



ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ

Ανάπτυξη Μεθόδων Φασματομετρίας Μάζας για τον προσδιορισμό Αναδυόμενων Ρύπων σε υγρά απόβλητα

Διδακτορική διατριβή

Μπλέτσου Άννα

Αθήνα,
30/09/2015

Σχεδιάγραμμα παρουσίασης

- ❖ Εισαγωγή στους Αναδυόμενους Ρύπους
& στις Αναλυτικές τεχνικές βασισμένες στη Φασματομετρία Μάζας
- ❖ Σκοπός της διατριβής & Επιμέρους Στόχοι
- ❖ Πειραματικό Μέρος
 - ❖ Προσδιορισμός σιλοξανίων με GC-MS
 - ❖ Στοχευμένη παρακολούθηση (Target Screening) αναδυόμενων ρύπων με LC-QToF-HRMS/MS
 - ❖ Παρακολούθηση ύποπτων ενώσεων και μεταβολιτών (Suspect Screening) με LC-QToF-HRMS/MS
- ❖ Συμπεράσματα

Αναδυόμενοι Ρύποι (Emerging Pollutants, EPs)

- Φυτοφάρμακα
- Φαρμακευτικές ενώσεις
- Παρανόμως διακινούμενες εξαρτησιογόνες ουσίες
- Προϊόντα προσωπικής φροντίδας
- Στεροειδή
- Συνθετικά γλυκαντικά
- Διαταράκτες ενδοκρινικού συστήματος
- Επιβραδυντές φλόγας
- Πρόσθετα τροφίμων
- Σιλοξάνια
- Παραπροϊόντα απολύμανσης

+

Μεταβολίτες &

Προϊόντα (βιο)μετατροπής
(Transformation Products, TPs)



Αναδυόμενοι Ρύποι (Emerging Pollutants, EPs)

Αστικές Δραστηριότητες



Βιομηχανία



Αγροτικές Δραστηριότητες



...καταλήγουν στο υδάτινο περιβάλλον

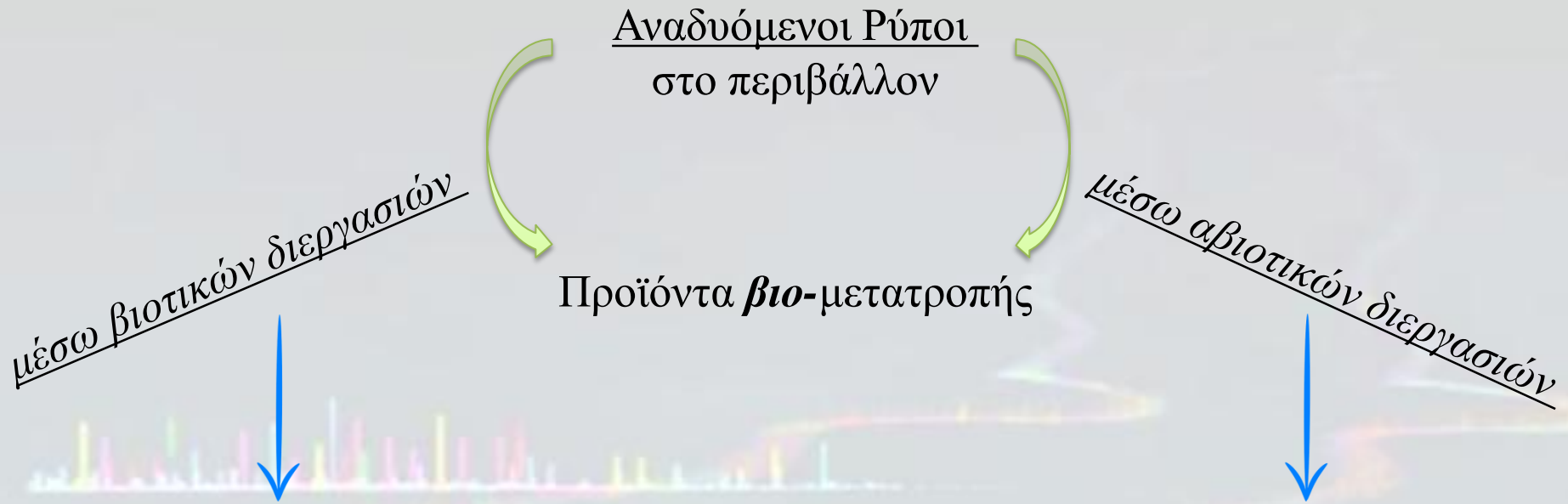


Ενώσεις & Μεταβολίτες που:

- δεν καλύπτονται από υπάρχουσες νομοθεσίες σχετικά με τη ποιότητα του νερού,
- δεν έχουν πλήρως μελετηθεί &
- μπορεί να αποτελέσουν πιθανή απειλή για το οικοσύστημα ή τον άνθρωπο.

- ✓ Δεν περιλαμβάνονται σε περιβαλλοντικούς ελέγχους ρουτίνας
- ✓ Υποψήφιος ενώσεις για τη νομοθεσία

Προϊόντα Μετατροπής (Transformation Products, TPs)



- Μεταβολίτες από τον άνθρωπο, από ζώα και μικρόβια/μικροοργανισμούς

Ενζυματικές αντιδράσεις
(οξείδωση, αναγωγή, σύζευξη)

- Προϊόντα μετατροπής σε φυσικό περιβάλλον, όπως υδρόλυση, φωτόλυση και φωτοκατάλυση
- Προϊόντα διεργασιών επεξεργασίας λυμάτων όπως χλωρίωση, οζονόλυση και προηγμένες επεξεργασίες οξείδωσης.

Το Αναλυτικό Πρόβλημα

I. Μεγάλος αριθμός αναδυόμενων ρύπων, με τελείως διαφορετικές φυσικοχημικές ιδιότητες, που ανήκουν σε διαφορετικές ομάδες ενώσεων.



II. Ένα σημαντικό μέρος των αναδυόμενων ρύπων παραμένει άγνωστο.



Γνωστοί
Αναδυόμενοι
Ρύποι

“Σύμπαν”
Οργανικού
φορτίου

III. ‘Ο,τι μπορεί να μετρηθεί, δε σημαίνει οτι αξίζει να μετρηθεί & ότι αξίζει να μετρηθεί, δεν είναι σίγουρο ότι μπορεί να μετρηθεί.

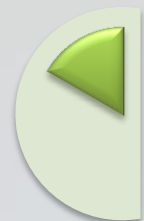
“Not everything that can be measured is worth measuring, and not everything worth measuring is measurable” (Daughton, 2004)

IV. Πληθώρα αναλυτικών τεχνικών για το προσδιορισμό ενώσεων – Συνεχείς εξελίξεις στα Φασματομέτρα Μαζών (MS)

problem
analysis
solution

A hand holding a magnifying glass over the word 'analysis' in the text above.

Προσδιορισμός Αναδυόμενων Ρύπων



Στοχευμένη
Ανάλυση –

Target Analysis

- ▶ Γνωστές ενώσεις- στόχοι
- ▶ Διαθέσιμα πρότυπα αναφοράς
- ✓ LC-QqQ-MS/MS
- ✓ Τεχνική SRM (Single Reaction Monitoring)
- ✓ HRMS/MS (Full Scan)



Παρακολούθηση
“ύποπτων”
ενώσεων –

Suspect Screening

- ▶ Δημιουργία λίστας EPs και TPs από τη βιβλιογραφία και από υπολογιστικά μοντέλα πρόβλεψης παραπροϊόντων
- ✓ HRMS/MS
- ✓ Συγκεκριμένη πορεία βημάτων (workflow) για την ταυτοποίηση των “ύποπτων” ενώσεων



Μη- στοχευμένη
παρακολούθηση
ενώσεων –

Non-target Screening

- ▶ Ανίχνευση άγνωστων ενώσεων με τη βοήθεια λογισμικών και αναλυτικών τεχνικών
- ✓ HRMS/MS
- ✓ Συνδυασμός λογισμικών & workflows

Στόχοι της παρούσας έρευνας



Συνολικός Σκοπός

- ❖ Εμβάθυνση στις τεχνολογίες MS για το προσδιορισμό Αναδυόμενων Ρύπων
- ❖ Ανάπτυξη πορειών ανίχνευσης (workflows) για τον προσδιορισμό Αναδυόμενων Ρύπων
- ❖ Ανάλυση περιβαλλοντικών δειγμάτων από μια ολιστική οπτική γωνία

Επιμέρους Στόχοι – Πειραματικές Μελέτες

I. Προσδιορισμός Σιλοξανίων με GC-MS (τεχνική SIM)

II. Παρακολούθηση 2327 EPs με UPLC-QToF-HRMS (τεχνική bbCID)

III. Παρακολούθηση “ύποπτων” EPs (τεχνική AutoMS)

*Target
Analysis*

*Suspect
Screening*

Προσδιορισμός γραμμικών και κυκλικών Σιλοξανίων με
GC-MS σε περιβαλλοντικά δείγματα –
Εκτίμηση του φορτίου μάζας και της τύχης κατά τη
διάρκεια παραμονής τους σε Κέντρο Επεξεργασίας
Λυμάτων (Κ.Ε.Λ.) στην Ελλάδα



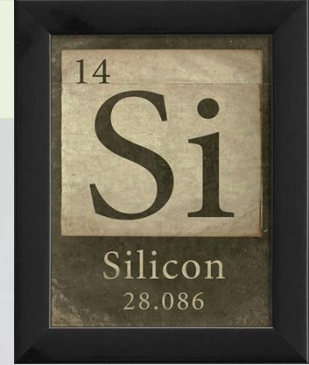
Δημοσιεύσεις:

A. A. Bletsou, A. G. Asimakopoulos, A. S. Stasinakis, N. S. Thomaidis, & K. Kannan, Mass Loading and Fate of Linear and Cyclic Siloxanes in a Wastewater Treatment Plant in Greece, *Environmental Science & Technology*, **2013**, 47 (4), pp 1824-1832.

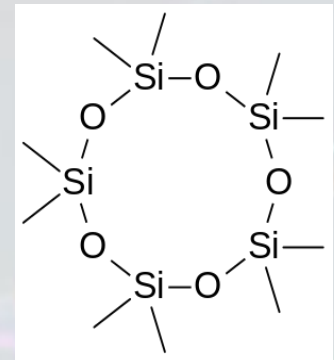
I. Σιλοξάνια

- Πολυμερικά μόρια οργανοπυριτίας
- [Si-O] ομάδες με οργανικές πλευρικές αλυσίδες
- Κυκλικά Σιλοξάνια
- Γραμμικά Σιλοξάνια
- “volatile methylsiloxanes” (VMS), Πτητικά Μεθυλοσιλοξάνια: έως 4 [Si-O] ομάδες
- Πολυμερικά διμεθυλοσιλοξάνια (polydimethylsiloxanes, PDMS)
 $\text{Me}_3\text{SiO}(\text{SiMe}_2\text{O})_n\text{SiMe}_3$ ($n = 5-6.000$)

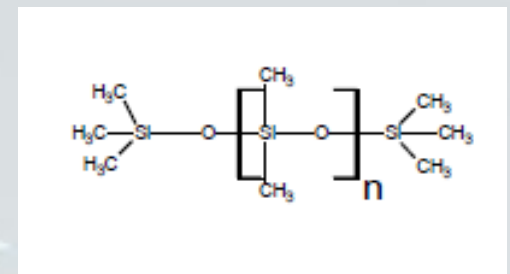
- ✓ Οι φυσικοχημικές ιδιότητες των σιλοξανίων ποικίλλουν ανάλογα με το μοριακό βάρος.
- ✓ Χαρακτηρίζονται από υψηλή σταθερότητα, βιοσυμβατότητα, επιφανειακή ενεργότητα και λιπαντικές ιδιότητες



D5



Ln



I. Σιλοξάνια

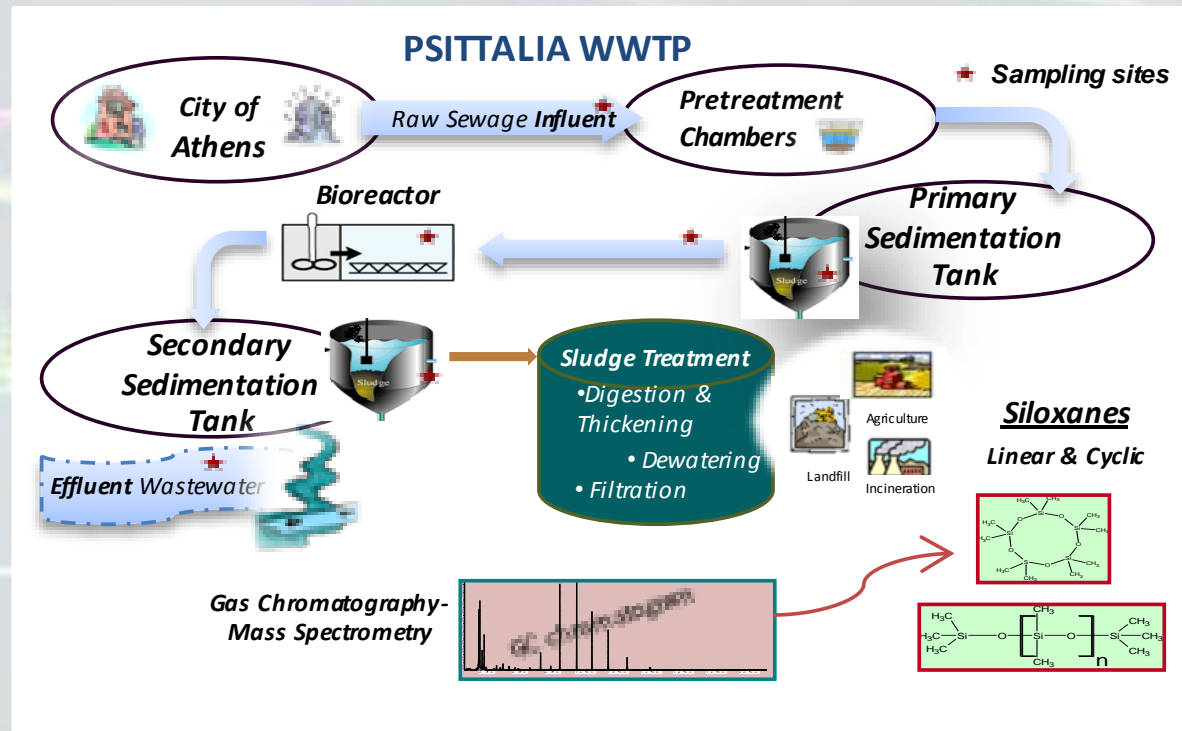
- ⇒ Βιομηχανικές εφαρμογές
- ⇒ Προϊόντα προσωπικής φροντίδας & καλλυντικά
- ⇒ Βιοϊατρικές συσκευές

Κίνδυνος επιμολύνσεων



Χαμηλή διαλυτότητα στο νερό
& υψηλό συντελεστή
προσρόφησης

→ Προσροφούνται στο
σωματιδιακό υλικό και στην
ενεργό ιλύ κατά τη διάρκεια της
επεξεργασίας αποβλήτων



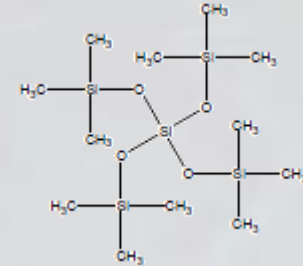
I. Πειραματικό μέρος

Αναλύτες: Κυκλικά Σιλοξάνια D3-D7

Γραμμικά Σιλοξάνια L3-L14

IS: M4Q (tetrakis(trimethylsiloxy)-silane)

D3-D6 &
L3-L6



Τόπος δειγματοληψίας: **Κ.Ε.Λ. Ψυττάλειας**

Περίοδος δειγματοληψίας: Απρίλιος 2012 (7 ημέρες)

Δείγματα: 24-ώρα εισερχόμενα και εξερχόμενα υγρά λύματα

Ενεργός ιλύ

Εισερχόμενα στο βιοαντιδραστήρα

Οργανολογία: Agilent 6890 gas chromatograph (GC)

Agilent 5973 mass spectrometer (MS)

Τριχοειδής στήλη: HP-5MS (30 m × 0,25 mm i.d.,

0,25 μm film thickness, Agilent)



I. Προκατεργασία δείγματος



Υγρά
λύματα

100 mL δείγματος

**Υγρό-υγρό
εκχύλιση**

50 mL
hexane

25 mL hexane:
dichloromethane (1:1)

25 mL hexane: ethyl
acetate (1:1)

Glass-Fiber filters
-18 °C



Λάσπη-
Σωματιδιακό υλικό



5 g υγρής λάσπης
Ξήρανση & Ομογενοποίηση



- ✓ 25 mL hexane
- ✓ 25 mL hexane:
dichloromethane (1:1)
(×2)

**Στερεό – υγρό
εκχύλιση**
(shaker table)

- ✓ 25 mL hexane: ethyl
acetate (1:1)



Περιστροφικός εξατμιστής (35 °C)
~3-5 mL

+ 0,5 mL keeper (isooctane)

Εξάτμιση υπό N₂

GC-MS analysis

I. Ανάλυση σιλοξανίων

- △ Αποφυγή teflon/silicone
- △ Αποφυγή προϊόντων περιποίησης κατά την ανάλυση
- △ Προσοχή κατά τη χρήση καθαριστικών για το καθαρισμό των σκευών
- △ Ανάλυση λευκών δειγμάτων για σταθεροποίηση θορύβου υποβάθρου στην αρχή της ανάλυσης
- △ Ανάλυση λευκών δειγμάτων κατά τη διάρκεια της ανάλυσης για έλεγχο επιμολύνσεων & carry-over



Επικύρωση

- **Καμπύλες βαθμονόμησης:** διαλύτη, εκχυλίσματα & εμβολιασμένα δείγματα (Milli-Q & λάσπη)
- **Επαναληψιμότητα & Αναπαραγωγιμότητα:** νερό & λάσπη (2 επίπεδα συγκέντρωσης)
- **Ανακτήσεις**
- Όριο ανίχνευσης (**LOD, S/N=3,3**) & όριο ποσοτικοποίησης (**LOQ, S/N=10**)

I. Ανάλυση σιλοζανίων

Απομακρύνσεις & Συντελεστές Κατανομής

$$I. \quad \text{Removal}(\%) = \frac{(M_{inf}) - (M_{eff})}{(M_{inf})} \times 100$$

M_{inf} : ροή μάζας αναλύτη σε ακατέργαστα λύματα

M_{eff} : ροή μάζας αναλύτη μετά από δευτεροβάθμια επεξεργασία

$$II. \quad W_{lost,STP} = (Q_{inf} \times C_{inf}) - (Q_{eff} \times C_{eff}) - (M_{dew.sludge} \times C_{dew.sludge})$$

$W_{lost,STP}$: μάζα φορτίου αναλύτη που χάθηκε κατά την επεξεργασία (μετατροπή)

$Q_{inf/eff}$: ροή μάζας αναλύτη ανά ημέρα ($\text{m}^3 \text{d}^{-1}$)

$C_{inf/eff}$: συγκέντρωση αναλύτη (διαλυτό και σωματιδιακό κλάσμα) (mg m^{-3})

$M_{dew.sludge}$: μάζα αφυδατωμένης λάσπης (kg dw d^{-1})

$C_{dew.sludge}$: συγκέντρωση αναλύτη σε αφυδατωμένη λάσπη ($\text{mg kg}^{-1} \text{dw}$)

$$III. \quad K_d = \frac{C_s}{C_w}$$

C_s : συγκέντρωση αναλύτη στο σωματιδιακό κλάσμα (ng kg^{-1})

C_w : συγκέντρωση αναλύτη στο διαλυτό κλάσμα (ng L^{-1})

* Εκτίμηση σε λάσπες από δεξαμενές πρωτοβάθμιας & δευτεροβάθμιας επεξεργασίας

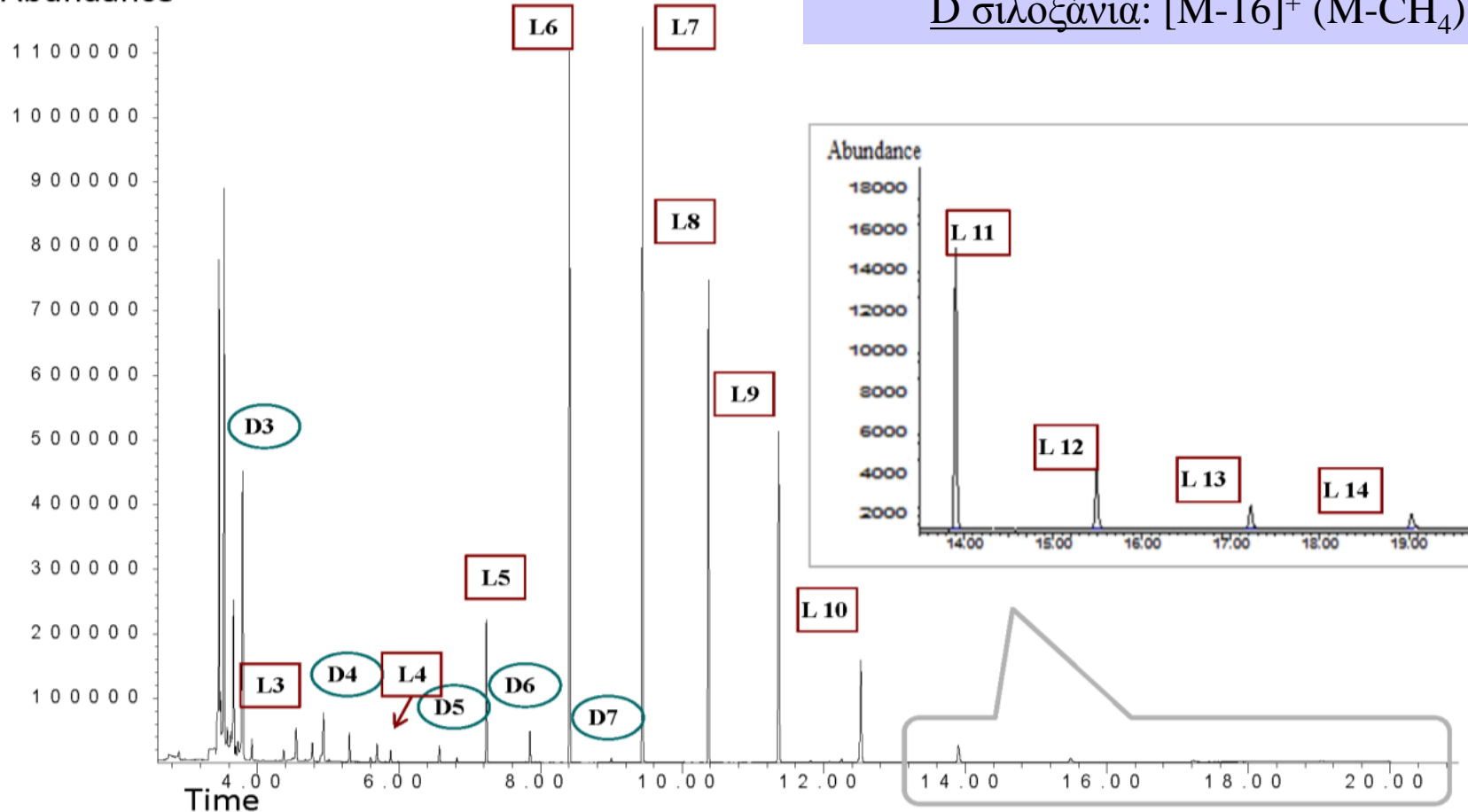
I. Ανάλυση σιλοξανίων (GC-MS)

Electron-impact ionization (EI)
SIM: selected ion monitoring
Splitless injection (200° C)

Fragmentation pattern

L σιλοξάνια με ≥ 7 Si: m/z 221, 117
 $[(CH_3)_3SiOSi(CH_3)_2Si(CH_3)_2]^+$ &
 $[(CH_3)_3SiOSi(CH_3)_2]^+$
D σιλοξάνια: $[M-16]^+$ ($M-CH_4$)

Abundance



I. Αποτελέσματα επικύρωσης

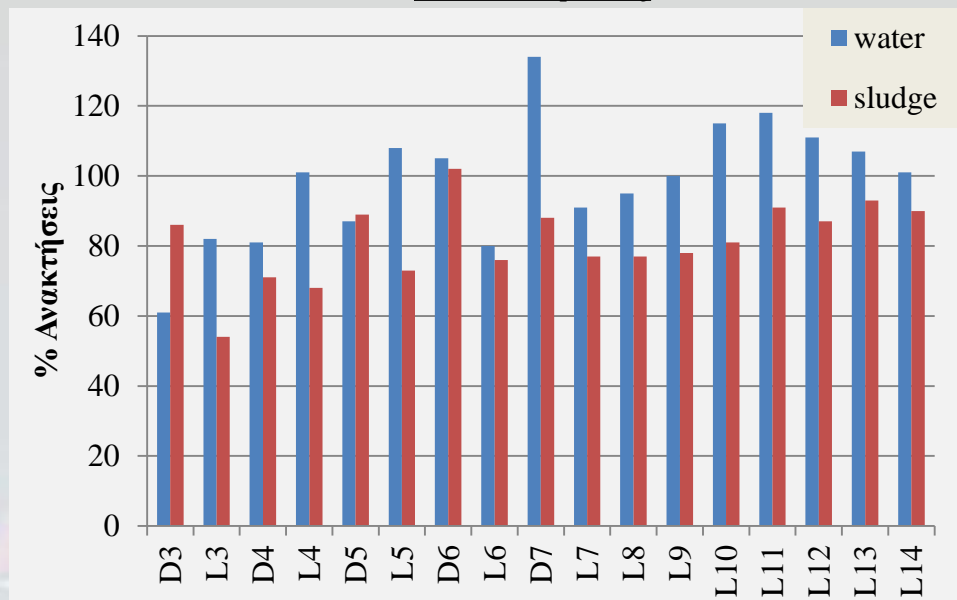
Γραμμικότητα

$r^2 > 0,99$ (νερό & λάσπη)

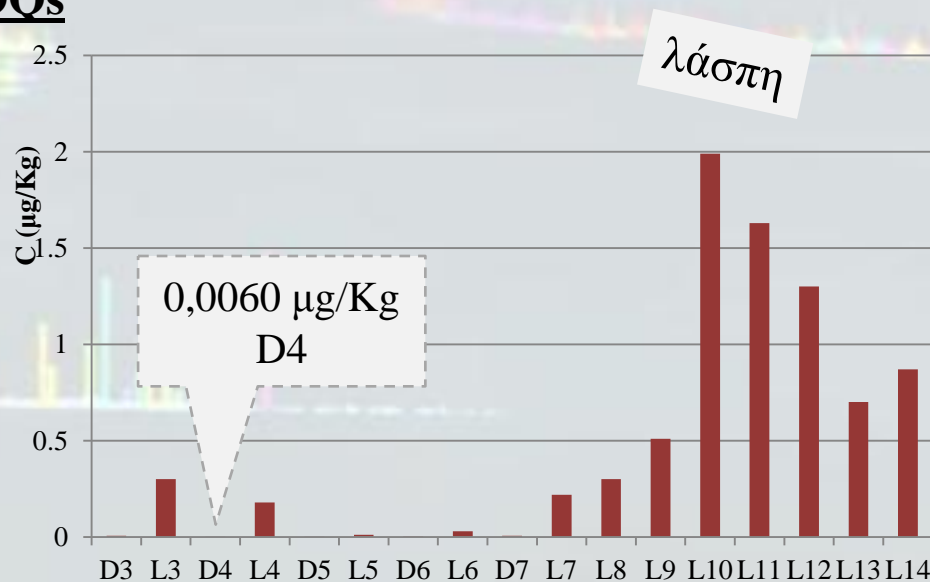
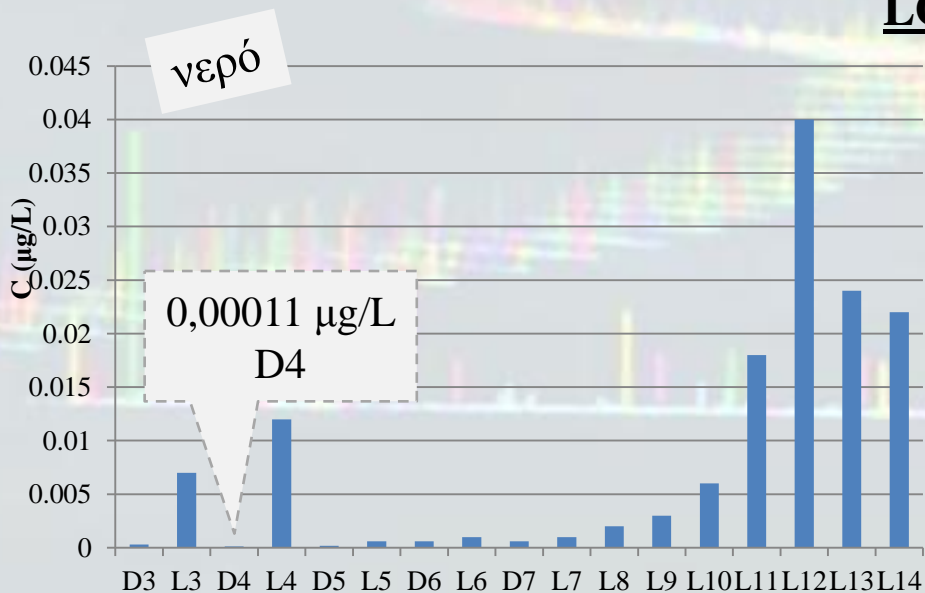
Επαναληψιμότητα & Αναπαραγωγιμότητα

RSD < 20% (νερό & λάσπη)

% Ανακτήσεις



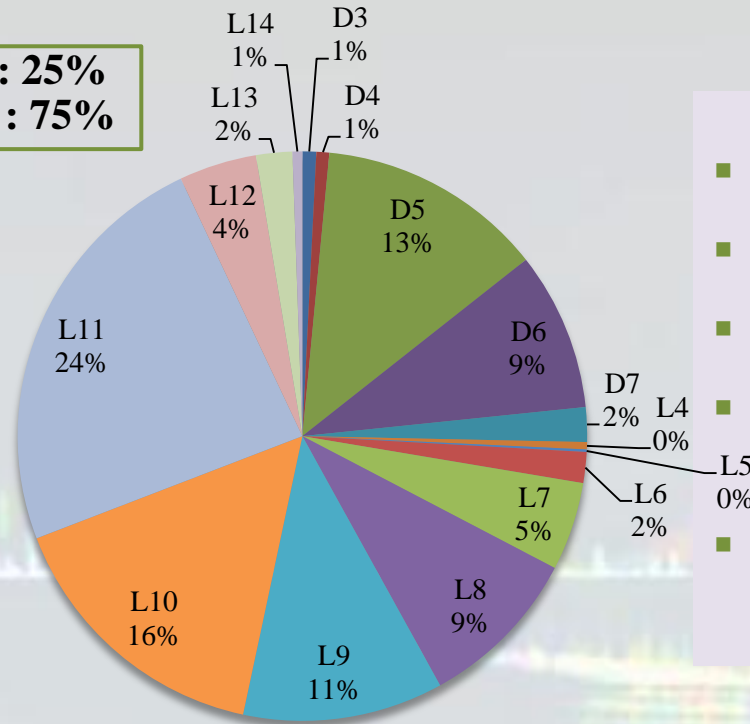
LOQs



I. Αποτελέσματα - λύματα

Εισερχόμενα

$\sum D3 - D7 : 25\%$
 $\sum L4 - L14 : 75\%$



- Ανίχνευση όλων εκτός D3
- Μέση συνολική συγκ.: 20,3 $\mu\text{g L}^{-1}$
- Μεγαλύτερη αφθονία: D5, D6, L9, L10 & L11
- Υψηλές συγκ. D5 & D6 σε συμφωνία με καταναλωτικό προφίλ στην Ευρώπη
- Κύρια πηγή στα ΚΕΛ: προϊόντα προσωπικής φροντίδας (D5, D6 & ΣΛ)

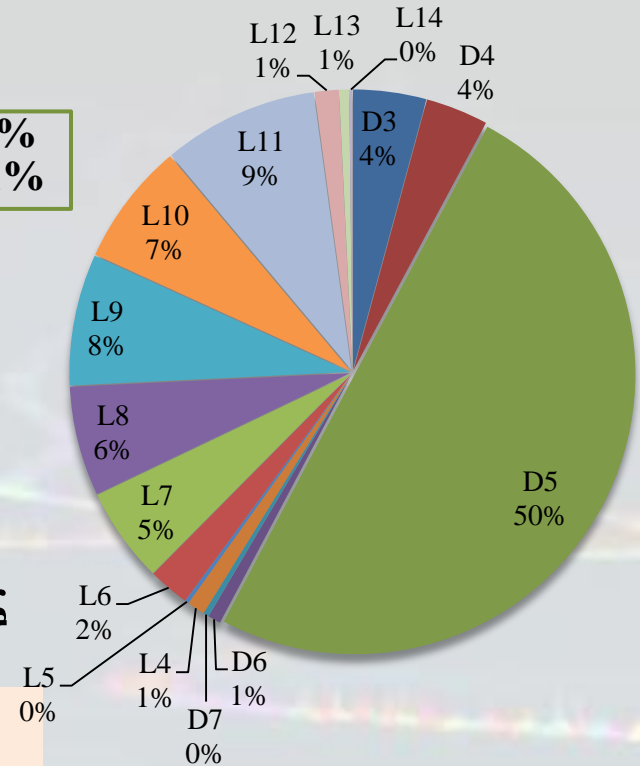
- Μέσο ημερήσιο φορτίο: 21,7 (L5) – 3.605 g d^{-1} (L11)
- 15,1 kg φτάνουν ημερησίως στο ΚΕΛ → 5,5 τόνοι ετησίως
- L11 & D5: 974 & 526 mg d^{-1} /1000 κάτοικοι
- Συνολικά ημερήσιο φορτίο ανά κάτοικο: 4,1 g /1000 κάτοικοι

I. Αποτελέσματα - λύματα

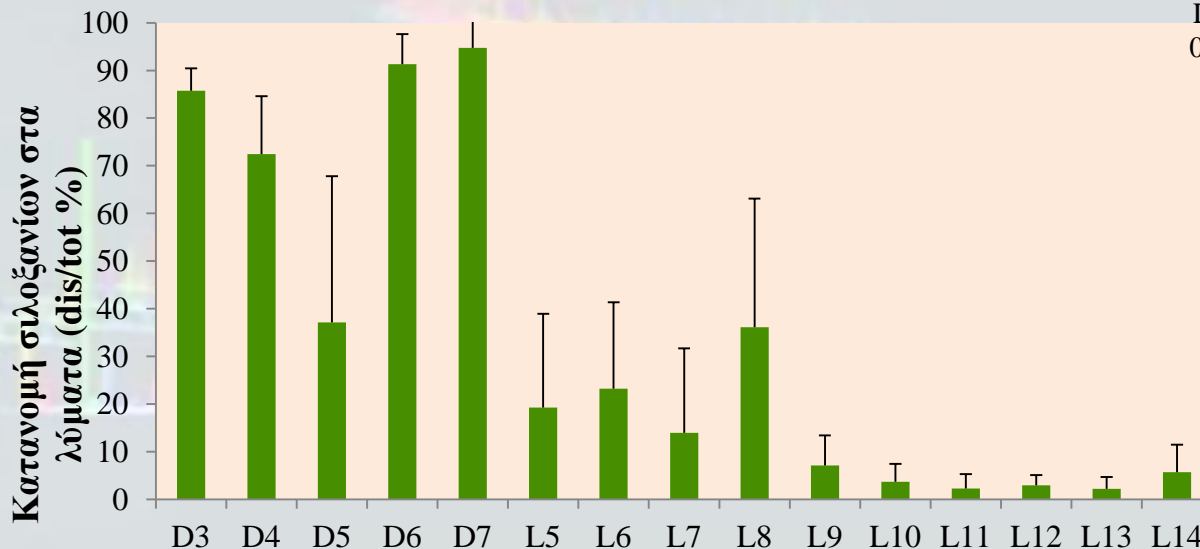
Εξερχόμενα

- Μέση συνολική συγκ.: 3,58 $\mu\text{g L}^{-1}$
- D-σιλοξάνια: μεγαλύτερη αφθονία
- Μέγιστη αφθονία: D5 1,79 $\mu\text{g L}^{-1}$
- Συγκ. L σιλοξανίων < 0,32 $\mu\text{g L}^{-1}$

$\sum \text{D3 - D7} : 59\%$
 $\sum \text{L4 - L14} : 41\%$



Κατανομή διαλυτού-σωματιδιακού κλάσματος



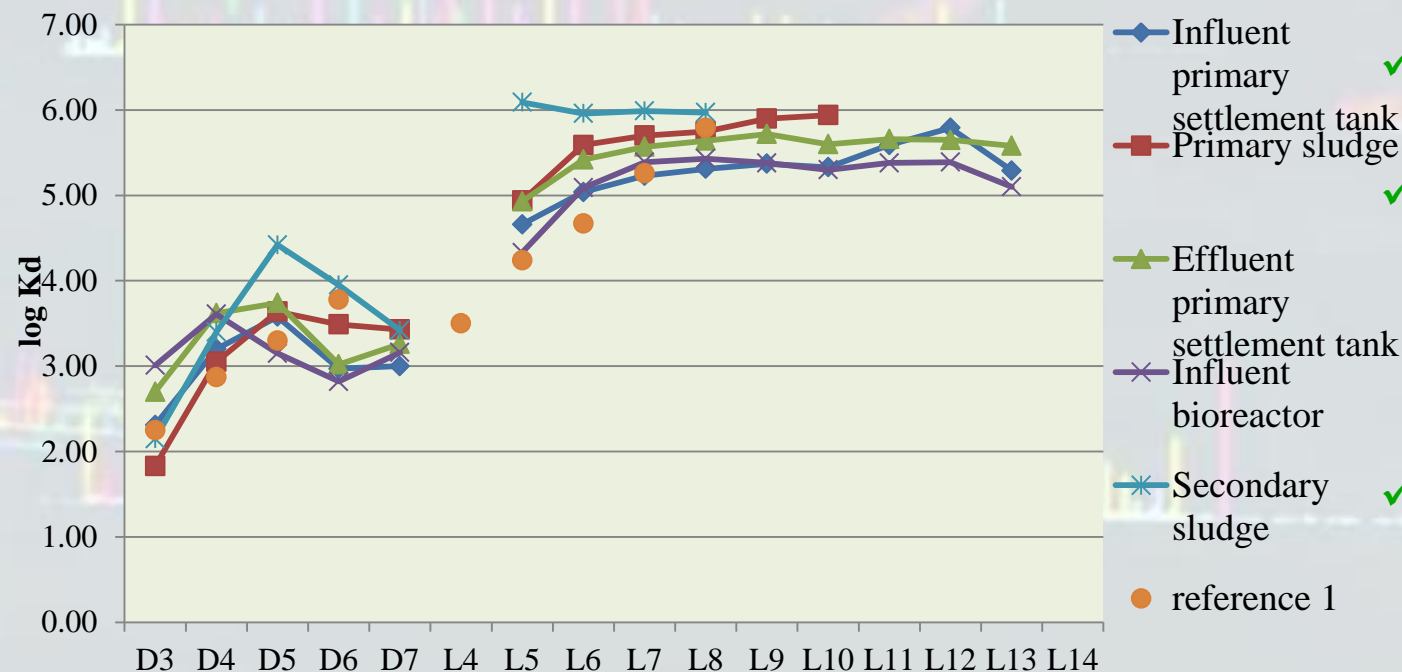
- ✓ D-σιλοξάνια: διαλυτό κλάσμα → μη σημαντική προσρόφηση
- ✓ L-σιλοξάνια: κατανομή ανάλογα με μορ. βάρος. Τείνουν προς το σωματιδιακό κλάσμα

I. Αποτελέσματα

Λάσπη

- Ανίχνευση όλων των σιλοξανίων (mg kg^{-1})
- Μέγιστη αφθονία: D5 (μ.ο.: $15,1 \text{ mg kg}^{-1}$)
- L-σιλοξάνια (L7 -L11): $6,5 - 11,3 \text{ mg kg}^{-1}$
- Μέση συνολική συγκ. 75 mg kg^{-1} (72% L)
- Φορτίο μάζας: $8,2 \text{ kg /ημέρα}$

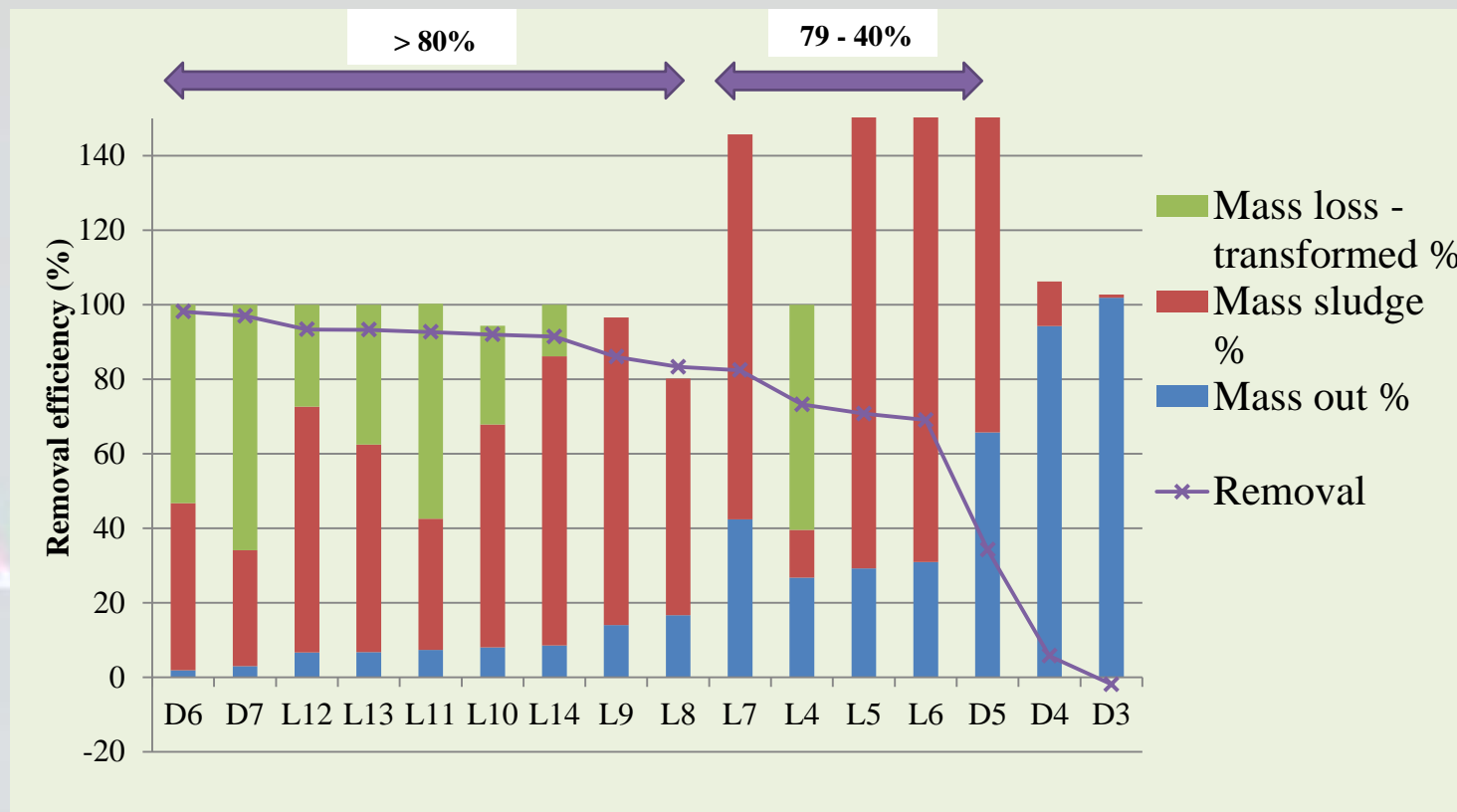
Συντελεστής κατανομής, k_d



- ✓ D-σιλοξάνια:
χαμηλότερες τιμές k_d
- ✓ L σιλοξάνια: ικανότητα προσρόφησης αυξάνεται με αύξηση αλυσίδας L5 - L9, & μειώνεται L10 - L14
- ✓ Οι τιμές διαφέρουν λίγο ανάμεσα στα 5 σημεία δειγματοληψίας

I. Αποτελέσματα

Απομάκρυνση & τύχη σιλοξανίων (fate)



Απομάκρυνση

- Προσρόφηση στη λάσπη → 68% σιλοξανίων
- Αποβολή σε εξερχόμενα → 29% σιλοξανίων
- Μικρό μέρος σιλοξανίων → εξάτμιση, διάσπαση, βιολογική μετατροπή

- Απομάκρυνση >50% για όλα τα σιλοζάνια εκτός D3, D4, D5
- 10/16 σιλοζάνια απομακρύνθηκαν >80%
- D3 αρνητική τιμή → πιθανή διάσπαση μεγαλύτερων σιλοξανίων
- L-σιλοζάνια → Μ.Ο. Απομάκρυνσης 84,3%

I. Συμπεράσματα

- ❖ 4,1 g σιλοξανίων/ ημέρα/1000 κατοίκους & ατελής απομάκρυνση κατά την επεξεργασία στα ΚΕΛ → πηγή σιλοξανίων στο περιβάλλον.
- ❖ D5: μεγαλύτερη αφθονία στα επεξεργασμένα λύματα & λάσπη ($1,79 \mu\text{g L}^{-1}$, $15,1 \text{ mg kg}^{-1}$).
- ❖ L-σιλοξάνια: 75% εισερχόμενα, 72% λάσπη, 41% εξερχόμενα.
- ❖ Οι συντελεστές κατανομής καθώς και ο μηχανισμός απομάκρυνσης των σιλοξανίων ποικίλει ανάλογα με τη χημική τους δομή.
- ❖ Προσρόφηση και συσσώρευση παρατηρείται έντονα στα L-σιλοξάνια.
- ❖ D5 ισοζύγιο μάζας: 66% εξερχόμενα – υψηλό φορτίο στη λάσπη → επιπλέον πηγή κατά τη επεξεργασία & χαμηλή βιοαποικοδόμηση.
- ❖ Μεγαλύτερα μόρια διασπώνται με σπάσιμο της αλυσίδας δημιουργώντας μικρά κυκλικά ή γραμμικά σιλοξάνια → υψηλό φορτίο στα εξερχόμενα λύματα σε L5, L6 & L7.
- ❖ D6- D7 βιοαποικοδομείται σε dimethylsilanediol (DMSD), το οποίο αποικοδομείται και εξατμίζεται απευθείας → Απώλειες κατά επεξεργασία.
- ❖ D3 - D4: δεν παρατηρούνται απώλειες. D3: ενδεχομένως δημιουργείται κατά την επεξεργασία.

Ποσοτική Στοχευμένη Παρακολούθηση 2327
Αναδυόμενων Ρύπων σε υγρά λύματα με UPLC-QToF-
HRMS/MS –
Target Screening με UPLC-QToF-HRMS/MS

Δημοσιεύσεις:

A. A. Bletsou, D. E. Damalas, P. Gago Ferrero, E. L. Schymanski, H. P. Singer, J. Hollender, N. S. Thomaidis, Wide-scope quantitative target screening of 2327 emerging contaminants in wastewater samples with UPLC-Q-ToF-HRMS/MS, in preparation, **2015.**

II. Αναδυόμενοι Ρύποι (EPs)

in-house βάση δεδομένων για 2327 EPs

- > 700 φυτοφάρμακα
- > 200 φαρμακευτικές ουσίες
- ~ 300 στεροειδή & αναβολικές ενώσεις
- ~ 100 ενώσεις βιομηχανικής παραγωγής & φυσικές ενώσεις
- ~ 300 μεταβολίτες & TPs

Σχεδιάγραμμα ροής



Περιβαλλοντικά
δείγματα

Προκατεργασία
δείγματος



LC-QTOF

UHPLC + Bruker QTOF



Επεξεργασία
δεδομένων

bbCID βάση δεδομένων

Ταυτοποίηση
Επιβεβαίωση
Ποσοτικοποίηση
Έκθεση & Παρουσίαση
αποτελεσμάτων

II. Δείγμα & Προκατεργασία δείγματος

Τόπος δειγματοληψίας: **Κ.Ε.Λ. Ψυττάλειας**

Περίοδος δειγματοληψίας: Μάρτιος 2014

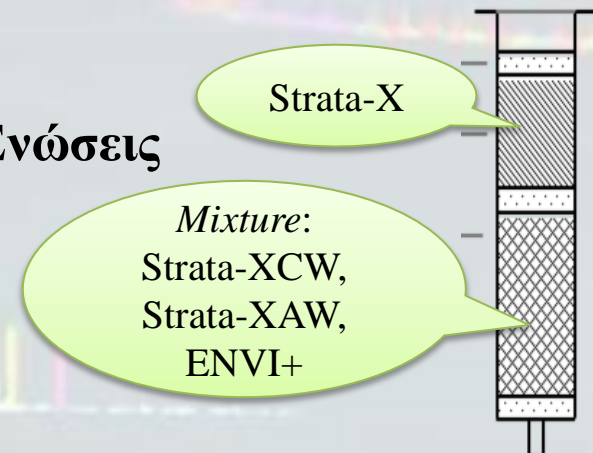
Δείγματα: 24-ώρα εισερχόμενα και εξερχόμενα
λύματα (7 ημέρες)

2-ώρα εισερχόμενα λύματα (2 ημέρες * 12 δείγματα)

Προκατεργασία δείγματος:

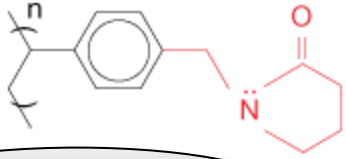
- ✓ **100 mL** δείγματος (GFF διήθηση)
- ✓ **IS** εμβολιασμός (100 ng/L)
- ✓ SPE *Mixed-bed cartridges*
- ✓ Εκχύλιση: **Ουδέτερες, Βασικές & Όξιμες Ενώσεις**

→ 100 φορές
προσυγκέντρωση



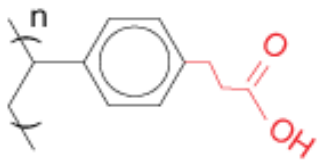
II. Εκχύλιση Στερεάς Φάσης (SPE)

Strata-X



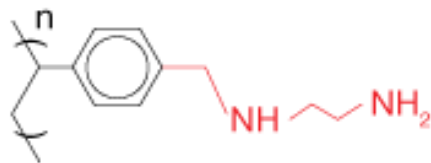
για ουδέτερες & αρωματικές ενώσεις
Αλληλεπιδράσεις: π-π δεσμοί, δεσμοί H & υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις

Strata-XCW



για βασικές ενώσεις & ισχυρές βάσεις
 $pK_a \approx 4,5$
Ιοντικές αλληλεπιδράσεις

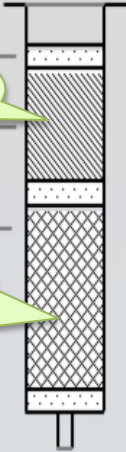
Strata-XAW



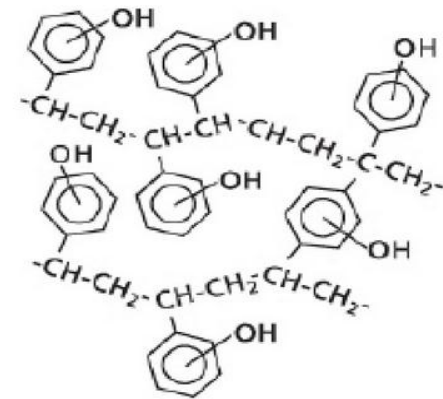
για όξινες ενώσεις & ισχυρά οξέα
 $pK_a \approx 9$
Ιοντικές αλληλεπιδράσεις

Strata-X

Mixture:
Strata-XCW,
Strata-XAW,
ENVI+



ENVI+



για
πολικές
ενώσεις

Έκλουση με..

MeOH: ethyl acetate (1:1)

- 2% NH_3
- 1,7% φορμικό οξύ

II. UPLC-QToF-HRMS/MS

RP-UHPLC

Ultimate 3000-HPG, Thermo, Dionex

Αναλυτική Στήλη: Acclaim RSLC 120 C18 2,2 μm , 2,1 \times 100 mm

Προ-στήλη: VanGuard (Waters): Acquity UPLC BEH C18 1,7 μm , 2,1 \times 5 mm

Κινητή Φάση (Κ.Φ.):

(+) ESI: (A) H_2O , 5 mM φορμ. αμμώνιο, 0.01% φορμ. οξύ

(B) $\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O}$ (90:10), 5 mM φορμ. αμμώνιο, 0.01% φορμ. οξύ

(-) ESI: (A) H_2O , 5 mM οξικό αμμώνιο

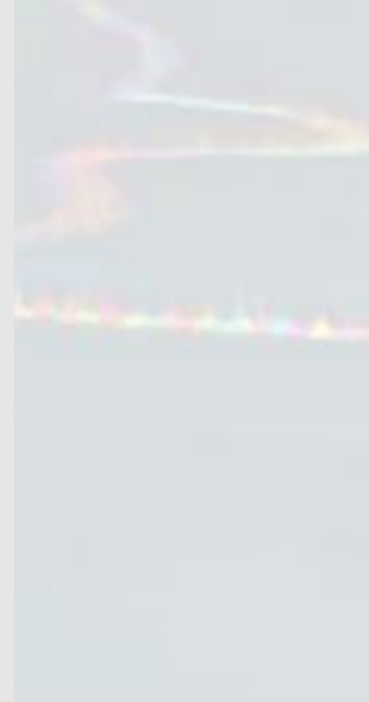
(B) $\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O}$ (90:10), 5 mM οξικό αμμώνιο

Πρόγραμμα βαθμιδωτής έκλουσης της Κ.Φ.

Πρόγραμμα βαθμιδωτής έκλουσης της ροής της Κ.Φ. (0,2-0,48 mL/min)

Διάρκεια χρωματογραφήματος: 15 min (+ 5 min για επανεξισορόπηση)

Όγκος ένεσης: 5 μL



II. UPLC-QToF-HRMS/MS

MS

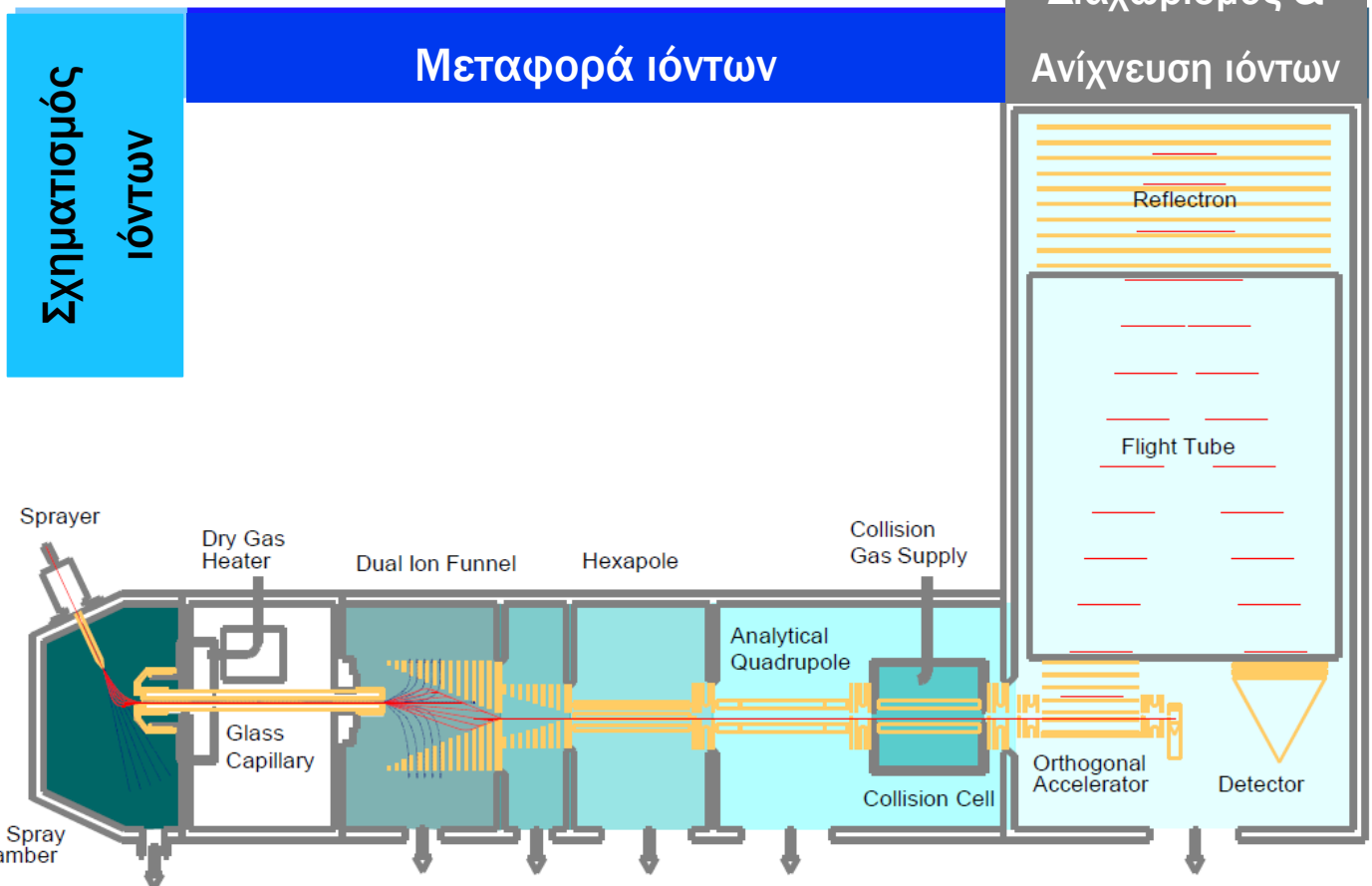
Τετράπολο- Χρόνου Πτήσης (QToF)

MaXis Impact

Ultra High Resolution

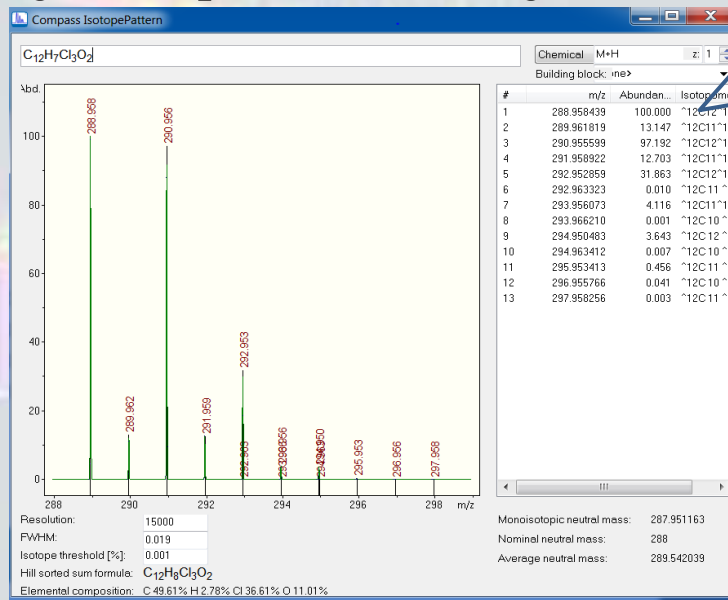


Σχηματική Απεικόνιση του Οργάνου



II. UPLC-QToF-HRMS/MS

- Ακρίβεια μάζας
 - Μοριακός τύπος πρόδρομων ιόντων & θραυσμάτων
 - Διαχωρισμός ισοβαρικών ενώσεων
- Πληροφορίες για το ισοτοπικό προφίλ
- Δυνατότητα MSⁿ & MS/MS θραυσματοποίησης
(Data Dependent MSⁿ & Data Independent MS/MS)
 - Εργαλείο για τη ταυτοποίηση ενώσεων
- Retrospective Analysis (Αναδρομική Ανάλυση)
- Ποσοτικοποίηση
- Δυνατότητα Target, Suspect & Non-target Screening



Triclosan
C₁₂H₇Cl₃O₂



II. UPLC-QToF-HRMS/MS

bbCID mode

(Broad band collision induced dissociation)

Χαμηλή CE (4 eV) (*pass all*) → MS φάσματα

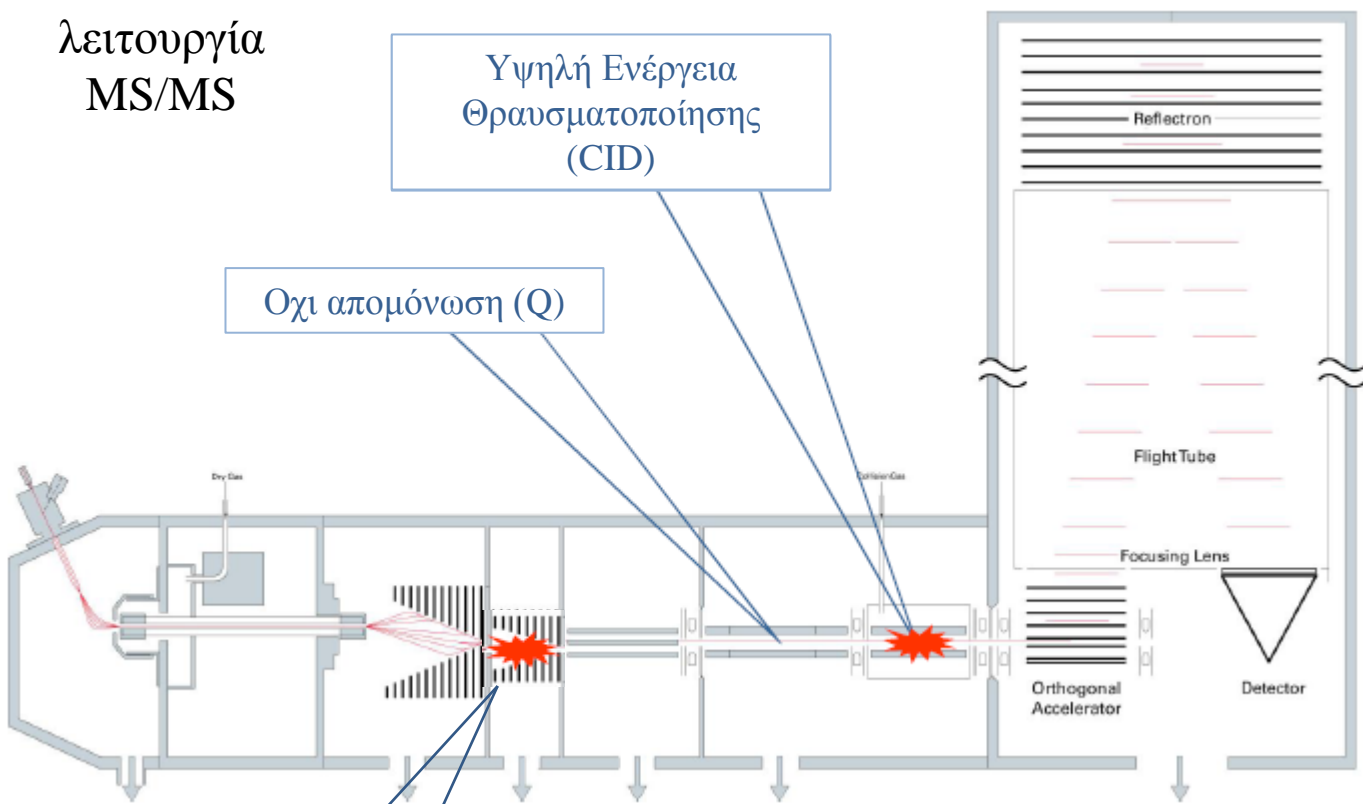
Υψηλή CE (25 eV) (*fragment all*) → MS/MS φάσματα

Θετικός & Αρνητικός Ιονισμός (ESI)

λειτουργία MS/MS

Υψηλή Ενέργεια Θραυσματοποίησης (CID)

Όχι απομόνωση (Q)



In-source θραυσματοποίηση

Γρήγορα εναλλασσόμενες λειτουργίες MS & MS/MS



MS

✓ Ταυτοποίηση



bbCID MS/MS

✓ Επιβεβαίωση

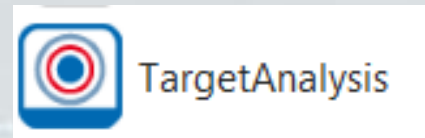
II. Βάση δεδομένων με 2327 ενώσεις

2224 ενώσεις σε
(+) ESI

580 ενώσεις σε (-)
ESI

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	
1	m/z (POS)	RT POS	sum formula	name	CAS	comment	comment	relativeRe	minimum	indivSig	indivMass	Q1 1	Q1 2	Q1 3	Q1 1 min	Q1 1
2	184.0191768	3.69	C4H10NO3PS	Acephate	(30560-19-1)							142.9926				
3	142.9926277	3.69	C2H8O3PS ⁺	Acephate Fragm 143	(30560-19-1)							94.9893	110.9664	124.9821		
4	270.1255331	11.34	C14H20ClNO2	Acetochlor	(34256-82-1)							224.0837				
5	224.0836682	11.41	C12H15ClNO ⁺	Acetochlor Fragm 224	(34256-82-1)							148.1121	133.0886	224.0837		
6	379.03031	10.21	C14H7ClF3NO5NH4 ⁺	Acifluorfen (NH4)	(50594-66-6)											
7	265.0374463	11.98	C12H9ClN2O3	Aclonifen	(74070-46-5)							248.0347	218.0367	194.0475		
8	287.019391	11.98	C12H9ClN2O3Na ⁺	Aclonifen (Na)	(74070-46-5)							248.0347	218.0367	194.0475		
9	181.0859207	11.26	C10H13O3 ⁺	Acrinathrin Fragm. 181	(101007-06-1)							181.0859	213.1121	230.1387		
10	270.1255331	11.4	C14H20ClNO2	Alachlor	(15972-60-8)							162.1277	147.1043	132.0808		
11	162.1277259	11.4	C11H16N ⁺	Alachlor Fragm 162	(15972-60-8)							162.1277	147.1043	132.0808		
12	238.0993183	11.4	C13H17ClNO ⁺	Alachlor Fragm 238	(15972-60-8)							162.1277	147.1043	132.0808		
13	191.0848748	7.36	C7H14N2O2S	Aldicarb	(116-06-3)							89.0419				
14	208.1114239	7.36	C7H14N2O2SNH4 ⁺	Aldicarb (NH4)	(116-06-3)							89.0419				
15	116.0528464	7.36	C5H10NS ⁺	Aldicarb Fragm 116	(116-06-3)							89.0419				
16	89.0419474	7.36	C4H9S ⁺	Aldicarb Fragm 89	(116-06-3)							89.0419				

- Χρόνος Ανάσχεσης
- Μοριακός Τύπος
- Ιόντα προσθήκης
- In-source θραύσματα
- bbCID θραύσματα
- Λόγοι Ιόντων



II. Βελτιστοποίηση – Επικύρωση μεθόδου επεξεργασίας δεδομένων

Ενώσεις για την επικύρωση

- ❖ 195 ενώσεις
- ❖ 10% του συνολικού αριθμού των ενώσεων
- ❖ Αντιπροσωπευτικός χρόνος ανάλυσης
- ❖ Αντιπροσωπευτικές φυσικοχημικές ιδιότητες
 - ❖ Αντιπροσωπευτικός ιοντισμός
 - ❖ Ενώσεις από όλες τις κατηγορίες EPs

Ποσοστό επιτυχούς
Ταυτοποίησης >95%

Μέθοδος Σάρωσης (Screening):

Η μέθοδος χρησιμοποιείται για τη ταυτοποίηση μη-συμμορφούμενων δειγμάτων (αληθώς θετικά, true positive) με σφάλμα β- είδους μικρότερο από 5%

Βέλτιστες Συνθήκες Λογισμικού TargetAnalysis

Εμβαδόν Κορυφής	1000 (+) / 600 (-)
Ένταση Κορυφής	250 (+) / 150 (-)
Χρόνος Ανασχ. ΔRT (min)	0,4
Ακρίβεια μάζας (ppm)	5
Όριο ισοτοπικής προσ. (mSigma)	200

C εμβολ. δειγμάτων (μg/L)	% 'χαμένες' ενώσεις λόγω ορίου Εμβαδού/ Έντασης	Ψευδώς Αρνητικά (FN) αποτελέσματα (ενώσεις)	Ποσοστό Επιτυχούς Ταυτοποίησης (%)
1	0	1	99
0,5	0	2	99
0,25	1,3	2	97
0,05	3,3	3	95
0,025	5,2	5	92

II. Πρωτόκολλο επικύρωσης

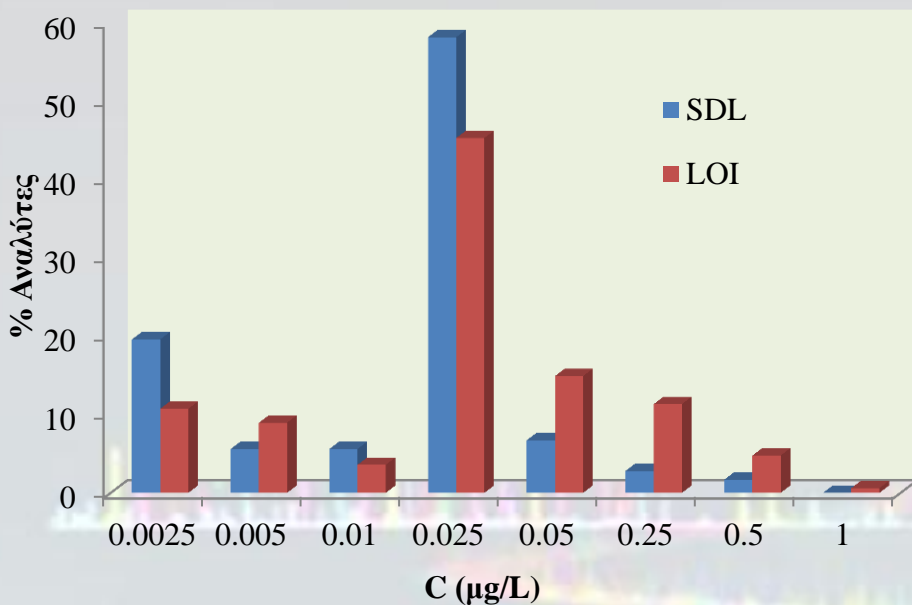
- ✓ Πρωτόκολλο επικύρωσης προσανατολισμένο σε HRMS
- ✓ βασισμένο στις 2002/657/EC, SANCO 12571/2013 και σε βιβλιογραφία

- **Καμπύλες βαθμονόμησης** (διαλύτη, μήτρα & εμβολιασμένα δείγματα) (8 επίπεδα συγκέντρωσης)
- **Επαναληψιμότητα, Ανακτήσεις και Επίδραση Μήτρας**
- Όριο ανίχνευσης (**screening detection limit, SDL**) και όριο ταυτοποίησης (**limit of identification, LOI**):
 - **SDL**: το χαμηλότερο επίπεδο συγκέντρωσης στο οποίο μια ένωση μπορεί να ανιχνευθεί σε όλα τα δείγματα → **2 IPs**
 - **LOI**: το χαμηλότερο επίπεδο συγκέντρωσης στο οποίο μια ένωση μπορεί να ταυτοποιηθεί επιτυχώς σε όλα τα δείγματα → **4 IPs**
- Όριο Απόφασης (**CC α**) & Ικανότητα Ανίχνευσης (**CC β**)

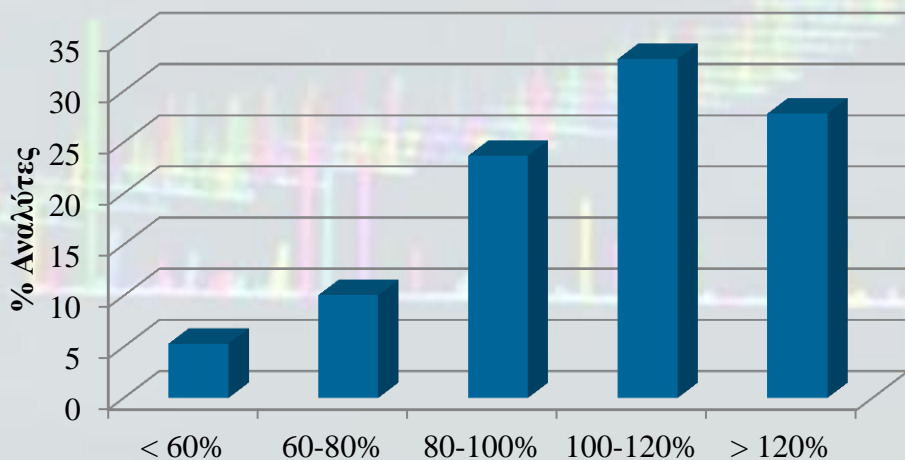
Παράμετρος	Όριο	Μονάδες Ταυτοποίησης, Identification Points (IP)
Πρόδρομο ιόν (ακρίβεια μάζας) + t_R	2 ppm	2,5
Ισοτοπική προσαρμογή (λόγος και ένταση του M+1, M+2)	200 mSigma	0,5
Θραύσματα (ακρίβεια μάζας)	5 ppm	2,5

II. Αποτελέσματα επικύρωσης

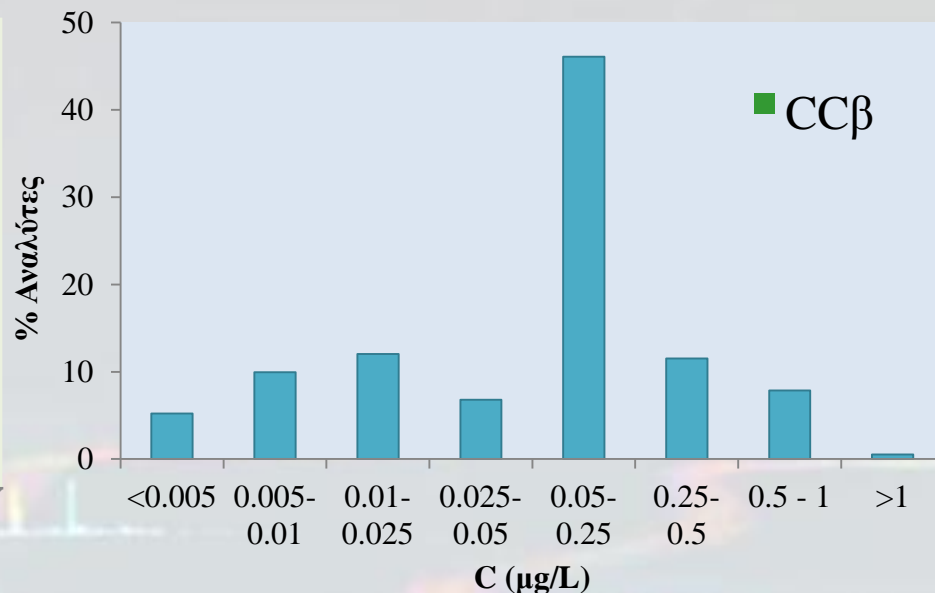
Screening Detection Limits (SDL) – Limits of Identification (LOI)



% Ανακτήσεις



Ικανότητα ανίχνευσης, CCB



% Επίδραση μήτρας

91,7 % αναλύτες →
καταστολή σήματος

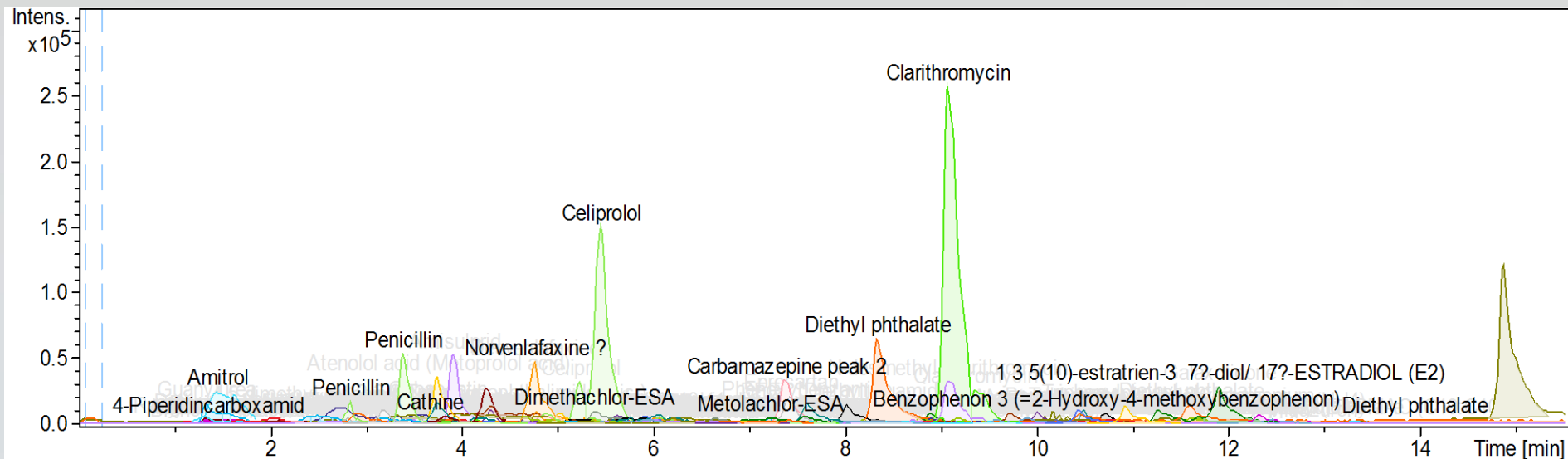
8,3 % αναλύτες →
ενίσχυση σήματος

% Επαναληψιμότητα (n=6)

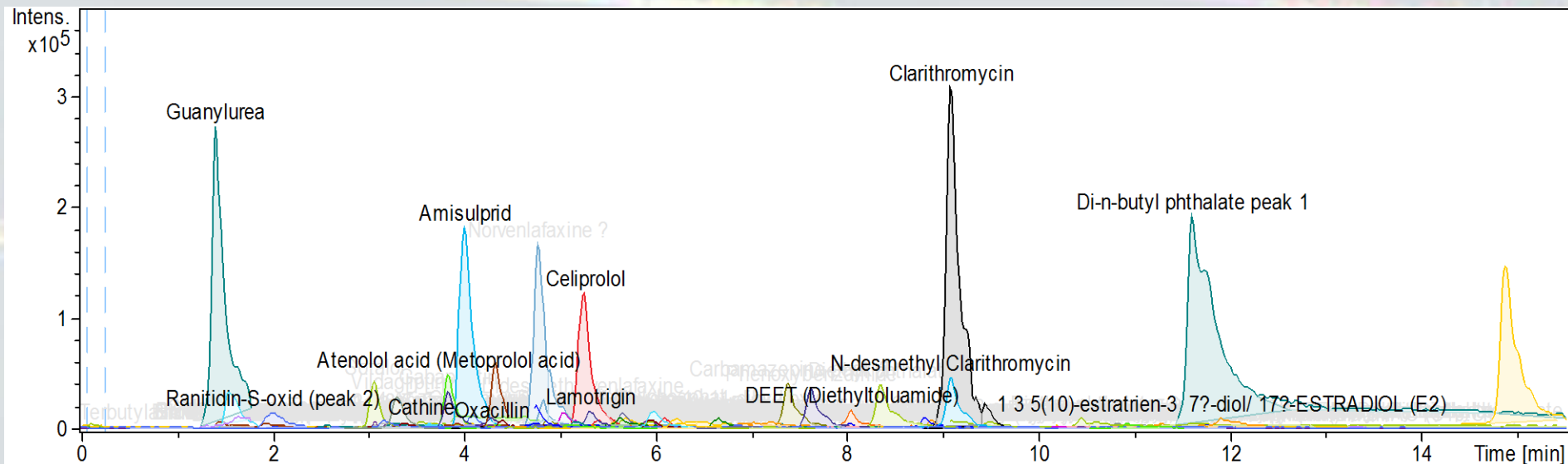
94,5 % αναλύτες →
<20% RSD

II. Αποτελέσματα

Εισερχόμενα λύματα



Εξερχόμενα λύματα



II. Αποτελέσματα

371 ενώσεις

Εισερχόμενα:
338 ενώσεις

Εξερχόμενα:
301 ενώσεις

219

Ανίχνευση - Screening

192

119

Ταυτοποίηση - Identification

109

Screening: $\geq 2IPs$ (t_R + πρόδρομο ιόν)

Identification: $\geq 4IPs$ (t_R + πρόδρομο ιόν + θυγατρικό ιόν)

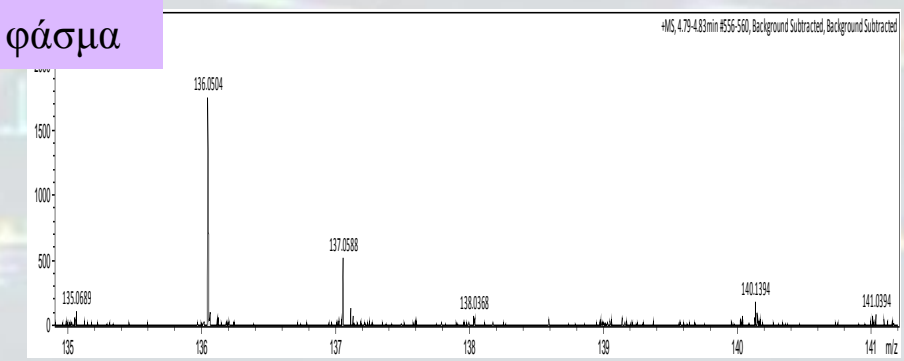
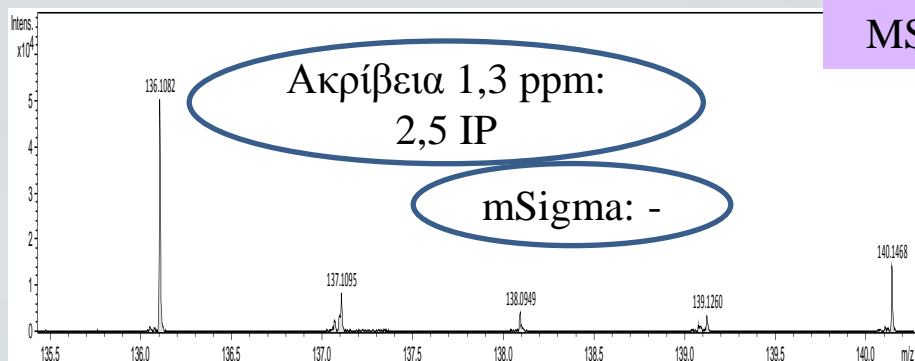
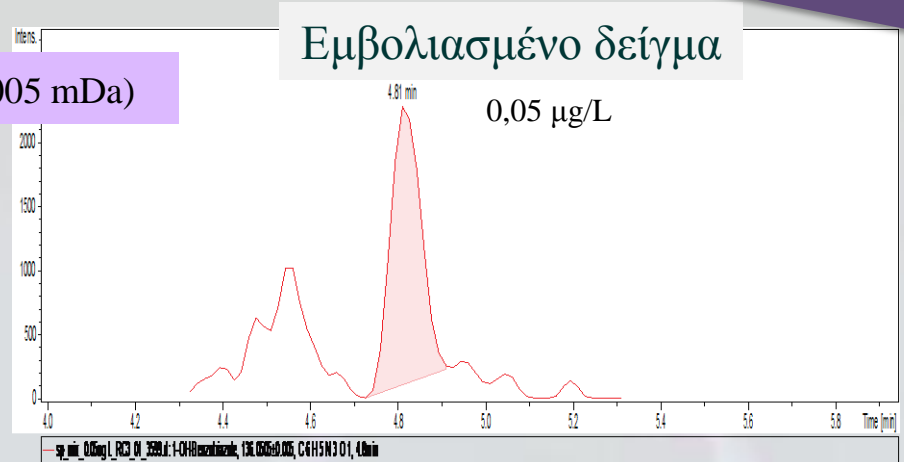
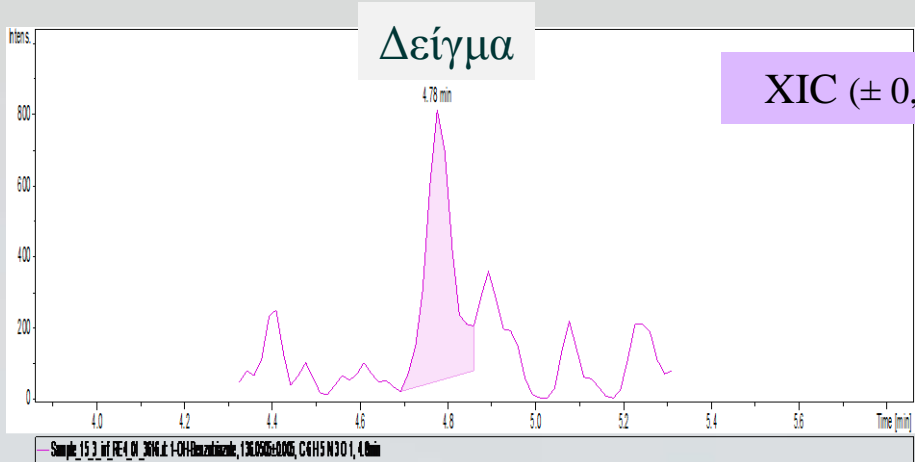
- 61 φυτοφάρμακα
- 205 νόμιμα & παράνομα φάρμακα
- 4 γλυκαντικές ουσίες
- 10 υπερφθοριωμένες ενώσεις (PFCs)
- 8 αμινοξέα
- 47 προϊόντα μετατροπής (TPs)

- 51 φυτοφάρμακα
- 191 φάρμακα
- 4 γλυκαντικές ουσίες
- 11 PFCs
- 4 αμινοξέα
- 49 TPs

II. Αποτελέσματα

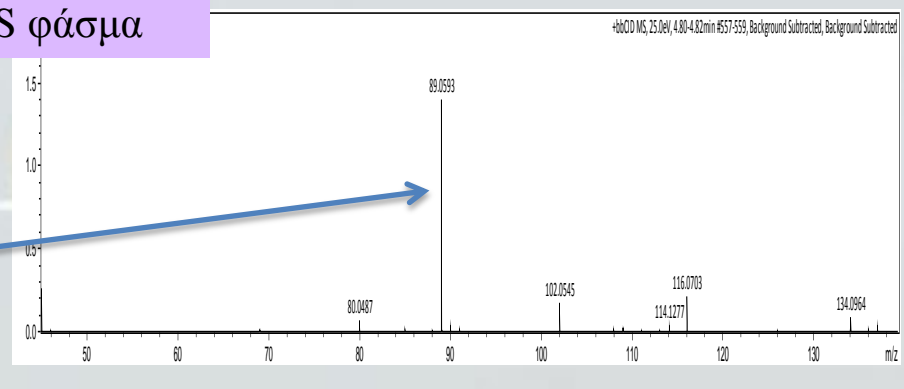
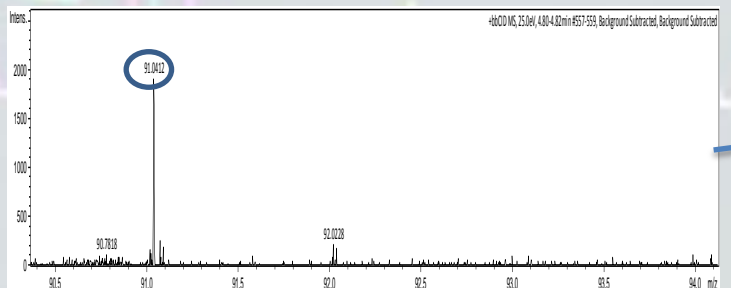
Ανίχνευση της 1-OH-BTR

Screening
2,5 IPs



Δεν υπάρχει MS/MS φάσμα στο δείγμα

MS/MS φάσμα

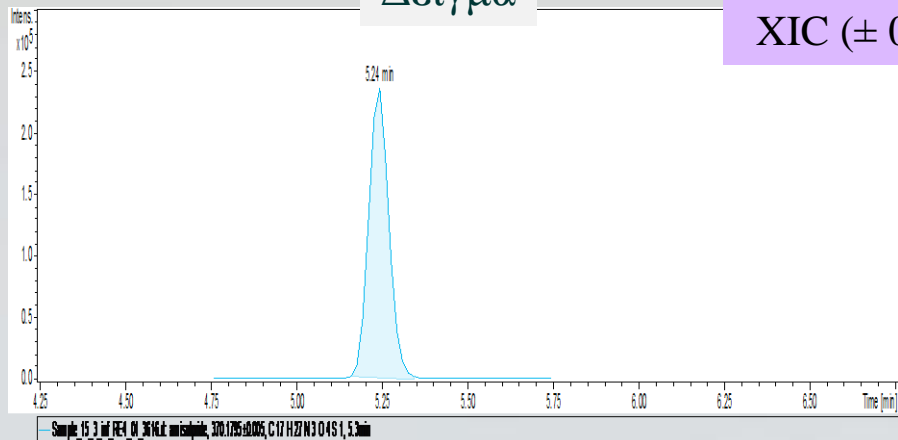


II. Αποτελέσματα

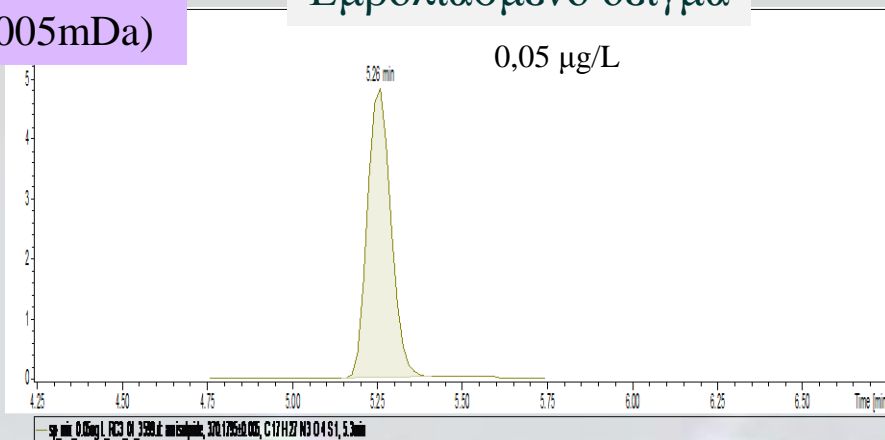
Ταυτοποίηση του Amisulpride

Identification
8 IPs

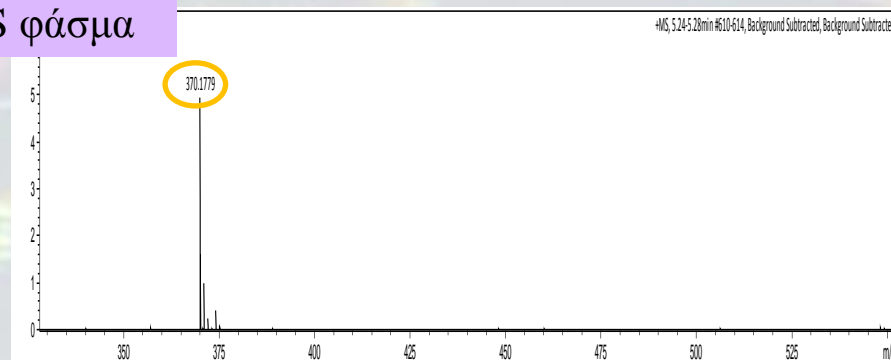
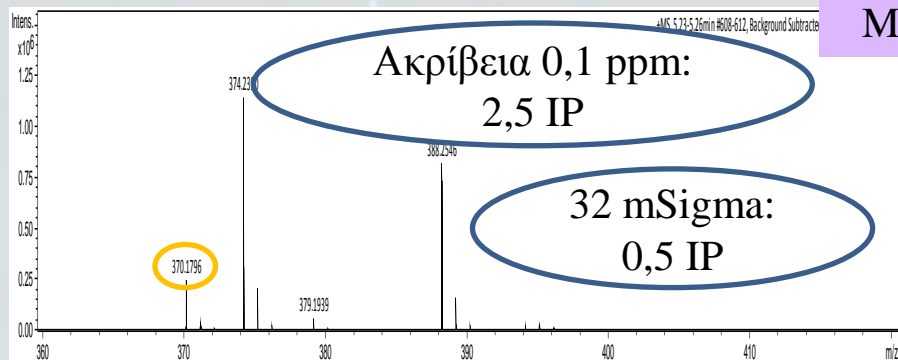
Δείγμα



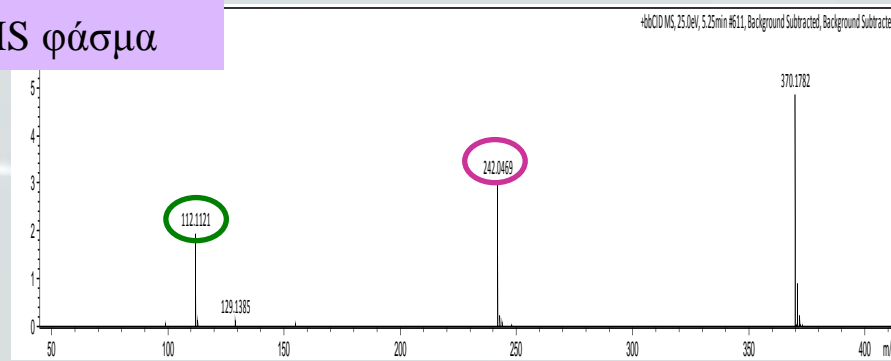
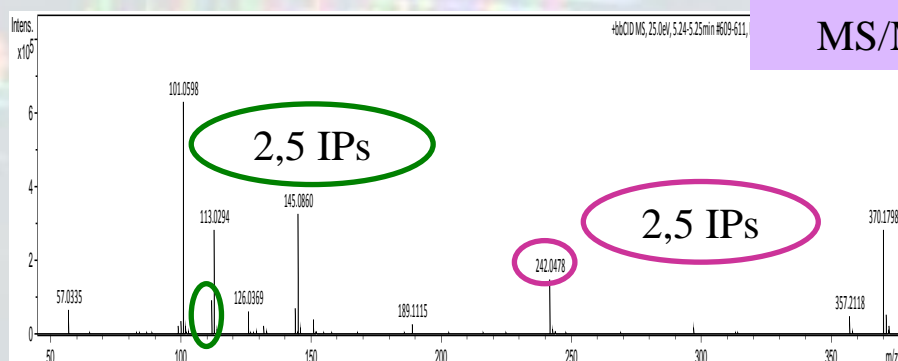
Εμβολιασμένο δείγμα



MS φάσμα

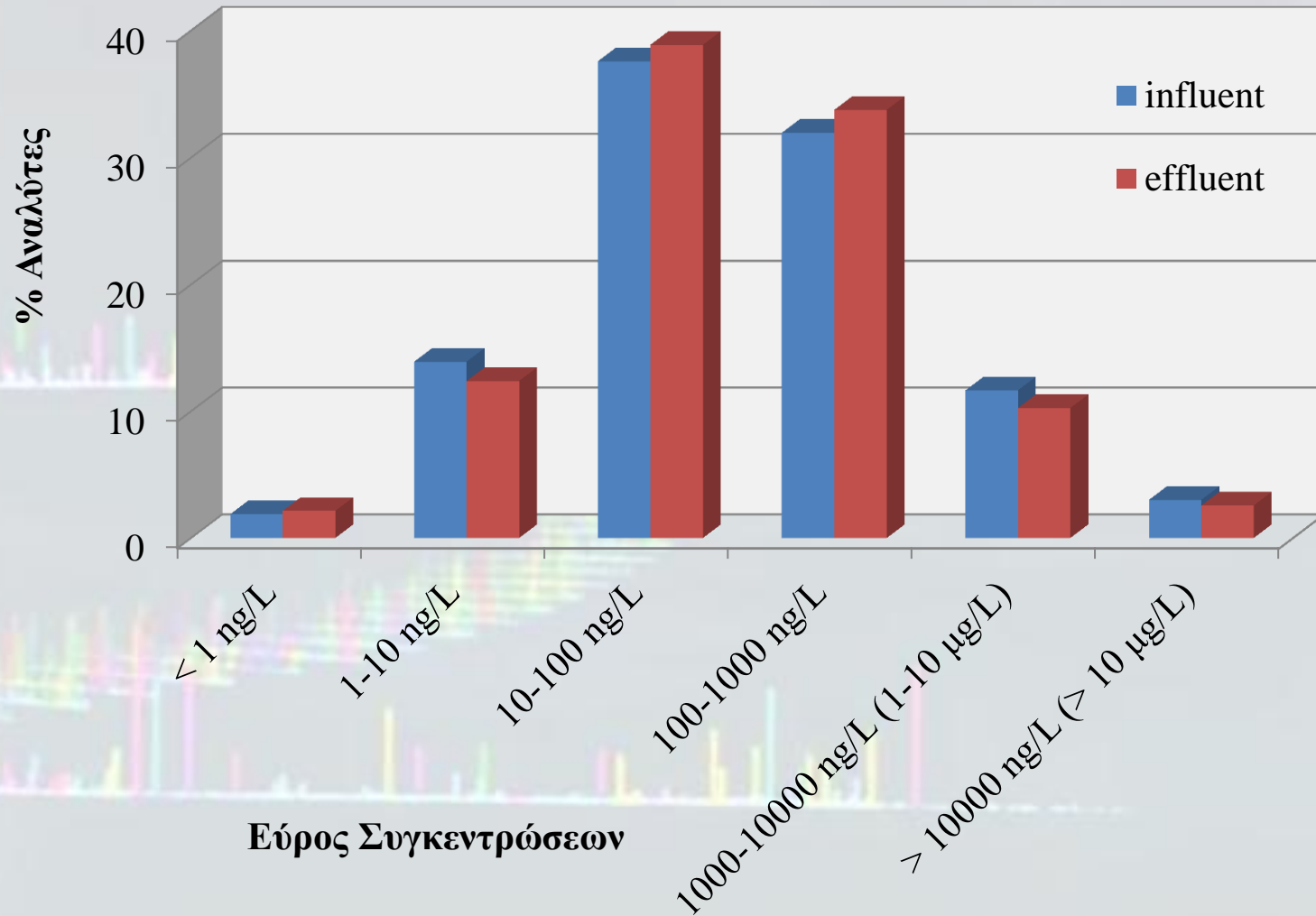


MS/MS φάσμα



II. Αποτελέσματα

Ποσοτικοποίηση



II. Αποτελέσματα

↳ Φάρμακα

Metformin → μεγαλύτερη αφθονία

Haloperidol → μικρότερη αφθονία

Εισερχόμενα: 0,14 ng/L - 93 μg/L

Εξερχόμενα: 0,5 ng/L - 35 μg/L

Ποσοτικοποίηση

↳ Φυτοφάρμακα

Fluometuron, Azoxystrobin & Dimethachlor μεταβολίτης

Εισερχόμενα: 0,3 ng/L- 2,04 μg/L

Εξερχόμενα: 0,2 ng/L- 13,6 μg/L

↳ Συνθετικά Γλυκαντικά

Εισερχόμενα: 0,6 μg/L sucralose - 24 μg/L cyclamate

Εξερχόμενα: απομάκρυνση >60 %

↳ Άλλες χημικές ενώσεις

Benzoic acid: 49 μg/L (εισερχόμενα) - 29 μg/L (εξερχόμενα)

Ethyl sulfate: 3,6 μg/L (εισερχόμενα) - 1,3 μg/L (εξερχόμενα)

↳ Αμινοξέα

Εισερχόμενα: Συγκ. >2 μg/L (8 AAs) Valine → μεγαλύτερη αφθονία

Εξερχόμενα: σημαντική απομάκρυνση (4 AAs), Valine & GABA > 10 μg/L

II. Συμπεράσματα

- ❖ Δημιουργία *in-house* βάσης δεδομένων με RT & MS/MS για 2327 ενώσεις
 - ❖ Με τη SPE μικτής φάσης επιτυγχάνεται η εκχύλιση ενός μεγάλου εύρους αναλυτών
 - ❖ Βελτιστοποίηση & επικύρωση μεθόδου σάρωσης (target screening method)
 - ❖ Πρωτόκολλο επικύρωσης προσαρμοσμένο σε HR-MS & σύστημα IPs
 - ❖ Εφαρμογή σε εισερχόμενα & εξερχόμενα υγρά λύματα
 - ❖ Ανίχνευση, Ταυτοποίηση & Ποσοτικοποίηση των αναλυτών
- ✓ Συνεχώς αυξανόμενη βάση δεδομένων με νέα πρότυπα αναφοράς
→ Retrospective target screening (Αναδρομική ανίχνευση)

Παρακολούθηση “Υποπτων” Αναδυόμενων Ρύπων σε
υγρά λύματα με UPLC-QToF-HRMS/MS –
Suspect Screening

Δημοσιεύσεις:

P. Gago Ferrero, E. Schymanski, A. Bletsou, R. Aalizadeh, J. Hollender, N. Thomaidis, Extended suspect and non-target strategies to characterize emerging polar organic contaminants in raw wastewater with LC-HRMS/MS, *Environmental Science & Technology*, **2015**, accepted

III. Ανασκόπηση της ερευνητικής μελέτης

Αξιολόγηση της μεθόδου (“επικύρωση”)

Αξιολόγηση της μεθόδου επεξεργασίας με “τεχνητά ύποπτες” ενώσεις – Βέλτιστα κριτήρια – Ποσοστό επιτυχούς Ταυτοποίησης >90%

Παρακολούθηση “Υποπτων” μεταβολιτών

Ανθρώπινοι Μεταβολίτες από 8 φαρμακευτικές ενώσεις με μεγάλη κατανάλωση (*amisulpride, atenolol, clarithromycin, metformin, niflumic acid, ranitidine, tramadol and venlafaxine*) & nicotine μέσω..



Metabolite Predict

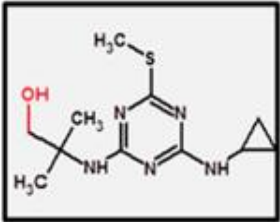
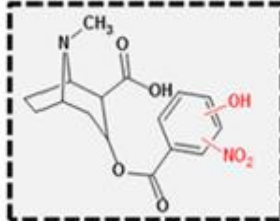
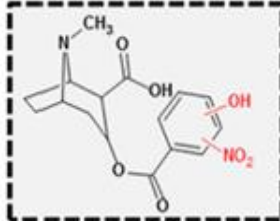
&

βιβλιογραφία

Παρακολούθηση “Υποπτων” επιφανειοδραστικών

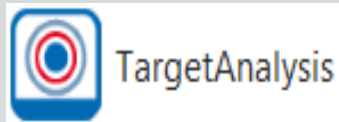
Αναδρομική παρακολούθηση διαφορετικών σειρών επιφανειοδραστικών (Retrospectively μετά από non-target screening)

III. Επίπεδα Εμπιστοσύνης Ταυτοποίησης

Παράδειγμα	Επίπεδο εμπιστοσύνης	Ελάχιστες απαιτήσεις δεδομένων
	Επίπεδο 1: Επιβεβαιωμένη δομή με πρότυπο αναφοράς	MS, MS ² , RT, Reference Std.
	Επίπεδο 2: Πιθανή δομή α) αντιστοιχία με φάσματα βιβλιοθήκης β) με διαγνωστικές αποδείξεις	MS, MS ² , Library MS ² MS, MS ² , Exp. data
	Επίπεδο 3: Πιθανές υποψήφιες δομές υποκαταστάτες, τάξη	MS, MS ² , Exp. data
$C_6H_5N_3O_4$	Επίπεδο 4: Αναμφισβήτητος μοριακός τύπος	MS isotope/adduct
192.0757	Επίπεδο 5: Ακριβής μάζα ενδιαφέροντος	MS

III. Πορεία για suspect screening

1. *in-house* βάση δεδομένων

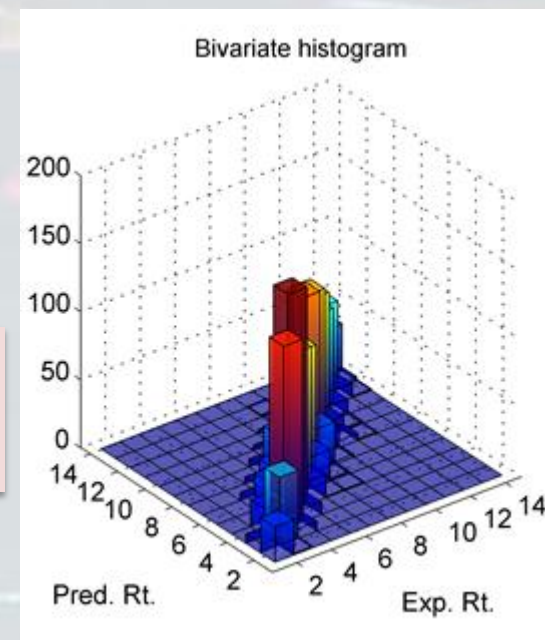


	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q
1	m/z	RT POS	sum formula	name	CAS	comment	comment	relativeRe	minimum	indivSigm	indivMass	QI 1	QI 2	QI 3	QI 1 min	QI 1 max	QI 2 mi
2			C21H30O3	11a-Hydroxyprogesterone													
3			C19H30O3	11-Hydroxyandrosterone													
4			C19H30O3	11-Hydroxyetiocholanolone													

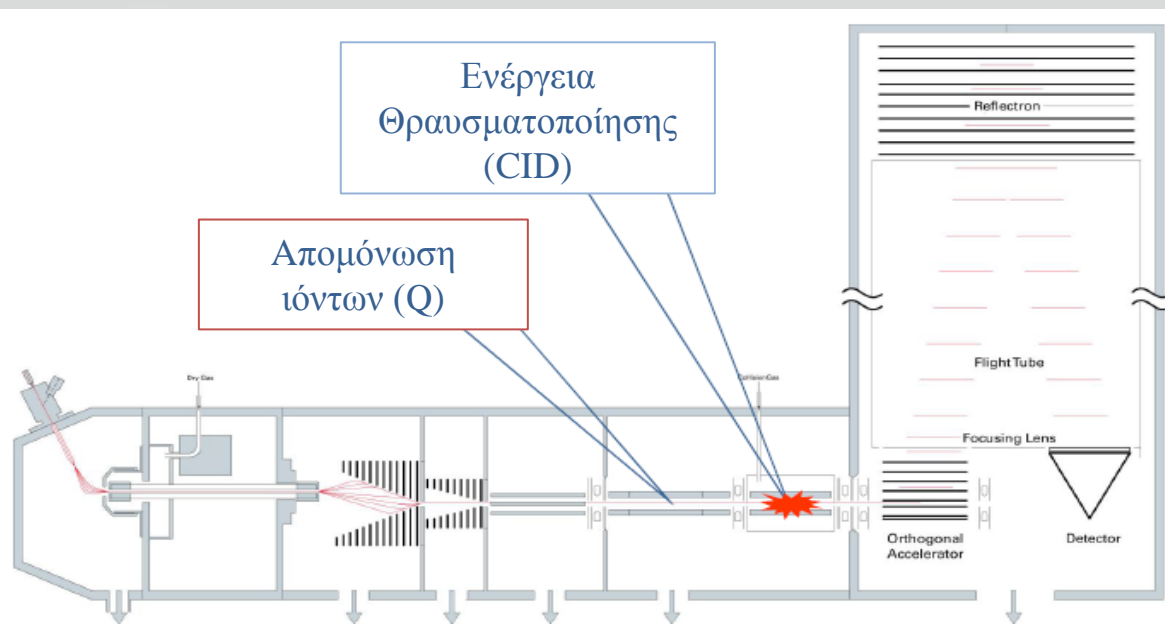
2. Μοντέλο Πρόβλεψης Χρόνου Ανάσχεσης KNN-GA-SVM *

* Aalizadeh et al. *in preparation*, 2015

3. Βιβλιοθήκες Φασμάτων High Resolution Σύγκριση MS/MS δεδομένων – εξήγηση θραυσματοποίησης



III. AutoMS/MS δεδομένα



Απομόνωση ιόντων

- Ιόντα από λίστα
- Ιόντα με μεγαλύτερη αφθονία

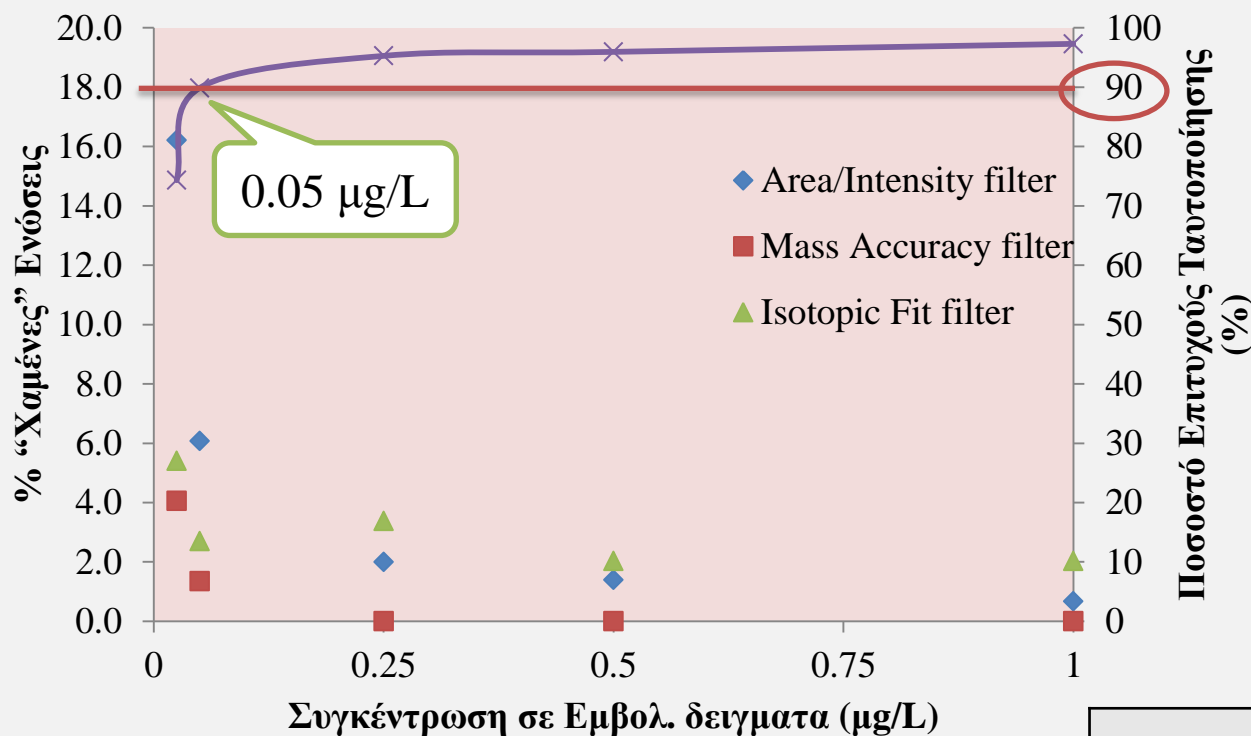
✓ πιο “καθαρό” φάσμα MS/MS

→ συγκεκριμένα θραύσματα για κάθε πρόδρομο ιόν.

- ✗ Μη θραυσματοποίηση σε περίπτωση χαμηλής έντασης
- ✗ Επιπλέον ένεση για δεδομένα MS/MS

III. Αξιολόγηση της μεθόδου - “Επικύρωση”

173 τεχνητά “ύποπτες” ενώσεις εμβολιάστηκαν σε συγκέντρώσεις 0,025 – 1,0 $\mu\text{g L}^{-1}$



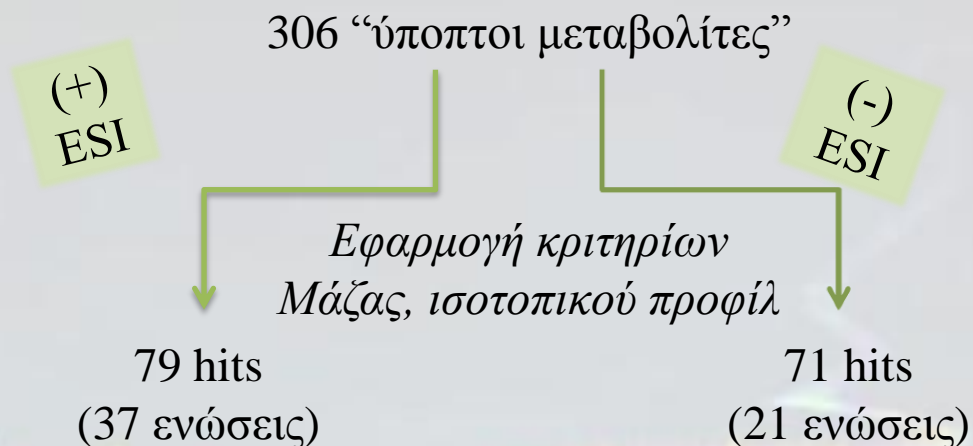
<10% Ψευδώς Αρνητικά (FN) & Ελαχιστοποίηση % Ψευδώς Θετικών (FP)

Κριτήρια

Εμβαδόν Κορυφής	5000/ 2000
Ένταση Κορυφής	1250/500
Ακρίβεια Μάζας	2 mDa / 5ppm
Όριο Ισοτοπικής προσαρμογής	100 mSigma

III. Suspect Screening - Μεταβολίτες

Πορεία για τη μείωση των ψευδώς θετικών δεδομένων



Επεξεργασία και ερμηνεία των φάσματος
& πρόβλεψη t_R

(+)

Πιθανή ταυτοποίηση 13 “ύποπτων ενώσεων”

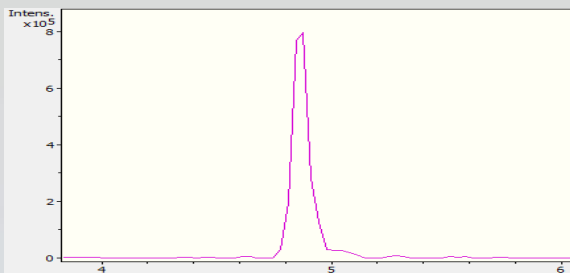
Επιπλέον διαγνωστικά
στοιχεία

- Ομοιότητα με φάσματα από MassBank / NIST δεδομένα
- Παρόμοια ενδο-ημερήσια διακύμανση με τη μητρική ένωση
- Έκλυση με HILIC και σύγκριση με RP
- Επιβεβαίωση με πρότυπο αναφοράς → Επίπεδο 1

Επίπεδο 2

III. Suspect Screening - Μεταβολίτες

A) Με τη βοήθεια του MassBank



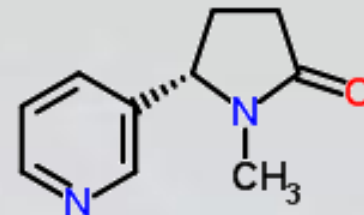
$t_R = 4.9$ min

Προβλεπόμενο $t_R = 6.2$ min

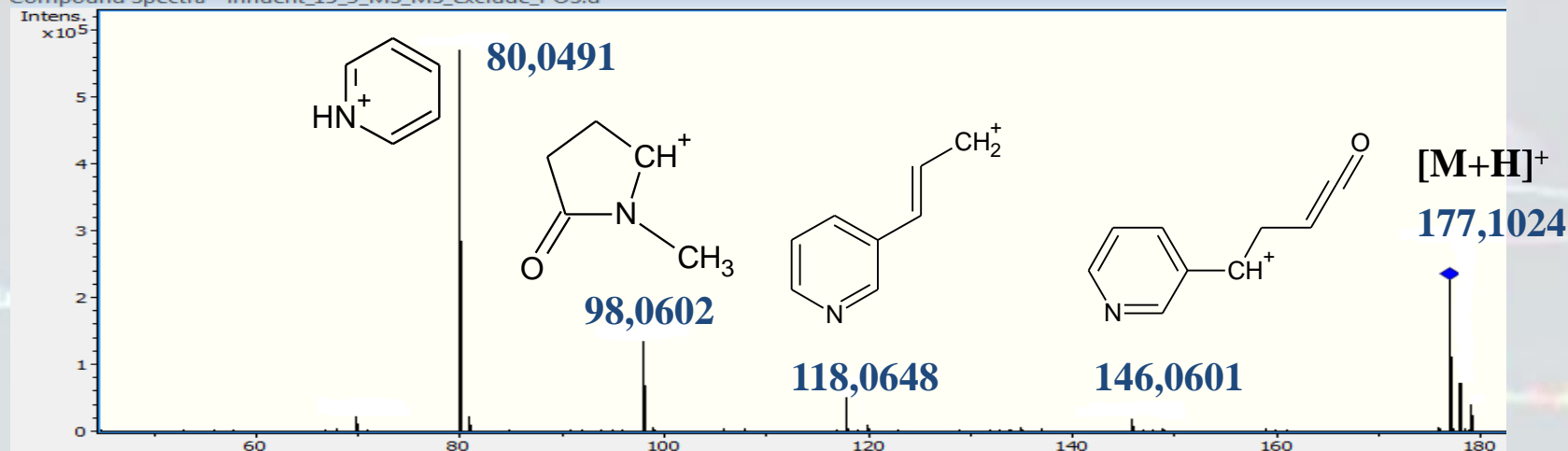
Ακρίβεια: 1,3 ppm

Ισοτοπική προσ.: 0,8 mSigma

Cotinine
μεταβολίτης
νικοτίνης

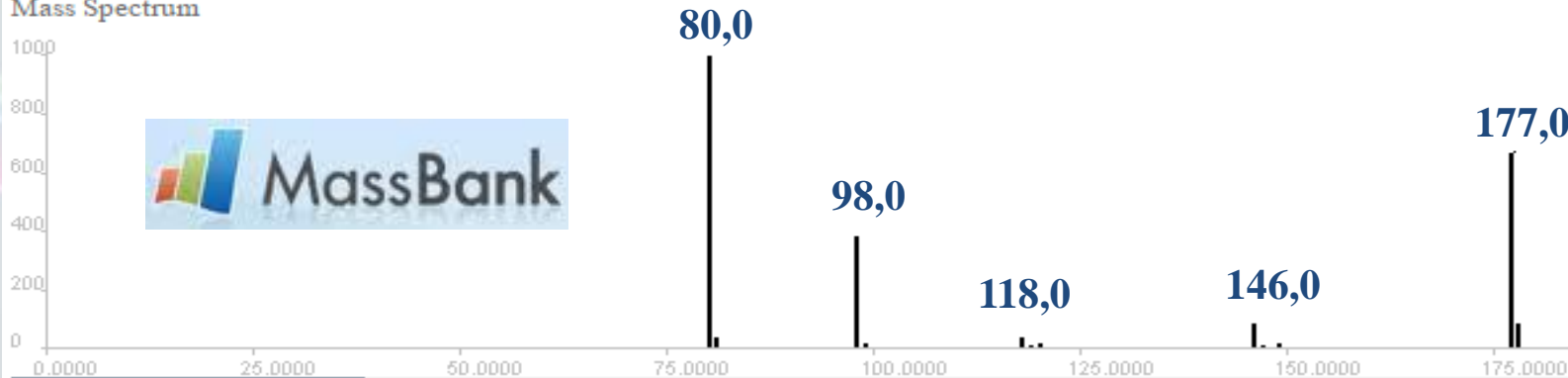


Compound Spectra - influent_15_3_MS_MS_exclude_POS.d



Cotinine; LC-ESI-Q; MS; POS; 45 V

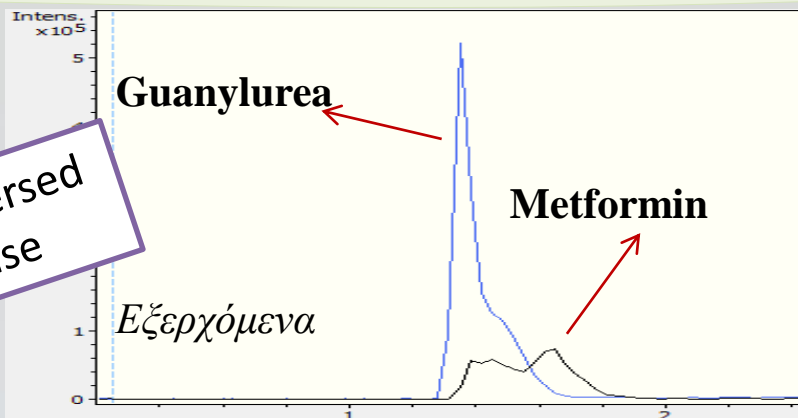
Mass Spectrum



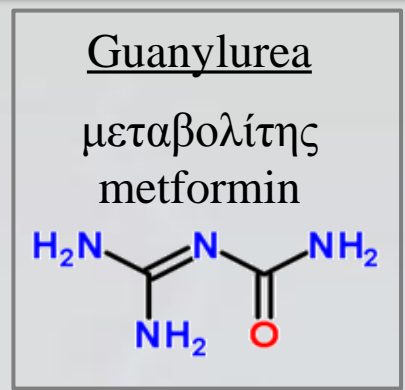
III. Suspect Screening - Μεταβολίτες

B) Με τη βοήθεια της HILIC

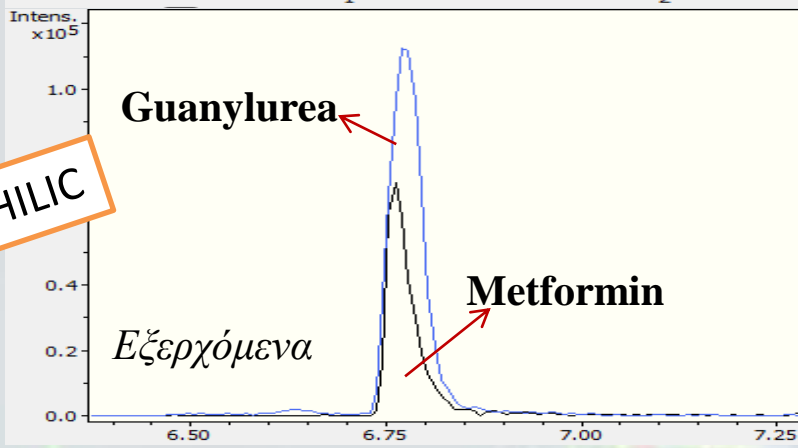
Reversed Phase



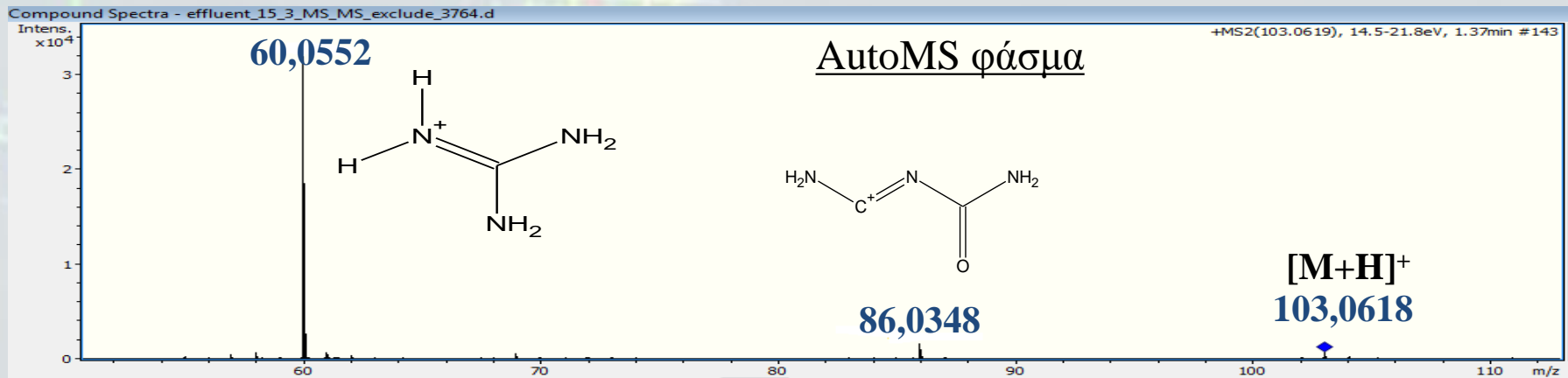
- $t_R = 1,3$ min
- Προβλεπόμενο $t_R = 0,6$ min
- Ακρίβεια: 3,8 ppm
- Ισοτοπική προσ.: 10,2 mSigma



HILIC

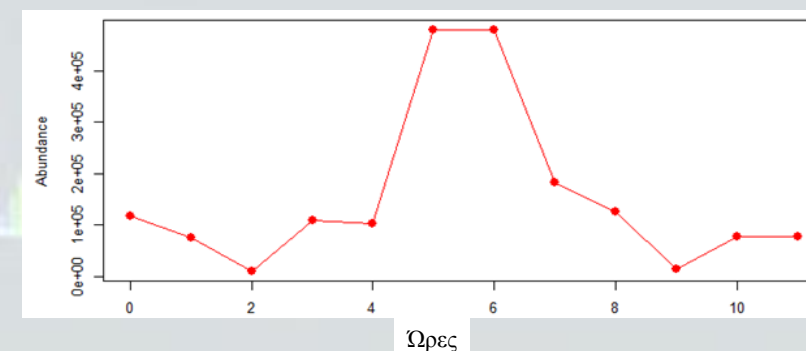
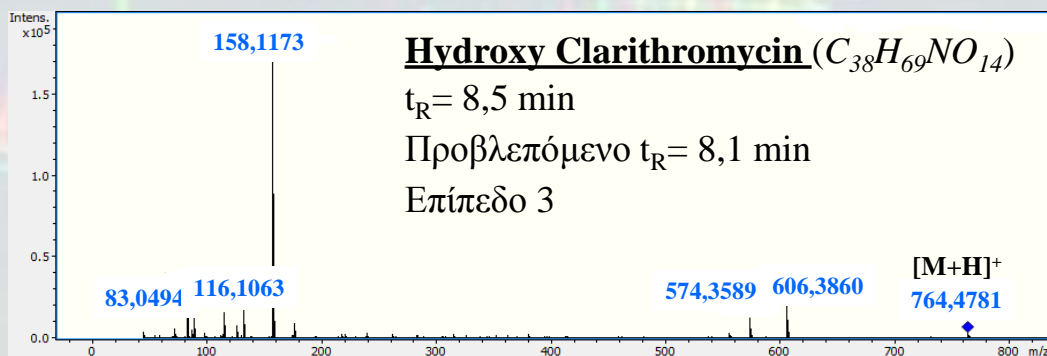
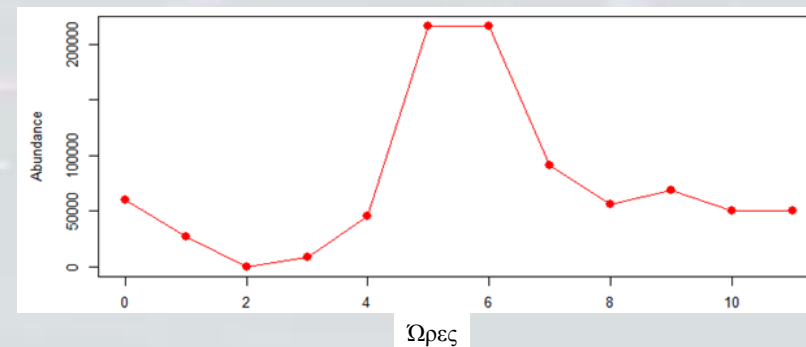
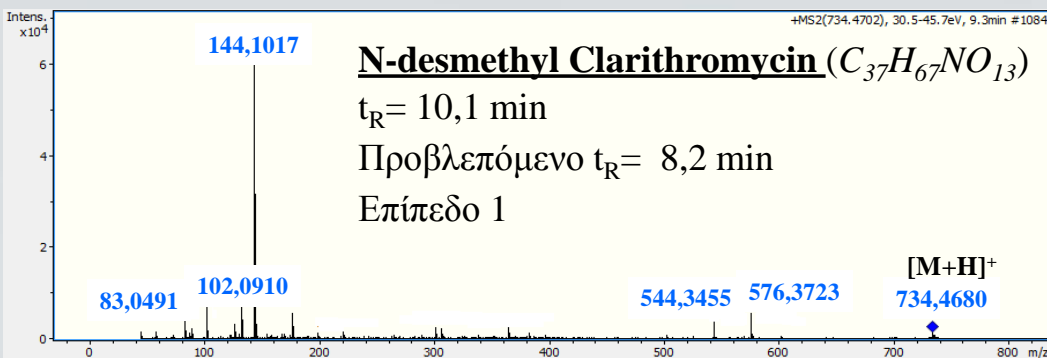
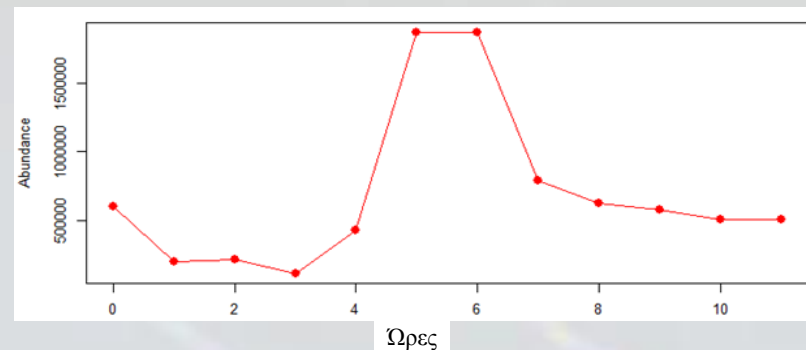
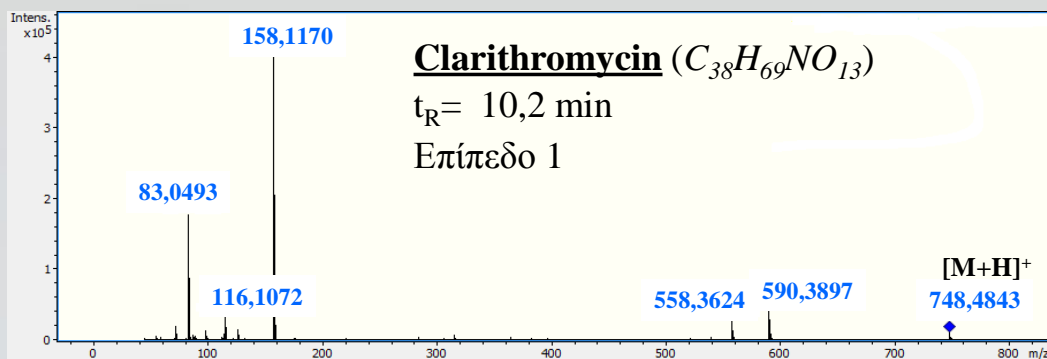


- $t_R = 6,8$ min
- Ακρίβεια: 2,2 ppm
- Ισοτοπική προσ.: 16,1 mSigma

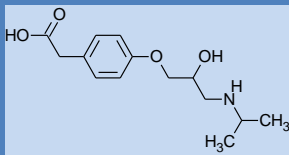
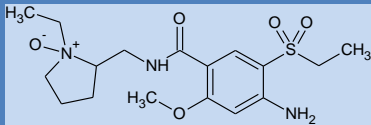
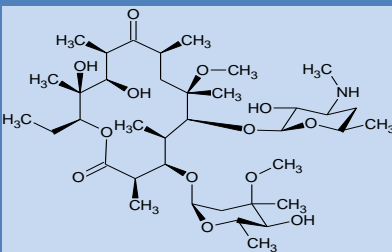
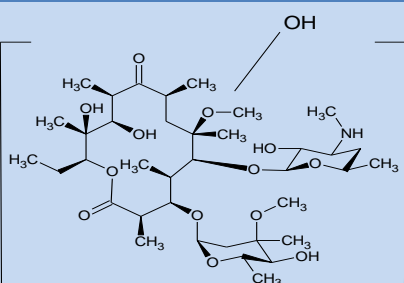


III. Suspect Screening - Μεταβολίτες

Γ) Με παρόμοια ενδο-ημερησία διακύμανση

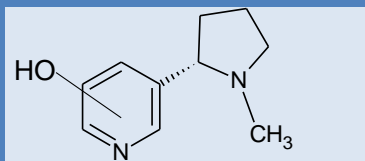


III. Αποτελέσματα

Όνομα - Δομή	Μητρική Ένωση	Πειραμ. t_R (Προβλ. t_R)	Αποδεικτικά Στοιχεία	Επίπεδο
Atenolol acid 	Atenolol	5,1 (5,5)	-Ομοιότητα 0.92 με MassBank καταγραφή EA069710 - Επιβεβαίωση με πρότυπο	1
Amisulpride-N-oxide 	Amisulpride	5,6 (6,5)	- Επιβεβαίωση με πρότυπο	1
N-desmethyl clarithromycin 	Clarithromycin	10,1 (9,6)	-Παρόμοια ενδο-ημερήσια και εβδομαδιαία διακύμανση με τη μητρική ένωση - Επιβεβαίωση με πρότυπο	1
Hydroxyclearithromycin 	Clarithromycin	8,5 (9,2)	-Παρόμοια ενδο-ημερήσια και εβδομαδιαία διακύμανση με τη μητρική ένωση	3

III. Αποτελέσματα

Hydroxy nicotine

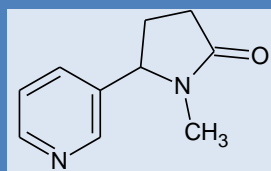


Nicotine

3,1 (2,3)

3

Cotinine



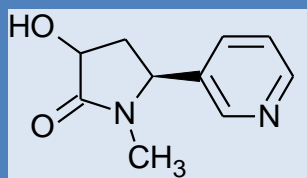
Nicotine

4,9 (5,1)

-Ομοιότητα 0.99 με
MassBank καταγραφή
WA000998
- Επιβεβαίωση με πρότυπο

1

Hydroxy cotinine



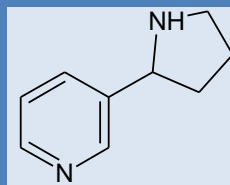
Nicotine

3,9 (4,0)

- HILIC/RP έκλυση
- Επιβεβαίωση με πρότυπο

1

Nornicotine



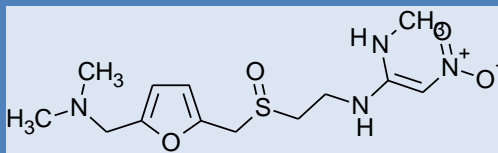
Nicotine

2,5 (2,6)

-Ομοιότητα 0.77 με NIST
καταγραφή 1185301

2β

Ranitidine-S-oxide



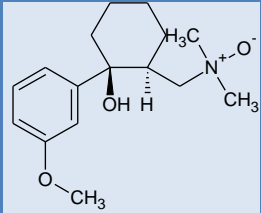
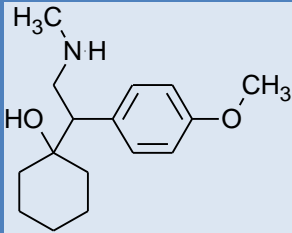
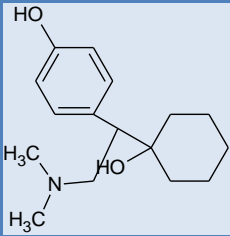
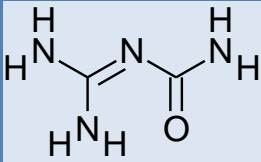
Ranitidine

2,0 (2,9)

-Παρόμοια εβδομαδιαία
διακύμανση με τη μητρική
ένωση
-Επιβεβαίωση με πρότυπο

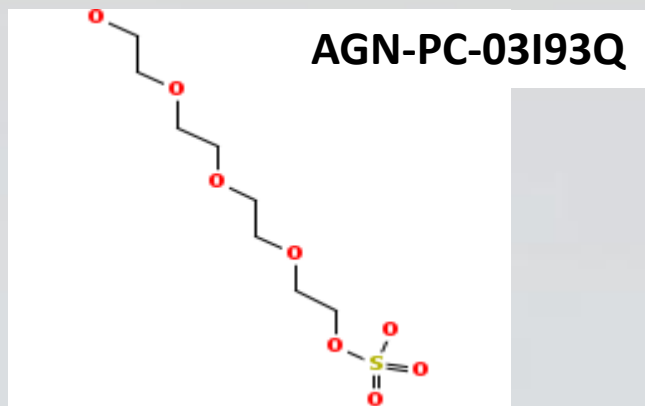
1

III. Αποτελέσματα

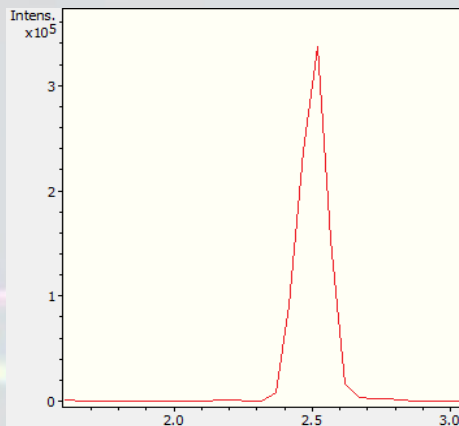
Tramadol-N-oxide 	Tramadol	6,0 (8,0)	-Παρόμοια εβδομαδιαία διακύμανση με τη μητρική ένωση	2β
N-desmethyl venlafaxine 	Venlafaxine	7,4 (6,3)	-Ομοιότητα 0.96 με MassBank καταγραφή EA103410 -Παρόμοια ενδο-ημερήσια και εβδομαδιαία διακύμανση με τη μητρική ένωση	2α
O-desmethyl venlafaxine 	Venlafaxine	6,0 (6,4)	-Ομοιότητα 0.98 με MassBank καταγραφή EA105304 -Παρόμοια ενδο-ημερήσια και εβδομαδιαία διακύμανση με τη μητρική ένωση	2α
Guanylurea 	Metformin	1,3 (1,2)	- HILIC/RP έκλυση -Επιβεβαίωση με πρότυπο	1

III. Suspect Screening - Επιφανειοδραστικά

...μετά από non-target screening



- Ακριβής μάζα: 273,0651
- $t_R = 2,4$ min
- Ακρίβεια: 0,4 ppm
- Ισοτοπική προσ.: 3,2 mSigma



PROPOSED WORKFLOW

- Intensity
- Presence of a distinctive isotopic pattern
- Other options

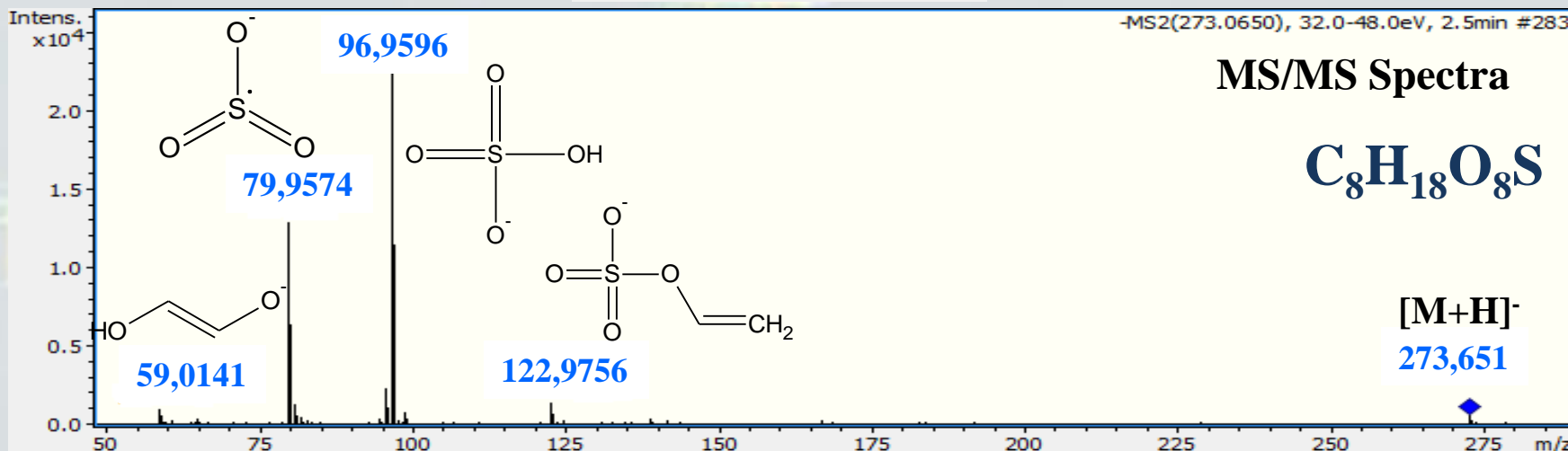
Full scan (MS) and Product ion spectra (MS/MS)
Accurate mass measurements

Blank subtraction

Automatic peak detection using Algorithms

Peak prioritization

Determination and evaluation of candidates



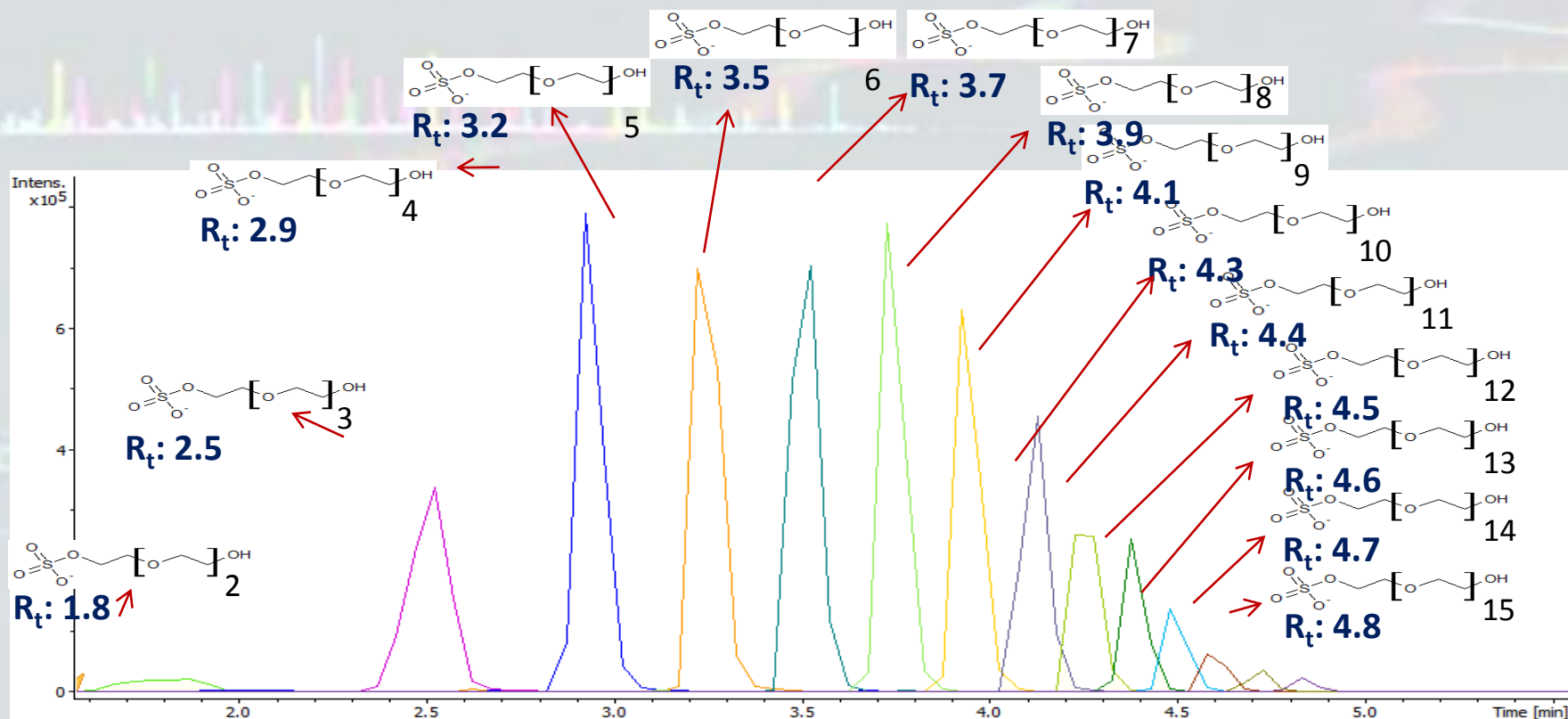
III. Suspect Screening - Επιφανειοδραστικά

Άλλες ενώσεις από την ίδια ομόλογη σειρά ???

Άλλες ομόλογες σειρές επιφανειοδραστικών ενώσεων ???

→ Retrospective Analysis

Δημιουργία βάσης δεδομένων με ομόλογες σειρές επιφανειοδραστικών ενώσεων για suspect screening !!!



III. Suspect Screening - Επιφανειοδραστικά

Ομόλογες σειρές επιφανειοδραστικών

- Linear Alkylbenzyl Sulfonates (LAS),
- SulfoPhenyl Alkyl Carboxylic acids (SPACs),
- SulfoPhenyl Alkyl Di-Carboxylic acids (SPADCs),
- Di-Alkyl Tetralin Sulfonates (DATS),
- Sulfo-Tetralin Alkyl Carboxylic acids (STACs),
- Sulfo-Tetralin Alkyl Di-Carboxylic acids (STADCs),
- Alkyl Sulfates (AS),
- Alkyl Ethoxy Sulfates (AES),
- Secondary Alkyl Sulfonates (SAS),
- NonylPhenol EthOxylate (NPEO) & sulfates (NPEO-S)

Αποτελέσματα

- ✓ 398 ύποπτα επιφανειοδραστικά στη λίστα
- ✓ 82 πιθανές ενώσεις
- ✓ 38/82 → MS/MS δεδομένα
- ✓ 44/82 → άλλα επιπλέον αποδεικτικά στοιχεία

Επιπλέον διαγνωστικά αποδείξεις

- RP / HILIC Έκλουση
- Θετικός & Αρνητικός Ιοντισμός ESI
- Αυξανόμενο t_R με αύξηση της αλυσίδας
- Αξιολόγηση MS/MS φάσματος

Συμπεράσματα




Target Analysis

~10%
ενώσεων



Suspect Screening

< 20% ύποπτες
ενώσεις



Non-target Screening

>70% άγνωστες
ενώσεις

Ολιστική εκτίμηση περιβαλλοντικού κινδύνου

Οι μέθοδοι στοχευμένης ανάλυσης θα πρέπει να συνοδεύονται από παρακαλούθηση ύποπτων ή άγνωστων ενώσεων!

- **Target analysis** → απαραίτητο βήμα για μια ολοκληρωμένη ροή εργασίας
“The wider, the better”
- **Suspect screening** → Πιθανή ταυτοποίηση μεγάλου αριθμού μεταβολιτών και TPs
“The smarter, the better”
- **Non-target screening** → Πιθανή ταυτοποίηση κορυφών μεγάλης αφθονίας

Γενικά συμπεράσματα – Μελλοντικές προοπτικές

- ❖ Μελέτη αναδυόμενων ρύπων που δεν έχουν ακόμα μελετηθεί: Ανάγκη για ανάπτυξη ευαίσθητων μεθόδων με σκοπό τη μελέτη των συγκεντρώσεων τους στο υδάτινο περιβάλλον, των συντελεστών κατανομής & της τύχης τους στο περιβάλλον.
- ❖ Target Screening: ανίχνευση & ποσοτικοποίηση ενώσεων που δεν περιλαμβάνονται σε περιβαλλοντικούς ελέγχους ρουτίνας.
Δημιουργία βάσης δεδομένων με περισσότερες ενώσεις για wide-scope target screening.
Retrospective analysis για κάθε νέα ένωση που δημοσιεύεται στη βιβλιογραφία.
- ❖ Suspect Screening: μεθοδολογία για ταυτοποίηση ενώσεων μετά από συγκεκριμένο θεωρητικό υπόβαθρο → μεταβολίτες, παραπροϊόντα, ενώσεις από βιβλιογραφία, ομάδα ενώσεων με συγκεκριμένες ιδιότητες.
Εμπλουτισμός βάσεων δεδομένων (chemspider), βιβλιοθηκών φασμάτων (massbank).
Δημιουργία & βελτιστοποίηση λογισμικών για πρόβλεψη χρόνου ανάσχεσης, για *in-silico* θραυσματοποίηση.
- ❖ Non-target Screening: απαραίτητο βήμα για ανάλυση αναδυόμενων ρύπων σε περιβαλλοντικά δείγματα, καθώς μεγάλο μέρος των ενώσεων- κορυφών (70%) παραμένουν άγνωστες.



Ευχαριστώ...

This research has been co-financed by the European Union (European Social Fund – ESF) and Greek national funds through the Operational Program "Education and Lifelong Learning" of the National Strategic Reference Framework (NSRF). Research Funding Program: **THALES**. Investing in knowledge society through the European Social Fund.
(www.aegean.gr/environment/watermicropol).





Q&A

Ερωτήσεις
παρακαλώ...