεύμα αζώτου Techne Dri-Block DB3D (Staffordshire, UK)
- Τράπεζα ανακίνησης SM shaker (Germany).
- Φυγόκεντρος του οίκου Thermo Scientific, τύπου HERAUS Megafuge 8 (SuZhou, China)
- Ψυγεία με θερμοκρασία λειτουργίας 4-8°C και καταψύκτες ελάχιστης θερμοκρασίας -30 °C

### 5.2.3 Αναλυτικά όργανα

- Σύστημα υγρής χρωματογραφίας υπέρ-υψηλής πίεσης (Ultra High Pressure Liquid Chromatography, UHPLC) συζευγμένης με φασματοφωτομετρία μάζας υψηλής διακριτικής ικανότητας και ακρίβειας και παγίδας ιόντων Orbitrap, (UHPLC/LTQORBITRAP XL) της Thermo Fischer Scientific (Bremen, Germany). Το σύστημα υγρής χρωματογραφίας περιλαμβάνει αντλία αυτόματης ροής δείγματος (Accela Pump Ser. No 750157) και θερμοστατούμενο σύστημα αυτόματου δειγματολήπτη (Accela AS). Για τη χρωματογραφική ανάλυση χρησιμοποιήθηκε στήλη ανάστροφης φάσης Hypersil Gold C18 (Thermo Fisher Scientific), (100×2.1 mm, 1.9 μm). Η λήψη των χρωματογραφημάτων και η επεξεργασία των αποτελεσμάτων, έγινε με το λογισμικό Xcalibur 2.1.0 1139, που ήταν εγκατεστημένο σε ηλεκτρονικό υπολογιστή, συνδεδεμένο με το σύστημα UHPLC.

## Κεφάλαιο 6

### Πειραματική Διαδικασία προσδιορισμού αναδυόμενων οργανικών ρύπων σε υπόστρωμα λυματολάσπης

#### 6.1 Παρασκευή πρότυπων διαλυμάτων

Οι ουσίες που μελετήθηκαν στην παρούσα εργασία έχουν καθαρότητα >99% και ήταν σε στερεά μορφή. Η παρασκευή των πυκνών προτύπων διαλυμάτων αναφοράς (stock solutions) πραγματοποιήθηκε ζυγίζοντας κατάλληλη ποσότητα σε αναλυτικό ζυγό ακριβείας και διαλυτοποιώντας τα σε λουτρό υπερήχων και (υψηλής καθαρότητας) σε συγκεντρώσεις 400-2000 mg/L. Στη συνέχεια, τα διαλύματα τοποθετήθηκαν σε φιαλίδια των 12 ml και αποθηκεύτηκαν στην κατάψυξη στους -20°C.

Πρότυπα διαλύματα εργασίας παρασκευάστηκαν έπειτα από τις κατάλληλες αραιώσεις των πυκνών προτύπων σε διαλύτη μεθανόλης. Αρχικά, παρασκευάστηκε ένα μικτό πρότυπο διάλυμα συγκέντρωσης 10 mg/L με το σύνολο των δραστικών ουσιών. Από αυτό το διάλυμα, πραγματοποιήθηκαν διαδοχικές αραιώσεις με την παρασκευή πρότυπων διαλυμάτων σε συγκεντρώσεις 25 ng/ml, 50 ng/ml, 100 ng/ml, 500 ng/ml και 1 mg/L, τα οποία χρησιμοποιήθηκαν για τη δημιουργία καμπύλης αναφοράς.



## 6.2 Δειγματοληψία και Προ-κατεργασία της λυματολάσπης

### 6.2.1 Δειγματοληψία της λυματολάσπης

Κάθε μονάδα επεξεργασίας υγρών αποβλήτων (ΜΕΥΑ) έχει σχεδιαστεί σύμφωνα με πολλές διαφορετικές παραμέτρους, όπως είναι τα διάφορα χαρακτηριστικά των λυμάτων, ο εξυπηρετούμενος πληθυσμός, τα περιβαλλοντικά όρια απόρριψης λυμάτων και το κόστος επένδυσης. Ως αποτέλεσμα των διαφορών στην επεξεργασία συναντάμε και διαφορές στην παραγόμενη ιλύ ως προς την περιεκτικότητά της. Σε αντίθεση με τη δειγματοληψία των λυμάτων, τα δείγματα ιλύος δεν μπορούν να φιλτραριστούν απευθείας λόγω της ιξώδους μήτρας οργανικών υλικών, μικροοργανισμών και ανόργανων σωματιδίων (Zhang & Chen, 2020). Τα δείγματα λυμάτων μπορούν να συλλεχθούν από αυτόματους δειγματολήπτες για 2 ή 24 ώρες, αλλά για δείγματα ιλύος, κάτι τέτοιο δεν υφίσταται. Ως εκ τούτου, ως κοινή μέθοδος συλλογής, τα δείγματα ιλύος λαμβάνονται απευθείας από τις μονάδες επεξεργασίας ιλύος (Sun et al., 2019).

Η δειγματοληψία της λυματολάσπης μπορεί να πραγματοποιηθεί μετά το τελικό στάδιο αφυδάτωσης προκειμένου να ληφθεί ένα αντιπροσωπευτικό δείγμα του συνολικού βιοστερεού του προϊόντος που αφαιρείται από τις ΜΕΥΑ (Chen et al., 2013), είτε μετά το στάδιο της αναερόβιας χώνευσης κατά το οποίο έχει αφαιρεθεί το μεγαλύτερο μέρος της οργανικής ύλης (Subedi et al., 2014), (Evans et al., 2015). Γενικότερα, χρησιμοποιούνται δύο τύποι τεχνικών δειγματοληψίας: η άμεση δειγματοληψία (grab) και η σύνθετη δειγματοληψία (composite). Στην άμεση δειγματοληψία, το δείγμα μπορεί να είναι μεμονωμένο είτε να αποτελείται από πολλά μεμονωμένα δείγματα που συλλέγονται σε χρονικό διάστημα που δεν υπερβαίνει τα 15 λεπτά. Το δείγμα πρέπει να είναι αντιπροσωπευτικό των συνθηκών των λυμάτων κατά τη στιγμή της συλλογής του δείγματος ενώ ο όγκος του εξαρτάται από τον τύπο και τον αριθμό των αναλύσεων που πρέπει να πραγματοποιηθούν. Από την άλλη μεριά, στη σύνθετη δειγματοληψία τα δείγματα συλλέγονται με την πάροδο του χρόνου για πολλές ώρες, είτε με συνεχή δειγματοληψία είτε με ανάμειξη δειγμάτων. Η σύνθετη δειγματοληψία μας δείχνει μια συνολικότερη εικόνα της λυματολάσπης, ωστόσο αποτελεί μια απαιτητική διαδικασία και για τον λόγο αυτό, δεν είναι η πιο ευρέως χρησιμοποιημένη επιλογή. Αντιθέτως, η άμεση δειγματοληψία παρουσιάζει ευκολία στον χειρισμό ενώ παράλληλα μπορεί να συγκριθεί με ένα σύνθετο δείγμα 20-30 ημερών χωρίς ιδιαίτερες μεταβολές στις ιδιότητες της λάσπης. Ως εκ τούτου, προτιμάται ως εναλλακτική λύση στη δειγματοληψία λυματολάσπης.

Η ποσότητα λυματολάσπης που συλλέγεται κυμαίνεται συνήθως από 500 mg έως 5 kg. Στην παρούσα εργασία πραγματοποιήθηκε σύνθετη δειγματοληψία και συλλέχθηκε συνολικό δείγμα 4 κιλών (8x500g) και αποθηκεύτηκε σε καταψύκτη στους -20°C.

### 6.2.2 Προ-κατεργασία του δείγματος

Οι διαδικασίες προ-κατεργασίας του δείγματος αποτελούν ένα πρόσθετο και κρίσιμο βήμα στις μεθόδους ανάλυσης της ιλύος λυμάτων. Η λυματολάσπη αφού αποψυχθεί και έρθει σε θερμοκρασία περιβάλλοντος (25 °C) περιέχει ακόμη μεγάλες ποσότητες νερού. Επομένως απαραίτητο βήμα στην προ-κατεργασία του δείγματος είναι η αφαίρεση της υγρασίας. Η επιλογή

της μεθόδου εξαρτάται από τις ενώσεις - στόχους που θέλουμε να αναλύσουμε και πρέπει να εξασφαλίζεται η κατάλληλη επαφή μεταξύ του διαλύτη έκλουσης και του υποστρώματος κατά τη διαδικασία της εκχύλισης. Οι τυπικές τεχνικές που χρησιμοποιούνται για την απομάκρυνση του νερού από τα δείγματα λάσπης περιλαμβάνουν μηχανικές και φυσικές διεργασίες όπως η φυγοκέντριση και η συλλογή του υπερκείμενου από το δείγμα, η θέρμανση και η αφυδάτωση υπό κενό κ.α.

Η λυοφιλοποίηση είναι μια διαδικασία αφαίρεσης της υγρασίας από το δείγμα που χρησιμοποιείται συχνά, κατά την οποία γίνεται άμεση εξάχνωση του νερού από πάγο σε αέριο υπό κενό μετά την κατάψυξη του στερεού δείγματος. Είναι μια αποτελεσματική διαδικασία για τα στερεά υποστρώματα καθώς οι αναλύτες δεν αποδομούνται και ούτε εξατμίζονται και παράγει προϊόντα που μπορούν εύκολα να αποθηκευτούν (Iwahori & Honda, 2003). Τα δείγματα λυματολάσπης που αναλύθηκαν τοποθετήθηκαν σε falcons των 50 ml και λυοφιλοποιήθηκαν για 24 ώρες.

Για την απομάκρυνση χονδρόκοκκων σωματιδίων και σύμφωνα με τη βιβλιογραφία στα δείγματα ιλύος θα πρέπει να λαμβάνεται το κλάσμα σωματιδίων με μέγεθος μικρότερο των 250  $\mu\text{m}$  (Herrero et al., 2014), (Peysson & Vulliet, 2013), (Malvar et al., 2020). Συνεπώς, η λυοφιλοποιημένη λυματολάσπη τοποθετήθηκε σε κόσκινα με άνοιγμα βροχίδων 500  $\mu\text{m}$  και 250  $\mu\text{m}$  έτσι ώστε να επιτρέπεται η διέλευση σωματιδίων μεγέθους μικρότερου των 250  $\mu\text{m}$  (Εικόνα 5.1).



**Εικόνα 6.1:** Εργαστηριακά κόσκινα των 500 και 250  $\mu\text{m}$  που χρησιμοποιήθηκαν για την κατανομή μεγέθους σωματιδίων των δειγμάτων ιλύος που αναλύθηκαν.

### 6.3. Εκχύλιση με τη μέθοδο QuEChERS αναδυόμενων οργανικών ρύπων από υπόστρωμα λυματολάσπης

Η εκχύλιση είναι μία σημαντική διαδικασία προκειμένου να επιτευχθεί αποτελεσματικά η απομόνωση των αναλυτών - στόχων από το υπόστρωμα λυματολάσπης και καθαρισμός του δείγματος από συνεκχυλιζόμενες ενώσεις ώστε να επιτευχθεί η ακριβής και επαναλήψιμη ανάλυση τους. Στην παρούσα μελέτη, έγινε εφαρμογή της μεθόδου QuEChERS λόγω των πλεονεκτημάτων της.

Αρχικά, χρησιμοποιήθηκε 1 g δείγματος λυματολάσπης το οποίο εμβολιάστηκε σε δύο επίπεδα συγκεντρώσεων, 25 ng/g και 100 ng/g αντίστοιχα για την επικύρωση της αναλυτικής μεθόδου. Για τον εμβολιασμό, χρησιμοποιήθηκε συνολικός όγκος 900 mL πρότυπου μίγματος των επιλεγμένων ενώσεων. Έπειτα, τα δείγματα λυματολάσπης αφέθηκαν σε θερμοκρασία δωματίου για 15 λεπτά ώστε να εξασφαλιστεί η αλληλεπίδραση των αναλυτών με το υπόστρωμα. Στη συνέχεια, ακολούθησε η εκχύλιση QuEChERS.

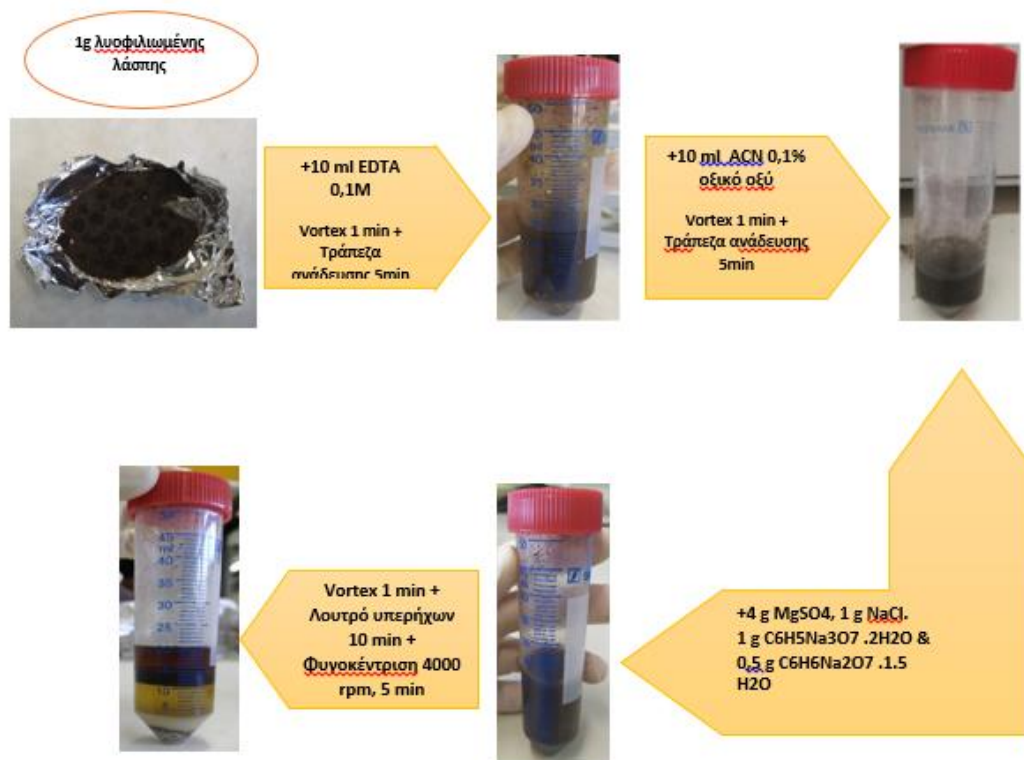
Στο πρώτο στάδιο, το 1 g λυοφιλιωμένου δείγματος που ζυγίσαμε και εμβολιάσαμε με το κατάλληλο πρότυπο διάλυμα, τοποθετήθηκε σε φυγοκεντρικό σωλήνα πολυπροπυλενίου, τύπου falcon, χωρητικότητας 50 ml. Ακολούθησε ενυδάτωση του δείγματος με την προσθήκη 10 ml διαλύματος EDTA 0,1 M. Το δείγμα έπειτα ανακινήθηκε έντονα σε συσκευή ανάδευσης Vortex για 1 λεπτό και στη συνέχεια για 5 λεπτά τοποθετήθηκε στην τράπεζα ανάδευσης για την καλύτερη ομογενοποίηση του. Προστέθηκαν στο δείγμα 10 mL ακετονιτριλίου (ACN) οξιμισμένο με 0,1% διάλυμα οξικού οξέος, και ακολουθήθηκε η ίδια διαδικασία με προηγουμένως, ανακίνηση σε συσκευή ανάδευσης Vortex για 1 λεπτό και στη συνέχεια για 5 λεπτά στην τράπεζα ανάδευσης αντίστοιχα για να επιτευχθεί επαρκής αλληλεπίδραση του διαλύτη με όλο το δείγμα.

Στο επόμενο στάδιο, πραγματοποιήθηκε η προσθήκη των αλάτων στο δείγμα με 4 g άνυδρου  $MgSO_4$ , 1 g  $NaCl$ , 1g κιτρικού νατρίου και 0,5 g σεσκιδρίτη διβασικού κιτρικού νατρίου. Αφού προστέθηκαν τα άλατα, το δείγμα ανακινήθηκε έντονα με το χέρι για λίγα δευτερόλεπτα και στη συνέχεια ανακινήθηκε για 1 λεπτό στη συσκευή ανάδευσης Vortex. Ακολούθως, το falcon με το δείγμα τοποθετήθηκε για 10 λεπτά σε λουτρό υπερήχων και στη συνέχεια ακολούθησε φυγοκέντριση για 5 λεπτά σε 4000 στροφές ανά λεπτό (Reps per minute ή RPM).

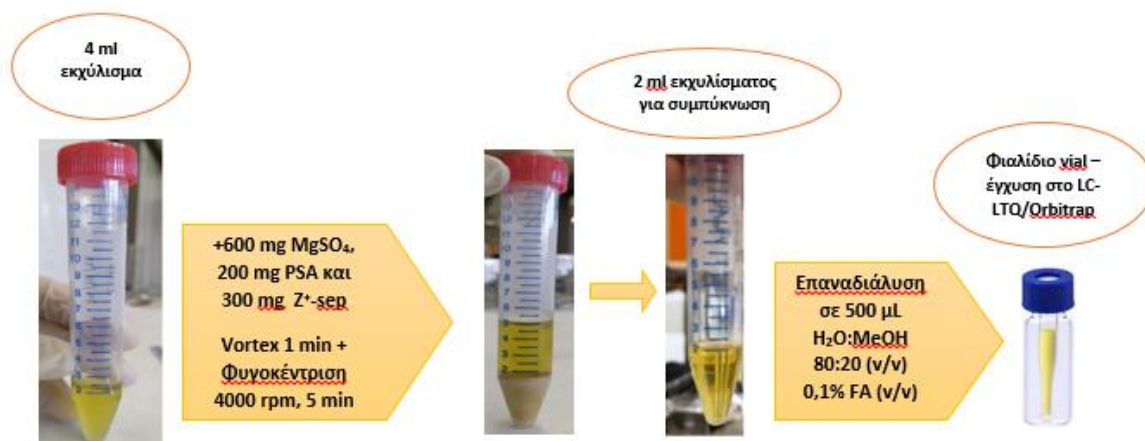
Το στάδιο καθαρισμού (clean-up) πραγματοποιήθηκε με εκχύλιση στερεάς φάσης σε διασπορά (d-SPE) στη μέθοδο QuEChERS είναι το επόμενο σημαντικό βήμα. Για το στάδιο αυτό, συλλέχθηκαν 4 mL από το υπερκείμενο διάλυμα, τα οποία μεταφέρθηκαν σε μικρότερο falcon των 15 mL που περιείχε 150 mg  $MgSO_4$ , 50 mg PSA, 75 mg Z+-sep για κάθε mL εκχυλίσματος. Ακολούθησε έντονη ανάδευση χειροκίνητα για λίγα δευτερόλεπτα, ανάδευση στο Vortex για 1 λεπτό και φυγοκέντριση για 5 λεπτά σε 4000 rpm. Έπειτα, 2 mL από το υπερκείμενο διάλυμα συλλέχθηκαν και μεταφέρθηκαν σε falcon των 15 mL. Τέλος, ακολούθησε η συμπύκνωση του δείγματος σε ήπιο ρεύμα αζώτου μέχρι ξηρού.

Στο τελευταίο στάδιο της διαδικασίας, ακολουθεί η επαναδιάλυση του δείγματος σε 0,5 mL  $H_2O:MeOH$  με 0,1% φορμικό οξύ 80:20 (v/v), η διήθηση με τη χρήση φίλτρων σύριγγας με μεμβράνη PTFE, 0,22  $\mu m$  και η μεταφορά τελικά σε γυάλινα φιαλίδια των 2 mL με βιδωτά πώματα με septa τεφλόν-σιλικόνης, συμβατά με αυτόματους δειγματολήπτες για τη χρωματογραφική ανάλυση (Σχήμα 5.1). Τα δείγματα αποθηκεύονται σε κατάψυξη στους  $-20\text{ }^\circ C$  έως ότου αναλυθούν.

## 1<sup>ο</sup> Στάδιο



## 2<sup>ο</sup> Στάδιο



Σχήμα 6.1: Πρωτόκολλο εκχύλισης QuEChERS σε λυματολάσπη

## 6. 4. Πειραματική διαδικασία υδροθερμικής ανθρακοποίησης (HTC)

### 6.4.1 Σχεδιασμός και εκτέλεση υδροθερμικής ανθρακοποίησης

Για την παραγωγή υδροεξανθρακωμάτων, μέσω υδροθερμικής επεξεργασίας (HTC), χρησιμοποιήθηκε η ειδική πειραματική διάταξη, του οίκου Parr Instrument Company (Moline IL, USA) (**Εικόνα 6.2**). Η διάταξη απαρτίζεται από τα εξής μέρη:

Α) μεταλλικός αντιδραστήρας χωρητικότητας 100 mL (Εικόνα 6.2.(α)),

Β) φέρουσα κεφαλή που περιλαμβάνει: μανόμετρο, ηλεκτρικό αναδευτήρα, βαλβίδες εισαγωγής και εξαγωγής νερού για την ψύξη του αναδευτήρα, βαλβίδες εισαγωγής και εξαγωγής αερίων, βαλβίδα λήψης δείγματος υγρής φάσης και βαλβίδα ασφαλείας (Εικόνα 6.2.(β)),

Γ) κυλινδρικό θερμαντικό σώμα (Εικόνα 6.2.(γ)) και

Δ) ηλεκτρονικός ρυθμιστής θερμοκρασίας και λειτουργίας (4848 Reactor Controller) (Εικόνα 6.2.(δ)).



**Εικόνα 6.2:** Πειραματική διάταξη υδροθερμικής ανθρακοποίησης λυματολάσσης: (α) μεταλλικός αντιδραστήρας - αυτόκλειστο, (β) κεφαλή, (γ) κυλινδρικό θερμαντικό σώμα που περιέχει το αυτόκλειστο, (δ) ηλεκτρονικός ρυθμιστής θερμοκρασίας και λειτουργίας (Miserli, 2021).

Ο αριθμός των λειτουργικών παραγόντων που μελετήθηκε ήταν τρεις ( $k=3$ ):

- ✓ η θερμοκρασία,
- ✓ ο χρόνος παραμονής και

✓ η αναλογία λυματολάσπης/νερού (%wt).

Στη υδροθερμική επεξεργασία, ο αντιδραστήρας τροφοδοτείται με το μίγμα λυματολάσπης – νερού με τις αντίστοιχες αναλογίες, τοποθετείται η κεφαλή και το μίγμα αναδεύεται καθ' όλη την διάρκεια της υδροθερμικής επεξεργασίας. Η ψύξη του ηλεκτρικού αναδευτήρα γίνεται με κυκλοφορία νερού. Μετά την επίτευξη της θερμοκρασίας της αντίδρασης ορίζεται ο χρόνος παραμονής για την παραγωγή υδροεξανθρακωμάτων. Η αυτογενής πίεση κατά την διάρκεια των χρόνων παραμονής κυμαίνεται από 18 έως 22 bar. Μετά την παρέλευση του χρόνου, η λειτουργία του θερμομανδύα διακόπτεται και απομακρύνεται από τον αντιδραστήρα, έτσι ώστε αυτός να ψυχθεί με ομαλό τρόπο σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Η πτώση της θερμοκρασίας μετράται διαρκώς από τον ηλεκτρονικό ρυθμιστή θερμοκρασίας ενώ η ανάδευση συνεχίζεται κατά τη διάρκεια της ψύξης. Όταν ολοκληρωθεί η ψύξη φτάνοντας τους 25 °C, ο σφραγισμένος αντιδραστήρας αποσυνδέεται από την διάταξη και μεταφέρεται σε απαγωγό, όπου ανοίγει η βαλβίδα εξαγωγής αερίων και απομακρύνεται η αέρια φάση των προϊόντων. Αμέσως μετά, ο αντιδραστήρας απασφαλίζεται, απομακρύνεται η κεφαλή και πραγματοποιείται διήθηση υπό κενό, με χρήση διάταξης συσκευής διήθησης υπό κενό, ώστε να διαχωριστεί η υγρή από την στερεή φάση. Μετά το διαχωρισμό, το στερεό ίζημα που βρισκόταν στον ηθμό εκπλένεται με αποσταγμένο νερό και μεταφέρεται σε ποτήρι ζέσεως. Επίσης, το αυτόκλειστο εκπλένεται αρκετές φορές με αποσταγμένο νερό ώστε να ληφθεί όλη η ποσότητα από το στερεό ίζημα στο ποτήρι ζέσεως. Τέλος το ποτήρι ζέσεως μαζί με το ίζημα τοποθετείται στο πυριαντήριο για 24 ώρες στους 104 °C ώστε να εξατμιστεί όλο το νερό και να ξηρανθεί το υλικό. Μετά την ολοκλήρωση της ξήρανης, το υδροεξανθράκωμα (Εικόνα 6.2), απομακρύνεται από το πυριαντήριο και αφήνεται να κρυώσει σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Ακολουθεί ελαφρά λειοτρίβηση με σπάτουλα, ζύγιση και υπολογισμός της απόδοσης της στερεής μάζας σύμφωνα με την εξίσωση:

$$\% wt = \frac{\text{Μάζα του παραγόμενου υδροεξανθρακώματος}}{\text{Μάζα της αρχικής λυματολάσπης}} \times 100 \quad (1)$$

Κατόπιν το υδροεξανθράκωμα φυλάσσεται ε σε γυάλινο φιαλίδιο σφραγισμένο με πώμα στην κατάψυξη στους -20 °C έως ότου ακολουθήσει η ανάλυσή του.



**Εικόνα 6.3:** (α) σωματίδια λυματολάσπης πριν την υδροθερμική κατεργασία και (β) σωματίδια υδροεξανθρακώματος εκπλυμένων με νερό.



## 6.4 Χρωματογραφικές συνθήκες και επικύρωση μεθόδου

### 6.4.1 Σύστημα υγρής χρωματογραφίας υπερυψηλής πίεσης UHPLC (LTQ) Orbitrap

Στην παρούσα εργασία έγινε χρήση συστήματος υγρής χρωματογραφίας υπερυψηλής πίεσης UHPLC με γραμμική παγίδα ιόντων (LTQ) και αναλυτή τροχιακής παγίδας Orbitrap της εταιρίας ThermoFischerScientific (Bremen, Germany). Για τον χρωματογραφικό διαχωρισμό των επιλεγμένων οργανικών ενώσεων στον θετικό ιοντισμό, επιλέχθηκε το κατάλληλο εκλουστικό σύστημα και η ανάλυση έλαβε χώρα με το σύστημα βαθμωτής έκλουσης (gradient elution). Η κινητή φάση τελικά που επιλέχθηκε ήταν αυτή με σύσταση ρυθμιστικού διαλύματος 5 mM φορμικό αμμώνιο με 0,01% φορμικό οξύ για τον θετικό ιοντισμό. Για να επιτευχθεί ο καλύτερος διαχωρισμός και η καλύτερη δυνατή μορφή των κορυφών, η κινητή φάση αποτελούνταν από μίγμα διαλυτών A (νερό, φορμικό αμμώνιο και με 0,1% φορμικό οξύ) και B (μεθανόλη, φορμικό αμμώνιο και με 0,1% φορμικό οξύ) σε αναλογία (A:B, 80:20). Η προσθήκη του φορμικού αμμωνίου στην κινητή φάση βελτιώνει την απόκριση των περισσότερων ενώσεων που επιλέχθηκαν. Ενώ οι χρωματογραφικές συνθήκες φαίνονται παρακάτω.

Κινητή φάση:

- Θετικός ιοντισμός

A: H<sub>2</sub>O, 5 mM φορμικό αμμώνιο, 0,01% φορμικό οξύ

B: MeOH, 5 mM φορμικό αμμώνιο, 0,01% φορμικό οξύ

**Πίνακας 6.1:** Πρόγραμμα βαθμωτής έκλουσης για τον θετικό ιοντισμό στο σύστημα UHPLC/LTQ-ORBITRAP

Χρόνος (min)	% A (H <sub>2</sub> O-5Mm FA-0,1% formic acid)	% B (MeOH-5Mm FA-0,1% formic acid)	Ταχύτητα ροής (μL/min)
1	95	5	250
2	30	70	250
5	0	100	250
7	0	100	250
7,10	95	5	250
10	95	5	250

Ο όγκος έγχυσης του δείγματος (injection volume) ήταν 5 μL, η ταχύτητα ροής (flow rate) ήταν σταθερή στα 250 μL/min και η θερμοκρασία του φούρνου (oven temperature) ήταν στους 35 °C. Η ανίχνευση των αναλυτών πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο του θετικού ιοντισμού σε διακριτική ικανότητα 60000 FWHM. Η ταυτοποίηση των ενώσεων που προσδιορίστηκαν πραγματοποιήθηκε

με την καταγραφή των ψευδο-μοριακών ιόντων  $[M+H]^+$  για όλες τις ενώσεις, εκτός από τους φθαλικούς εστέρες όπου καταγράφηκαν τα ψευδομοριακά ιόντα  $[M + Na]^+$ . Επιπλέον για την επιβεβαίωση θετικών ανιχνεύσεων στα άγνωστα δείγματα λυματολάσσης και υδροεξανθρακώματος και για περαιτέρω επιβεβαίωση χρησιμοποιήθηκε η θραυσματοποίηση στη λειτουργία MS-MS σε τιμή διακριτικής ικανότητας 15000 FWHM (Πίνακες 5.3, 5.4, 5.5).

**Πίνακας 6.2:** Δεδομένα από την ανάλυση στο σύστημα UHPLC/LTQ-Orbitrap MS/MS για τις ενώσεις φυτοφαρμάκων

Φυτοφάρμακα	Ψευδομοριακό ión	Θεωρητική Μάζα (M + H) <sup>+</sup>	tR (min) (λυματολάσση)	Θραύσματα Orbitrap MS/MS
Acetamiprid	C <sub>10</sub> H <sub>11</sub> ClN <sub>4</sub> <sup>+</sup>	223,0745	2,97	126,0105
Atrazine	C <sub>8</sub> H <sub>14</sub> ClN <sub>5</sub> <sup>+</sup>	215,0928	3,83	174,0540
Chlorpyrifos	C <sub>9</sub> H <sub>11</sub> Cl <sub>3</sub> NO <sub>3</sub> PS <sup>+</sup>	349,9336	5,84	321,9027
Clothianidin	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> ClN <sub>5</sub> O <sub>2</sub> S <sup>+</sup>	250,0160	2,51	169,0544
Clotrimazole	C <sub>22</sub> H <sub>17</sub> ClN <sub>2</sub> <sup>+</sup>	345,1153	4,35	277,0777
Fenbuconazole	C <sub>19</sub> H <sub>17</sub> ClN <sub>4</sub> <sup>+</sup>	337,1215	4,62	194,0481
Imazalil	C <sub>14</sub> H <sub>14</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O <sup>+</sup>	297,0556	3,71	255,0083
Imidacloprid	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> ClN <sub>5</sub> O <sub>2</sub> <sup>+</sup>	256,0596	2,61	-
Pyriproxyfen	C <sub>20</sub> H <sub>19</sub> NO <sub>3</sub> <sup>+</sup>	322,1438	5,79	277,1068
Terbuthylazine	C <sub>9</sub> H <sub>16</sub> ClN <sub>5</sub> <sup>+</sup>	230,1167	4,23	174,0543
Thiacloprid	C <sub>10</sub> H <sub>9</sub> ClN <sub>4</sub> S <sup>+</sup>	253,0309	3,14	126,0103
Thiamethoxam	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> ClN <sub>5</sub> O <sub>3</sub> S <sup>+</sup>	292,0266	1,72	211,0649

**Πίνακας 6.3:** Δεδομένα από την ανάλυση στο σύστημα UHPLC/LTQ-Orbitrap MS/MS για τις ενώσεις φθαλικών εστέρων

Φθαλικές ενώσεις	Ψευδομοριακό ión	Θεωρητική Μάζα (M + Na) <sup>+</sup>	tR (min) (λυματολάσση)	Θραύσματα Orbitrap MS/MS
Dimethyl phthalate (DMP)	C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>	217,0471	3,38	163,038 7
Diethyl phthalate (DEP)	C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> O <sub>4</sub>	245,0784	4,71	177,054 3
Dibutyl phthalate (DBP)	C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> O <sub>4</sub>	301,1410	6,24	149,022 9
Benzyl Butyl phthalate (BBP)	C <sub>19</sub> H <sub>20</sub> O <sub>4</sub>	335,1254	6,17	149,022 9



Bis (2-ethylhexyl) phthalate (DEHP)	C <sub>24</sub> H <sub>38</sub> O <sub>4</sub>	413,2662	7,11	214,089 1
Di-n-octyl phthalate (DnOP)	C <sub>24</sub> H <sub>38</sub> O <sub>4</sub>	413,2662	8,19	-

**Πίνακας 6.4:** Δεδομένα από την ανάλυση στο σύστημα UHPLC/LTQ-Orbitrap MS/MS για τις ενώσεις οργανοφωσφορικών επιβραδυντικών φλόγας

Οργανοφωσφορικά επιβραδυντικά φλόγας	Ψευδομοριακό ión	Θεωρητική Μάζα (M + Na) <sup>+</sup>	tR (min) (λυματολόσπη)	Θραύσματα Orbitrap MS/MS
TCPP	C <sub>9</sub> H <sub>18</sub> Cl <sub>3</sub> O <sub>4</sub> P	327,0081	5,02	214,0893
TBEP	C <sub>18</sub> H <sub>39</sub> O <sub>7</sub> P	399,2506	6,34	299,1610

## Κεφάλαιο 7

### 7.1 Επικύρωση μεθόδου

Η επικύρωση μεθόδου ορίζεται ως η αξιολόγηση των χαρακτηριστικών ποιότητας της μεθόδου μέσω πειραματικής τεκμηρίωσης και η εξέταση της ανταπόκρισής της προς ορισμένες προδιαγραφές (specifications) για να αποδειχθεί ότι είναι κατάλληλη για τον σκοπό για τον οποίο προορίζεται (fitness for purpose). Έτσι η επικύρωση μεθόδου μπορεί να πραγματοποιηθεί ως εξής:

- ✓ Κάνοντας χρήση προτύπων αναφοράς
- ✓ Συγκρίνοντας αποτελέσματα με άλλες μεθόδους αναφοράς
- ✓ Συγκρίνοντας διεργαστηριακά δεδομένα
- ✓ Αξιολογώντας συστηματικά τους παράγοντες που ενδεχομένως επηρεάζουν το αποτέλεσμα
- ✓ Αξιολογώντας τη αβεβαιότητα των αποτελεσμάτων με βάση θεωρητικές αρχές και πρακτική εμπειρία.

Κατά αυτόν τον τρόπο, η πειραματική εργασία σχεδιάζεται έτσι ώστε να εξεταστούν διάφορα χαρακτηριστικά ελέγχου επικύρωσης μεθόδου όπως είναι η ειδικότητα, η γραμμικότητα, η περιοχή συγκεντρώσεων, τα όρια ανίχνευσης / όρια ποσοτικοποίησης, η ακρίβεια, η επαναληψιμότητα και η αναπαραγωγιμότητα κ.α.

Στην περίπτωση μας, η επικύρωση της αναλυτικής μεθόδου βασίστηκε σε πρωτόκολλα διασφάλισης ποιότητας και ελέγχου ποιότητας (QA/QC). Η ακρίβεια της μεθόδου μελετήθηκε ως συνδυασμός της επί τοις εκατό Ανάκτησης (% Recovery, %R) και της πιστότητας. Η πιστότητα είναι εκφρασμένη ως επαναληψιμότητα εντός της ίδιας ημέρας (repeatability, RSDr) και ενδοεργαστηριακή αναπαραγωγιμότητα (within-lab-reproducibility, RSDR). Μελετήθηκαν επίσης τα όρια ανίχνευσης (limit of detection, LOD) και τα όρια ποσοτικοποίησης (limit of quantification, LOQ) της μεθόδου, η γραμμικότητα (linearity) και η επίδραση του υποστρώματος (matrix effect).

Η Γραμμικότητα (linearity) ελέγχθηκε κατασκευάζοντας καμπύλη αναφοράς προσομοιωμένου υποστρώματος (matrix-matched calibration curves) πέντε σημείων. Για τον έλεγχο της γραμμικότητας εξετάστηκε αν η ευθεία ακολουθεί τη γραμμική παλινδρόμηση, της οποίας οι συντελεστές υπολογίζονται με τη μέθοδο των ελαχίστων τετραγώνων. Επειδή όλα τα δεδομένα δεν βρίσκονται ακριβώς πάνω στη γραμμή λόγω τυχαίων σφαλμάτων στη διαδικασία μέτρησης, ένας τρόπος εύρεσης της καλύτερης ευθείας είναι η μέθοδος ελαχίστων τετραγώνων, η εξίσωση της οποίας είναι της μορφής:

$$y = a + bx$$

Όπου,

- $y$ : η αναλυτική παράμετρος (εξαρτημένη μεταβλητή). Ως αναλυτική παράμετρος χρησιμοποιήθηκε το εμβαδό της κορυφής κάθε πρότυπης ουσίας (area)
- $x$ : η συγκέντρωση της κάθε πρότυπης ουσίας (ανεξάρτητη μεταβλητή),
- $a$ : η τομή της ευθείας με τον άξονα  $y$ ,
- $b$ : η κλίση της ευθείας παλινδρόμησης.

Η ορθότητα της μεθόδου ελέγχθηκε προσδιορίζοντας τις ανακτήσεις με την πραγματοποίηση πέντε διαδοχικών εκχυλίσεων ( $n=5$ ) εμβολιασμένων δειγμάτων σε δύο επίπεδα συγκέντρωσης (25 ng/g και 100 ng/g). Ταυτόχρονα εκχυλίστηκε και ένα τυφλό δείγμα, ώστε η συγκέντρωση τυχόν αναλυτών που υπήρχαν στο δείγμα πριν τον εμβολιασμό να αφαιρεθεί από τις συγκεντρώσεις που υπολογίστηκαν για τα εμβολιασμένα δείγματα. Οι τιμές πρέπει να κυμαίνονται από 70-120 %, ενώ οι ανακτήσεις δεν πρέπει να είναι <30% και >140% για να θεωρείται ορθή η μέθοδος. Η ορθότητα ορίζεται ως η εγγύτητα μεταξύ της τιμής του όρου πειραματικών μετρήσεων και της αποδεκτής τιμής αναφοράς η οποία γίνεται αποδεκτή ως η αληθής (true) ή ορθή (correct) τιμή (SANTE, 2019). Έτσι, οι ανακτήσεις υπολογίστηκαν από τον τύπο:

$$\%R = \frac{C \text{ πειραματική} - C \text{ τυφλού δείγματος}}{C \text{ εμβολιασμένου δείγματος}} \times 100$$

Η πιστότητα της μεθόδου προσδιορίστηκε ως η σχετική τυπική απόκλιση (Relative Standard Deviation, RSD) των αποτελεσμάτων που προκύπτουν για τρεις διαδοχικές εκχυλίσεις ( $n=3$ ) εμβολιασμένου δείγματος την ίδια ημέρα (intra-day), από τον ίδιο αναλύτη εκφράζοντας έτσι την επαναληψιμότητα. Η ίδια διαδικασία ακολουθήθηκε σε πέντε διαφορετικές ημέρες ( $n=5$ ) (inter-day) για την αναπαραγωγιμότητα. Οι τιμές της σχετικής τυπικής απόκλισης (RSD) πρέπει να είναι  $\leq 20\%$  για όλες τις περιπτώσεις των ενώσεων που αναλύονται (SANTE, 2019). Για τον υπολογισμό της επαναληψιμότητας και αναπαραγωγιμότητας της μεθόδου χρησιμοποιήθηκαν εμβολιασμένα δείγματα σε δύο επίπεδα συγκέντρωσης (25 ng/g και 100 ng/g).

Ο υπολογισμός των ορίων ανίχνευσης (Limit of Detection, LOD) και ποσοτικοποίησης (Limit of Quantification, LOQ) έγινε χρησιμοποιώντας τις παρακάτω σχέσεις:

$$LOD = 3,3 \times \frac{SD}{b} \quad LOQ = 10 \times \frac{SD}{b}$$

Όπου:

- b: η κλίση της καμπύλης αναφοράς της περιοχής εργασίας του κάθε αναλύτη σε πρότυπα διαλύματα,
- SD : η τυπική απόκλιση των μετρήσεων.

## 7.2 Επίδραση του υποστρώματος

Ένα ουσιαστικό πρόβλημα στην ανάλυση LC-MS είναι η παρουσία συστατικών του υποστρώματος στο εκχύλισμα (ενώσεις συν-έκλυσης), που μπορεί να επηρεάσουν τον ιονισμό των ενώσεων όταν χρησιμοποιείται πηγή ESI. Το φαινόμενο αυτό καλείται ως «επίδραση του υποστρώματος» ή «επίδραση μήτρας» (MatrixEffect). Με τον όρο «μήτρα» εννοούμε όλα εκείνα τα συστατικά του δείγματος εκτός του αναλύτη. Το φαινόμενο αυτό είναι αποτέλεσμα ανταγωνισμού για τον ιονισμό μεταξύ των διαφόρων ειδών που εκλύονται από τη στήλη και επηρεάζει την απόκριση ενός αναλύτη, είτε θετικά, είτε αρνητικά. Το υπόστρωμα μπορεί να προκαλέσει καταστολή του σήματος (ion suppression) κυρίως λόγω του ανταγωνισμού των ιόντων του αναλύτη και των ενώσεων του υποστρώματος στην επιφάνεια της σταγόνας πάνω στο τριχοειδές. Έτσι ο ρυθμός σχηματισμού των ιόντων μπορεί να είναι διαφορετικός από ότι στο πρότυπο δείγμα. Πιθανοί λόγοι καταστολής του ιοντικού σήματος είναι πολλοί, με πιο συχνά αναφερόμενη πηγή είναι η παρουσία ενδογενών ουσιών, οργανικών ή ανόργανων μορίων που υπάρχουν στο δείγμα και που ανακτώνται στο τελικό εκχύλισμα. Αυτά επηρεάζουν ιδιαίτερα, όταν παρουσιάζουν την ίδια κατακράτηση κατά τον χρωματογραφικό διαχωρισμό και κατ' επέκταση εκλύονται στον ίδιο χρόνο. Ως αποτέλεσμα αυτού, είναι η αλλοίωση των χρωματογραφικών κορυφών (αύξηση της γραμμής αναφοράς-base line) και κατ' επέκταση οι λανθασμένες μετρήσεις στο εμβαδό τους.

Το φαινόμενο επίδρασης του υποστρώματος μπορεί να επηρεάσει σε μεγάλο βαθμό τα χαρακτηριστικά επίδοσης της μεθόδου προσδιορισμού των ενώσεων και γενικότερα εξαρτάται από διάφορους παράγοντες όπως ο τύπος και η προκατεργασία του δείγματος, η τεχνική εκχύλισης που επιλέγεται και οι τεχνικές καθαρισμού του δείγματος, η επιλογή της κατάλληλης κινητής φάσης, οι διάφορες τεχνικές ιοντισμού, οι τρόποι ιοντισμού, η διαφορετική οργανολογία και γενικότερα ο σχεδιασμός της πηγής ιοντισμού ηλεκτροψεκασμού κ.ά.

Οι υπολογισμοί για την επίδραση του υποστρώματος υπολογίστηκαν από την εξίσωση:

$$\% ME = \left( \left( \frac{\text{Κλίση της καμπύλης αναφοράς στο εκχύλισμα}}{\text{Κλίση της καμπύλης αναφοράς στο διαλύτη}} \right) - 1 \right) \times 100$$

Όταν η τιμή της επίδρασης υποστρώματος είναι μεγαλύτερη της μονάδας υποδηλώνει ενίσχυση του σήματος, ενώ όταν είναι μικρότερη της μονάδας υποδηλώνει καταστολή του σήματος. Όταν το ME είναι 0% δεν υφίσταται καμία επίδραση μεταξύ υποστρώματος και αναλύτη. Για τιμές ME% μεταξύ -20% και 20% θεωρείται πως το υπόστρωμα προκαλεί ελαφριά μείωση ή ενίσχυση του σήματος και η επίδραση θεωρείται μη σημαντική. Για τιμές μεταξύ -50% και -20% ή 20% έως 50% η επίδραση θεωρείται μέτρια, ενώ για τιμές μικρότερες του -50% ή μεγαλύτερες του 50% η επίδραση θεωρείται ισχυρή (Nannou et al., 2018).

## IV. Αποτελέσματα – Συζήτηση

### Κεφάλαιο 8

#### 8.1 Εισαγωγή

Η μέθοδος QuEChERS αποτελεί μια μέθοδο εκχύλισης που αναπτύχθηκε πρώτη φορά για την ανίχνευση υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων σε φρούτα και λαχανικά. Η μέθοδος αυτή συνεχώς εξελίσσεται πέρα από την κλασική της προσέγγιση, για την ανάλυση όλο και περισσότερων αναλυτών και ποικίλων υποστρωμάτων. Η ανάλυση της λυματολάσπης απαιτεί ιδιαίτερη προσοχή, καθώς αποτελεί μια πολύπλοκη μήτρα. Για τον λόγο αυτό, η προκατεργασία του δείγματος είναι απαραίτητη ώστε να επιτευχθεί μία επαναλήψιμη και επαρκώς ευαίσθητη ανάλυση με χαμηλά όρια ανίχνευσης (στην περιοχή των ng/g) (Perestrelo et al., 2019). Η μέθοδος QuEChERS βασίζεται σε εκχύλιση με την χρήση αλάτων και οργανικού διαλύτη ακολουθούμενη από καθαρισμό με την τεχνική της εκχύλισης διασποράς στερεάς φάσεως (dispersive solid phase extraction, d-SPE). Στην περίπτωση μας μελετήθηκε τόσο το πρώτο στάδιο της εκχύλισης όσο και το δεύτερο στάδιο του καθαρισμού (clean-up) έτσι ώστε να επιτευχθεί η καλύτερη επίδοση της μεθόδου για τις προσδιοριζόμενες ενώσεις. Λόγω των διαφορετικών φυσικοχημικών χαρακτηριστικών των ενώσεων που επιλέχθηκαν (φυτοφάρμακα, φθαλικοί εστέρες, οργανοφωσφορικά επιβραδυντικά φλόγας) η μέθοδος που επιλέχθηκε, βασίστηκε σε προηγούμενες έρευνες αλλά και σε πειράματα του εργαστηρίου, για τη βελτιστοποίηση της. Έτσι, εφαρμόστηκε το πρωτόκολλο CEN standard Method EN 15662 για την βέλτιστη διαδικασία και επικύρωση της μεθόδου. Στη μέθοδο αυτή γίνεται προσθήκη ρυθμιστικών κιτρικών αλάτων [1g κιτρικό νάτριο ( $\text{Na}_3\text{Citrate} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) και 0,5 g σεσκιδρίτη διβασικού κιτρικού νατρίου ( $\text{Na}_2\text{HCitr} \cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$ )] με σχετικά χαμηλή ρυθμιστική ικανότητα για να ρυθμίζει το pH του εκχυλίσματος σε τιμή περίπου στο 5, το οποίο είναι ιδανικό για την εκχύλιση ενώσεων ευαίσθητων σε χαμηλό pH αλλά και ενώσεων από οποιοδήποτε υπόστρωμα. Το κριτήριο επιλογής των βέλτιστων παραμέτρων που επιλέχθηκαν για την εκχύλιση QuEChERS ήταν η απόδοση της εκχύλισης εκφρασμένη ως η εκατοστιαία ανάκτηση (% Recovery) των ενώσεων μετά τον εμβολιασμό του δείγματος λυματολάσπης σε συγκεντρώσεις 25ng/g και 100 ng/g. Οι ανακτήσεις άνω του 100% εξηγούνται ή από κάποιο λάθος της μεθόδου, ή κάποιου πειραματικού σφάλματος ή λόγω ανομοιογένειας του στερεού υποστρώματος.

#### Επικύρωση μεθόδου για τον προσδιορισμό αναδυόμενων μικρορύπων στη λυματολάσπη

#### 8.2 Αναλυτικά χαρακτηριστικά της μεθόδου QuEChERS

Για την ορθότητα της μεθόδου υπολογίστηκαν οι ανακτήσεις σε εμβολιασμένα δείγματα λυματολάσπης. Οι ανακτήσεις προσδιορίστηκαν συγκρίνοντας τη συγκέντρωση που υπολογίστηκε μετά και την εφαρμογή της μεθόδου στα εμβολιασμένα δείγματα στα δύο αντίστοιχα επίπεδα εμβολιασμού. Ταυτόχρονα, πραγματοποιήθηκε ανάλυση και σε τυφλά δείγματα έτσι ώστε τυχόν συγκεντρώσεις των αναλυτών να αφαιρεθούν από τον υπολογισμό της συγκέντρωσης των εμβολιασμένων δειγμάτων. Εκτενέστερα, για τον υπολογισμό της επαναληψιμότητας της μεθόδου

(Intra-day RSDr%) έγινε εμβολιασμός πέντε δειγμάτων (n=5) τα οποία αναλύθηκαν μέσα στην ίδια μέρα και σε πέντε διαδοχικές ημέρες, για να υπολογιστεί η ενδοεργαστηριακή αναπαραγωγικότητα (Inter-day RSD<sub>R</sub>%), συνθέτοντας έτσι την πιστότητα της μεθόδου. Τα επίπεδα εμβολιασμού για τις ενώσεις ήταν 25 ng/g και 100 ng/g. Για τις περισσότερες ενώσεις φυτοφαρμάκων, οι μέσες τιμές των ανακτήσεων (n=5) για το χαμηλό επίπεδο εμβολιασμού (25ng/g) κυμάνθηκαν από 76% (Thiacloprid) έως 117% (Clotrimazole) ενώ για το μεγάλο επίπεδο εμβολιασμού (100ng/g) οι μέσες τιμές των ανακτήσεων κυμάνθηκαν από 78% (Imazalil) έως 108% (Chlorpyrifos). Για τις ενώσεις φθαλικών εστέρων, οι μέσες τιμές των ανακτήσεων (n=5) για το χαμηλό επίπεδο εμβολιασμού (25 ng/g) κυμάνθηκαν από 64% [Bis(2-ethylexyl) phthalate (DEHP)] έως 98% [(Dibutyl phthalate (DBP)] ενώ για το μεγάλο επίπεδο εμβολιασμού (100ng/g) οι τιμές των ανακτήσεων κυμάνθηκαν από 88% [Dimethyl phthalate (DMP)] έως 117% [Benzyl Butyl phthalate (BBP) και Bis(2-ethylexyl) phthalate (DEHP) αντίστοιχα]. Οι τιμές των ανακτήσεων για τα δύο οργανοφωσφορικά επιβραδυντικά φλόγας που επιλέχθηκαν, για το χαμηλό επίπεδο εμβολιασμού (25 ng/g), ήταν 97% για το Tris(1-chloro-2-propyl) phosphate (TCPP) και 110% για το Tris(2-butoxyethyl) phosphate (TBEP), ενώ για το μεγάλο επίπεδο εμβολιασμού (100ng/g) ήταν 90% για το Tris(1-chloro-2-propyl) phosphate (TCPP) και 88% για το Tris(2-butoxyethyl) phosphate (TBEP) αντίστοιχα.

Στους παρακάτω πίνακες παρουσιάζονται η επαναληψιμότητα της μεθόδου (%RSDr) και η ενδοεργαστηριακή αναπαραγωγικότητα (%RSDR) στα δύο επίπεδα εμβολιασμού (25 ng/g και 100ng/g). Για τις ενώσεις φυτοφαρμάκων η επαναληψιμότητα της μεθόδου (%RSDr) ήταν μικρότερη από 19%, κυμαινόμενη από 1% έως 19% για επίπεδο εμβολιασμού 25 ng/g, και από 1% έως 11% για το επίπεδο εμβολιασμού 100 ng/g. Για τις ενώσεις φθαλικών εστέρων, η επαναληψιμότητα της μεθόδου (%RSDr) κυμάνθηκε από 3% έως 21% για επίπεδο εμβολιασμού 25 ng/g, και από 3% έως 34% για το επίπεδο εμβολιασμού 100 ng/g. Για τις ενώσεις των οργανοφωσφορικών φλόγας η επαναληψιμότητα της μεθόδου (%RSDr) κυμάνθηκε στο 6,4% για το Tris(1-chloro-2-propyl) phosphate (TCPP) και στο 4,6% για το Tris(2-butoxyethyl) phosphate (TBEP) για επίπεδο εμβολιασμού 25 ng/g. Για επίπεδο εμβολιασμού 100 ng/g οι τιμές των ανακτήσεων ήταν στο 6,6% για το Tris(1-chloro-2-propyl) phosphate (TCPP) και στο 8,3% για το Tris(2-butoxyethyl) phosphate (TBEP).

**Πίνακας 8.1:** Αναλυτικά χαρακτηριστικά επικύρωσης μεθόδου για τον προσδιορισμό των ενώσεων φυτοφαρμάκων σε υπόστρωμα λυματολάσπης

Analytes	%Recoveries (n=5)		Matrix match calibration curve		LOD (ng g <sup>-1</sup> )	LOQ (ng g <sup>-1</sup> )	Intra-day RSD <sub>r</sub> % (n=5)		Inter-day RSD <sub>R</sub> % (n=5)		%M E
	25 ng g <sup>-1</sup>	100 ng g <sup>-1</sup>	Linear Range (ng ml <sup>-1</sup> )	R <sup>2</sup>			25 ng g <sup>-1</sup>	100 ng g <sup>-1</sup>	25 ng g <sup>-1</sup>	100 ng g <sup>-1</sup>	
Acetamiprid	78	90	25-500	0.9935	0.27	0.89	5	10	1	7	-23
Atrazine	96	79	25-500	0.9928	0.47	1.54	2	4	1	5	15
Chlorpyrifos	88	108	25-500	0.9997	0.21	0.68	5	1	2	3.2	-27
Clothianidin	79	87	25-500	0.9911	1.01	3.33	15	11	7	8	64
Clotrimazole	117	95	25-500	0.9948	10.1	33.33	1	2	2	4	-18
Fenbuconazole	84	94	25-500	0.9899	0.7	2.33	13	4	7	5	-8
Imazalil	84	78	25-500	0.9957	0.09	0.30	9	6	0.7	4	11
Imidacloprid	84	90	25-500	0.9911	1.12	3.7	17	10	1	6	18
Pyriproxyfen	91	85	25-500	0.9998	0.21	0.68	9	2	4	5	-31

Terbutylazine	99	79	25-500	0.9937	0.57	1.89	9	3	6	1.2	16
Thiacloprid	76	82	25-500	0.9936	0.13	0.44	12	8	2	6	8
Thiamethoxam	86	90	25-500	0.9990	0.51	1.67	19	7	3	8	25

**Πίνακας 8.2:** Αναλυτικά χαρακτηριστικά επικύρωσης μεθόδου για τον προσδιορισμό των φθαλικών ενώσεων σε υπόστρωμα λυματολάσσης

Analytes	%Recoveries (n=5)		Matrix match calibration curve		LOD (ngg <sup>-1</sup> )	LOQ (ngg <sup>-1</sup> )	Intra-dayRSDr% (n=5)		Inter-dayRS DR% (n=5)	%ME
	25 ng g <sup>-1</sup>	100 ng g <sup>-1</sup>	Linear Range (ng ml <sup>-1</sup> )	R <sup>2</sup>			25 ng g <sup>-1</sup>	100 ng g <sup>-1</sup>		
Dimethyl phthalate (DMP)	91	88	25-500	0.9951	0,98	3,23	11	23	4	-67
Diethyl phthalate (DEP)	83	100	25-500	0.9966	1,01	3,33	18	3	6	-34
Dibutyl phthalate (DBP)	98	101	25-500	0.9914	0,21	0,68	21	3	26	-73
Benzyl Butyl phthalate (BBP)	87	117	25-500	0.9953	0,49	1,61	6	3	22	-56
Bis(2-ethylexyl) phthalate (DEHP)	64	117	25-500	0.9998	1,12	3,7	3	34	12	-55
Di-n-octyl phthalate (DnOP)	89	102	25-500	0.9888	0,47	1,54	3	34	12	-47

**Πίνακας 8.3:** Αναλυτικά χαρακτηριστικά επικύρωσης μεθόδου για τον προσδιορισμό των οργανοφωσφορικών επιβραδυντικών φλόγας σε υπόστρωμα λυματολάσσης

Analytes	%Recoveries (n=5)		Matrix match calibration curve		LOD (ng g <sup>-1</sup> )	LOQ (ng g <sup>-1</sup> )	Intra-day RSDr% (n=5)		Inter-day RSDr% (n=5)	%ME
	25 ng g <sup>-1</sup>	100 ng g <sup>-1</sup>	Linear Range (ng ml <sup>-1</sup> )	R <sup>2</sup>			25 ng g <sup>-1</sup>	100 ng g <sup>-1</sup>		
Tris(1-chloro-2-propyl) phosphate (TCPP)	97	90	25-500	0.9854	1,59	5,26	6,4	6,6	11,7	16
Tris(2-butoxyethyl) phosphate (TBEP)	110	88	25-500	0.9973	0,26	0,85	4,6	8,3	27,3	26

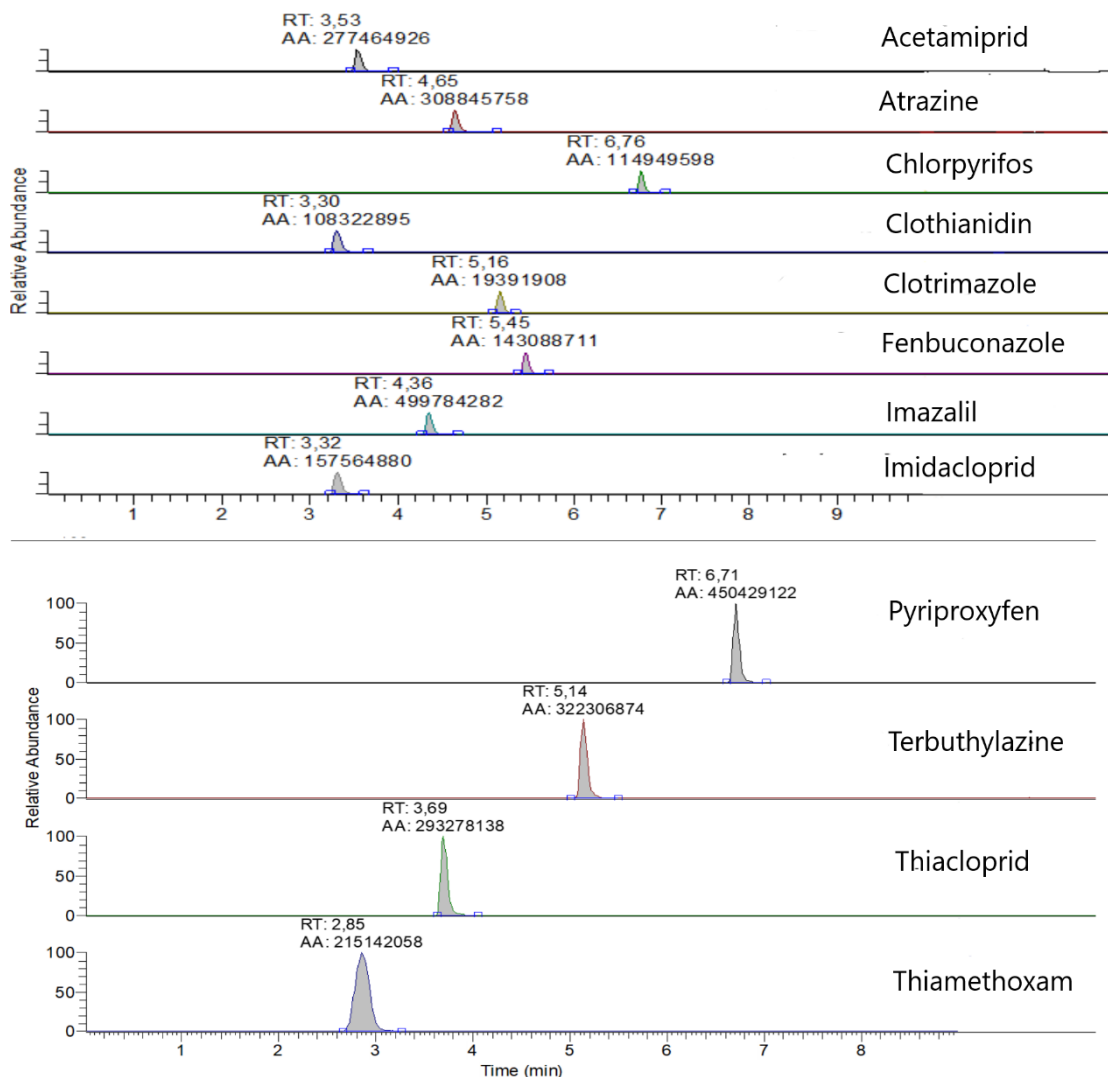
Αξίζει επίσης να αναφερθεί πως η ποσοτικοποίηση όλων των ενώσεων φυτοφαρμάκων και φθαλικών εστέρων έγινε μετοεσωτερικό πρότυπο d<sub>10</sub>-Carbamazepine και των οργανοφωσφορικών επιβραδυντικών φλόγας με το d<sub>5</sub>-Fluoxetine.

Τα όρια ανίχνευσης της μεθόδου (LOD) προσδιορίστηκαν ως η συγκέντρωση του εμβολιασμένου δείγματος για την οποία η αναλογία του σήματος της εξεταζόμενης ουσίας προς το θόρυβο του οργάνου είναι ίση με 3 (S/N=3), ενώ τα όρια ποσοτικοποίησης (LOQ) ως η αντίστοιχη συγκέντρωση του δείγματος που αντιστοιχεί σε σήμα ίσο με 10 φορές το θόρυβο του οργάνου. Για τις ενώσεις φυτοφαρμάκων που μελετήθηκαν, τα όρια ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης κυμάνθηκαν από 0,09 ng/g έως 10,1 ng/g και από 0,30 ng/g έως 33,3 ng/g, αντίστοιχα. Για τις ενώσεις φθαλικών εστέρων που μελετήθηκαν, τα όρια ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης κυμάνθηκαν από 0,21 ng/g έως 1,12ng/g και από 0,68 ng/g έως 3,7 ng/g, αντίστοιχα. Όσον αφορά τις ενώσεις οργανοφωσφορικών επιβραδυντικών φλόγας τα όρια ανίχνευσης ήταν 1,59 ng/g και 0,26 ng/g για το Tris(1-chloro-2-propyl) phosphate (TCPP) και το Tris(2-butoxyethyl) phosphate (TBEP), αντίστοιχα, ενώ τα όρια ανίχνευσης ήταν 5,26 ng/g και 0,85 ng/g για το Tris(1-chloro-2-propyl) phosphate (TCPP) και το Tris(2-butoxyethyl) phosphate (TBEP), αντίστοιχα.

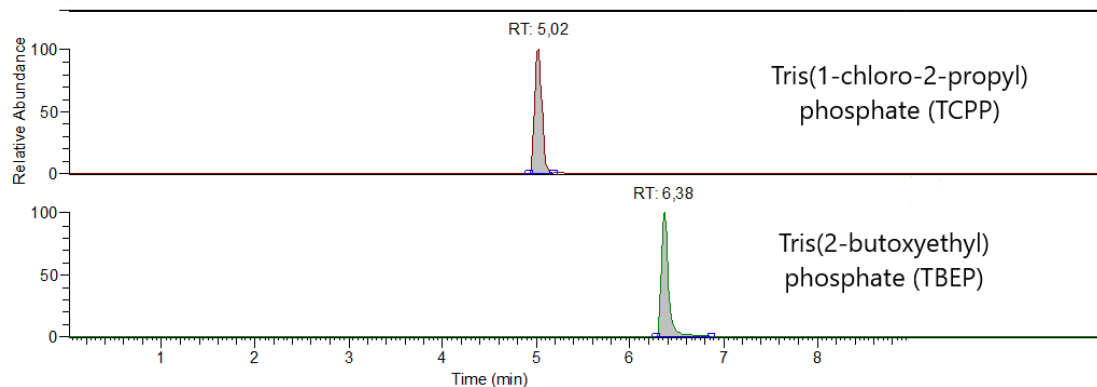
Η γραμμικότητα της μεθόδου μελετήθηκε με την κατασκευή καμπυλών βαθμονόμησης προσομοιωμένου υποστρώματος, πέντε σημείων, που ακολούθησαν τη γραμμική παλινδρόμηση. Μια σειρά δειγμάτων εμβολιάστηκε με πρότυπα διαλύματα μίγματος των επιλεγμένων ενώσεων για εύρος συγκεντρώσεων από 25 ng/g έως 500 ng/g. Η γραμμικότητα της μεθόδου για τις περισσότερες ενώσεις ήταν μεγαλύτερη από 0,99 και πιο συγκεκριμένα κυμάνθηκε από 0,9899 έως 0,9998 για τις ενώσεις φυτοφαρμάκων, από 0,9888 έως 0,9998 για τους φθαλικούς εστέρες και 0,9854 έως 0,9973 για τις ενώσεις οργανοφωσφορικών επιβραδυντικών φλόγας. Η



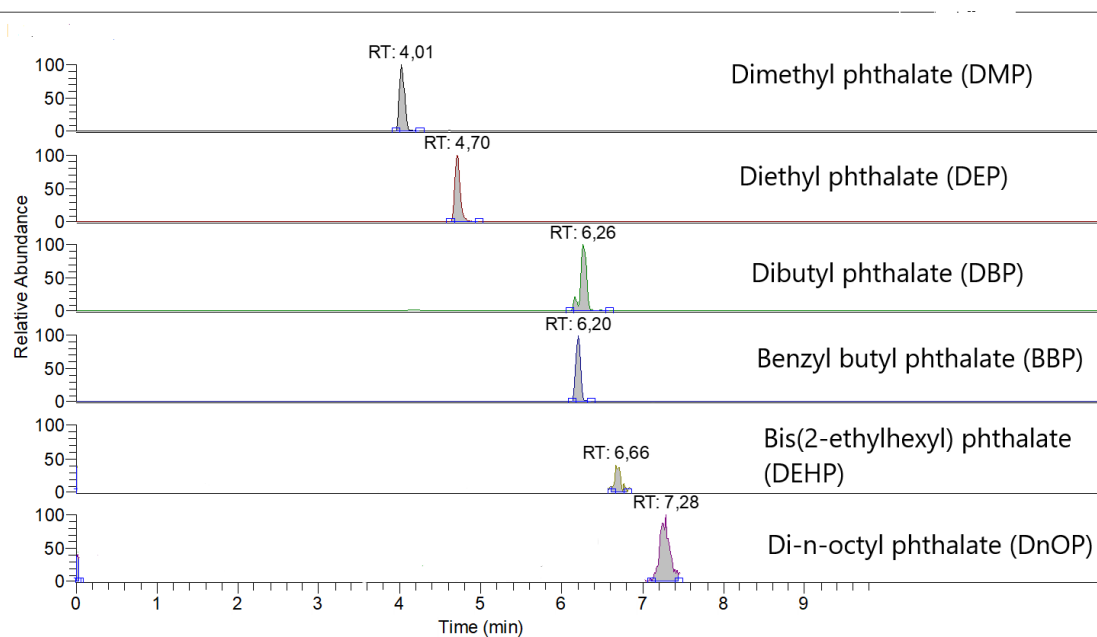
γραμμικότητα κυμάνθηκε σε ικανοποιητικά επίπεδα καθώς ο συντελεστής συσχέτισης ( $r^2$ ) για την πλειονότητα των ενώσεων που μελετήθηκαν είχε τιμές μεγαλύτερες από 0,99.



**Εικόνα 8.1:** Χρωματογράφημα επιλεγμένων ιόντων UHPLC/LTQ-Orbitrap εκχυλισμένου προτύπου μίγματος λυματολάσσης (500 µg/L) φυτοφαρμάκων



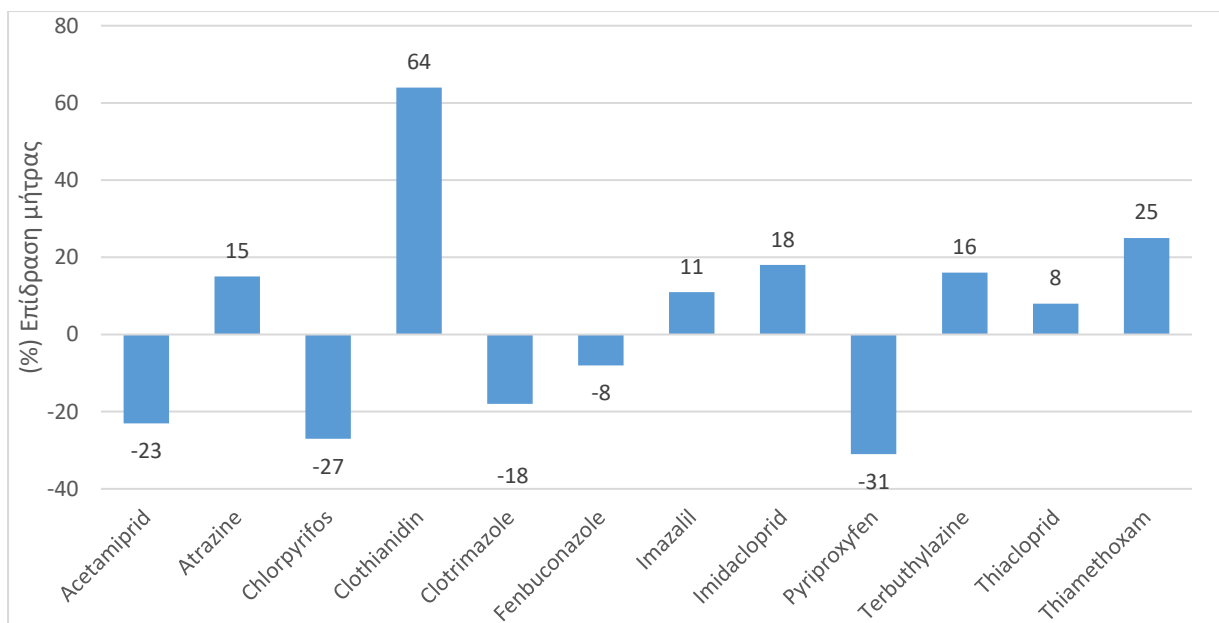
**Εικόνα 8.2:** Χρωματογράφημα επιλεγμένων ιόντων UHPLC/LTQ-Orbitrap εκχυλισμένου προτύπου μίγματος λυματολάσσης (500 µg/L) οργανοφωσφορικών επιβραδυντικών φλόγας (OPFRs)



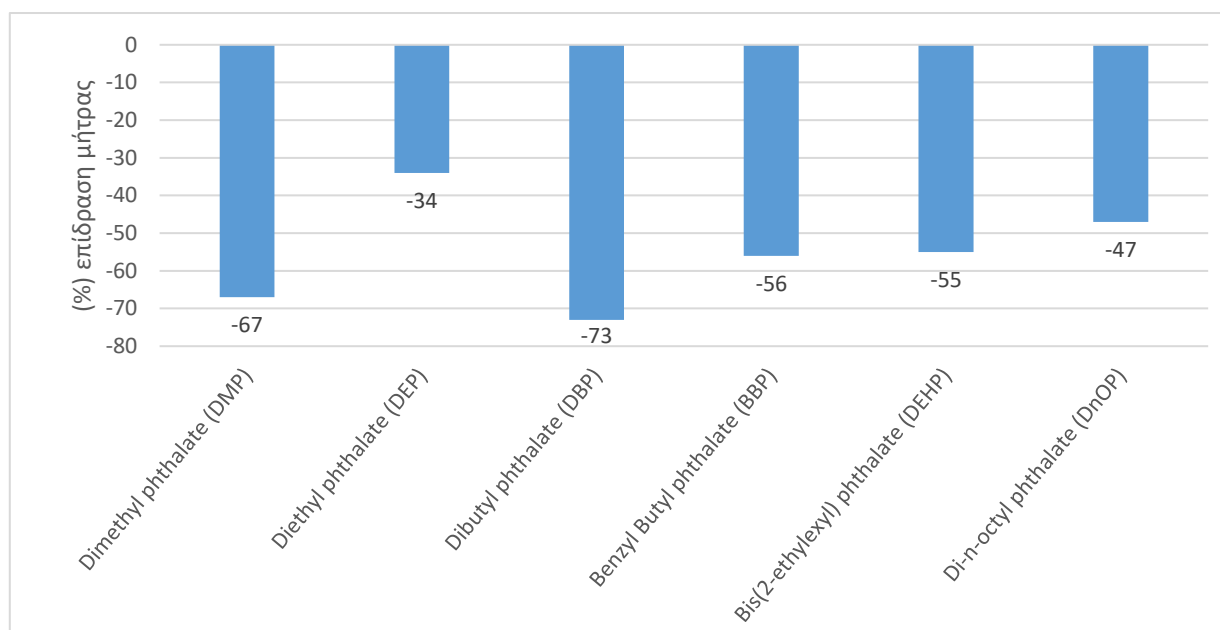
**Εικόνα 8.3:** Χρωματογράφημα επιλεγμένων ιόντων UHPLC/LTQ-Orbitrap εκχυλισμένου προτύπου μίγματος λυματολάσσης (500 µg/L) φθαλικών εστέρων

### 8.3 Επίδραση του υποστρώματος

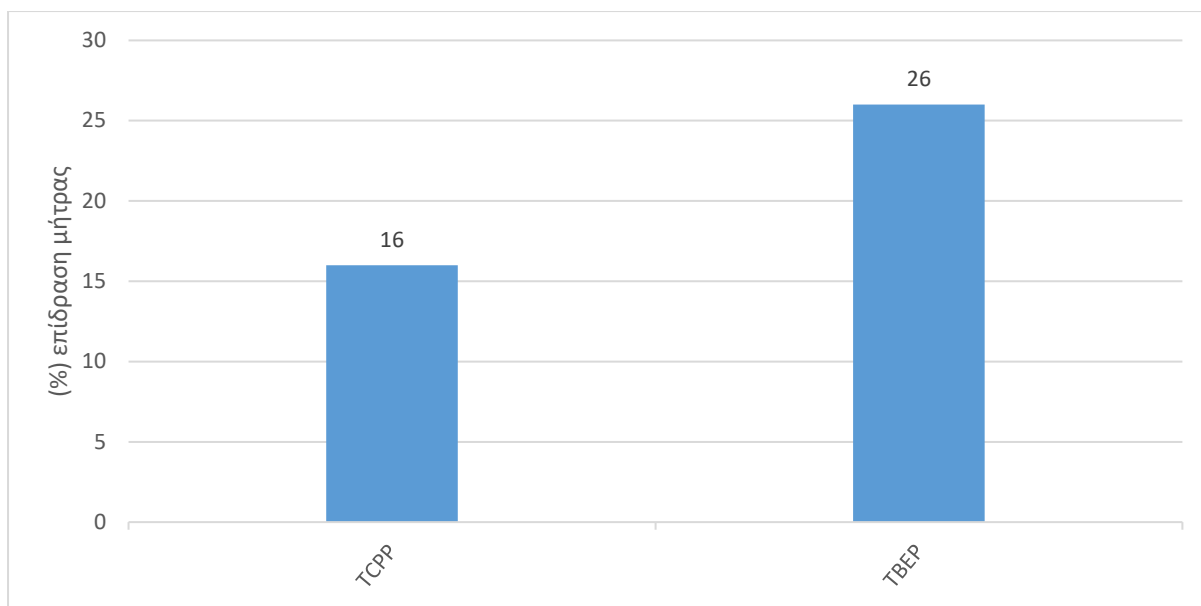
Οι παράγοντες της επίδρασης του υποστρώματος ειδικά στον ηλεκτροψεκασμό (ESI) είναι σημαντικοί και αναλύθηκαν προηγουμένως. Η χρήση καμπυλών βαθμονόμησης προσομοιωμένου υποστρώματος βοήθησαν σημαντικά στην ελαχιστοποίηση των σφαλμάτων στους υπολογισμούς και στην επαναλαμβανόμενη επίδραση του μητρικού υλικού στο δείγμα. Για την αξιολόγηση της επίδρασης υποστρώματος (ME) παρασκευάστηκε μια καμπύλη βαθμονόμησης σε λυματολάσπη και συγκρίθηκε με ένα άλλο παρασκευασμένο στο μείγμα διαλύτη, στο ίδιο εύρος συγκέντρωσης (25 - 500 ng/g). Παρατηρήθηκε ότι υπήρχαν αρκετές διακυμάνσεις στις τιμές της επί τοις εκατό επίδρασης του υποστρώματος (%ME). Πιο συγκεκριμένα, για τις ενώσεις φυτοφαρμάκων η επίδραση του υποστρώματος κυμάνθηκε μεταξύ -31% και 64%. Αναλυτικότερα, ελαφριά επίδραση υποστρώματος διαπιστώθηκε για τις ενώσεις Atrazine, Clotrimazole, Fenbucconazole, Imazalil, Imidacloprid, Terbutylazine και Thiacloprid, καθώς το εύρος τιμών τους κυμάνθηκε μεταξύ -20% και 20%, μέτρια επίδραση μήτρας είχαμε για τα Acetamiprid, Chlorpyrifos, Pyriproxyfen και Thiamethoxam, ενώ ισχυρή επίδραση διαπιστώθηκε για την ένωση Clothianidin παρουσιάζοντας τιμή <50%. Για τις ενώσεις των φθαλικών εστέρων οι τιμές για τις περισσότερες ενώσεις ανήκαν στην κατηγορία της ισχυρής επίδρασης υποστρώματος με εξαίρεση δύο ενώσεις, τα Diethyl και Di-n-octylphthalate αντίστοιχα, που οι τιμές τους ήταν ναί μεν οριακά, ωστόσο μέσα στο εύρος τιμών της κατηγορίας από -50% έως -20% που προκαλεί μέτρια μείωση του σήματος. Για τις δύο ενώσεις, Tris(1-chloro-2-propyl) phosphate (TCPP) και Tris(2-butoxyethyl) phosphate (TBEP), που ανήκουν στην κατηγορία των οργανοφωσφορικών επιβραδυντικών φλόγας, η τιμή ME% κυμάνθηκε στο 16% για την πρώτη δείχνοντας ελαφριά επίδραση μήτρας και στο 26% αντίστοιχα για τη δεύτερη προκαλώντας μέτρια επίδραση του υποστρώματος.



**Σχήμα 8.1:** Επίδραση υποστρώματος (%) για τις ενώσεις φυτοφαρμάκων



**Σχήμα 8.2:** Επίδραση υποστρώματος (%) για τις ενώσεις φθαλικών εστέρων



**Σχήμα 8.3:** Επίδραση υποστρώματος (%) για τις ενώσεις οργανοφωσφορικών επιβραδυντικών φλόγας

### Υδροθερμική κατεργασία λυματολάσπης για την απομάκρυνση υπολειμμάτων αναδυόμενων μικρορύπων

Μετά και την ανάπτυξη, τη βελτιστοποίηση και την επικύρωση της μεθόδου Quechers για τον προσδιορισμό των ενώσεων που μελετήθηκαν στην παρούσα διπλωματική, ακολούθησε η εφαρμογή της μεθόδου για την ανίχνευση ουσιών σε άγνωστο δείγμα λυματολάσπης που ελήφθη από τη δευτεροβάθμια επεξεργασία της Μονάδας Επεξεργασίας Υγρών αποβλήτων (ΜΕΥΑ) της πόλης των Ιωαννίνων και η υδροθερμική κατεργασία με σκοπό την απομάκρυνση υπολειμμάτων ενώσεων.

**Πίνακας 8.4:** Επίπεδα συγκεντρώσεων των μελετώμενων ενώσεων που ανιχνεύθηκαν στη λυματολάσπη.

	Ενώσεις	Συγκέντρωση (ng g <sup>-1</sup> ) (n=2)
<b>Φυτοφάρμακα</b>	Acetamiprid	4,30 ± 2
	Chlorpyrifos	4,20 ± 2
	Fenbuconazole	3,30 ± 2
	Terbuthylazine	4,10 ± 2
<b>Φθαλικοί εστέρες</b>	Dimethyl phthalate (DMP)	5,9 ± 2
	Bis(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP)	25,8 ± 2

Οι τρεις παράμετροι για την επί τοις % απομάκρυνση των προσδιοριζόμενων ουσιών ορίστηκαν ως εξής με βάση τις βέλτιστες συνθήκες απομάκρυνσης προηγούμενων πειραμάτων:

- ✓ Θερμοκρασία: 220,23 °C
- ✓ Χρόνος: 270,00 min.
- ✓ %wt: 7,50

Συνολικά από τα δώδεκα φυτοφάρμακα που μελετήθηκαν, τέσσερα από αυτά ανιχνεύθηκαν σε μετρήσιμα επίπεδα στην λυματολάσπη. Πιο συγκεκριμένα, τα acetamiprid, chlorpyrifos, fenbuconazole και terbuthylazine βρέθηκαν σε συγκεντρώσεις 4,3, 4,2, 3,3 και 4,1 ng g<sup>-1</sup>, αντίστοιχα. Οι συγκεντρώσεις αυτές συμπίπτουν και με παρόμοια επίπεδα συγκεντρώσεων που αναφέρθηκαν σε άλλες μελέτες. Πιο συγκεκριμένα, το chlorpyrifos, ένα φυτοφάρμακο που ανήκει στην κατηγορία των οργανοφωσφορικών και ανιχνεύεται συχνά, βρέθηκε σε δείγματα λυματολάσπης σε συγκεντρώσεις από 0,45 έως 703 ng g<sup>-1</sup> (Masiá et al., 2015). Το chlorpyrifos ανιχνεύθηκε, επίσης, σε συγκεντρώσεις που κυμαίνονται από 1,02 έως 77,8 ng g<sup>-1</sup> και το terbuthylazine από 2,43 έως 5,41 ng g<sup>-1</sup> σε έρευνα που πραγματοποιήθηκε για την αποτελεσματικότητα απομάκρυνσης φυτοφαρμάκων σε μονάδες επεξεργασίας λυμάτων (Campo et al., 2013). Το fenbuconazole, που ανήκει στην κατηγορία των αζολών και το terbuthylazine, που ανήκει στην κατηγορία των τριαζινών αντίστοιχα, ανιχνεύονται επίσης, καθώς εκτός από εφαρμογές στην γεωργία, χρησιμοποιούνται ευρέως σε οικοδομικές εργασίες για την πρόληψη της ανάπτυξης μικροοργανισμών (βρύα, μύκητες, βακτήρια κλπ.) σε προσόψεις κτιρίων, για την προστασία των ξύλινων υλικών, σε οργανικά επιχρίσματα και αλλού. Ως αποτέλεσμα, απορρέουν στο περιβάλλον κατά τη διάρκεια υγρών καιρικών συνθηκών, εκπλένονται στα υπόγεια και επιφανειακά ύδατα και εισέρχονται στο δίκτυο αποχέτευσης.

Από τις υπόλοιπες ενώσεις, αυτές που ανιχνεύθηκαν στη λυματολάσπη, ήταν ο διμέθυλο φθαλικός εστέρας [dimethyl phthalate (DMP)] με συγκέντρωση 5,9 ng g<sup>-1</sup> και φθαλικός δις(2-αιθυλεξυλ)εστέρας [Bis(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP)] με συγκέντρωση 25,82 ng g<sup>-1</sup>, ενώσεις φθαλικών εστέρων που συναντώνται συχνά στα αστικά λύματα. Πιο συγκεκριμένα, το DEHP είναι ένας από τους φθαλικούς εστέρες που ανιχνεύονται κυρίως στα επιφανειακά ύδατα, σε λύματα, στο έδαφος και στη λυματολάσπη λόγω της υψηλότερης σταθερότητάς του και της ανθεκτικότητας του ενώ ταυτόχρονα η τοξικότητα των παραπροϊόντων που προκύπτουν από την αποικοδόμηση του DEHP επιδεινώνει ενίοτε και την τοξικότητα της μητρικής ένωσης. Στη λυματολάσπη, έχει ανιχνευθεί σε συγκεντρώσεις που κυμαίνονται από 12 έως 1250 mg/kg (Zolfaghari et al., 2014).

Στη συνέχεια, για να μελετηθεί χωριστά η αποτελεσματικότητα απομάκρυνσης των εγγενών φυτοφαρμάκων, φθαλικών εστέρων και οργανοφωσφορικών επιβραδυντικών φλόγας, χρησιμοποιήθηκε δείγμα ιλύος. Μετά την υδροθερμική επεξεργασία της ιλύος, και με βάση τις συνθήκες που ακολουθήθηκαν, όλες οι ενώσεις που μελετήθηκαν αποικοδομήθηκαν πλήρως σε επίπεδα <LOD. Ως αποτέλεσμα, με βάση των παραμετρών της υδροθερμικής επεξεργασίας που επιλέχθηκαν η απομάκρυνση επιτεύχθηκε κατά 100% επιτεύχθηκε για όλες τις ενώσεις.

## Κεφάλαιο 9

### Συμπεράσματα

Στην παρούσα μεταπτυχιακή εργασία, αναπτύχθηκε και επικυρώθηκε η αναλυτική μέθοδος Quechers για τον ταυτόχρονο προσδιορισμό δώδεκα (12) φυτοφαρμάκων, έξι (6) ενώσεων φθαλικών εστέρων και τριών (3) ενώσεων οργανοφωσφορικών επιβραδυντικών φλόγας σε δείγματα λυματολάσπης. Παράλληλα για να προσδιοριστεί το ποσοστό απομάκρυνσης των υπολειμμάτων των ενώσεων από αυτή, εφαρμόστηκε η υδροθερμική ανθρακοποίηση της λυματολάσπης.

Ο ποιοτικός και ποσοτικός προσδιορισμός των επιλεγμένων ενώσεων πραγματοποιήθηκε με σύστημα υγρής χρωματογραφίας υπέρ-υψηλής πίεσης συζευγμένης με φασματομετρία μάζας υψηλής διακριτικής ικανότητας και συγκεκριμένα με τον υβριδικό αναλυτή μαζών LTQ/Orbitrap MS. Η ποσοτικοποίηση έγινε με καμπύλες αναφοράς σε όλες τις περιπτώσεις προσομοιωμένες στο υπόστρωμα (matrix-match calibration curves) ενώ παράλληλα χρησιμοποιήθηκε και εσωτερικό πρότυπο με σκοπό να αποφευχθεί η ανακριβής ποσοτικοποίηση και να επιτευχθούν καλύτερες κορυφές. Από την επικύρωση της μεθόδου Quechers προέκυψαν τα παρακάτω συμπεράσματα:

- ✓ Στη διαδικασία της εκχύλισης, τα άλατα που επιλέχθηκαν ήταν ο συνδυασμός των 4 g άνυδρου  $MgSO_4$  / 1 g  $NaCl$  / 1 g κιτρικού νατρίου / 0,50 g σεσκιδρύτη διβασικού κιτρικού νατρίου (EN method). Η ποσότητα της λυματολάσπης ορίστηκε στο 1 g ενώ ταυτόχρονα προστέθηκαν 10 ml διαλύματος EDTA καθώς συμβάλλει στην αποτροπή της πρόσδεσης/συμπλοκοποίησης δισθενών μεταλλικών κατιόντων πριν την εκχύλιση. Το στάδιο του καθαρισμού (clean-up) πραγματοποιήθηκε με την εκχύλιση υγρής-στερεής φάσης με διασπορά (dispersive SPE). Το εκχυλίσμα που οδηγείται προς καθαρισμό ορίστηκε στα 4 ml και επιλέχθηκε ο συνδυασμός των προσροφητικών που περιείχε 150 mg  $MgSO_4$  / 50 mg PSA / 75 mg Z+-sep για κάθε ml εκχυλίσματος παρέχοντας πολύ πιο καθαρά εκχυλίσματα χωρίς να υπάρχει κίνδυνος απώλειας αναλυτών. Τέλος ακολούθησε συμπύκνωση μέχρι ξηρού χρησιμοποιώντας όγκο 2 ml από το καθαρό εκχύλισμα, επαναδιάλυση σε 500  $\mu L$  με 0,1% φορμικό οξύ σε αναλογία νερό : μεθανόλη 80:20 (v/v) και διήθηση των δειγμάτων με φίλτρα σύριγγας με μεμβράνη PTFE 0.22 $\mu m$  πριν την εισαγωγή τους στο όργανο Orbitrap(LC-MS(MS)).
- ✓ Η μέθοδος Quechers επικυρώθηκε για το υπόστρωμα της λυματολάσπης ως προς την ανάκτηση όπου οι μέσες τιμές των ανακτήσεων (n=5) για τις περισσότερες ενώσεις φυτοφαρμάκων, για το χαμηλό επίπεδο εμβολιασμού (25 ng/g) κυμάνθηκαν από 76% έως 117% ενώ για το μεγάλο επίπεδο εμβολιασμού (100 ng/g) οι μέσες τιμές των ανακτήσεων κυμάνθηκαν από 78% έως 108%. Για τις ενώσεις φθαλικών εστέρων, οι μέσες τιμές των ανακτήσεων (n=5) για το χαμηλό επίπεδο εμβολιασμού (25 ng/g) κυμάνθηκαν από 64% έως 98% ενώ για το μεγάλο επίπεδο εμβολιασμού (100ng/g) οι τιμές των ανακτήσεων κυμάνθηκαν από 88% έως 117%. Οι τιμές των ανακτήσεων για τα δύο οργανοφωσφορικά επιβραδυντικά φλόγας που επιλέχθηκαν, για το χαμηλό επίπεδο εμβολιασμού ήταν 97% και 110% ενώ για το μεγάλο επίπεδο εμβολιασμού (100 ng/g) ήταν 90% και 88%. Για τις ενώσεις φυτοφαρμάκων που μελετήθηκαν, τα όρια ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης κυμάνθηκαν από 0,09 ng/g έως 10,1 ng/g και από 0,30 ng/g έως 33,3 ng/g, αντίστοιχα. Για

τις ενώσεις φθαλικών εστέρων που μελετήθηκαν, τα όρια ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης κυμάνθηκαν από 0,21 ng/g έως 1,12 ng/g και από 0,68 ng/g έως 3,7 ng/g, αντίστοιχα. Όσον αφορά τις ενώσεις οργανοφωσφορικών επιβραδυντικών φλόγας τα όρια ανίχνευσης ήταν 1,59 ng/g και 0,26 ng/g για το Tris(1-chloro-2-propyl) phosphate (TCPP) και το Tris(2-butoxyethyl) phosphate (TBEP), αντίστοιχα, ενώ τα όρια ανίχνευσης ήταν 5,26 ng/g και 0,85 ng/g για το Tris(1-chloro-2-propyl) phosphate (TCPP) και το Tris(2-butoxyethyl) phosphate (TBEP), αντίστοιχα. Όσον αφορά τη γραμμικότητα, ο συντελεστής γραμμικής συσχέτισης είχε για τις περισσότερες ενώσεις τιμές μεγαλύτερες από 0,99. Ακόμα, η επαναληψιμότητα και η ενδοεργαστηριακή αναπαραγωγιμότητα εκφρασμένη ως σχετική τυπική απόκλιση (%RSD) υπολογίστηκε κάτω από 19% και 20% αντίστοιχα για όλες τις ενώσεις.

- ✓ Η παραπάνω αναλυτική μεθοδολογία εφαρμόστηκε σε πραγματικά δείγματα λυματολάσπης στα οποία ανιχνεύθηκαν τέσσερις (4) από τις ενώσεις φυτοφαρμάκων και δύο (2) από τις ενώσεις φθαλικών εστέρων από το σύνολο των ενώσεων με συγκεντρώσεις έως 25 ng/g.
- ✓ Μετά την υδροθερμική επεξεργασία της ιλύος, δείγματα ιλύος επεξεργάστηκαν υδροθερμικά με σκοπό την απομάκρυνση υπολειμμάτων ενώσεων ανεξάρτητα από τις συνθήκες που ακολουθήθηκαν όλες οι ενώσεις που μελετήθηκαν αποικοδομήθηκαν πλήρως σε επίπεδα <LOD. Οι ενώσεις δεν ελήφθησαν υπόψη στον πειραματικό σχεδιασμό της υδροθερμικής επεξεργασίας, λόγω των πολύ χαμηλών συγκεντρώσεων και της απομάκρυνσης σε επίπεδα κάτω του LOD. Ως αποτέλεσμα, η βελτιστοποίηση για την απομάκρυνση ποσοστών των ενώσεων δεν σχεδιάστηκε, αφού η απομάκρυνση κατά 100% επιτεύχθηκε σε όλες τις εκτελέσεις ανεξάρτητα από τις συνθήκες που εφαρμόστηκαν.
- ✓ Εν κατακλείδι, η τεχνική QuEChERS σε συνδυασμό με την υγρή χρωματογραφία συζευγμένη με φασματομετρία μάζας είναι μια καλή μέθοδος για την ταυτόχρονη ανάλυση αναδυόμενων μικρορύπων στο περιβάλλον, με διαφορετικές φυσικοχημικές ιδιότητες σε δείγματα λυματολάσπης. Η μεθολογία που αναπτύχθηκε παρουσιάζει διάφορα προτερήματα καθώς απαιτείται μικρός χρόνος ανάλυσης και μικρός αριθμός των σταδίων ανάλυσης ενώ ταυτόχρονα παρουσιάζει δυναμικό εύρος στις ενώσεις που προσδιορίζονται.
- ✓ Επιπλέον, η υδροθερμική ανθρακοποίηση της λυματολάσπης αποτελεί μία σύγχρονη τεχνολογία επεξεργασίας της λυματολάσπης με σκοπό την παραγωγή βελτιωμένων υποστρωμάτων και την περαιτέρω απομάκρυνση επικίνδυνων μολυσματικών ουσιών που δεν απομακρύνονται πλήρως από τις μονάδες επεξεργασίας αποβλήτων, παράγοντας έτσι ένα προϊόν που μπορεί να αξιοποιηθεί για μελλοντική χρήση σε τομείς όπως αυτός της γεωργίας.
- ✓ Έτσι, η πρώτη ύλη που χρησιμοποιείται στη διεργασία της υδροθερμικής ανθρακοποίησης καθώς και οι συνθήκες που τηρούνται κατά την παραγωγή, είναι καθοριστικές για τις ιδιότητες των παραγόμενων υδροεξανθρακωμάτων. Η παρούσα διατριβή αποτέλεσε μία ολοκληρωμένη προσέγγιση τόσο για την ανάπτυξη και εφαρμογή μίας αναλυτικής μεθοδολογίας σε πραγματικά δείγματα λυματολάσπης όσο και για την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας της υδροθερμικής ανθρακοποίησης στην απομάκρυνση οργανικών ρύπων από στερεά υποστρώματα.

## Κεφάλαιο 10

### Βιβλιογραφία

#### Ξενόγλωσση βιβλιογραφία

- Albero, B., Pérez, R. A., Sánchez-Brunete, C., & Tadeo, J. L. (2012). Occurrence and analysis of parabens in municipal sewage sludge from wastewater treatment plant in Madrid (Spain). *Journal of Hazardous Materials*, 239–240, 48–55. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2012.05.017>
- Andreu V. & Pico Y. (2004). Determination of pesticides and their degradation products in soil: critical review and comparison of methods. *Trends in Analytical Chemistry* 23, 772-789. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2004.07.008>
- Barry, D., Barbiero, C., Briens, C., & Berruti, F. (2019). Pyrolysis as an economical and ecological treatment option for municipal sewage sludge. *Biomass and Bioenergy*, 122, 472-480. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2019.01.041>
- Bhagat, J., Singh, N., Nishimura, N. & Shimada, Y. (2021). A comprehensive review on environmental toxicity of azole compounds to fish. *Chemosphere* 2021 Jan;262:128335. doi: 10.1016/j.chemosphere.2020.128335
- Broda, M. (2020). Natural compounds for wood protection against fungi - a review. *Molecules* 25, 1–24
- Bruzzoniti, M. C., Checchini, L., de Carlo, R. M., Orlandini, S., Rivoira, L., del Bubba, M. (2014). QuEChERS sample preparation for the determination of pesticides and other organic residues in environmental matrices: A critical review. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 406, 4089-4116
- Byrns, G. (2001). The fate of xenobiotic organic compounds in wastewater treatment plants, *Water Research* 35, 2523-2533. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(00\)00529-7](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(00)00529-7)
- Cai Q. Y., Mo C. H., Li Y. H., Zeng Q. Y., Wang B. G., Xiao K. E., Li H. Q., Xu G. S. (2005). The study of PAEs in soils from typical vegetable fields in areas of Guangzhou and Shenzhen, South China. *Acta Ecologica Sinica* 25, 283-288.
- Campo, J., Masiá, A., Blasco, C., and Picó, Y., (2013). Occurrence and removal efficiency of pesticides in sewage treatment plants of four Mediterranean River Basins. *J Hazard Mater*, 263, 146–157 <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2013.09.061>
- Cao, X. (2010). Phthalate Esters in Foods: Sources, Occurrence, and Analytical Methods. Volume 9, 21-43. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2009.00093.x>
- Castro, G., Roca, M., Rodríguez, I., Ramil, M. & Cela, R. (2016). Identification and determination of chlorinated azoles in sludge using liquid chromatography quadrupole time-of-flight and triple quadrupole mass spectrometry platforms. *Journal of chromatography* 1476, 69-76. doi:10.1016/j.chroma.2016.11.020. PMID: 27871726
- Castro, M. O., Queiroz De Santiago, M., Santiago Nascimento, K., Sousa Cavada, B., de Castro Miguel, E., Jardim De Paula, A., & Ferreira, O. P. (2017). Hydrochar as protein



- support: preservation of biomolecule properties with non-covalent immobilization. *J Mater Sci* 52, 13378–13389. <https://doi.org/10.1007/s10853-017-1441-7>
- Chen, G., Yue, P. L., & Mujumdar, A. S. (2002). Sludge dewatering and drying. *Drying Technology* 20, 883-916. <https://doi.org/10.1081/DRT-120003768>
  - Chenier J. P. (2002) Pesticides. Survey of Industrial Chemistry. Applied Chemistry Third ed. Springer, Boston, MA. <https://doi.org/10.1007/978-1-4615-0603-4>
  - Cheremisinoff P. N., & Morresi A, G. (1976). Energy from solid wastes. United States
  - Cliath, M.M., Spencer, W.F., Farmer, W.J., Shoup, T.D. & Grover, R. (1980). Volatilization of S-ethyl N, N-dipropyl-thiocarbamate from water and wet soil during and after flood irrigation of an alfalfa field. *J. Agric. Food Chem.*, 28, 610-13
  - Couillard, D., & Mercier, G. (1994). An Economic Evaluation of Biological Removal of Heavy Metals from Wastewater Sludge. *Water Environment Research* 66, 32-39. <http://www.jstor.org/stable/25044405>
  - Czerwińska, K., Śliz, M. & Wilk, M. (2021). Hydrothermal carbonization process: Fundamentals, main parameter characteristics and possible applications including an effective method of SARS-CoV-2 mitigation in sewage sludge: A review. *Renew Sustain Energy Rev.* 154, 111873. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2021.111873>
  - D.C. Su, & Wong, J.C.W. (2003). Chemical speciation and phytoavailability of Zn, Cu, Ni and Cd in soil amended with fly ash-stabilized sewage sludge. *Environment International* 29, 895-900. [https://doi.org/10.1016/S0160-4120\(03\)00052-7](https://doi.org/10.1016/S0160-4120(03)00052-7)
  - Ding, A., Zhang, R., Ngo, H. H., He, X., Ma, J., Nan, J., & Li, G. (2021). Life cycle assessment of sewage sludge treatment and disposal based on nutrient and energy recovery: A review. *Science of the Total Environment*, 769. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.144451>
  - Du, J., Li, H., Xu, S., Zhou, Q., Jin, M., Tang, J. (2019). A review of organophosphorus flame retardants (OPFRs): occurrence, bioaccumulation, toxicity, and organism exposure. *Environmental Science and Pollution Research* 22, 22126-22136. doi: 10.1007/s11356-019-05669-y
  - Fan, Z. & Lin, L. (2011). Exposure Science: Contaminant Mixtures. *Encyclopedia of Environmental Health*, 645–656
  - Fang, J., Gao, B., Chen, J., & Zimmerman, A. R. (2015). Hydrochars derived from plant biomass under various conditions: Characterization and potential applications and impacts. *Chemical Engineering Journal* 267, 253-259. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2015.01.026>
  - Fest, C. & Schmidt, K.J. (1982). *The Chemistry of Organophosphorus Pesticides*. Springer, Berlin, Heidelberg. doi: <https://doi.org/10.1007/978-3-642-68441-8>
  - Fijalkowski, K., Rorat, A., Grobelak, A., & Kacprzak, M. J. (2017). The presence of contaminations in sewage sludge – The current situation. *Journal of Environmental Management*, 203, 1126-1136. <https://doi.org/10.1016/J.JENVMAN.2017.05.068>
  - Gai, C., Zhang, F., Guo, Y., Peng, N., Liu, T., Lang, Q., Xia, Y., & Liu, Z. (2017). Hydrochar-Supported, in Situ-Generated Nickel Nanoparticles for Sorption-Enhanced Catalytic Gasification of Sewage Sludge. *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*, 5(9), 7613–7622. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.7b00924>
  - Gao, D. W. & Wen, Z. D. (2016). Phthalate esters in the environment: A critical review of their occurrence, biodegradation, and removal during wastewater treatment processes.

Science of The Total Environment 541, 986–1001.  
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.09.148>

- Gerardi, M.H. (2003). *The Microbiology of Anaerobic Digesters*. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken. <http://dx.doi.org/10.1002/0471468967>
- Gossen, B. D., Kasinathan, H., Deora, A., Peng, G., & McDonald, M. R. (2016). Effect of soil type, organic matter content, bulk density and saturation on clubroot severity and biofungicide efficacy. *Plant Pathology*, 65, 1238-1245. <https://doi.org/10.1111/PPA.12510>
- Grady C.P. Leslie, Daigger Glen T. & Lim H.C. (1999). *Biological wastewater treatment*. Environmental science and pollution control series, New York.
- Gruter, H., Matter, M., Oehlmann, K.D., & Hicks, M.D. (1990). Drying of Sewage Sludge – An Important Step in Waste Disposal. *Water Science and Technology* 22, 57-63. <https://doi.org/10.2166/wst.1990.0100>
- Gupta, R. C. & Milatovic, D. (2014). Insecticides. *Biomarkers in Toxicology*, 389-407
- Heel, R. C., Brogden, R. N., Parkes, G. E., Speight, T. M., & Avery, G. S. (1980). Miconazole: a preliminary review of its therapeutic efficacy in systemic fungal infections. *Drugs* 19, 7-30. doi: 10.2165/00003495-198019010-00002
- Hela, D. G., Konstantinou, I. K., Sakellarides, T. M., Lambropoulou, D. A., Akriotis, T. & Albanis, T. A. (2006). Persistent organochlorine contaminants in liver and fat of birds of prey from Greece. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 50, 603-613. doi: 10.1007/s00244-005-0101-0
- Herrero, P., Borrull, F., Pocurull, E., & Marcé, R. M. (2014). A quick, easy, cheap, effective, rugged and safe extraction method followed by liquid chromatography-(Orbitrap) high resolution mass spectrometry to determine benzotriazole, benzothiazole and benzenesulfonamide derivatives in sewage sludge. *Journal of Chromatography A*, 1339, 34–41. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2014.02.081>
- Hodges, C. (2009). European Union Legislation. *The ANNALS of the American Academy of Political and Social Science*, 622, 78-85. <https://doi.org/10.1177/0002716208328287CEC>
- Hu, Q., Noll, R. J., Li, H., Makarov, A., Hardman, M. & Cooks, R. G. (2005). The Orbitrap: A new mass spectrometer. *Journal of Mass Spectrometry* 40, 430-443. <https://doi.org/10.1002/JMS.856>
- Hu, Q., Noll, R.J., Li, H., Makarov, A., Hardman, M., Cooks, R.G., Hardman, M., Cooks, R.G. (2005) “The Orbitrap: a new mass spectrometer.” *J Mass Spectrom* 40:430–443. doi: 10.1002/jms.856
- Hu, M., Ye, Z., Zhang, H., Chen, B., Pan, Z. & Wang, J. (2021). Thermochemical conversion of sewage sludge for energy and resource recovery: technical challenges and prospects. *Environmental Pollutants and Bioavailability* 33, 145-163. <https://doi.org/10.1080/26395940.2021.1947159>
- Huang, Q., Yu, Y., Tang, C. & Peng, X. (2010). Determination of commonly used azole antifungals in various waters and sewage sludge using ultra-high performance liquid chromatography - tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography* 21, 3481-3488. doi: 10.1016/j.chroma.2010.03.022

- Hue, N.V., Ranjith, S.A. (1994). Sewage sludges in Hawaii: chemical composition and reactions with soils and plants. *Water Air Soil Pollut.*72, 265-283. <https://doi.org/10.1007/BF01257129>
- Iakovides, M., Apostolaki, M. & Stephanou, E. G. (2021). PAHs, PCBs and organochlorine pesticides in the atmosphere of Eastern Mediterranean: Investigation of their occurrence, sources and gas-particle partitioning in relation to air mass transport pathways. Volume 244, 117931. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2020.117931>
- Iancu, V. I., & Radu, G. L. (2018). Occurrence of neonicotinoids in waste water from the Bucharest treatment plant. *Analytical Methods* 23, 2691-2700. <https://doi.org/10.1039/C8AY00510A>
- Iwahori, K., & Honda, S. (2003). Treatment of Sewage Sludge by Cold Circulation Freeze-Drying Equipment - With a View to Recovering Biomass Resources. *Doboku Gakkai Ronbunshu*, 2003, 167-174. doi: 10.2208/jscej.2003.734\_167
- Jiang C, Dong D, Yu B, Cai G, Wang X, Ji Y, Peng Y. (2013). Mechanisms of azole resistance in 52 clinical isolates of *Candida tropicalis* in China. *J Antimicrob Chemother.* 2013 Apr;68(4):778-85. doi: 10.1093/jac/dks481.
- Johansson, Ö., Pamidi, T.R., Khoshkhou, M., & Sandström, Å. (2017). Sustainable and energy efficient leaching of tungsten(W) by ultrasound controlled cavitation. Department of Civil, Environmental and Natural Resources Engineering, Lulea University of Technology, Luleå, Sweden
- Jørgen Vikelsøe, Marianne Thomsen, Lars Carlsen, (2002). Phthalates and nonylphenols in profiles of differently dressed soils, *Science of The Total Environment*296, 105-116, [https://doi.org/10.1016/S0048-9697\(02\)00063-3](https://doi.org/10.1016/S0048-9697(02)00063-3)
- Jørgensen, L.N., and Heick, T. M. (2021). Azole use in agriculture, horticulture, and wood preservation—is it indispensable? *Front Cell Infect Microbiol*11, 1–16
- Jungnickel, C., Stock, F., Brandsch, T., and Ranke, J.(2008).Risk assessment of biocides in roof paint: part 1: experimental determination and modelling of biocide leaching from roof paint. *Environ Sci Pollut Res* 15, 258–265
- Kacprzak, M., Neczaj, E., Fijałkowski, K., Grobelak, A., Grosser, A., Worwag, M., Rorat, A., Brattebo, H., Almås, Å., & Singh, B. R. (2017). Sewage sludge disposal strategies for sustainable development. *Environmental Research* 156, 39-46. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2017.03.010>
- Katsumata, Y. & Ishii A. (2005). Diazine and triazine herbicides. doi: 10.1007/3-540-27579-7\_65
- Knezevic, Z., Mavinic, D. S., & Anderson, B. C. (1995). Pilot Scale Evaluation of Anaerobic Codigestion of Primary and Pretreated Waste Activated Sludge. *Water Environment Research* 67, 835-841. <http://www.jstor.org/stable/25044627>
- Lambropoulou, D., Hela, D., Koltsakidou, A., Konstantinou, I., Lambropoulou, D., Koltsakidou, A., Hela, D. & Konstantinou, I. (2015). Overview of the Pesticide Residues in Greek Rivers: Occurrence and Environmental Risk Assessment. *The Rivers of Greece. The Handbook of Environmental Chemistry*, vol 59. Springer, Berlin, Heidelberg. [https://doi.org/10.1007/698\\_2015\\_428](https://doi.org/10.1007/698_2015_428)

- Liao, B.Q., Allen, D.G., Leppard, G.G., Droppo, I.G., Liss S.N. (2002) Interparticle interactions affecting the stability of sludge flocs. *Journal of Colloid and Interface Science* 249, 372-380. <https://doi.org/10.1006/jcis.2002.8305>
- Lillenbergh, M. (2011). Residues of some Pharmaceuticals in Sewage Sludge in Estonia, their Stability in the Environment and Accumulation into Food Plants via Fertilizing. PhD Thesis, Estonian University of Life Sciences
- Logan, T. J., & Harrison, B. J. (1995). Physical Characteristics of Alkaline Stabilized Sewage Sludge (N-Viro Soil) and Their Effects on Soil Physical Properties. *Journal of Environmental Quality* 24, 153-164. <https://doi.org/10.2134/jeq1995.00472425002400010022x>
- Lucian, M., Volpe, M., Gao, L., Piro, G., Goldfarb, J. L., & Fiori, L. (2018). Impact of hydrothermal carbonization conditions on the formation of hydrochars and secondary chars from the organic fraction of municipal solid waste. *Fuel* 233, 257-268
- Masiá, A., Moliner-Martinez, Y., Muñoz-Ortuño, M., Pico, Y. & Campíns-Falcó, P. (2013). Multiresidue analysis of organic pollutants by in-tube solid phase microextraction coupled to ultra-high performance liquid chromatography–electrospray-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1306, 1-11. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2013.07.019>
- Masiá, A., Vázquez, K., Campo, J., and Picó, Y., (2015). Assessment of two extraction methods to determine pesticides in soils, sediments and sludges. Application to the Túrria River basin. *J Chromatogr A*, 1378, 19–31 <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2014.11.079>
- Mason C. A., Häner A. & Hamer G. (1992). Aerobic thermophilic waste sludge treatment. *Water Science and Technology* 25, 113-118. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(94\)90092-2](https://doi.org/10.1016/0043-1354(94)90092-2)
- Masoumi, S., Borugadda, V. B., Nanda, S., Dalai, A. K., Bartocci, P. & Taghavi, S. (2021). Hydrochar: A Review on Its Production Technologies and Applications. *Catalysts* 11, 939. <https://doi.org/10.3390/catal11080939>
- Metcalf & Eddy, Inc. (2011). *Wastewater engineering: treatment and reuse* (4th Ed), Boston, McGraw-Hill
- Metcalf & Eddy, Inc. an AECOM Company, Asano, T., Burton, F., Leverenz, H. (2007) *Water Reuse: Issues, Technologies, and Applications*. McGraw-Hill <https://www.accessengineeringlibrary.com/content/book/9780071459273>
- Mitchell, G., Beasley, J. E. (2011). *Optimisation of Sludge Treatment and Transport*. Vol. 62, 939-948. <https://www.jstor.org/stable/20868936>
- Mohan, D., Pittman, C. U., & Philip, S. (2017). Pyrolysis of Wood/Biomass for Bio-oil: A Critical Review Dinesh. *Progress in Energy and Combustion Science* 62, 848-889. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pecs.2017.05.004>
- Morais, S., Correia, M., Domingues, V. & Delerue-Matos, C. (2011). Urea Pesticides. *Pesticides - Strategies for Pesticides Analysis*. <https://doi.org/10.5772/565>
- Moser V.C., Padilla S, Simmons J.E., Haber L.T., Hertzberg R.C. (2012). Impact of chemical proportions on the acute neurotoxicity of a mixture of seven carbamates in preweanling and adult rats. *Toxicol Sci.* 129, 126-134. doi: 10.1093/toxsci/kfs190
- Muzamil Gani, K., Kumar Tyagi, V., Ahmad Kazmi, A. (2017). Occurrence of phthalates in aquatic environment and their removal during wastewater treatment processes: a review. *Environ Sci Pollut Res Int.* 21, 17267-17284. doi: 10.1007/s11356-017-9182-3

- Nannou, C. (2018). Modern analytical methods for the determination of pesticide and pharmaceutical residues in natural waters and sediments. Doctorate Thesis. Dept. of Chemistry, University of Ioannina, Greece. <https://www.didaktorika.gr/eadd/handle/10442/44795>
- Nannou, C. I., Boti, V. I., & Albanis, T. A. (2018). Trace analysis of pesticide residues in sediments using liquid chromatography–high-resolution Orbitrap mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 410 (7), 1977–1989. <https://doi.org/10.1007/s00216-018-0864-6>
- Net, S., Delmont, A., Sempéré, R., Paluselli, A. & Ouddane, B. (2015). Reliable quantification of phthalates in environmental matrices (air, water, sludge, sediment and soil): A review. *Science of The Total Environment*, 515–516, 162–180. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.02.013>
- Nizamuddin, S., Baloch, H.A., Siddiqui, M.T.H. et al. (2018). An overview of microwave hydrothermal carbonization and microwave pyrolysis of biomass. *Rev Environ Sci Biotechnol* 17, 813-837. <https://doi.org/10.1007/s11157-018-9476-z>
- Ødegaard, H. (1998). Optimized particle separation in the primary step of wastewater treatment. *Water Science and Technology* 37, 43-53. [https://doi.org/10.1016/S0273-1223\(98\)00297-2](https://doi.org/10.1016/S0273-1223(98)00297-2)
- Paijens, C., Bressy, A., Frère, B., and Moilleron, R.(2020). Biocide emissions from building materials during wet weather: identification of substances mechanism of release and transfer to the aquatic environment. *EnvironSci Pollut Res* 27, 3768–3791
- Pantelaki, I. & Voutsas, D. (2019). Organophosphate flame retardants (OPFRs): A review on analytical methods and occurrence in wastewater and aquatic environment. *Science of The Total Environment*, 649, 247-263. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.08.286>
- Peijnenburg, W. J. G. M. (2008). Phthalates. *Encyclopedia of Ecology, Five-Volume Set*, 2733–2738.
- Pérez, C., Boily, J. F., Jansson, S., Gustafsson, T., & Fick, J. (2021). Acid-Induced Phosphorus Release from Hydrothermally Carbonized Sewage Sludge. *Waste and Biomass Valorization*, 12, 6555-6568. doi: 10.1007/s12649-021-01463-5
- Perry P. & Wolff S. (1974). New Giemsa method for the differential staining of sister chromatids. *Nature* 251, 156-158 <https://doi.org/10.1038/251156a0>
- Riofrio, S. & Alexandra M. (2017): Extraction of Phorbol Esters (PEs) from Pinion cake using computationally-designed polymers as adsorbents for Solid Phase Extraction. Thesis, University of Leicester. <https://hdl.handle.net/2381/39147>
- S. Kumar. (2010). Hydrothermal Treatment for Biofuels: Lignocellulosic Biomass to Bioethanol, Biocrude, and Biochar. Auburn University. <http://hdl.handle.net/10415/2055>.
- Sabeen, A. H., Ngadi, N., Noor, Z. Z., Raheem, A. B., Agouillal, F., Mohammed, A. A. & Abdulkarim, B. I. (2018) Characteristics of the Effluent Wastewater in Sewage Treatment Plants of Malaysian Urban Areas, *Chemical Engineering Transactions*, 63, 691-696, <https://doi.org/10.3303/CET1863116>
- Sadaria, A. M., Halden, R., Fraser, M., Perreault, F. & Mascaro, G. (2017). Environmental Releases of Neonicotinoid and Fipronil Insecticides, U.S. Wastewater Infrastructure



- Santalad, A., Srijaranai, S., Burakham, R. et al (2009). Cloud-point extraction and reversed-phase high-performance liquid chromatography for the determination of carbamate insecticide residues in fruits. *Anal Bioanal Chem* 394, 1307-1317 <https://doi.org/10.1007/s00216-009-2663-6>
- Seifert, J. (2014). Neonicotinoids History of Neonicotinoid Development. Reference Module in Biomedical Sciences Encyclopedia of Toxicology (Third Edition), 477-482. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386454-3.00168-8>
- Sheng, G.P., Yu, H.Q., Yu, Z. (2005) Extraction of extracellular polymeric substances from the photosynthetic bacterium *Rhodospseudomonas Acidophila*. *Applied Microbiology and Biotechnology* 67, 125-130. <https://doi.org/10.1007/s00253-004-1704-5>
- Sporleder, M. & Lacey, L. A. (2013). Biopesticides. *Insect Pests of Potato*, 463–497
- Stamatelatos, K., Pakou, C. & Lyberatos, G. (2011). Occurrence, Toxicity, and Biodegradation of Selected Emerging Priority Pollutants in Municipal Sewage Sludge. *Comprehensive Biotechnology*, 421–432. doi: 10.1016/B978-0-08-088504-9.00496-7
- Staples, C. A., Peterson, D. R., Parkerton, T. F.,; Adams, W. J. (1997). The environmental fate of phthalate esters: A literature review. *Chemosphere*, 35, 667–749. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(97\)00195-1](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(97)00195-1)
- Sun, LP., Guo, XL., Zhang, Y. et al. (2009). Impact of pepsinogen C polymorphism on individual susceptibility to gastric cancer and its precancerous conditions in a Northeast Chinese population. *J Cancer Res Clin Oncol* 135, 1033–1039 <https://doi.org/10.1007/s00432-008-0539-3>
- Tambo, N., Kobayashi, M., Thebault, P., & Haubry, A. (1982). *Sludge Treatment and Disposal*. Vol 1, doi: 10.2166/9781780402130
- Tchounwou, P.B., Wilson B., Ishaque A., Ransome R., Huang M.J. & Leszczynski J. (2000). Toxicity Assessment of Atrazine and Related Triazine Compounds in the Microtox Assay, and Computational Modeling for Their Structure-Activity Relationship. *International Journal of Molecular Sciences* 1, 63-74. <https://doi.org/10.3390/ijms1040063>
- Torres-Palma, R. A., & Serna-Galvis, E. A. (2018). Sonolysis. *Advanced Oxidation Processes for Wastewater Treatment: Emerging Green Chemical Technology*, 177-213
- Tosi S., Burgio G., Nieh J. C. (2017). A common neonicotinoid pesticide, thiamethoxam, impairs honey bee flight ability. *Sci. Rep.* 7:1201. doi:10.1038/s41598-017-01361-8
- Tuan Tran, H., Lin, C., Bui, X. T., Ky Nguyen, M., Dan Thanh Cao, N., Mukhtar, H., Giang Hoang, H., Varjani, S., Hao Ngo, H., & Nghiem, L. D. (2022). Phthalates in the environment: characteristics, fate and transport, and advanced wastewater treatment technologies. *Bioresource Technology*, 344, 126249. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.126249>
- Turovskiy, I. S., & Mathai, P. K. (2006). *Wastewater Sludge Processing* (Issue 978), Wiley. <https://www.wiley.com/en-us/Wastewater+Sludge+Processing-p-9780471700548>
- Uçaroğlu, S, & Alkan, U. (2016). Composting of wastewater treatment sludge with different bulking agents. *J Air Waste Manag Assoc.* 66, 288-295. doi: 10.1080/10962247.2015.1131205
- van der Veen, I., de Boer, J. (2012). Phosphorus flame retardants: Properties, production, environmental occurrence, toxicity and analysis. *Chemosphere* 88, 1119-1153. doi: 10.1016/j.chemosphere.2012.03.067

- Yuan, H. ping, Cheng, X. bo, Chen, S. ping, Zhu, N. wen, & Zhou, Z. ying. (2011). New sludge pretreatment method to improve dewaterability of waste activated sludge. *Bioresource Technology* 102, 5659-5664. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2011.02.076>
- Zessner, M. & Nowak, O. (1999). Considerations on the quality of sewage sludge for agricultural use. Preprint, IAWQ Specialised Conference on Disposal and Utilisation of Sewage Sludge, 13-15
- Zhai, Y., Liu, X., Zhu, Y., Peng, C., Wang, T., Zhu, L., Li, C.,; Zeng, G. (2016). Hydrothermal carbonization of sewage sludge: The effect of feed-water pH on fate and risk of heavy metals in hydrochars. *Bioresource Technology*, 218, 183–188. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.06.085>
- Zhang J, Qi S, Xing X, Tan L, Gong X, Zhang Y, Zheng J (2011). Organochlorinated pesticides in soils and sediments, Southwest China: a case study in Xinghua, Bay. *Marine Pollution Bulletin* 62, 1270-1275. doi: 10.1016/j.marpolbul.2011.03.010
- Zhang, D., Li, S., Zhu, F., Li, C., Xu, Y., Qing, D. & Wang, J. (2020). The influence of an upgrade on the reduction of organophosphate flame retardants in a wastewater treatment plant. *Chemosphere*, 256, 126895. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126895>
- Zolfaghari, M., Drogui, P., Seyhi, B., Brar, S.K., Buelna, G., Dubé, R. (2014). Occurrence, fate and effects of Di (2-ethylhexyl) phthalate in wastewater treatment plants: A review. *Environmental Pollution* 194, 281-293

## Ελληνική Βιβλιογραφία

- Αγγελάκης Α., Βούρβαχη Κ., Διαβάτης Η., Ευμορφοπούλου Α., Κάρτσωνας Ν., Μαμάης Δ., Μποσδογιάννη Α. & Στάμου Α. (2005). Εναλλακτικοί τρόποι διαχείρισης των παραπροϊόντων από εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων, Τεχνικό Επιμελητήριο Ελλάδος (ΤΕΕ), Αθήνα.
- Γκλαβίδου Τ. (2018). Υγρή Χρωματογραφία και Φασματομετρία Μάζας. Βασικές Αρχές, Οργανολογία και Εφαρμογές σε περιβαλλοντικές αναλύσεις. Μεταπτυχιακή διατριβή, Σχολή Θετικών Επιστημών και Τεχνολογίας, Πάτρα
- Κατσιμαντού Κ. (2007). Ξήρανση ιλύος αστικών και βιομηχανικών αποβλήτων με τη βοήθεια της ηλιακής ενέργειας, Μεταπτυχιακή διατριβή, Πολυτεχνική Σχολή, Τμήμα Πολιτικών Μηχανικών, Θεσσαλονίκη
- Κούστα Δ. (2015). Σχεδιασμός καθίζησης για επεξεργασία λυμάτων, πτυχιακή εργασία, Σχολή Τεχνολογικών Εφαρμογών, Πάτρα
- Λέκκα Α,Θ. (2013). Επεξεργασία υγρών αποβλήτων- περιγραφή και λειτουργία μονάδας επεξεργασίας λυμάτων Ιωαννίνων, Πτυχιακή εργασία, Σχολή Τεχνολογικών Εφαρμογών, τμήμα Μηχανολογίας, Ηράκλειο.
- Μάνδρα Β. (2015). Μοντελοποίηση πολυπαραμετρικών δεδομένων για την αποκωδικοποίηση θετικού σήματος που παράγεται με ηλεκτροψεκασμό σε τετραπολικό αναλυτή, Μεταπτυχιακή διατριβή, Τμήμα Φαρμακευτικής, Θεσσαλονίκη
- Μάντζος Ν. (2015). Μελέτη της ανθεκτικότητας και μεταφοράς επιλεγμένων παρασιτοκτόνων στο σύστημα έδαφος-νερό σε πειραματικές καλλιέργειες ενεργειακών φυτών. Διδακτορική διατριβή, Τμήμα Διαχείρισης Περιβάλλοντος και Φυσικών Πόρων, Πανεπιστήμιο Πατρών, Αγρίνιο

- Μαρκαντωνάτος, Γ. (1990) Επεξεργασία και διάθεση υγρών αποβλήτων, Εκδόσεις Γαρταγάνης
- Νταράκας Ε. (2010). Διεργασίες επεξεργασίας υγρών αποβλήτων. Τμήμα Πολιτικών Μηχανικών, Θεσσαλονίκη
- Σαμπαλιώτη Δ. (2010). Σταθεροποίηση της ενεργού ιλύος με τη χρήση αλκαλικών μέσων, Πτυχιακή εργασία, Σχολή Τεχνολογία Τροφίμων & Διατροφής, Τμήμα Τεχνολογίας Τροφίμων, Θεσσαλονίκη
- Στάμος, Α. & Βογιατζής, Ζ. (1994). Βασικές αρχές και σχεδιασμού Συστημάτων Επεξεργασίας Αποβλήτων, ΤΕΕ, έκδοση 2η.
- Τσώνης, Π. Σ. (2004). Επεξεργασία Λυμάτων, Εκδόσεις Παπασωτηρίου
- Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων, Γενική Διεύθυνση Γεωργικών Εφαρμογών και Έρευνας & Διεύθυνση Χωροταξίας και Προστασίας Περιβάλλοντος. (2008). Εγχειρίδιο Ορθής Γεωργικής Πρακτικής Για Την Ενδεδειγμένη Αξιοποίηση Της Ιλύος Των Αστικών Λυμάτων, Αθήνα
- Φίλιππας Α. (2009). Διαχείριση Ιλύων Από Εγκαταστάσεις Επεξεργασίας Λυμάτων Στην Ευρώπη Με Έμφαση Στην Ελλάδα. Μεταπτυχιακή διατριβή, Δ.Π.Μ.Σ. Περιβάλλον και Ανάπτυξη, Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο, Αθήνα