



ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ ΚΡΗΤΗΣ

ΣΧΟΛΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΚΑΙ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

**ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΔΕΙΚΤΩΝ ΚΟΠΡΑΝΩΔΟΥΣ ΜΟΛΥΝΣΗΣ
ΓΙΑ ΤΗ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΥΔΑΤΙΝΟΥ
ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ**

**Comparative evaluation of indicators of fecal pollution for the
microbiological quality of the aquatic environment**

Διπλωματική εργασία

Ιωάννης Καττής

A.M. 2018050090

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Δανάη Βενιέρη (επιβλέπουσα)

Τρύφων Δάρας

Ευπραξία Μαριά

Ιούλιος 2025

«Απαγορεύεται η αντιγραφή, αποθήκευση και διανομή της παρούσας εργασίας, εξ' ολοκλήρου η τμήματος αυτής, για εμπορικό σκοπό. Επιτρέπεται η ανατύπωση , αποθήκευση και διανομή για μη κερδοσκοπικό σκοπό, εκπαιδευτικού ή ερευνητικού χαρακτήρα, με την προϋπόθεση να αναγράφεται η πηγή προέλευσης. Ερωτήματα που αφορούν τη χρήση εργασίας για άλλη χρήση θα πρέπει να απευθύνονται προς τον συγγραφέα. Οι απόψεις και τα συμπεράσματα που περιέχονται σε αυτό το έγγραφο εκφράζουν τον συγγραφέα και δεν πρέπει να ερμηνευθεί ότι αντιπροσωπεύουν τις επίσημες θέσεις του Πολυτεχνείου Κρήτης.»

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στο Εργαστήριο «Περιβαλλοντικής Μικροβιολογίας» στα πλαίσια του Προγράμματος Προπτυχιακών Σπουδών της Σχολής Χημικών Μηχανικών και Μηχανικών Περιβάλλοντος του Πολυτεχνείου Κρήτης. Θα ήθελα να ευχαριστήσω την Επιβλέπουσα Καθηγήτρια κα. Βενιέρη Δανάη, για την ανάθεση του θέματος, την συνεργασία μας και για την καθοδήγηση της. Επιπλέον, ιδιαίτερες ευχαριστίες, οφείλω στην κα. Γουνάκη Ιωσηφίνα, Ε.Δ.Ι.Π., για την υπομονή και την μεγάλη βοήθεια που μου πρόσφερε κατά την εκπόνηση της εργασίας. Ακόμη, θα ήθελα να ευχαριστήσω πολύ τα μέλη της τριμελούς επιτροπής, τον κ. Δάρα Τρύφωνα και την κα. Μαριά Ευπραξία για τη συμμετοχή τους και για το χρόνο που διέθεσαν στην αξιολόγηση της εργασίας.

Περίληψη

Το νερό είναι ένας απαραίτητος φυσικός πόρος που είναι κρίσιμος για τη ζωή και την ανάπτυξη στον πλανήτη. Ωστόσο, οι ανθρώπινες δραστηριότητες επηρεάζουν αρνητικά την ποιότητά του, οδηγώντας σε αυξημένες απαιτήσεις για συστηματική παρακολούθηση και εφαρμογή κανονισμών προστασίας. Η μικροβιολογική ποιότητα του υδάτινου περιβάλλοντος αξιολογείται κυρίως μέσω δεικτών κοπρανώδους ή ιικής μόλυνσης, όπως *Escherichia coli*, *Enterococcus sp.*, *Clostridium perfringens*, Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (ΟΜΧ) στους 22°C και 37°C, καθώς και βακτηριοφάγων που μολύνουν *E. coli* και *Staphylococcus aureus*. Η παρούσα εργασία στοχεύει στη συγκριτική αξιολόγηση αυτών των δεικτών για τον χαρακτηρισμό της μικροβιακής επιβάρυνσης σε διαφορετικά υδάτινα περιβάλλοντα. Πραγματοποιούνται δειγματοληψίες από θαλασσινό νερό σε τρεις παραλίες (Σούδα, Παλιό Λιμάνι, Χρυσή Ακτή) και από λύματα στις εγκαταστάσεις των ΔΕΥΑΧ και ΔΕΥΑΒΑ, σε τρία στάδια επεξεργασίας (εισροή, δευτεροβάθμια, εκροή). Τα αποτελέσματα των μετρήσεων αναλύονται στατιστικά με μονοπαραγοντική ανάλυση διασποράς (one-way ANOVA) και συσχέτιση Pearson. Η ανάλυση ANOVA δείχνει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές στις μέσες συγκεντρώσεις μεταξύ των μικροοργανισμών ανά περιβαλλοντική κατηγορία. Ωστόσο, η ανάλυση Pearson αποκαλύπτει ισχυρές θετικές συσχετίσεις μεταξύ *E. coli*, *Enterococcus sp.* και των βακτηριοφάγων που μολύνουν *E. coli*, καθώς και μεταξύ ΟΜΧ στους 22°C και 37°C. Αντίθετα, *C. perfringens* και οι βακτηριοφάγοι του *S. aureus* παρουσιάζουν ασθενείς συσχετίσεις. Ενδεικτικά, καταγράφηκαν υπερβάσεις νομοθετικών ορίων για *E. coli* στην εκροή της ΔΕΥΑΒΑ κατά την τέταρτη δειγματοληψία, καθώς και στην παραλία της Σούδας στην πρώτη και τρίτη δειγματοληψία. Αντίστοιχα, ο δείκτης *Enterococcus sp.* ξεπέρασε τα όρια στην εκροή της ΔΕΥΑΒΑ στην τέταρτη δειγματοληψία. Επιπλέον, παρατηρήθηκε ισχυρή συσχέτιση της παρουσίας *E. coli* με τους αντίστοιχους βακτηριοφάγους του, γεγονός που υποστηρίζει τη χρήση τους ως συμπληρωματικούς δείκτες πρόσφατης κοπρανώδους ρύπανσης. Η συνδυασμένη παρακολούθηση πολλαπλών μικροβιολογικών δεικτών συμβάλλει σε πιο ολοκληρωμένη αξιολόγηση της ποιότητας των υδάτων και επιτρέπει την έγκαιρη ανίχνευση πιθανής ρύπανσης.

Abstract

Water is an essential natural resource that is critical for life and development on the planet. However, human activities adversely affect its quality, leading to increased demands for systematic monitoring and implementation of protection regulations. The microbiological quality of the aquatic environment is mainly assessed through indicators of faecal or viral contamination, such as *Escherichia coli*, *Enterococcus sp.*, *Clostridium perfringens*, *Total Microbial Flora (TMF)* at 22°C and 37°C, and *bacteriophages infecting E. coli* and *Staphylococcus aureus*. This paper aims to comparatively evaluate these indicators to characterize microbial load in different aquatic environments. Sampling is performed from seawater at three beaches (Souda, Old Port, Golden Beach) and from wastewater at the facilities of DEYAX and DEYAVA, at three treatment stages (influent, secondary, effluent). The results of the measurements are statistically analyzed by one-way ANOVA and Pearson's correlation. ANOVA analysis shows that there are no statistically significant differences in mean concentrations between micro-organisms by environmental category. However, Pearson analysis reveals strong positive correlations between *E. coli*, *Enterococcus sp.* and bacteriophage infecting *E. coli*, and between *OMX* at 22°C and 37°C. In contrast, *C. perfringens* and *S. aureus* bacteriophages show weak or inconsistent associations. Indicatively, exceedances of legal limits for *E. coli* were recorded in DEYAVA's outfall during the fourth sampling, as well as in Souda beach during the first and third sampling. Similarly, *Enterococcus sp.* exceeded the limits in the DEYAVA effluent at the fourth sampling. In addition, a strong correlation was observed between the presence of *E. coli* and its corresponding bacteriophages, supporting their use as complementary indicators of recent fecal pollution. The combined monitoring of multiple microbiological indicators contributes to a more comprehensive assessment of water quality and allows early detection of potential pollution.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ	2
Περίληψη	3
Abstract	4
Περιεχόμενα σελ.....	6
Κατάλογος εικόνων	8
Κατάλογος Πινάκων	8
Κατάλογος Διαγραμμάτων.....	9
Εισαγωγή.....	11
Το νερό και η ανάγκη να το προστατεύσουμε.....	11
Έλεγχος ποιότητας νερού	12
Δείκτες κοπρανώδους μόλυνσης.....	12
Σύγκριση δεικτών.....	13
<i>Escherichia coli</i>.....	14
<i>Clostridium perfringens</i>.....	15
Εντερόκοκκοι (<i>Enterococcus Sp.</i>).....	16
Συνολικός αριθμός βακτηρίων (<i>Total Bacterial, TBC</i>) – Ολική μικροβιακή χλωρίδα (OMX)	17
Βακτηριοφάγοι	18
Νομοθετικό πλαίσιο:	20
Στατιστική ανάλυση.....	21
Συντελεστής Συσχέτισης PEARSON (<i>r</i>).....	21
Ανάλυση Διακύμανσης (ANOVA)	22
Σκοπός	24
Υλικά και μέθοδοι	26
Δειγματοληψία.....	26
ΔΕΥΑΒΑ.....	26
ΔΕΥΑΧ	27
ΣΟΥΔΑ	28
Χρυσή Ακτή.....	29
Παλιό Λιμάνι.....	30
Συσκευές και όργανα	30

Πρώτο πειραματικό μέρος – Ανίχνευση και ποσοτικοποίηση βακτηριακών δεικτών στα υπό εξέταση δείγματα	31
Δεύτερο πειραματικό μέρος – Ανίχνευση και ποσοτικοποίηση βακτηριοφάγων στα υπό εξέταση δείγματα	33
Δημιουργία Πρότυπης Καμπύλης Ξενιστή	34
Στατιστική επεξεργασία	36
Αποτελέσματα-Συζήτηση	38
Ανίχνευση και ποσοτικοποίηση βακτηριακών δεικτών στα υπό εξέταση δείγματα ...	38
<i>E. coli</i>	38
<i>Enterococcus Sp.</i>	44
Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (OMX) 37°C	55
Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (OMX) 22°C	59
Ανίχνευση και ποσοτικοποίηση Βακτηριοφάγων	64
Βακτηριοφάγος που μολύνει <i>E. coli</i>	64
Βακτηριοφάγος που μολύνει <i>S. aureus</i>	65
Στατιστική Ανάλυση	66
Θαλασσινό νερό	66
Ανάλυση Διασποράς (ANOVA)	66
Ανάλυση συσχέτισης <i>Pearson Correlation</i>	68
Εισροή από ΔΕΥΑΧ και ΔΕΥΑΒΑ	71
Ανάλυση Διασποράς (ANOVA)	71
Ανάλυση συσχέτισης <i>Pearson Correlation</i>	72
Δευτεροβάθμια επεξεργασία από ΔΕΥΑΧ και ΔΕΥΑΒΑ	75
Ανάλυση Διασποράς (ANOVA)	75
Ανάλυση συσχέτισης <i>Pearson Correlation</i>	76
Εκροή από ΔΕΑΧ και ΔΕΥΑΒΑ	77
Ανάλυση Διασποράς (ANOVA)	77
Ανάλυση συσχέτισης <i>Pearson Correlation</i>	79
Στατιστικά συμπεράσματα	81
Συμπεράσματα	83
Μελλοντικές προτάσεις	84
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	85

Κατάλογος εικόνων

σελ.

Εικόνα 1: Απεικόνιση βακτηρίου <i>E. coli</i> (https://indeepanalysis.gr , accessed 3/2025)	14
Εικόνα 2: Απεικόνιση βακτηρίου <i>C. perfringens</i> (https://indeepanalysis.gr , accessed 3/2025)	15
Εικόνα 3: Απεικόνιση βακτηρίου <i>Enterococcus Sp.</i> (https://indeepanalysis.gr , accessed 3/2025)	16
Εικόνα 5: Ανάπτυξη <i>Total bacterial</i> σε θρεπτικό υλικό (https://indeepanalysis.gr , accessed 3/2025)	18
Εικόνα 6: Βακτηριοφάγος που μολύνει <i>E. coli</i>	19
Εικόνα 7: Εγκαταστάσεις ΔΕΥΑΒΑ, (https://www.deyava.gr/ , 3/2025)	27
Εικόνα 8: Εγκαταστάσεις ΔΕΥΑΧ. https://deyach.gr/viologikos/fotografies-egkatastasis/ , (3/2025)	28
Εικόνα 9: Λιμάνι Σούδας, https://www.chania.gr/dimos/de-soudas/de-souda.html , [3/2025]	29
Εικόνα 10: Χρυσή Ακτή, (https://www.allinchania.gr/city-info/beaches/chrisi-akti/ , [4/2025])	29
Εικόνα 11: Παλιό Λιμάνι, (https://www.newsbeast.gr/travel/arthro/7415201/chania-to-palio-limani-einai-simeio-anaforas-gia-tin-agapimeni-poli-tis-kritis , [4/2025])	30
Εικόνα 12: Συσκευή διήθησης	32

Κατάλογος Πινάκων

σελ.

Πίνακας 1. Νομοθεσία για ύδατα κολύμβησης	20
Πίνακας 2: Νομοθεσία για λύματα	20
Πίνακας 3: Μέση θερμοκρασία ημέρας δειγματοληψίας	30
Πίνακας 4. Ανάλυση Διασποράς (ANOVA) για Θαλασσινό νερό για τους δείκτες κοπρανώδους ή ιικής μόλυνσης, όπως <i>Escherichia coli</i> , <i>Enterococcus sp.</i> , <i>Clostridium perfringens</i> , Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (OMX) στους 22°C και 37°C, καθώς και βακτηριοφάγων που μολύνουν <i>E. coli</i> και <i>Staphylococcus aureus</i>	67
Πίνακας 5: Ανάλυση Pearson Correlation για τα Θαλασσινό νερό	67
Πίνακας 6 Ανάλυση Διασποράς (ANOVA) για εισροή για τους δείκτες κοπρανώδους ή ιικής μόλυνσης, όπως <i>Escherichia coli</i> , <i>Enterococcus sp.</i> , <i>Clostridium perfringens</i> , Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (OMX) στους 22°C και 37°C, καθώς και βακτηριοφάγων που μολύνουν <i>E. coli</i> και <i>Staphylococcus aureus</i>	71
Πίνακας 7: Ανάλυση Pearson Correlation για εισροής από ΔΕΥΑΧ και ΔΕΥΑΒΑ	72
Πίνακας 8: : Ανάλυση Διασποράς (ANOVA) για την Δευτεροβάθμια επεξεργασία από ΔΕΥΑΧ και ΔΕΥΑΒΑ για τους δείκτες κοπρανώδους ή ιικής μόλυνσης, όπως	

Escherichia coli, Enterococcus sp., Clostridium perfringens, Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (OMX) στους 22°C και 37°C.....	75
Πίνακας 9: Ανάλυση Pearson Correlation για την Δευτεροβάθμια επεξεργασία από ΔΕΥΑΧ και ΔΕΥΑΒΑ.	76
Πίνακας 10: Ανάλυση Διασποράς (ANOVA) για την Εκροής από ΔΕΥΑΧ και ΔΕΥΑΒΑ για τους δείκτες κοπρανώδους ή ιικής μόλυνσης, όπως Escherichia coli, Enterococcus sp., Clostridium perfringens, Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (OMX) στους 22°C και 37°C, καθώς και βακτηριοφάγων που μολύνουν E. coli και Staphylococcus aureus.....	77
Πίνακας 11: Ανάλυση Pearson Correlation για την τριτοβάθμια επεξεργασία από ΔΕΥΑΧ και ΔΕΥΑΒΑ.	79

Κατάλογος Διαγραμμάτων

σελ.

Διάγραμμα 1: Πρότυπη καμπύλη ξενιστή για την καταμέτρηση βακτηριοφάγων στα δείγματα.....	35
Διάγραμμα 2: Ανίχνευση και ποσοτικοποίηση E. coli στο θαλασσινό νερό.	38
Διάγραμμα 3:Συνολική παρουσία E. coli στο θαλασσινό νερό.....	39
Διάγραμμα 4: Ανίχνευση και ποσοτικοποίηση E. coli στην ΔΕΥΑΧ.....	40
Διάγραμμα 5: Συνολική παρουσία E. coli στην ΔΕΥΑΧ.....	41
Διάγραμμα 6: Ανίχνευση και ποσοτικοποίηση E. coli στην ΔΕΥΑΒΑ.....	42
Διάγραμμα 7: Συνολική παρουσία E. coli στην ΔΕΥΑΒΑ.....	42
Διάγραμμα 8: Ανίχνευση και ποσοτικοποίηση Enterococcus Sp. στο Θαλασσινό νερό.	44
Διάγραμμα 9:Συνολική παρουσία Enterococcus Sp. στο Θαλασσινό νερό.	44
Διάγραμμα 10: Ανίχνευση και ποσοτικοποίηση Enterococcus Sp. στην ΔΕΥΑΧ.....	46
Διάγραμμα 11:Συνολική παρουσία Enterococcus Sp. στην ΔΕΥΑΧ.....	47
Διάγραμμα 12: Ανίχνευση και ποσοτικοποίηση Enterococcus Sp. στην ΔΕΥΑΒΑ.....	48
Διάγραμμα 13:Συνολική παρουσία Enterococcus Sp. στην ΔΕΥΑΒΑ.....	48
Διάγραμμα 14: Ανίχνευση και ποσοτικοποίηση C. perfringens στο Θαλασσινό νερό.....	50
Διάγραμμα 15:Συνολική παρουσία C. perfringens στο Θαλασσινό νερό.....	50
Διάγραμμα 16: Ανίχνευση και ποσοτικοποίηση C. perfringens στην ΔΕΥΑΧ.....	51
Διάγραμμα 17:Συνολική παρουσία C. perfringens στην ΔΕΥΑΧ.....	52
Διάγραμμα 18: Ανίχνευση και ποσοτικοποίηση C. perfringens στην ΔΕΥΑΒΑ.....	53
Διάγραμμα 19: Ανίχνευση και ποσοτικοποίηση C. perfringens στην ΔΕΥΑΒΑ.....	53
Διάγραμμα 20: Ανίχνευση και ποσοτικοποίηση Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (OMX) 37°C στο Θαλασσινό νερό.....	55
Διάγραμμα 21: Συνολική παρουσία Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (OMX) 37°C στο Θαλασσινό νερό.....	55
Διάγραμμα 22: Ανίχνευση και ποσοτικοποίηση Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (OMX) 37°C στην ΔΕΥΑΧ.....	56

Διάγραμμα 23: Συνολική παρουσία Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (ΟΜΧ) 37°C στην ΔΕΥΑΧ.....	57
Διάγραμμα 24: Ανίχνευση και ποσοτικοποίηση Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (ΟΜΧ) 37°C στην ΔΕΥΑΒΑ.....	58
Διάγραμμα 25: Συνολική παρουσία Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (ΟΜΧ) 37°C στην ΔΕΥΑΒΑ.....	58
Διάγραμμα 26: Ανίχνευση και ποσοτικοποίηση Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (ΟΜΧ) 22°C στο Θαλασσινό νερό.....	59
Διάγραμμα 27: Συνολική παρουσία Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (ΟΜΧ) 22°C στο Θαλασσινό νερό.....	60
Διάγραμμα 28: Ανίχνευση και ποσοτικοποίηση Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (ΟΜΧ) 22°C στην ΔΕΥΑΧ.....	61
Διάγραμμα 29: Συνολική παρουσία Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (ΟΜΧ) 22°C στην ΔΕΥΑΧ.....	61
Διάγραμμα 30: Ανίχνευση και ποσοτικοποίηση Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (ΟΜΧ) 22°C στην ΔΕΥΑΒΑ.....	62
Διάγραμμα 31: Συνολική παρουσία Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (ΟΜΧ) 22°C στην ΔΕΥΑΒΑ.....	63
Διάγραμμα 32: Ανίχνευση και ποσοτικοποίηση Βακτηριοφάγων που μολύνουν <i>E. coli</i>	64
Διάγραμμα 33: Ανίχνευση και ποσοτικοποίηση Βακτηριοφάγων που μολύνουν <i>S. aureus</i>	65

Εισαγωγή

Το νερό και η ανάγκη να το προστατεύσουμε

Το νερό είναι ένας από τους πιο σημαντικούς φυσικούς πόρους στη Γη. Είναι απαραίτητο για τη ζωή και την ανάπτυξη κάθε μορφής στον πλανήτη μας. Αποτελεί βασικό στοιχείο όλων των οργανισμών, αλλά τα τελευταία χρόνια παρατηρείται ολοένα και περισσότερο η έλλειψή του, παρά το γεγονός ότι καλύπτει το μεγαλύτερο μέρος της επιφάνειας της Γης. Στην πραγματικότητα το 97,39% των υδατικών αποθεμάτων είναι το θαλασσίνο νερό ενώ το υπόλοιπο 2,6% της συνολικής ποσότητας είναι γλυκό νερό σε διαφορετικές μορφές όπως πάγοι (2,01%), υπόγεια νερά (0,58%), λίμνες και ποτάμια (0,02%) και υδρατμοί (0,02%). Το νερό όμως δεν είναι ομοιόμορφα κατανομημένο σε όλες τις περιοχές του πλανήτη και αν ο παρατηρητής πλησίαζε τη Γη θα έβλεπε σε άλλες περιοχές πλημμύρες και σε άλλες λειψυδρία.

Το νερό όμως δεν είναι σημαντικό μόνο για την επιβίωσή μας. Τα θαλάσσια και γλυκά ύδατα διατηρούν την μικροκλιματική ισορροπία σε τοπικό και παγκόσμιο επίπεδο και διαφυλάττουν τη βιοποικιλότητα. Παράλληλα, μας προσφέρουν δυνατότητες για μεταφορές, ψυχαγωγία, πόρους και πρώτες ύλες. Εξαιτίας των ανθρώπινων δραστηριοτήτων, ασκείται μια μεγάλη πίεση στους υδάτινους πόρους και γι' αυτό τον λόγο η Ευρωπαϊκή Ένωση έχει θεσπίσει πολιτικές για την προστασία των υδάτων, όπως η Οδηγία-Πλαίσιο για την Θαλάσσια Στρατηγική (2008) και η Οδηγία-Πλαίσιο για τα Ύδατα (2000) με σκοπό την προφύλαξη της οικολογικής κατάστασης του υδάτινου οικοσυστήματος. Έχουν γίνει βήματα προς τη σωστή κατεύθυνση, όπως η δημιουργία προστατευόμενων θαλάσσιων περιοχών και η μείωση της ρύπανσης, αλλά ακόμα δεν έχουμε καταφέρει να επαναφέρουμε πλήρως την ισορροπία στα υδάτινα οικοσυστήματα. Η βιώσιμη διαχείριση των θαλάσσιων και υδάτων είναι απαραίτητη για την διατήρηση και εξασφάλιση το οικοσυστήματος και των αγαθών που παρέχουν (European Environment Agency, 2020).

Έλεγχος ποιότητας νερού

Η ποιότητα του νερού αποτελεί κρίσιμο παράγοντα για τη δημόσια υγεία, το περιβάλλον και τη βιώσιμη ανάπτυξη. Σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (WHO, 2011), ο μικροβιολογικός έλεγχος της ποιότητας του νερού επικεντρώνεται στην ανίχνευση και ποσοτικοποίηση δεικτών κοπρανώδους μόλυνσης, όπως η *Escherichia coli*, οι εντερόκοκκοι και το *Clostridium perfringens*. Αυτοί οι μικροοργανισμοί είναι δείκτες πιθανής παρουσίας παθογόνων, καθώς προέρχονται από τα κόπρανα ανθρώπων ή ζώων και μπορεί να συνοδεύονται από επικίνδυνους ιούς, βακτήρια ή πρωτόζωα (Bartram et al., 2000).

Ταυτόχρονα, για την εκτίμηση της γενικής μικροβιακής κατάστασης του νερού, μετρούνται *Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (ΟΜΧ)* σε δύο θερμοκρασίες: 22°C και 37°C. Ωστόσο, η συγκεκριμένη μέτρηση δεν υποδηλώνει κοπρανώδη μόλυνση. Τέλος, υπάρχουν και οι βακτηριοφάγοι οι οποίοι μολύνουν βακτήρια όπως *E. coli* και *Staphylococcus aureus*. Οι βακτηριοφάγοι είναι συμπληρωματικοί δείκτες ιογενούς μόλυνσης. Οι ίδιοι επιβιώνουν καλύτερα στο περιβάλλον και αντανακλούν πιθανή παρουσία παθογόνων ιών.

Δείκτες κοπρανώδους μόλυνσης

Η μικροβιολογική ποιότητα των υδάτων εκτιμάται με βάση την ανίχνευση και ποσοτικοποίηση κοπρανώδους μόλυνσης. Η παρουσία βακτηρίων όπως τα κοπρανώδη κολοβακτηρίδια, *E. coli* και εντερόκοκκοι χρησιμοποιούνται ως ένδειξη πιθανής μόλυνσης από λύματα, γιατί τα βακτήρια βρίσκονται σε ζωικά και ανθρώπινα κόπρανα. Ενώ στις περισσότερες περιπτώσεις δεν είναι επιβλαβή από μόνα τους, υποδηλώνουν πιθανή παρουσία παθογόνων βακτηρίων, πρωτόζωων και ιών.

Η ρύπανση έχει επιπτώσεις στην υγεία και στο περιβάλλον γιατί το μολυσμένο νερό και η ανεπαρκής υγιεινή συνδέονται με την μετάδοση ασθενειών (χολέρα, διάρροια, ηπατίτιδα Α, τυφοειδής πυρετός και πολιομυελίτιδα). Παράλληλα, σημαντικές είναι οι επιπτώσεις και στην οικονομία. Ο εντοπισμός κοπρανώδους μόλυνσης χρήζει την ανάγκη άμεσης παρέμβασης. Οι

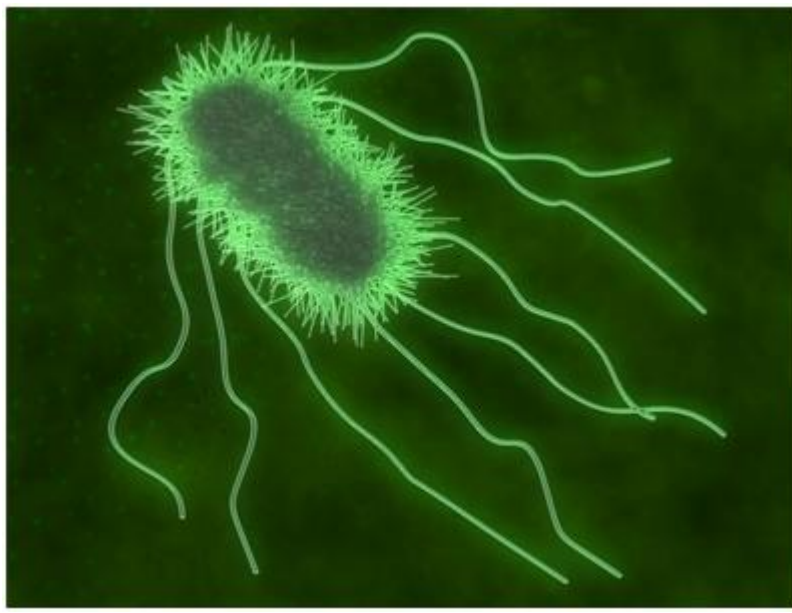
μικροοργανισμοί-δείκτες οφείλουν να πληρούν ορισμένους όρους, όπως για παράδειγμα να έχουν μεγαλύτερο χρόνο επιβίωσης από το πιο ανθεκτικό εντερικό παθογόνο. Στη συνέχεια, ο μικροοργανισμός θα πρέπει να είναι κατάλληλος για όλους τους τύπους υδάτων, ωστόσο, δεν θα πρέπει να αναπτύσσεται στο νερό. Ο μικροοργανισμός θα πρέπει να είναι μέλος της εντερικής μικροχλωρίδας θερμόαιμων ζώων και να είναι παρών όποτε υπάρχουν εντερικά παθογόνα. Τέλος, η πυκνότητα του μικροοργανισμού-δείκτη θα πρέπει να σχετίζεται άμεσα με το βαθμό της κοπρανώδους μόλυνσης και η μέθοδος ανάλυσης θα πρέπει να είναι απλή στην εφαρμογή της (Βενιέρη,2017).

Σύγκριση δεικτών

Η σύγκριση μικροβιολογικών δεικτών έχει ιδιαίτερη σημασία, καθώς κάθε δείκτης διαφέρει ως προς την ευαισθησία, ειδικότητα και σταθερότητα σε διαφορετικά υδάτινα περιβάλλοντα (Bartram and Rees, 2000; WHO, 2011). Αν και η ευρωπαϊκή και ελληνική νομοθεσία προβλέπει τη χρήση κυρίως των *E. coli* και *Enterococcus Sp.* ως βασικών δεικτών για τον χαρακτηρισμό της ποιότητας υδάτων (European Parliament and Council, 2006), στη βιβλιογραφία προτείνεται η ενίσχυση του ελέγχου με συμπληρωματικούς δείκτες, όπως το *Clostridium perfringens*, η Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (OMX) και οι βακτηριοφάγοι, προκειμένου να αυξηθεί η αξιοπιστία των αποτελεσμάτων (Cabral, 2010). Στο πλαίσιο αυτό, η εργασία εξετάζει συγκριτικά τη συμπεριφορά και την αποδοτικότητα των παραπάνω δεικτών, σε λύματα και θαλάσσια νερά, με στόχο την αξιολόγηση της καταλληλότητάς τους για χρήση σε προγράμματα παρακολούθησης μικροβιολογικής ποιότητας.

Escherichia coli

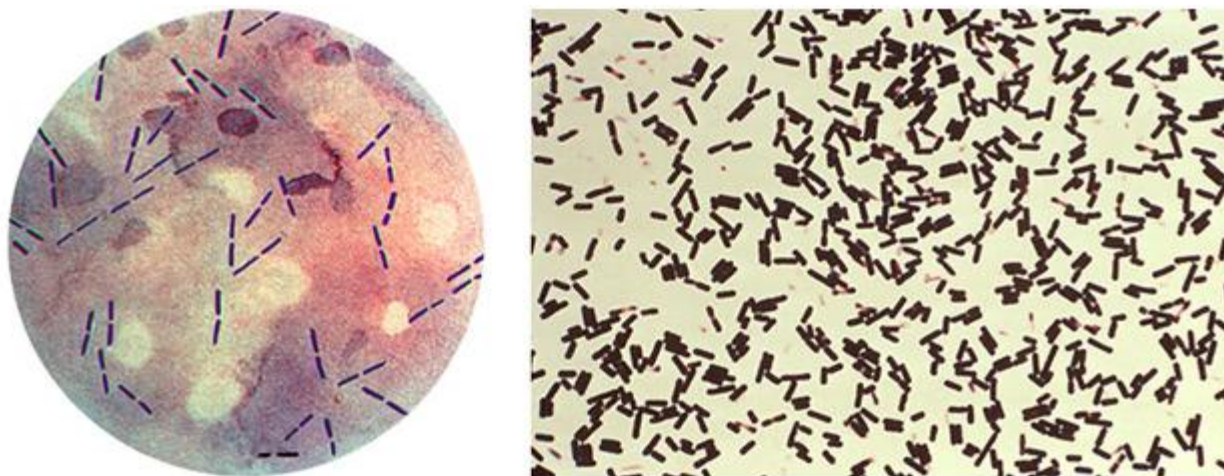
Η *Escherichia coli* (*E. coli*) είναι ένα Gram-αρνητικό μη σπορογόνο βακτήριο με ραβδοειδές σχήμα, το οποίο αποτελεί μέρος της εντερικής χλωρίδας των θερμόαιμων ζώων και ανήκει στην ομάδα των κολοβακτηριοειδών (WHO, 2011). Η παρουσία της *E. coli* στο νερό σημαίνει άμεση κοπρανώδη μόλυνση, η οποία έχει προκληθεί από λύματα ή αποχετεύσεις. Η μόλυνση αυτή υποδηλώνει την πιθανότητα να υπάρχουν και άλλοι παθογόνοι οργανισμοί (Bartram et al, 2000). Η *E. coli* όταν ανιχνεύεται στο νερό σημαίνει ότι υπάρχουν παθογόνοι μικροοργανισμοί από ανθρώπινα ή ζωικά κόπρανα (Cabral, 2010). Τέλος, η *E. coli* δεν μπορεί να επιβιώσει σε θερμοκρασίες άνω των 70°C για παρατεταμένη έκθεση, αλλά έχει την ικανότητα να επιβιώσει στους 4°C υπό συγκεκριμένες συνθήκες (Βενιέρη, 2017).



Εικόνα 1: Απεικόνιση βακτηρίου *E. coli* (<https://indeepanalysis.gr>, accessed 3/2025)

Clostridium perfringens

Το *Clostridium perfringens* θεωρείται ένας καλός δείκτης κοπρανώδους μόλυνσης. Είναι είδος Gram θετικό, έχει ραβδοειδές σχήμα και είναι ένα σπορογόνο αναερόβιο βακτήριο, το οποίο εντοπίζεται στα κόπρανα θερμόαιμων ζώων (WHO, 2011). Παράγει υδρόθειο (H_2S) και η παρουσία του συχνά συνοδεύεται από χαρακτηριστική οσμή κλούβιου αυγού στο νερό, εξαιτίας του υδρόθειου. Το *C. perfringens* μπορεί να συμβάλει στην διάβρωση των σωλήνων ύδρευσης, γιατί από την αντίδρασή του με τα μεταλλικά ιόντα του νερού, δημιουργείται ίζημα (Payment et al, 2000). Οι σπόροι του παρουσιάζουν υψηλή ανθεκτικότητα και μπορούν να επιβιώσουν για μεγάλο χρονικό διάστημα στο περιβάλλον, γεγονός που καθιστά το είδος κατάλληλο για την ανίχνευση και ποσοτικοποίηση προγενέστερης ρύπανσης (Bartram & Rees, 2000).



Εικόνα 2: Απεικόνιση βακτηρίου *C. perfringens* (<https://indeepanalysis.gr>, accessed 3/2025)

Εντερόκοκκοι (*Enterococcus Sp.*)

Οι εντερόκοκκοι ως δείκτες κοπρανώδους μόλυνσης είναι Gram-θετικά βακτήρια και αποτελούν ένα μέρος της ομάδας D των στρεπτοκόκκων. Οι ίδιοι μπορούν να επιβιώσουν σε φάσμα θερμοκρασιών από 10 έως και 45°C και pH από 4,5 έως και 10 (WHO, 2011). Όταν υπάρχουν στο νερό, σημαίνει ότι υπάρχει ρύπανση από κόπρανα θερμόαιμων ζώων, αλλά οι *Enterococcus faecalis* και *Enterococcus faecium* προέρχονται κατά κύριο λόγο από ανθρώπινα κόπρανα (Βενιέρη, 2017). Η ταυτόχρονη ανίχνευσή τους με *E. coli* μπορεί να αποτελεί ένδειξη παλαιότερης κοπρανώδους μόλυνσης, λόγω της μεγαλύτερης δυνατότητας επιβίωσης σε σύγκριση με άλλους δείκτες (Cabral, 2010).



Εικόνα 3: Απεικόνιση βακτηρίου *Enterococcus Sp.* (<https://indeepanalysis.gr>, accessed 3/2025)

Συνολικός αριθμός βακτηρίων (*Total Bacterial, TBC*) – Ολική μικροβιακή χλωρίδα (*OMX*)

Για την εκτίμηση της γενικής βακτηριακής επιβάρυνσης του νερού και άλλων επιφανειών, χρησιμοποιείται μια μικροβιολογική παράμετρος: ο συνολικός αριθμός των βακτηρίων. Συγκεκριμένα, προσδιορίζονται τα αερόβια και (προαιρετικά) αναερόβια βακτήρια, τα οποία είναι ετερότροφα βακτήρια του νερού. Καλό θα είναι σε αυτό το σημείο να αναφερθεί ότι η συγκεκριμένη παράμετρος δεν μας παρέχει ακριβή στοιχεία για την κοπρανώδη μόλυνση του νερού. Συνεπώς, η απόλυτη τιμή αυτής της παραμέτρου δεν παρέχει πληροφορίες για την επικινδυνότητα όσον αφορά στη δημόσια υγεία. Αντίθετα, σημασία έχει η ύπαρξη της μικροβιακής παρουσίας και η αξιόλογη μεταβολή της. Υπολογίζονται οι μικροοργανισμοί που αναπτύσσονται στους 37°C για 48 ώρες και της κοινής ψυχρόφιλης χλωρίδας που αναπτύσσονται στους 22°C για 72 ώρες. Επομένως, καταλήγουμε στο συμπέρασμα ότι για να υποστηριχθεί επαρκώς η μικροβιολογική εκτίμηση της γενικής κατάστασης του νερού, χρησιμοποιείται ο συνολικός αριθμός βακτηρίων. Όπως είναι φανερό, η αύξηση του αριθμού των βακτηρίων στους 22°C ή στους 37°C δεν σημαίνει απαραίτητα ότι υπάρχει σοβαρή ή κοπρανώδης μόλυνση. Ο συνολικός αριθμός βακτηρίων δεν συνδέεται άμεσα με παθογόνους μικροοργανισμούς, γι' αυτό και δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί μόνος του ως ένδειξη κινδύνου για τη δημόσια υγεία.



Εικόνα 4: Ανάπτυξη *Total bacterial* σε θρεπτικό υλικό (<https://indeepanalysis.gr>, accessed 3/2025)

Βακτηριοφάγοι

Οι βακτηριοφάγοι (ή φάγοι) είναι ιοί που μολύνουν τα βακτήρια και είναι παρόντες όπου εντοπίζονται κολοβακτηριοειδή. Υπάρχουν τρεις βασικοί τύποι βακτηριοφάγων που έχουν προταθεί ως ειδικοί δείκτες ιογενούς μόλυνσης: οι σωματικοί κολιφαγοί, οι F-ειδικοί φάγοι RNA (F-Specific RNA phages) και οι φάγοι του *Bacteroides fragilis*. Οι κολιφάγοι είναι ιοί που μολύνουν τα κολοβακτηρίδια, είναι αξιόπιστοι δείκτες κοπρανώδους μόλυνσης, καθώς δεν μπορούν να αναπαραχθούν εκτός του ξενιστή και διαθέτουν καλά τεκμηριωμένα χαρακτηριστικά επιβίωσης.

Οι βακτηριοφάγοι χρησιμοποιούνται ως συμπληρωματικοί δείκτες για την εκτίμηση της ιογενούς μόλυνσης στο νερό, όταν συνδυάζονται με άλλους μικροβιολογικούς δείκτες, όπως τα κολοβακτηριοειδή και οι εντερόκοκκοι (Βενιέρη, 2017). Στην παρούσα διπλωματική εξετάζονται οι βακτηριοφάγοι που μολύνουν *E. coli* και *S. aureus*. Οι βακτηριοφάγοι που μολύνουν *E. coli* χρησιμοποιούνται ως δείκτες κοπρανώδους μόλυνσης και είναι πιο ανθεκτικοί από τα βακτήρια

στην επεξεργασία λυμάτων και υποδεικνύουν πιθανή παρουσία ιογενών παθογόνων (Frontiers, 2021). Οι βακτηριοφάγοι που μολύνουν *S. aureus* έχουν απομονωθεί συχνά από λύματα και περιβαλλοντικά δείγματα. Επίσης, μπορούν να καταστρέψουν και τα πιο επικίνδυνα στελέχη Σταφυλοκόκκου, όπως αυτά που είναι ανθεκτικά στη μεθικιλίνη (MRSA) (Brieflands, 2022).



Εικόνα 5: Βακτηριοφάγος που μολύνει *E. coli*.

Νομοθετικό πλαίσιο:

Για την αξιολόγηση της μικροβιολογικής ποιότητας και εγκατάστασης επεξεργασίας λυμάτων υπάρχουν θεσμοθετημένα όρια από την Ελληνική και Ευρωπαϊκή νομοθεσία.

- Οι απαιτήσεις ποιότητας για τα ύδατα κολύμβησης βασίζεται στην Οδηγία 2006/7/ΕΚ του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου που έχει ενσωματωθεί στην ελληνική νομοθεσία με την ΚΥΑ 8600/416/2009. Σύμφωνα με αυτή προβλέπονται τα μικροβιολογικά κριτήρια του πίνακα 1.

Πίνακας 1. Νομοθεσία για ύδατα κολύμβησης.

	Εξαιρετικής ποιότητας	Καλής ποιότητας	Ανεπαρκής ποιότητας
<i>E. coli</i>	≤250 CFU/100 mL	≤500 CFU/100 mL	>500 CFU/100 m
<i>Enterococcus Sp.</i>	≤100 CFU/100 mL	≤200 CFU/100 mL	>200 CFU/100 mL

- Η νομοθεσία για τις μονάδες επεξεργασίες λυμάτων καθορίζει όρια μόνο για την εκροή των επεξεργασμένων λυμάτων από την Οδηγία 91/271/ΕΟΚ του Συμβουλίου και της Κοινής Υπουργικής Απόφασης 5673/400/1997 (ΦΕΚ 192/Β/1997) (πίνακας 2).

Πίνακας 2: Νομοθεσία για λύματα.

<i>E. coli</i>	≤ 100 CFU/100 mL
<i>Enterococcus Sp.</i>	≤ 100 CFU/100 mL

Το *C. perfringens*, Βακτηριοφάγοι, Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (ΟΜΧ) 37° C και Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (ΟΜΧ) 22° C δεν προβλέπονται από την νομοθεσία ως υποχρεωτικοί δείκτες γιατί χρησιμοποιούνται ως συμπληρωματικοί δείκτες.

Στατιστική ανάλυση

Στο πλαίσιο της συγκριτικής αξιολόγησης των δεικτών κοπρανώνδους μόλυνσης για τη μικροβιολογική ποιότητα του υδάτινου περιβάλλοντος είναι σημαντικό να εξεταστεί η μεταξύ τους στατιστική συσχέτιση και η διακύμανση τους ανά τοποθεσία δειγματοληψίας. Για αυτό εφαρμόστηκαν στατιστικές μέθοδοι όπως:

- Συντελεστής Συσχέτισης Pearson Correlation Coefficient
- Ανάλυση Διακύμανσης (ANOVA)

Συντελεστής Συσχέτισης PEARSON (r)

Ο συντελεστής συσχέτισης Pearson είναι ένας δείκτης που περιγράφει τον βαθμό της σχέσης μεταξύ δυο ποσοτικών μεταβλητών, στην συγκεκριμένη περίπτωση δυο μικροοργανισμών. Ο συντελεστής συσχέτισης παίρνει τιμές από -1 έως 1. Πιο αναλυτικά :

- $r=0$ τότε δεν υπάρχει σχέση μεταξύ των δύο μεταβλητών.
- $r=-1$ υπάρχει τέλεια αρνητική συσχέτιση.
- $r=1$ υπάρχει τέλεια θετική συσχέτιση.
- $0,8 \leq r < 1$ ή $-1 < r \leq -0,8$ η σχέση μεταξύ των μεταβλητών θεωρείται ισχυρή.
- $0,5 \leq r < 0,8$ ή $-0,8 < r \leq -0,5$ η σχέση μεταξύ των μεταβλητών θεωρείται μέτρια ισχυρή
- $0 < r < 0,5$ ή $-0,5 < r < 0$ η σχέση θεωρείται ασθενής.

Ο δειγματικός συντελεστής συσχέτισης r είναι ένα ποσοτικό μέτρο της ισχύος της γραμμικής σχέσης μεταξύ δύο τυχαίων μεταβλητών. Πρόκειται για έναν αριθμό μεταξύ -1 και 1. Ο δειγματικός συντελεστής συσχέτισης ορίζεται ως εξής:

$$r_{xy} = \frac{\sum_{i=1}^n y_i(x_i - \bar{x})}{[\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2 \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2]^{1/2}}$$

Αν οι δύο μεταβλητές έχουν τέλεια γραμμική συσχέτιση με θετική κλίση, τότε ισχύει $r_{xy}=1$, ενώ αν έχουν τέλεια γραμμική συσχέτιση με αρνητική κλίση, τότε ισχύει $r_{xy}=-1$. Αν δεν υπάρχει γραμμική συσχέτιση μεταξύ των δύο μεταβλητών, τότε ισχύει $r_{xy}=0$. Ο δειγματικός συντελεστής συσχέτισης ονομάζεται και συντελεστής συσχέτισης Pearson (Pearson correlation coefficient), από το όνομα του Karl Pearson, ο οποίος ήταν ένας από τους καλύτερους στο πεδίο της Στατιστικής στα τέλη του 19^{ου} και αρχές 20^{ου} αιώνα (Montgomery et al, 2017). Μια συσχέτιση που έχει συντελεστή κάτω από $|0,5|$ θεωρείται γενικά ασθενής, ενώ μια συσχέτιση με συντελεστή $|0,8|$ θεωρείται γενικά ισχυρή. Στην συγκεκριμένη εργασία, χρησιμοποιήθηκε η εντολή PEARSON() στο EXCEL για να βρεθεί η γραμμική σχέση ανάμεσα στους μικροοργανισμούς. Ο συντελεστής συσχέτισης Pearson χρησιμοποιείται ευρέως σε περιβαλλοντικές και μικροβιολογικές μελέτες για την αξιολόγηση της σχέσης μεταξύ δεικτών ρύπανσης (Cabral, 2010).

Ανάλυση Διακύμανσης (ANOVA)

Η Ανάλυση διακύμανσης είναι μια στατιστική μέθοδος, που έχει ως σκοπό την σύγκριση των μέσων τιμών τουλάχιστον τριών ομάδων, για να ελέγξει αν οι διαφορές των μέσων τιμών οφείλονται σε τυχαία διακύμανση ή είναι στατιστικά σημαντικές.

Η τιμή της ANOVA υπολογίζεται από τον τύπο :

$$F = \frac{MS_{between}}{MS_{within}}$$

1. Το $MS_{between}$ υπολογίζει την διαφορά ανάμεσα στους μέσους όρους των δειγμάτων
2. Το MS_{within} υπολογίζει την διασπορά μέσα σε κάθε δείγμα και για τον υπολογισμό του

Η μηδενική υπόθεση (H_0) στην Ανάλυση Διασποράς (ANOVA) υποστηρίζει ότι όλες οι υπό εξέταση ομάδες (στην προκειμένη περίπτωση οι μικροοργανισμοί) παρουσιάζουν την ίδια μέση τιμή, ενώ η εναλλακτική υπόθεση (H_1) δηλώνει ότι υπάρχει τουλάχιστον μία μέση τιμή που διαφέρει. Η απόφαση για αποδοχή ή απόρριψη της H_0 βασίζεται στη σύγκριση της τιμής p -value με το προκαθορισμένο επίπεδο σημαντικότητας ($\alpha = 0,05$).

Στην παρούσα εργασία εφαρμόστηκε μονοπαραγοντική Ανάλυση Διασποράς (one-way ANOVA), μέσω του εργαλείου ANOVA στο Excel, προκειμένου να διερευνηθούν τυχόν στατιστικά σημαντικές διαφορές στις μέσες συγκεντρώσεις μικροβιολογικών δεικτών, όπως *Escherichia coli*, *Enterococcus Sp.*, *Clostridium perfringens*, Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (22°C και 37°C), και βακτηριοφάγοι, μεταξύ διαφορετικών τύπων υδάτων (θαλάσσιο νερό, λύματα στην εισροή, δευτεροβάθμια και τριτοβάθμια επεξεργασία από τις εγκαταστάσεις ΔΕΥΑΧ και ΔΕΥΑΒΑ).

Η μέθοδος αυτή επιλέχθηκε καθώς επιτρέπει τη σύγκριση περισσότερων από δύο ανεξάρτητων ομάδων, ελέγχοντας αν η παρατηρούμενη διακύμανση μεταξύ τους είναι μεγαλύτερη από τη διακύμανση εντός των ομάδων, χωρίς να αυξάνεται το σφάλμα τύπου I λόγω πολλαπλών συγκρίσεων (Montgomery et al., 2017)

Σκοπός

Ο σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι η συγκριτική αξιολόγηση δεικτών κοπρανώδους μόλυνσης για τη μικροβιολογική ποιότητα του υδάτινου περιβάλλοντος. Η μελέτη επικεντρώνεται στην αξιολόγηση της μικροβιολογικής ποιότητας σε δύο βασικές κατηγορίες υδάτων: τα ύδατα κολύμβησης και τα επεξεργασμένα αστικά λύματα. Η επιλογή αυτή βασίζεται στο θεσμικό πλαίσιο που καθορίζεται στην ΚΥΑ 8600/416/2009 (ΦΕΚ 356/Β/2009), για τα ύδατα κολύμβησης, και στην ΚΥΑ 5673/400/1997 (ΦΕΚ 192/Β/1997), για τη συλλογή, επεξεργασία και διάθεση των αστικών λυμάτων. Στο πλαίσιο αυτό μελετήθηκε η αξιολόγηση της μικροβιολογικής ποιότητας υδάτων σε διάφορα περιβάλλοντα, όπως τα Θαλασσινό νερό (Σούδα, Παλιό λιμάνι, Χρυσή ακτή) και τα λύματα από εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων σε διαφορετικά στάδια επεξεργασίας (εισροή λυμάτων, δευτεροβάθμια επεξεργασία, εκροή λυμάτων)

Αναλυτικότερα οι στόχοι της εργασίας συνοψίζοντας ως εξής:

- Ποσοτική και ποιοτική καταγραφή μικροβιολογικών παραμέτρων, όπως *E. coli*, *Enterococcus Sp.*, *C. perfringens*, *Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (OMX) σε 22°C*, *Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (OMX) σε 37°C*, *Βακτηριοφάγος που μολύνει E. coli*, *Βακτηριοφάγος που μολύνει S. aureus*.
- Στατιστική ανάλυση των δεδομένων με τη μέθοδο Ανάλυση Διασποράς (ANOVA), για την αξιολόγηση πιθανών στατιστικά σημαντικών διαφορών του θαλασσινού νερού (Παλιό Λιμάνι, Σούδα, Χρυσή Ακτή) και των λυμάτων εισροής λυμάτων, δευτεροβάθμιας επεξεργασίας, εκροή λυμάτων από ΔΕΥΑΧ και ΔΕΥΑΒΑ.
- Στατιστική ανάλυση των δεδομένων με τη μέθοδο Ανάλυση συσχέτισης Pearson Correlation , για τον έλεγχο της γραμμικής σχέσης μεταξύ των μικροβιολογικών παραμέτρων μεταξύ του θαλασσινού νερού (Παλιό Λιμάνι, Σούδα, Χρυσή Ακτή) και των λυμάτων εισροής λυμάτων, δευτεροβάθμιας επεξεργασίας, εκροή λυμάτων από ΔΕΥΑΧ και ΔΕΥΑΒΑ

- Σύγκριση των αποτελεσμάτων με τα θεσμοθετημένα όρια που ορίζονται από την νομοθεσία, με σκοπό η εκτίμηση της συμβατότητας των μετρήσεων με τα προβλεπόμενα περιβαλλοντικά πρότυπα.
- Ανάδειξη της σημασίας πολυπαραμετρικής προσέγγισης για την αξιόπιστη εκτίμηση της μικροβιακής ποιότητας των υδάτων

Υλικά και μέθοδοι

Δειγματοληψία

Η πειραματική διαδικασία έλαβε χώρα από τις αρχές του Μαρτίου μέχρι αρχές Δεκεμβρίου του 2024. Πραγματοποιήθηκε λήψη δειγμάτων θαλασσινού νερού και λυμάτων τις εξής ημερομηνίες: 15/04/2024 (Α Δειγματοληψία), 28/05/2024 (Β Δειγματοληψία), 03/06/2024 (Γ Δειγματοληψία), 10/06/2024 (Δ Δειγματοληψία).

Οι σταθμοί δειγματοληψίας στα Χανιά ήταν οι εξής:

- ΔΕΥΑΒΑ (Δημοτική Επιχείρηση Ύδρευσης Αποχέτευσης Βορείου Άξονα Δήμου Πλατανιά)
- ΔΕΥΑΧ (Δημοτική Επιχείρηση Ύδρευσης Αποχέτευσης Χανίων)
- Σούδα (θαλασσινό νερό)
- Χρυσή Ακτή (θαλασσινό νερό)
- Παλιό Λιμάνι (θαλασσινό νερό)

ΔΕΥΑΒΑ

Η Εγκατάσταση Επεξεργασίας Λυμάτων (Ε.Ε.Λ) της ΔΕΥΑ Βορείου Άξονα (ΔΕΥΑΒΑ), είναι τοποθετημένη στο Γεράνι του Δήμου Πλατανιά, και εξυπηρετεί το παραλιακό μέτωπο του βόρειου άξονα του νομού Χανίων από το Κλαδισό έως Κολυμβάρι. Παράλληλα, εξυπηρετεί και οικισμούς όπως Δαράτσο, Γαλατάς, Γεράνι, Ξαμουδοχώρι, Βουκολιές και Σπηλία. Η ΔΕΥΑΒΑ διαχειρίζεται λύματα 60.000 κατοίκων. Η παροχή λυμάτων παρουσιάζει μεγάλες διακυμάνσεις ανάλογα την εποχή του χρόνου εξαιτίας του τουρισμού. Για παράδειγμα, τη χειμερινή περίοδο (Νοέμβριος-Απρίλιος) η παροχή λύματος είναι 4.000 με 5.000 m³/ημέρα και την θερινή περίοδο (Μάιος-Οκτώβριος) είναι 10.000 με 12.000 m³/ημέρα. Τα επεξεργασμένα λύματα στο τέλος της διαδικασίας από την εκροή οδηγούνται μέσω ενός υποθαλάσσιου αγωγού με μήκος 1.120 m στην θάλασσα. Τέλος, η εγκατάσταση ΔΕΥΑΒΑ επεξεργάζεται μόνο αστικά λύματα γιατί δεν έχει δεξαμενή βοθρολυμάτων



Εικόνα 6: Εγκαταστάσεις ΔΕΥΑΒΑ, (<https://www.deyava.gr/>, 3/2025)

ΔΕΥΑΧ

Η Δημοτική Επιχείρηση Ύδρευσης και Αποχέτευσης Χανίων (ΔΕΥΑΧ) διαχειρίζεται τις υπηρεσίες ύδρευσης και αποχέτευσης στον Δήμο Χανίων. Στο πλαίσιο των αρμοδιοτήτων της λειτουργεί και η Εγκατάσταση Επεξεργασίας Λυμάτων (ΕΕΛ), η οποία βρίσκεται στην περιοχή Κουμπελή, στα ανατολικά όρια της πόλης των Χανίων. Η συγκεκριμένη ΕΕΛ έχει δυναμικότητα 170.000 ισοδύναμων κατοίκων. Καθημερινά η εγκατάσταση δέχεται περίπου 23.600 m³ λυμάτων. Κάθε χρόνο, παράγονται περίπου 7.000.000 m³ επεξεργασμένων λυμάτων, από τα οποία τα 200 m³ ημερησίως επαναχρησιμοποιούνται για αρδευτικούς ή άλλους μη πόσιμους σκοπούς. Η εγκατάσταση καλύπτει ένα μέρος των ενεργειακών της αναγκών, παράγοντας 1.500 KWh/ημέρα και 4.500 t/y αφυδατωμένης ιλύος που διατίθενται στο ΧΥΤ Κορακιάς. Η εκροή και η ιλύς έχουν δυνατότητες επαναχρησιμοποίησης μεγάλης κλίμακας με τα κατάλληλα έργα περαιτέρω επεξεργασίας.



Εικόνα 7: Εγκαταστάσεις ΔΕΥΑΧ. <https://deyach.gr/viologikos/fotografies-egkatastasis/>, (3/2025).

ΣΟΥΔΑ

Η Σούδα είναι μια παραθαλάσσια δημοτική ενότητα του Δήμου Χανίων, με συνολική έκταση 21,075 km², και καταλαμβάνει ολόκληρο το νοτιοδυτικό τμήμα του όρμου της Σούδας. Συνορεύει από τα βορειοανατολικά με τη Δ.Ε. Ακρωτηρίου, από τα βορειοδυτικά με την πόλη των Χανίων, από τα δυτικά με τη Δ.Ε. Ελευθερίου Βενιζέλου και από τα νότια με τη Δ.Ε. Κεραμιών.



Εικόνα 8: Λιμάνι Σούδας, <https://www.chania.gr/dimos/de-soudas/de-souda.html>, [3/2025])

Χρυσή Ακτή

Η παραλία Χρυσή Ακτή βρίσκεται περίπου 2,5 km δυτικά του κέντρου των Χανίων και αποτελεί μία από τις πιο γνωστές παραλίες στα Χανιά.



Εικόνα 9: Χρυσή Ακτή, (<https://www.allinchania.gr/city-info/beaches/chrisi-akti/>, [4/2025]).

Παλιό Λιμάνι

Το παλιό Λιμάνι βρίσκεται στο βόρειο τμήμα της πόλης των Χανίων και η έκταση της περιοχής παρέμβασης είναι 2,77 km² με πυκνότητα πληθυσμού σύμφωνα με την απογραφή του 2011 είναι 8.287,72 κατοίκους/ km².



Εικόνα 10: Παλιό Λιμάνι, (<https://www.newsbeast.gr/travel/arthro/7415201/chania-to-palio-limani-einai-simeio-anaforas-gia-tin-agapimeni-poli-tis-kritis>,[4/2025]).

Πίνακας 3. Μέση θερμοκρασία ημέρας δειγματοληψίας.

ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΕΣ	15/04/2024	28/05/2024	03/06/2024	10/06/2024
T(°C)	19.8	20.3	23.3	26.6

Συσκευές και όργανα

- Κλίβανος υγρής αποστείρωσης - Αυτόκαυστο (Rayra)
- Κλίβανος ξηρής αποστείρωσης (Elvem)
- Ζυγός (KERN 440-21A)
- Ζυγός ακριβείας (Adventure OHAUS Balance)
- Υδατόλουτρο (GLF)
- Φασματοφωτόμετρο (Shimadzu UV 1240)
- Μαγνητικός αναδευτήρας

- Αναδευτήρας
- Θάλαμος επώασης (Thermo Scientific Heraeus)
- Τρυβλία petri
- Κρίκοι εμβολιασμού
- Αυτόματη Πιπέτα
- Πιπέτες Ογκομετρικές Γυάλινες 5mL και 10 mL
- Καταψύκτης

Μικροοργανισμοί που ελέγχθηκαν

- *Escherichia coli*
- *Enterococcus Sp.*
- *C. perfringens*
- Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (ΟΜΧ) 37°C
- Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (ΟΜΧ) 22°
- Βακτηριοφάγοι *E. coli*
- Βακτηριοφάγοι *Staphylococcus aureus*

Πρώτο πειραματικό μέρος – Ανίχνευση και ποσοτικοποίηση βακτηριακών δεικτών στα υπό εξέταση δείγματα

Θρεπτικά υλικά:

- Hicrome Agar για την ανίχνευση και ποσοτικοποίηση *E. coli*
- Slanetz Agar & Bille Aesculine Agar για την ανίχνευση και ποσοτικοποίηση *Enterococcus Sp.*
- Perfringens Agar Base TSC για την ανίχνευση και ποσοτικοποίηση *C. perfringens*
- Plate count Agar για την Ανίχνευση και ποσοτικοποίηση της ΟΜΧ

Πειραματική διαδικασία

Για την Ανίχνευση και ποσοτικοποίηση των μικροοργανισμών *E. coli*, *Enterococcus Sp.*, *C. perfringens*, πραγματοποιήθηκε διήθηση κατάλληλου όγκου των δειγμάτων νερού και λυμάτων μέσω φίλτρων νιτροκυτταρίνης, τα οποία έχουν μέγεθος πόρων 0,45 μm. Στη συνέχεια, τα φίλτρα τοποθετήθηκαν στα εκλεκτικά θρεπτικά υλικά και ακολούθησε επώαση σε κατάλληλες συνθήκες για κάθε μικροβιακό δείκτη. Στις περιπτώσεις των δειγμάτων λύματος από τη

ΔΕΥΑΧ και τη ΔΕΥΑΒΑ, εφαρμόστηκαν διαδοχικές αραιώσεις ώστε να διασφαλιστεί η ακρίβεια των αποτελεσμάτων. Αναλυτικότερα:

- Για την μέτρηση του *E. coli* το φίλτρο από την διήθηση τοποθετήθηκε σε τρυβλίο με θρεπτικό υλικό HiCrome και ακολούθησε επώαση στους 37 °C για 24h.
- Για την μέτρηση του *Enterococcus* Sp. το φίλτρο από την διήθηση τοποθετήθηκε σε τρυβλίο με επίστρωση από το θρεπτικό υλικό Slantez και ακολούθησε επώαση στους 37 °C για 24h. Στην συνέχεια το ίδιο φίλτρο το τοποθετούμε σε άλλο τρυβλίο με θρεπτικό υλικό Bille Aesculine Agar για 20min στους 44°C.
- Για την μέτρηση του *C. perfringens* το φίλτρο από την διήθηση τοποθετήθηκε σε τρυβλίο με θρεπτικό υλικό Perfringens Agar Base TSC και ακολούθησε επώαση στους 44 °C για 24h υπό αναερόβιες συνθήκες.



Εικόνα 11: Συσκευή διήθησης

Για την μέτρηση της OMX (Total Bacterial Count – TBC) τοποθετήθηκε από 1mL κάθε δείγματος σε 2 τρυβλία Petri 9 cm με Plate Count Agar. Τα τρυβλία επωάστηκαν στους 37 °C για 48h και στους 22 °C για 72h.

Δεύτερο πειραματικό μέρος – Ανίχνευση και ποσοτικοποίηση βακτηριοφάγων στα υπό εξέταση δείγματα

Ο σκοπός του δεύτερου πειραματικού μέρους είναι η Ανίχνευση και ποσοτικοποίηση και καταμέτρηση βακτηριοφάγων των βακτηρίων *E. coli* και *S. aureus* στα υπό εξέταση δείγματα νερού και λυμάτων.

ΘΡΕΠΤΙΚΑ ΥΛΙΚΑ:

- TYGB
- TYGA1
- TYGA2
- Peptone 1%
- Peptone saline Solution
- MacConkey Agar
- Calcium-glycose solution

Τρόπος κατασκευής θρεπτικού υλικού:

TYGB

- Trypticase peptone 10gr
- Yeast extract 1gr
- NaCl 8 gr
- H₂O 1000ml

TYGA1

- Trypticase peptone 10gr
- Yeast extract 1 gr
- NaCl 10gr
- H₂O 1000ml

TYGA2:

- Trypticase peptone 10gr
- Yeast extract 1 gr
- NaCl 8 gr
- Agar 20gr
- H₂O 1000ml

Peptone Saline Solution:

- Peptone 1 gr
- Sodium Chloride 8,5gr
- H₂O 1000 ml

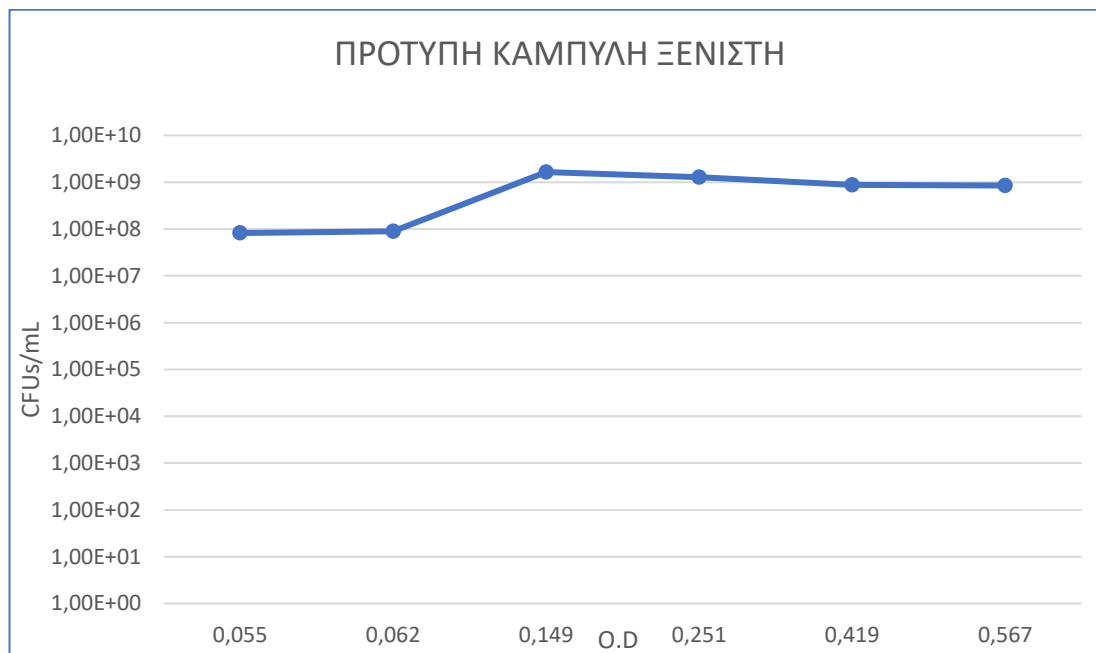
Calcium glycoside solution:

- CaCl₂·2H₂O 3gr
- Glucose 10 gr
- H₂O 100ml

Δημιουργία Πρότυπης Καμπύλης Ξενιστή

- **Βήμα 1ο:** Ο ξενιστής σε κάθε περίπτωση καλλιεργήθηκε σε στερεό θρεπτικό υλικό και επωάστηκε στους 37 ± 1 °C για 18 ± 2 ώρες.
- **Βήμα 2ο:** Μετά την επώαση, επιλέχθηκαν 5–6 χαρακτηριστικές αποικίες, οι οποίες αιωρήθηκαν σε 100 mL προθερμασμένου υγρού θρεπτικού υποστρώματος TYGB. Το εναιώρημα τοποθετήθηκε σε θάλαμο επώασης στους 37 ± 1 °C για 5 ± 1 ώρες, με περιοδική ανακίνηση.
- **Βήμα 3ο:** Ποσότητα TYGB λήφθηκε πριν την προσθήκη των αποικιών, ώστε να χρησιμοποιηθεί ως τυφλό (blank) για το μηδενισμό του φωτόμετρου στα 600 nm. Στο χρόνο 0, λήφθηκε δείγμα από την καλλιέργεια, μετρήθηκε η οπτική απορρόφηση (OD600) και πραγματοποιήθηκαν δεκαδικές αραιώσεις έως και 10^{-6} σε 0,1% peptone water.
- **Βήμα 4ο:** Από τις αραιώσεις 10^{-4} , 10^{-5} και 10^{-6} (χρόνος 0) εμβολιάστηκαν 100 ± 1 μL σε τρυβλία με TYGA 2%. Τα τρυβλία επωάστηκαν στους 37 ± 1 °C για 18 ± 2 ώρες.
- **Βήμα 5ο:** Η παραπάνω διαδικασία (λήψη δείγματος, OD600, αραιώση, εμβολιασμός) επαναλήφθηκε για τα χρονικά σημεία: 1 h, 2 h, 2:30 h, 3 h, 3:30 h, 4 h και 5 h.

- **Βήμα 6ο:** Μετά την επώαση, καταγράφηκε ο αριθμός αποικιών (CFU) ανά τρυβλίο και υπολογίστηκε η συγκέντρωση μικροοργανισμών (CFU/mL) για κάθε χρονικό σημείο.



Διάγραμμα 1: Πρότυπη καμπύλη ξενιστή για την καταμέτρηση βακτηριοφάγων στα δείγματα.

ΠΕΙΡΑΜΑ

1. Σε 100mL TYGB προστίθεται 1 mL Calcium-glycose solution. Θερμαίνεται στους 37°C για 1hr. Απομακρύνονται περίπου 3-4 mL και τοποθετούνται σε σωληνάριο για να χρησιμοποιηθούν ως Blank στην φωτομέτρηση.
2. Λαμβάνεται μια working culture από την κατάψυξη, ξεπαγώνει, φτάνει σε θερμοκρασία δωματίου.
3. Αφού φτάσει στην θερμοκρασία δωματίου εμβολιάζεται με 1mL τα 100mL του TYGB.
4. Γίνεται επώαση στους 37°C έως ότου επέλθει η ζητούμενη οπτική απορρόφηση στα 600 nm δηλαδή O.D=0,39 \rightarrow CFu/mL=4*10⁸.
5. Χρησιμοποιώντας τις δείγματα από τις παραλίες Παλιό λιμάνι, Σούδα, Χρυσή Ακτή. Επίσης χρησιμοποιούνται τα λύματα από την εισροή και εκροή των βιολογικών ΔΕΥΑΧ και

ΔΕΥΑΒΑ, δημιουργούνται αραιώσεις 10^{-1} , 10^{-2} με τη βοήθεια του διαλύματος Peptone. Πιο συγκεκριμένα γίνεται διαδοχική αραιώση. Για την αραιώση 10^{-1} προστίθεται 9 mL Peptone Saline Solution 1 mL δείγματος. Αντίστοιχα, για την αραιώση 10^{-2} προστίθεται 9 mL Peptone Saline Solution 1 mL του 10^{-1} .

6. Σε τρεις δοκιμαστικούς σωλήνες προστίθενται από 3 mL στον καθένα TYGA1. Εμβολιάζονται οι τρεις δοκιμαστικοί σωλήνες για κάθε δείγμα με 1 mL από την καλλιέργεια που βρίσκεται στον θάλαμο επώασης (working culture). Στην συνέχεια, προστίθεται στον πρώτο 1 mL λύματος, στον δεύτερο 1 mL από το 10^{-1} , στον τρίτο 1 mL από το 10^{-2} . Η διαδικασία πραγματοποιείται στο Υδατόλουτρο που έχει σταθερή θερμοκρασία $T=50^{\circ}\text{C}$ ρυθμιζόμενη από τον χρήστη ώστε να μην πήξει το θρεπτικό υλικό εξαιτίας χαμηλής θερμοκρασίας αλλά και να μην πεθάνουν οι μικροοργανισμοί εξαιτίας θερμοκρασίας.
7. Τοποθετείται το περιεχόμενο των δοκιμαστικών σωλήνων σε τρυβλία που έχουν επιστρωθεί με TYGA2.
8. Τοποθετούνται τα τρυβλία στον επωαστικό θάλαμο στους 37°C για 24 hr.
9. Παρατηρούνται και μετρούνται οι πλάκες των φάγων.

Στατιστική επεξεργασία

Διαδικασία ANOVA στο EXCEL

1. Επιλογή τύπου ANOVA: Single Factor, δηλαδή μονόδρομη ανάλυση διακύμανσης, γιατί συγκρίνει τις μέσες τιμές μεταξύ τριών ή περισσότερων ομάδων και αξιολογεί εάν οι παρατηρούμενες διαφορές μεταξύ των μέσων τιμών είναι στατιστικά σημαντικές.
2. Εισαγωγή δεδομένων από τις στήλες οι οποίες αντιστοιχούν στα σημεία δειγματοληψίας.
3. Εκτέλεση: **Excel > Data > Data Analysis > ANOVA: Single Factor**
Επιλέχθηκαν:
 - **Input Range:** το εύρος των στηλών που περιέχουν τις τιμές των ομάδων
 - **Grouped By:** Columns
 - **Output Range:** θέση όπου θα εμφανιστούν τα αποτελέσματα
4. Το Excel παράγει δύο πίνακες
 - Summary Table, που παρέχει για κάθε ομάδα:
 - **Count:** αριθμός τιμών
 - **Sum:** άθροισμα

- **Average:** μέση τιμή
- **Variance:** διακύμανση
- ANOVA Table
- **Between Groups:** διακύμανση μεταξύ ομάδων
- **Within Groups:** διακύμανση εντός ομάδων
- **F:** τιμή του F-τεστ
- **P-value:** αν η τιμή είναι $<0,05$, τότε οι μέσες τιμές διαφέρουν στατιστικά σημαντικά
- **F crit:** κρίσιμη τιμή για απόρριψη της μηδενικής υπόθεσης

Διαδικασία Συσχέτισης Pearson:

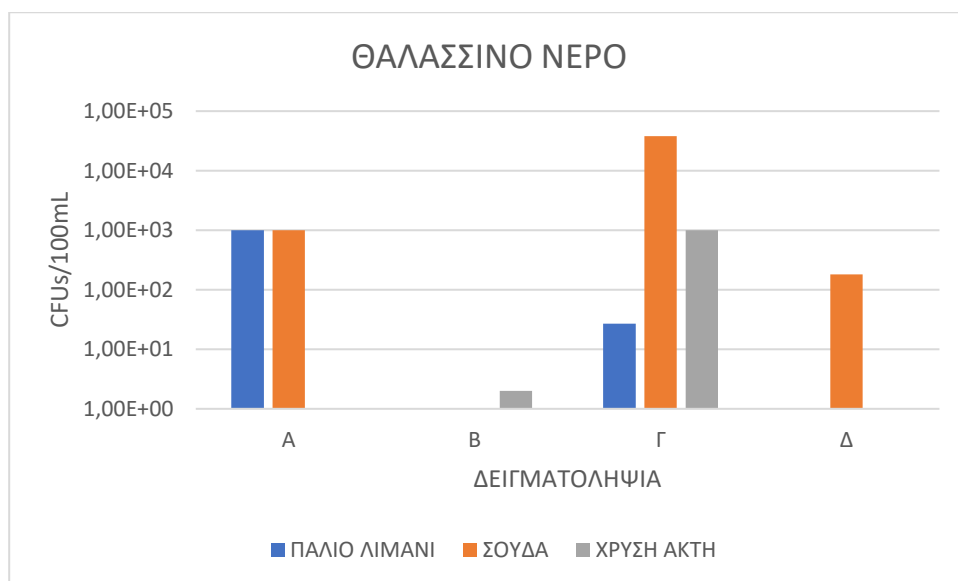
1. Καταγραφή μικροβιολογικών δεδομένων
2. Κατηγοριοποίηση δεδομένων ανάλογα την προέλευση τους
3. Υπολογισμός συσχετίσεων (Pearson r): Ο υπολογισμός έγινε με χρήση του Excel, με τη συνάρτηση =PEARSON(σειρά1; σειρά2)

Αποτελέσματα-Συζήτηση

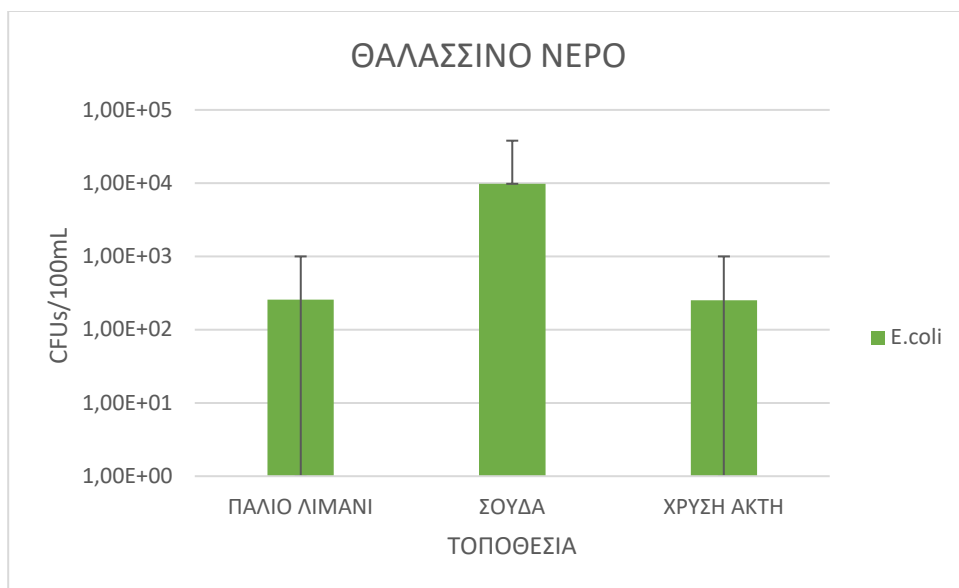
Ανίχνευση και ποσοτικοποίηση βακτηριακών δεικτών στα υπό εξέταση δείγματα

Σε αυτό το τμήμα της εργασίας παρουσιάζονται οι μικροβιολογικές αναλύσεις που έγιναν στα δείγματα νερού και λυμάτων στις παραλίες Παλιό λιμάνι, Χρυσή Ακτή, Σούδα και στους βιολογικούς ΔΕΥΑΧ και ΔΕΥΑΒΑ. Οι δείκτες που εξετάζονται είναι οι *E. coli*, *Enterococcus Sp.*, *C. perfringens*, τα Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (ΟΜΧ) στους 22°C και 37°C, καθώς και οι Βακτηριοφάγοι που μολύνουν *E. coli* και *S. aureus*. Για κάθε μικροοργανισμό περιγράφονται τα αποτελέσματα, γίνεται σύγκριση ανάμεσα στα σημεία δειγματοληψίας και γίνεται αναφορά στη σχετική νομοθεσία όπου είναι απαραίτητο.

E. coli



Διάγραμμα 2: Ανίχνευση και ποσοτικοποίηση *E. coli* στο θαλασσινό νερό.

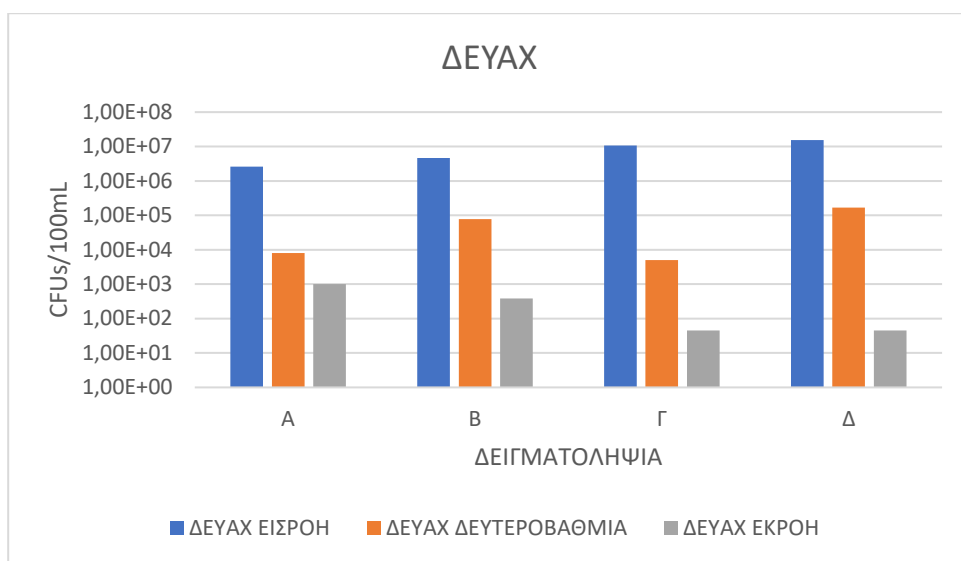


Διάγραμμα 3: Συνολική παρουσία *E. coli* στο θαλασσινό νερό.

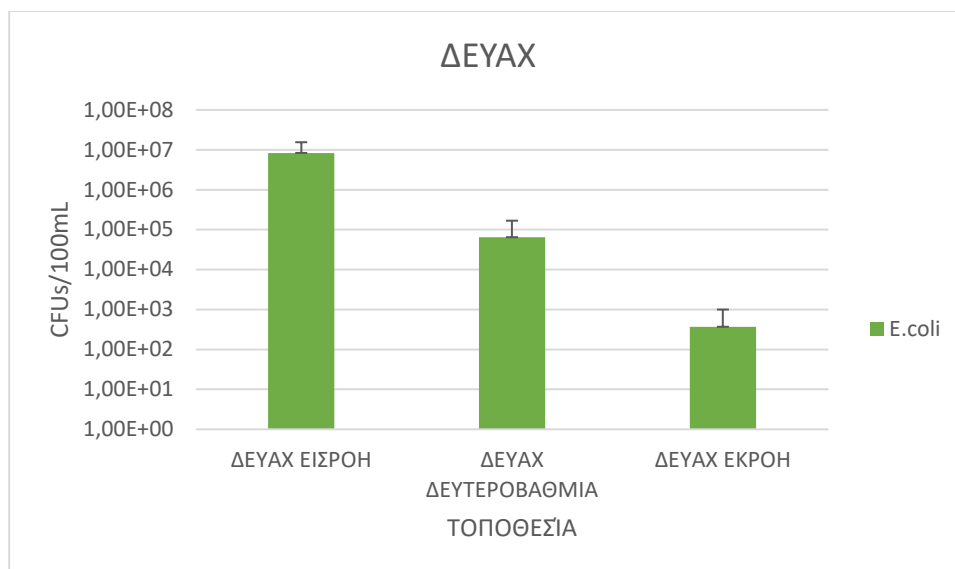
Στα Διαγράμματα 2 και 3 απεικονίζεται η συγκέντρωση του *E. coli* στο Παλιό λιμάνι και στις παραλίες Σούδας και Χρυσής Ακτής κατά τις τέσσερις δειγματοληψίες που πραγματοποιήθηκαν σε διαφορετικές περιόδους. Στο Διάγραμμα 2, στην πρώτη δειγματοληψία, η συγκέντρωση του *E. coli* στο Παλιό Λιμάνι και στην Σούδα είναι σχεδόν ίσες. Στην δεύτερη δειγματοληψία, η υψηλότερη συγκέντρωση είναι στην παραλία της Χρυσής Ακτής αλλά πρακτικά είναι χαμηλή και αυτό υποδεικνύει καλή ποιότητα νερού. Στην τρίτη δειγματοληψία, παρατηρείται η μέγιστη συγκέντρωση *E. coli* στην παραλία της Σούδας, που μπορεί να συνδέεται με την αύξηση θερμοκρασίας και επίδραση ανθρωπογενών δραστηριοτήτων. Στην τέταρτη δειγματοληψία, υπάρχει μείωση στην συγκέντρωση στην παραλία της Σούδας σε σύγκριση με την τρίτη δειγματοληψία. Στο Διάγραμμα 3 η διακύμανση όσον αφορά στη συγκέντρωση του βακτηρίου είναι μεγάλη, γεγονός που δείχνει αστάθεια και μεταβλητότητα.

Σύμφωνα με τη νομοθεσία για τα ύδατα κολύμβησης (Οδηγία 2006/7/EK), όταν η συγκέντρωση *E. coli* είναι ≤ 250 CFUs/100 mL, τα ύδατα χαρακτηρίζονται ως εξαιρετικής ποιότητας. Αν η τιμή είναι ≤ 500 CFUs/100 mL, η ποιότητα χαρακτηρίζεται ως καλή, ενώ αν υπερβαίνει τα 500 CFUs/100 mL, τότε η ποιότητα θεωρείται ανεπαρκής. Αναλύοντας τα δεδομένα των μετρήσεων παρατηρούνται υπερβάσεις του ορίου σε αρκετές περιπτώσεις. Στην πρώτη δειγματοληψία υπάρχει υπέρβαση ορίων στην παραλία της Σούδας και του Παλιού

Λιμανιού (1000CFUs/100mL) ενώ στην η παραλία της Χρυσής Ακτής χαρακτηρίζεται Εξαιρετική σαν κατηγορία ποιότητας(1CFUs/100mL). Στην δεύτερη δειγματοληψία το Παλιό Λιμάνι, Σούδα, Χρυσή Ακτή σύμφωνα με την νομοθεσία χαρακτηρίζονται για την ποιότητα τους σύμφωνα με την νομοθεσία εξαιρετικές. Στην τρίτη δειγματοληψία παρατηρείται σημαντική υπέρβαση του ορίου στην παραλία της Σούδας ($3,80 \times 10^4$ CFU/100mL), ενώ και στην παραλία της Χρυσής Ακτής καταγράφεται υπέρβαση (1.000 CFU/100mL). Στο Παλιό Λιμάνι η συγκέντρωση επίσης υπερβαίνει τα θεσμοθετημένα όρια, αν και σε μικρότερο βαθμό. Στην τέταρτη δειγματοληψία, το Παλιό Λιμάνι και η Χρυσή Ακτή χαρακτηρίζονται από εξαιρετική ποιότητα (1CFUs/100mL) ενώ η Σούδα χαρακτηρίζεται από καλή ποιότητα ($1,80 \times 10^2$ CFUs/100mL).



Διάγραμμα 4: Ανίχνευση και ποσοτικοποίηση *E. coli* στην ΔΕΥΑΧ.

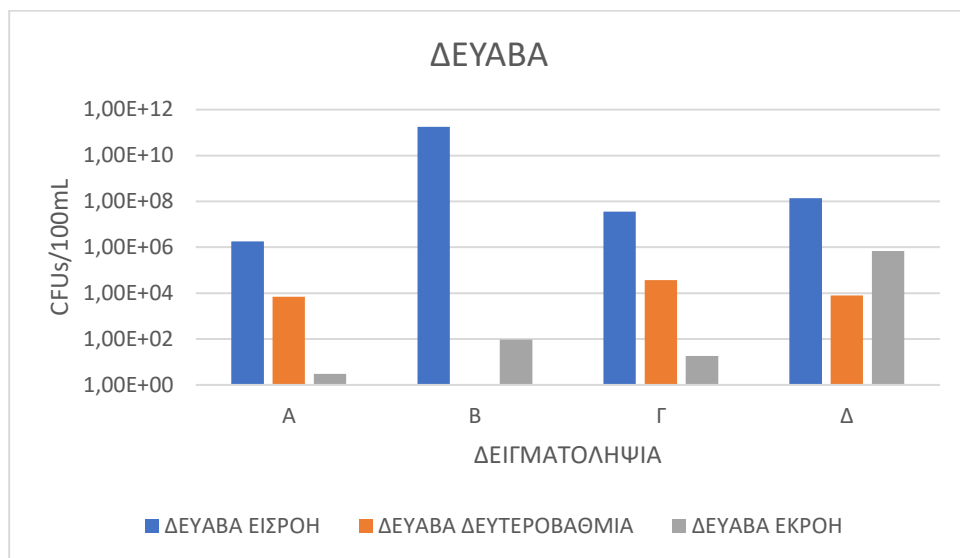


Διάγραμμα 5: Συνολική παρουσία *E. coli* στην ΔΕΥΑΧ.

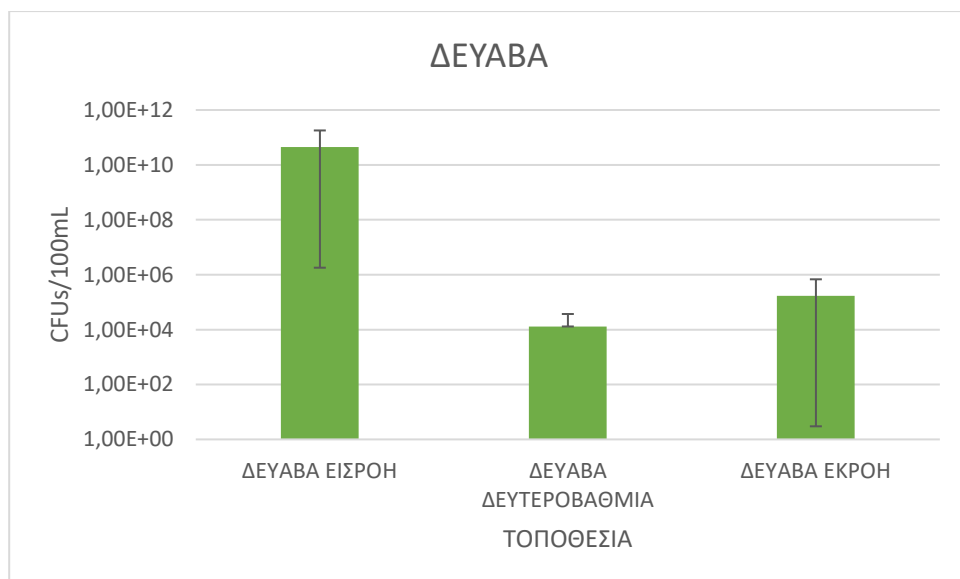
Στα Διαγράμματα 4 και 5 απεικονίζεται η συγκέντρωση *E. coli* στην εισροή, μετά τη δευτεροβάθμια επεξεργασία και στην εκροή λυμάτων στην ΔΕΥΑΧ. Παρατηρώντας το Διάγραμμα 4 μπορεί κάποιος να αντιληφθεί ότι και στις τέσσερις δειγματοληψίες η εισροή έχει μεγαλύτερη συγκέντρωση *E. coli*, η οποία αυξάνεται σε κάθε δειγματοληψία. Στην συνέχεια, η δευτεροβάθμια επεξεργασία είναι μικρότερη από την εισροή Όπως είναι αναμενόμενο, η υψηλότερη συγκέντρωση *E. coli* παρατηρείται στην εισροή, πριν την έναρξη της επεξεργασίας. Η συγκέντρωση μειώνεται σημαντικά μετά τη δευτεροβάθμια επεξεργασία, ενώ η εκροή παρουσιάζει ακόμη χαμηλότερες τιμές, γεγονός που υποδηλώνει αποτελεσματική λειτουργία της μονάδας.. Σαν αποτέλεσμα είναι λογικό, γιατί τα εισερχόμενα λύματα περιέχουν μεγαλύτερο αριθμό μικροοργανισμών , πριν υποβληθούν σε επεξεργασία. Στο Διάγραμμα 5 τα πολύ μικρά error bars φανερώνουν σταθερότητα στις μετρήσεις και συνέπεια στην απόδοση της εγκατάστασης

Σύμφωνα με τις ισχύουσες περιβαλλοντικές διατάξεις και τις απαιτήσεις που τίθενται σε εγκαταστάσεις βιολογικής επεξεργασίας λυμάτων με εκροή σε θαλάσσιο αποδέκτη, η συγκέντρωση του δείκτη *E. coli* στην εκροή της μονάδας οφείλει να είναι κατά κανόνα ≤ 100 CFUs/100 mL, ειδικά όταν η απόρριψη πραγματοποιείται κοντά σε περιοχές κολύμβησης ή ευαίσθητους θαλάσσιους αποδέκτες. Στην πρώτη δειγματοληψία, ο αριθμός αποικιών στην εκροή είναι 1000 CFUs/100 mL που υπερβαίνει το νομοθετικό όριο, αυτό σημαίνει ότι η επεξεργασία λυμάτων είναι ανεπαρκής. Στην δεύτερη δειγματοληψία, ο αριθμός αποικιών στην

εκροή είναι 388 CFUs/100 mL που υπερβαίνει το νομοθετικό όριο, αυτό σημαίνει ότι η επεξεργασία λυμάτων είναι ανεπαρκής. Στην τρίτη και τέταρτη δειγματοληψία τα επεξεργασμένα λύματα είναι καλής ποιότητας γιατί ο αριθμός αποικιών και στα δύο είναι 45 CFUs/100mL.



Διάγραμμα 6: Ανίχνευση και ποσοτικοποίηση *E. coli* στην ΔΕΥΑΒΑ.



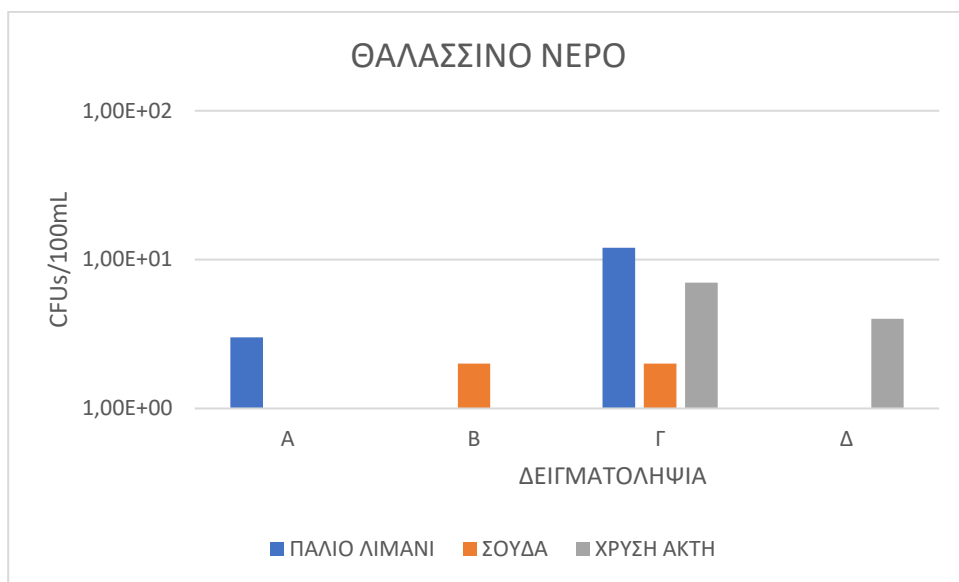
Διάγραμμα 7: Συνολική παρουσία *E. coli* στην ΔΕΥΑΒΑ.

Στα Διαγράμματα 6 και 7 απεικονίζεται η συγκέντρωση του *E. coli* στην εισροή, μετά τη δευτεροβάθμια επεξεργασία και στην τελική εκροή των λυμάτων στη ΔΕΥΑΒΑ (Δημοτική Επιχείρηση Ύδρευσης και Αποχέτευσης Βορείου Άξονα Χανίων). Το Διάγραμμα 6 εμφανίζει παρόμοιο μοτίβο με εκείνο της ΔΕΥΑΧ: η υψηλότερη συγκέντρωση *E. coli* παρατηρείται στην εισροή, με μέγιστη τιμή στη δεύτερη δειγματοληψία. Στη συνέχεια, οι συγκεντρώσεις μειώνονται μετά τη δευτεροβάθμια και ακόμη περισσότερο στην εκροή.

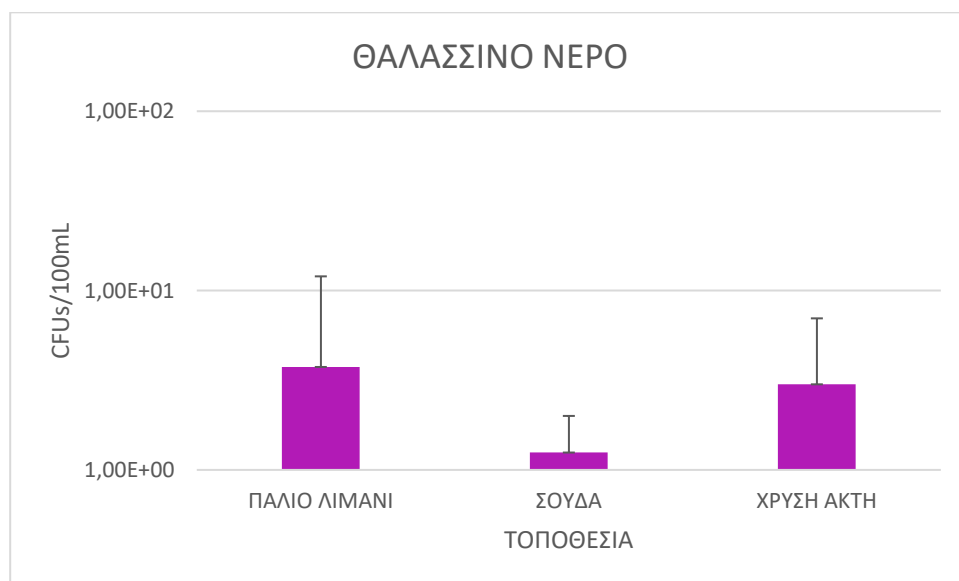
Στην δεύτερη και την τέταρτη δειγματοληψία καταγράφεται υψηλότερη συγκέντρωση *E. coli* στην εκροή σε σύγκριση με τη δευτεροβάθμια επεξεργασία, φαινόμενο που ενδέχεται να οφείλεται σε επαναμόλυνση των λυμάτων μετά την επεξεργασία. Στο Διάγραμμα 7 παρατηρούνται σημαντικές διακυμάνσεις τόσο στην εισροή όσο και στην εκροή, όπως φαίνεται από τα μεγάλα error bars, γεγονός που υποδηλώνει αστάθεια στη λειτουργία του βιολογικού καθαρισμού κατά τις συγκεκριμένες περιόδους. Αντίθετα, οι μετρήσεις μετά τη δευτεροβάθμια επεξεργασία παρουσιάζουν μικρή διασπορά, γεγονός που υποδηλώνει σταθερή λειτουργία στο συγκεκριμένο στάδιο.

Σύμφωνα με τις ισχύουσες περιβαλλοντικές διατάξεις, η συγκέντρωση του δείκτη *E. coli* στην εκροή μονάδων βιολογικής επεξεργασίας δεν πρέπει να υπερβαίνει τα 100 CFUs/100 mL, ειδικά όταν η απόρριψη γίνεται σε θαλάσσιους αποδέκτες κοντά σε περιοχές κολύμβησης. Στην πρώτη και τρίτη δειγματοληψία, τα επεξεργασμένα λύματα χαρακτηρίζονται ως εξαιρετικής ποιότητας, με συγκεντρώσεις *E. coli* 3 CFUs/100 mL και 18 CFUs/100 mL αντίστοιχα. Στη δεύτερη δειγματοληψία, η εκροή περιέχει 95 CFUs/100 mL, τιμή που βρίσκεται οριακά εντός των ορίων για «καλής ποιότητας» εκροή. Αντίθετα, στην τέταρτη δειγματοληψία παρατηρείται σοβαρή υπέρβαση, με τιμή 680.000 CFUs/100 mL, πολύ πάνω από τα επιτρεπτά όρια, υποδεικνύοντας πιθανή αστοχία στη λειτουργία της εγκατάστασης ή σοβαρή επιμόλυνση.

Enterococcus Sp.



Διάγραμμα 8: Ανίχνευση και ποσοτικοποίηση *Enterococcus Sp.* στο Θαλασσινό νερό.



Διάγραμμα 9: Συνολική παρουσία *Enterococcus Sp.* στο Θαλασσινό νερό.

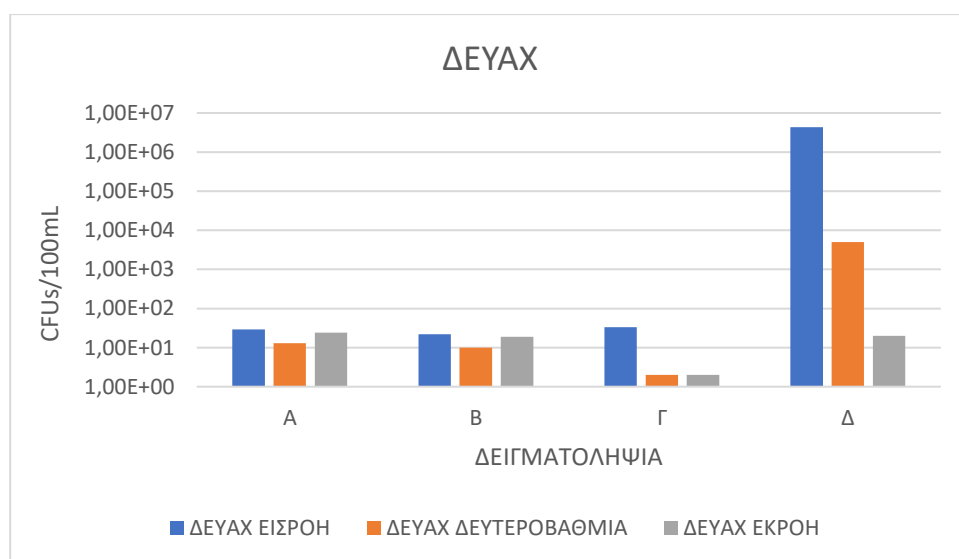
Στο Διάγραμμα 8 και στο Διάγραμμα 9 απεικονίζεται η συγκέντρωση του *Enterococcus Sp.* στις παραλίες του Παλιού Λιμανιού, της Σούδας και της Χρυσής Ακτής κατά τις τέσσερις δειγματοληψίες που πραγματοποιήθηκαν σε διαφορετικές χρονικές περιόδους. Στο Διάγραμμα 8, στην πρώτη δειγματοληψία, η μεγαλύτερη συγκέντρωση παρατηρείται στο Παλιό Λιμάνι, ενώ στη δεύτερη δειγματοληψία *Enterococcus Sp.* ανιχνεύεται μόνο στην παραλία της Σούδας. Στην τρίτη δειγματοληψία, υψηλές συγκεντρώσεις καταγράφονται στο Παλιό Λιμάνι και στη Χρυσή Ακτή, ενώ και η Σούδα παρουσιάζει παρουσία του δείκτη, αλλά σε μικρότερη τιμή. Στην τέταρτη δειγματοληψία, η μέγιστη τιμή εντοπίζεται στη Χρυσή Ακτή.

Στο Διάγραμμα 9, η παραλία της Σούδας εμφανίζει μικρό *error bar*, κάτι που υποδηλώνει μικρή διακύμανση και σταθερότητα στις μετρήσεις. Αντίθετα, το Παλιό Λιμάνι και η Χρυσή Ακτή παρουσιάζουν μεγαλύτερες διακυμάνσεις στις τιμές *error bars*, γεγονός που υποδεικνύει μεγαλύτερη αστάθεια.

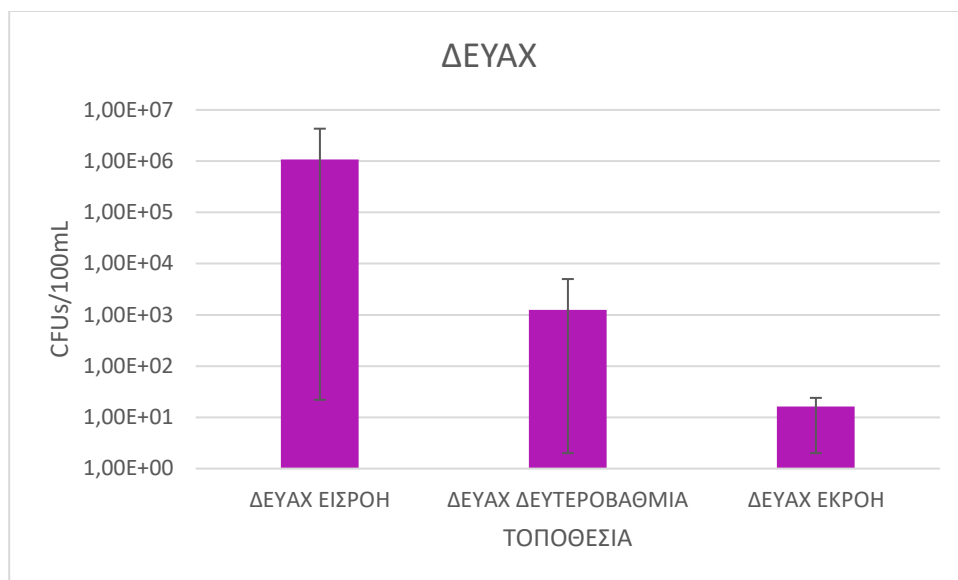
Σύμφωνα με την Οδηγία 2006/7/EK, τα ύδατα χαρακτηρίζονται ως εξαιρετικής ποιότητας όταν η συγκέντρωση *Enterococcus Sp.* είναι ≤ 100 CFUs/100 mL, ως καλής ποιότητας όταν είναι ≤ 200 CFUs/100 mL, και ως ανεπαρκούς ποιότητας όταν υπερβαίνει τα 200 CFUs/100 mL. Όλες οι τιμές των τεσσάρων δειγματοληψιών κατατάσσονται στην κατηγορία εξαιρετικής ποιότητας.

Αναλυτικά, στην πρώτη δειγματοληψία παρατηρείται συγκέντρωση *Enterococcus Sp.* ίση με 3 CFUs/100 mL στο Παλιό Λιμάνι, ενώ στη Σούδα δεν ανιχνεύεται καμία παρουσία του δείκτη και στη Χρυσή Ακτή καταγράφεται συγκέντρωση 1 CFUs/100 mL. Κατά τη δεύτερη δειγματοληψία, οι συγκεντρώσεις στο Παλιό Λιμάνι και στη Χρυσή Ακτή είναι μηδενικές, ενώ στη Σούδα καταγράφεται τιμή 2 CFUs/100 mL. Στην τρίτη δειγματοληψία, στο Παλιό Λιμάνι παρατηρείται τιμή 12 CFUs/100 mL, στη Σούδα 2 CFUs/100 mL και στη Χρυσή Ακτή 4 CFUs/100 mL. Τέλος, στην τέταρτη δειγματοληψία, στο Παλιό Λιμάνι δεν ανιχνεύεται *Enterococcus Sp.*, ενώ στις

παραλίες της Σούδας και της Χρυσής Ακτής καταγράφονται συγκεντρώσεις 1 και 4 CFUs/100 mL αντίστοιχα.



Διάγραμμα 10: Ανίχνευση και ποσοτικοποίηση *Enterococcus Sp.* στην ΔΕΥΑΧ.



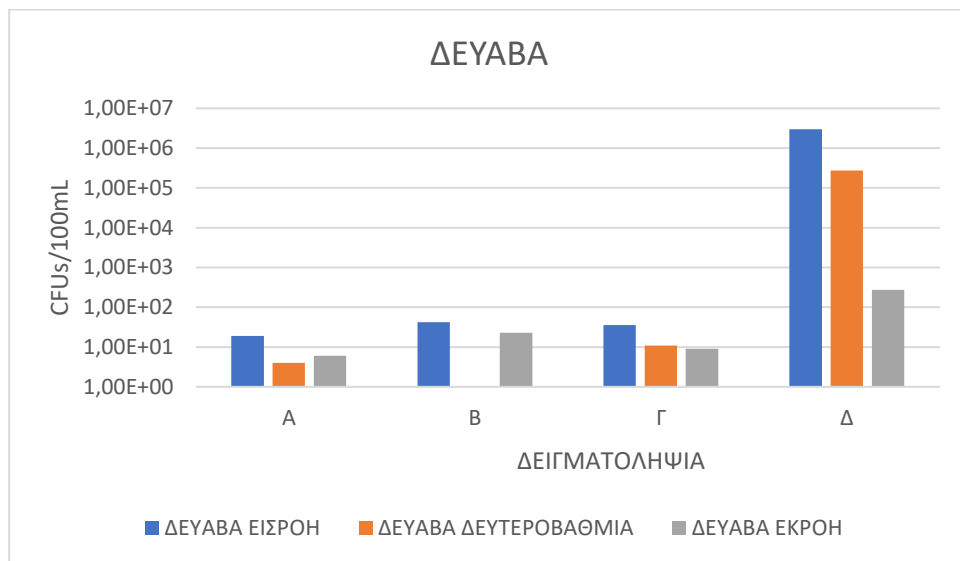
Διάγραμμα 11:Συνολική παρουσία *Enterococcus Sp.* στην ΔΕΥΑΧ.

Στο Διάγραμμα 10 και στο Διάγραμμα 11 απεικονίζεται η συγκέντρωση του *Enterococcus Sp.* στην εισροή λυμάτων, μετά τη δευτεροβάθμια επεξεργασία και στην εκροή λυμάτων της ΔΕΥΑΧ (Δημοτική Επιχείρηση Ύδρευσης και Αποχέτευσης Χανίων). Στο Διάγραμμα 10 παρατηρείται ότι, και στις τέσσερις δειγματοληψίες, η συγκέντρωση του *Enterococcus Sp.* είναι υψηλότερη στην εισροή σε σύγκριση με τα επεξεργασμένα λύματα. Στην πρώτη και δεύτερη δειγματοληψία, η εκροή παρουσιάζει μεγαλύτερη συγκέντρωση από τη δευτεροβάθμια επεξεργασία, ενώ στην τρίτη οι συγκεντρώσεις είναι σχεδόν ίσες. Στην τέταρτη δειγματοληψία καταγράφεται απότομη αύξηση της συγκέντρωσης του δείκτη και στις τρεις φάσεις της επεξεργασίας, γεγονός που πιθανώς αποδίδεται σε εξωτερικούς περιβαλλοντικούς παράγοντες, όπως η άνοδος της θερμοκρασίας.

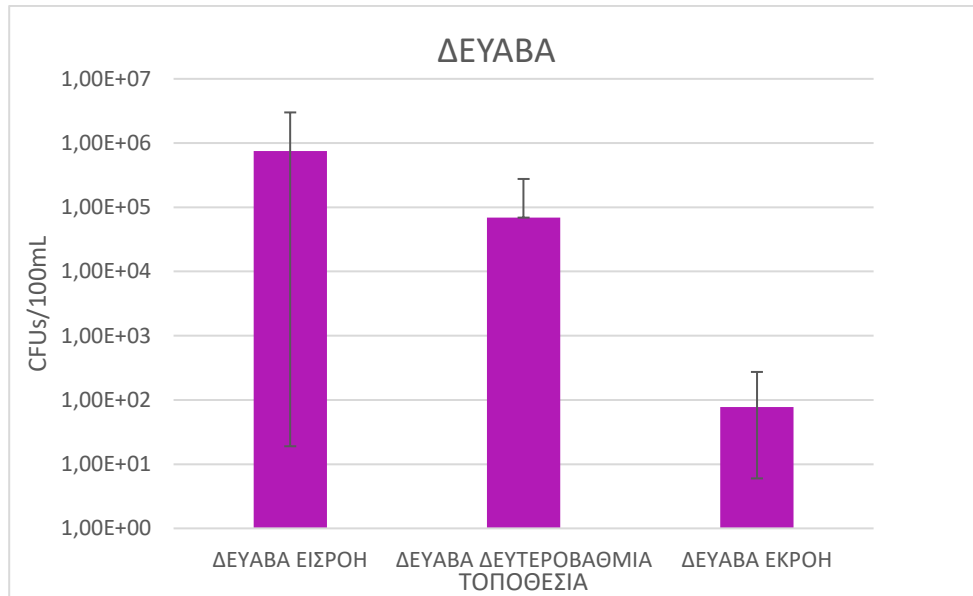
Στο Διάγραμμα 11, τα error bars της εισροής και της δευτεροβάθμιας επεξεργασίας είναι σχετικά μεγάλα, κάτι που υποδεικνύει μεταβλητότητα μεταξύ των μετρήσεων. Αντιθέτως, στην εκροή το error bar είναι πολύ μικρό, γεγονός που αποτυπώνει σταθερότητα στις μετρήσεις και συνεπή απομάκρυνση του δείκτη κατά την επεξεργασία.

Σύμφωνα με τις ισχύουσες περιβαλλοντικές διατάξεις για εκροές λυμάτων σε θαλάσσιους αποδέκτες, η συγκέντρωση του δείκτη *Enterococcus Sp.* στην εκροή δεν θα πρέπει να υπερβαίνει τα 100 CFUs/100 mL, ιδίως σε περιπτώσεις εκβολής κοντά σε περιοχές κολύμβησης ή ευαίσθητα θαλάσσια οικοσυστήματα. Βάσει των μετρήσεων, τα επεξεργασμένα

λύματα της ΔΕΥΑΧ κατατάσσονται στην κατηγορία εξαιρετικής ποιότητας και στις τέσσερις δειγματοληψίες.



Διάγραμμα 12: Ανίχνευση και ποσοτικοποίηση *Enterococcus Sp.* στην ΔΕΥΑΒΑ.



Διάγραμμα 13: Συνολική παρουσία *Enterococcus Sp.* στην ΔΕΥΑΒΑ.

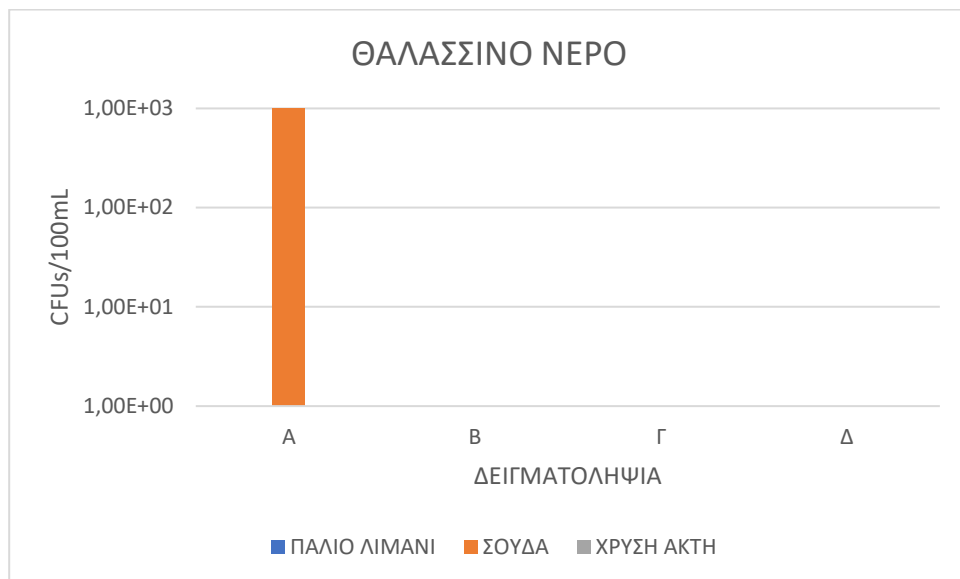
Στο Διάγραμμα 12 και στο Διάγραμμα 13 απεικονίζεται η συγκέντρωση του *Enterococcus Sp.* στην εισροή λυμάτων, μετά τη δευτεροβάθμια επεξεργασία και στην εκροή λυμάτων της ΔΕΥΑΒΑ (Δημοτική Επιχείρηση Ύδρευσης και Αποχέτευσης Βορείου Άξονα Χανίων). Όπως και στην περίπτωση της ΔΕΥΑΧ, στο Διάγραμμα 12 παρατηρείται απότομη αύξηση της συγκέντρωσης του δείκτη κατά την τέταρτη δειγματοληψία, γεγονός που ενδέχεται να οφείλεται στην αύξηση της θερμοκρασίας και στην ένταση ανθρωπογενών δραστηριοτήτων.

Στην πρώτη και δεύτερη δειγματοληψία, η συγκέντρωση του *Enterococcus Sp.* στην εκροή είναι μεγαλύτερη από τη δευτεροβάθμια επεξεργασία, ενώ στην τρίτη και τέταρτη δειγματοληψία η δευτεροβάθμια επεξεργασία εμφανίζει υψηλότερες συγκεντρώσεις σε σύγκριση με την εκροή. Σε όλες τις δειγματοληψίες, η εισροή λυμάτων παρουσιάζει τις υψηλότερες συγκεντρώσεις, όπως αναμενόταν, καθώς τα λύματα δεν έχουν ακόμη υποστεί επεξεργασία.

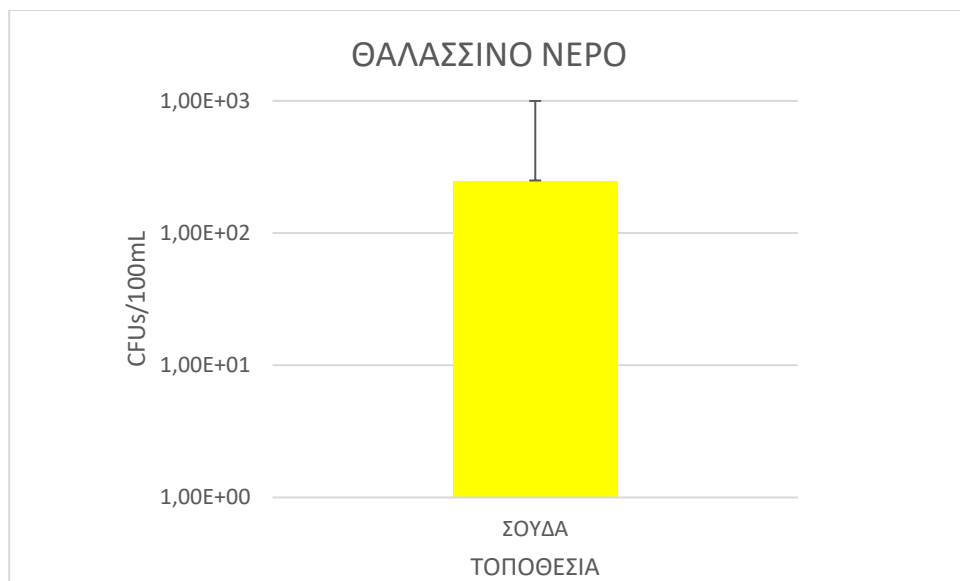
Στο Διάγραμμα 13, το error bar της εισροής είναι ιδιαίτερα μεγάλο, γεγονός που καταδεικνύει υψηλή μεταβλητότητα στην ποιότητα των εισερχόμενων λυμάτων. Στη δευτεροβάθμια επεξεργασία το error bar είναι επίσης αισθητό αλλά μικρότερο, γεγονός που υποδεικνύει περιορισμένη σταθερότητα στην απόδοση της διαδικασίας. Αντίθετα, στην εκροή το error bar είναι το μικρότερο μεταξύ των τριών σταδίων, χωρίς να απουσιάζει πλήρως η μεταβλητότητα, γεγονός που δείχνει σχετικά καλύτερη αλλά όχι απόλυτα σταθερή ποιότητα στο τελικό προϊόν.

Σύμφωνα με τις ισχύουσες περιβαλλοντικές διατάξεις, η συγκέντρωση του *Enterococcus Sp.* στην εκροή δεν θα πρέπει να υπερβαίνει τα 100 CFUs/100 mL, ειδικά όταν τα λύματα απορρίπτονται σε θαλάσσιους αποδέκτες κοντά σε περιοχές κολύμβησης. Τα επεξεργασμένα λύματα της ΔΕΥΑΒΑ κατατάσσονται στην κατηγορία εξαιρετικής ποιότητας κατά την πρώτη, δεύτερη και τρίτη δειγματοληψία. Ωστόσο, στην τέταρτη δειγματοληψία καταγράφεται υπέρβαση του θεσμοθετημένου ορίου, με τιμή 273 CFUs/100 mL, γεγονός που καταδεικνύει ανεπαρκή απόδοση της μονάδας σε εκείνη τη χρονική περίοδο.

C. perfringens



Διάγραμμα 14: Ανίχνευση και ποσοτικοποίηση *C. perfringens* στο Θαλασσίνο νερό.

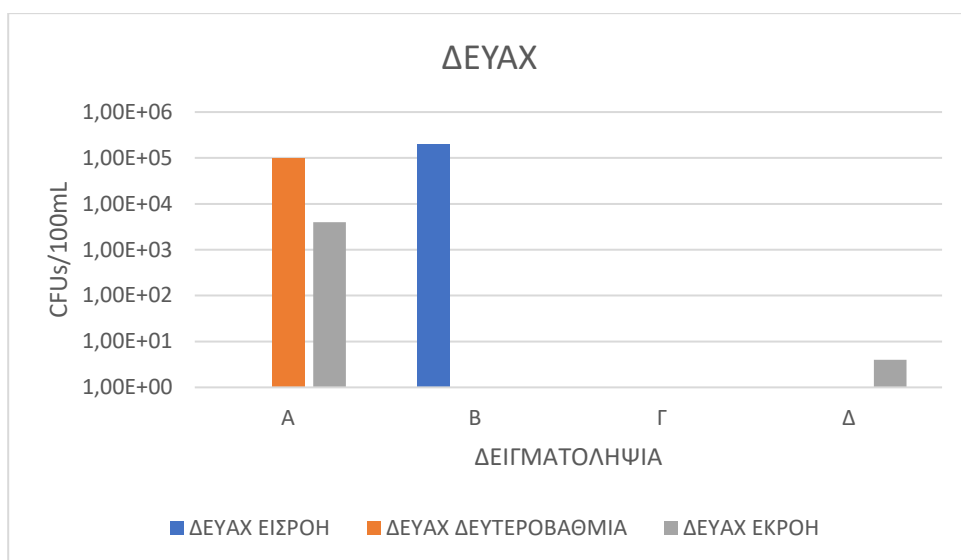


Διάγραμμα 15: Συνολική παρουσία *C. perfringens* στο Θαλασσίνο νερό.

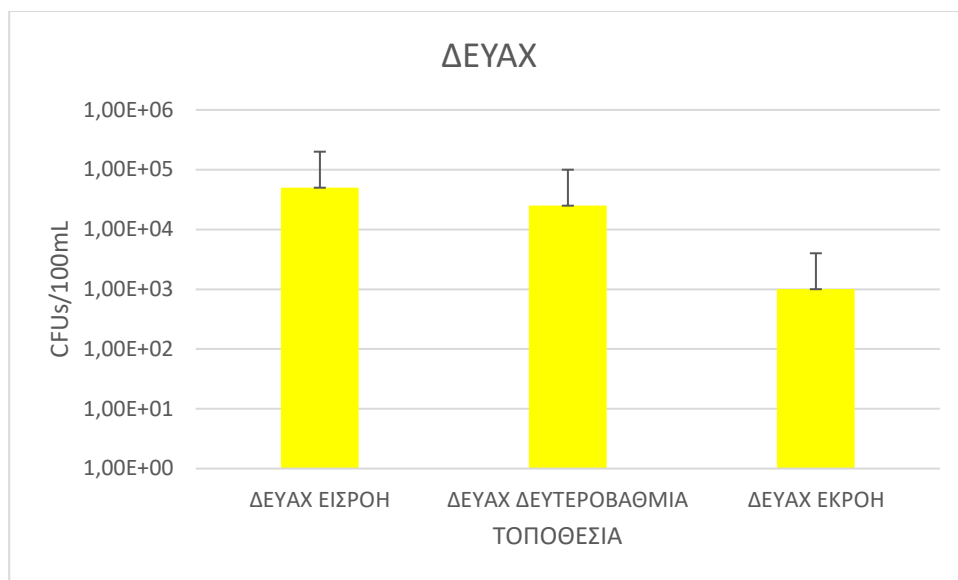
Στο Διάγραμμα 14 και στο Διάγραμμα 15 παρουσιάζεται η συγκέντρωση του *Clostridium perfringens* στις παραλίες του Παλιού Λιμανιού, της Σούδας και της Χρυσής Ακτής, κατά τις τέσσερις δειγματοληψίες που πραγματοποιήθηκαν σε διαφορετικές χρονικές περιόδους. Από το Διάγραμμα 14 προκύπτει ότι μόνο στην παραλία της Σούδας και μόνο κατά την πρώτη

δειγματοληψία εντοπίζεται παρουσία του *C. perfringens*, ενώ στις υπόλοιπες παραλίες και χρονικές στιγμές δεν ανιχνεύθηκαν συγκεντρώσεις του μικροοργανισμού.

Στο Διάγραμμα 15, το error bar για την παραλία της Σούδας παρουσιάζει εύρος τιμών από 10^1 έως 10^3 CFUs/100 mL, γεγονός που υποδηλώνει υψηλή διακύμανση μεταξύ των μεμονωμένων μετρήσεων και ενδεχόμενη αστάθεια στην παρουσία του μικροοργανισμού στο συγκεκριμένο σημείο και χρονική περίοδο.



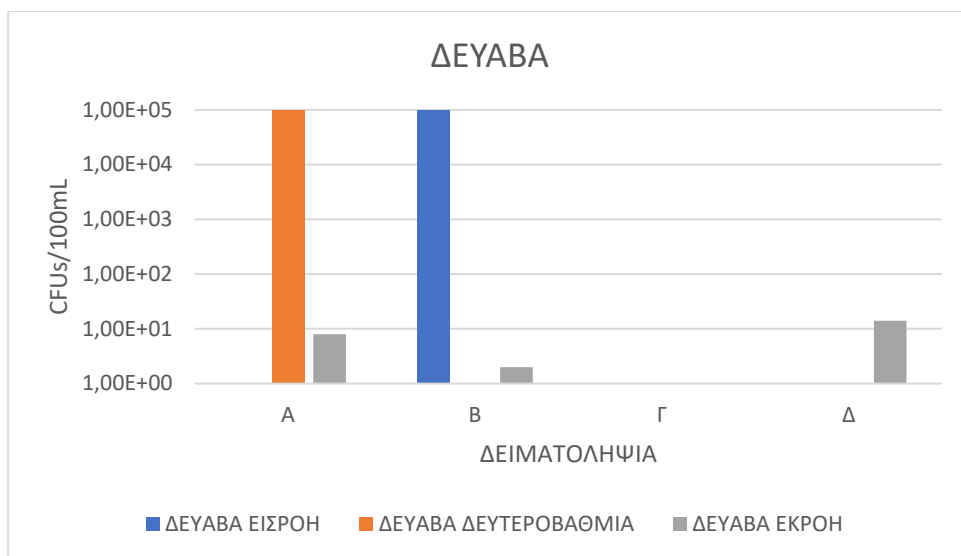
Διάγραμμα 16: Ανίχνευση και ποσοτικοποίηση *C. perfringens* στην ΔΕΥΑΧ.



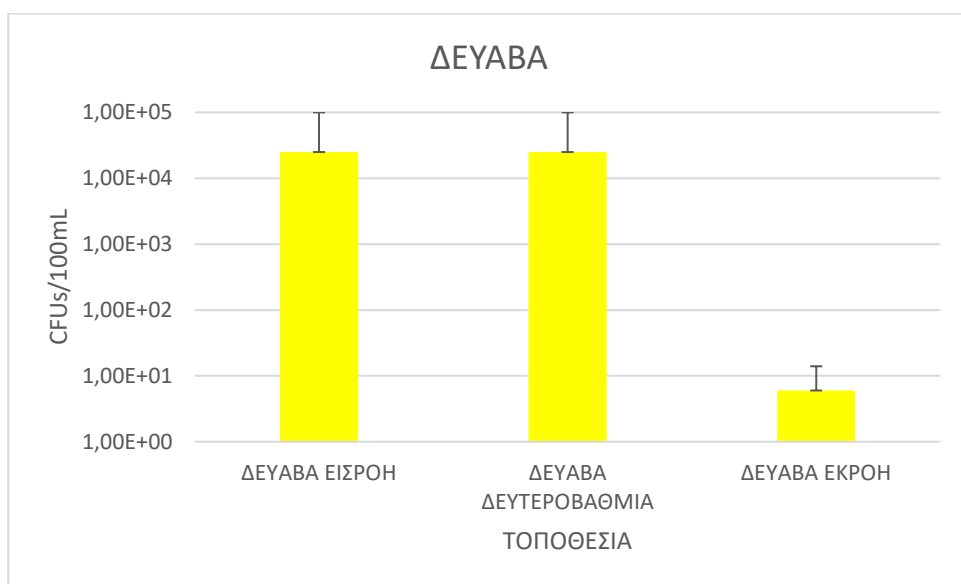
Διάγραμμα 17:Συνολική παρουσία *C. perfringens* στην ΔΕΥΑΧ.

Στο Διάγραμμα 16 και Διάγραμμα 17 απεικονίζεται η συγκέντρωση του *Clostridium perfringens* στην εισροή λυμάτων, μετά τη δευτεροβάθμια επεξεργασία και στην εκροή της μονάδας της ΔΕΥΑΧ (Δημοτική Επιχείρηση Ύδρευσης και Αποχέτευσης Χανίων). Στο Διάγραμμα 16 παρατηρείται ότι η μέγιστη συγκέντρωση του *C. perfringens* εντοπίζεται στη δεύτερη δειγματοληψία, στην εισροή των λυμάτων. Επιπλέον, καταγράφεται παρουσία του δείκτη στην εκροή κατά την πρώτη και τέταρτη δειγματοληψία, ενώ στη δευτεροβάθμια επεξεργασία παρατηρείται συγκέντρωση μόνο στην πρώτη δειγματοληψία.

Στο Διάγραμμα 17, τα error bars τόσο στην εισροή όσο και στη δευτεροβάθμια επεξεργασία είναι μικρά, γεγονός που υποδηλώνει σταθερότητα στις μετρήσεις και, κατ' επέκταση, ικανοποιητική και συνεπή λειτουργία της εγκατάστασης επεξεργασίας λυμάτων.



Διάγραμμα 18: Ανίχνευση και ποσοτικοποίηση *C. perfringens* στην ΔΕΥΑΒΑ.



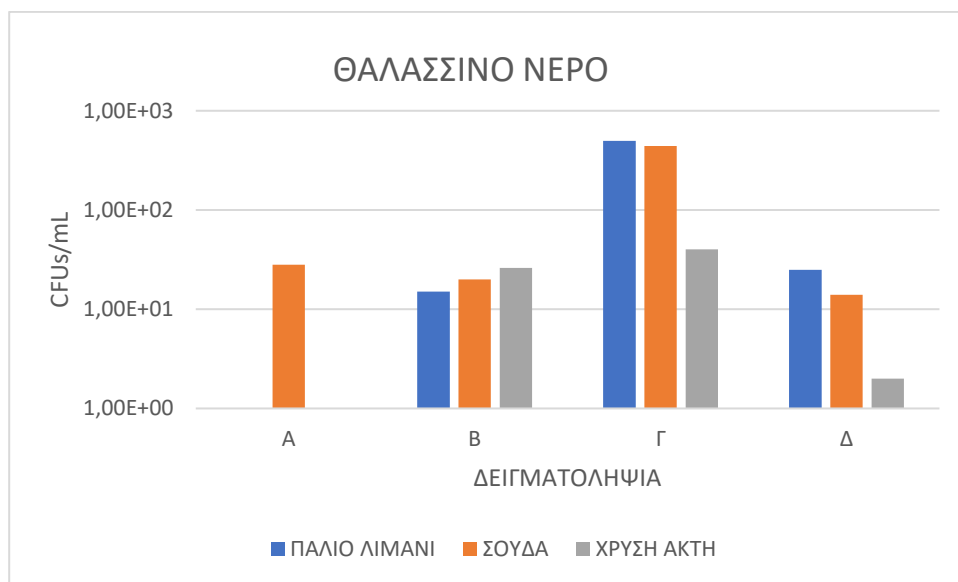
Διάγραμμα 19: Ανίχνευση και ποσοτικοποίηση *C. perfringens* στην ΔΕΥΑΒΑ.

Στο Διάγραμμα 18 και Διάγραμμα 19 απεικονίζεται η συγκέντρωση του *Clostridium perfringens* στην εισροή λυμάτων, μετά τη δευτεροβάθμια επεξεργασία και στην εκροή της μονάδας της ΔΕΥΑΒΑ (Δημοτική Επιχείρηση Ύδρευσης και Αποχέτευσης Βορείου Άξονα Χανίων). Στο Διάγραμμα 18 παρατηρείται ότι η μέγιστη συγκέντρωση του *C. perfringens* εντοπίζεται στη δευτεροβάθμια επεξεργασία κατά την πρώτη δειγματοληψία και στην εισροή κατά τη δεύτερη

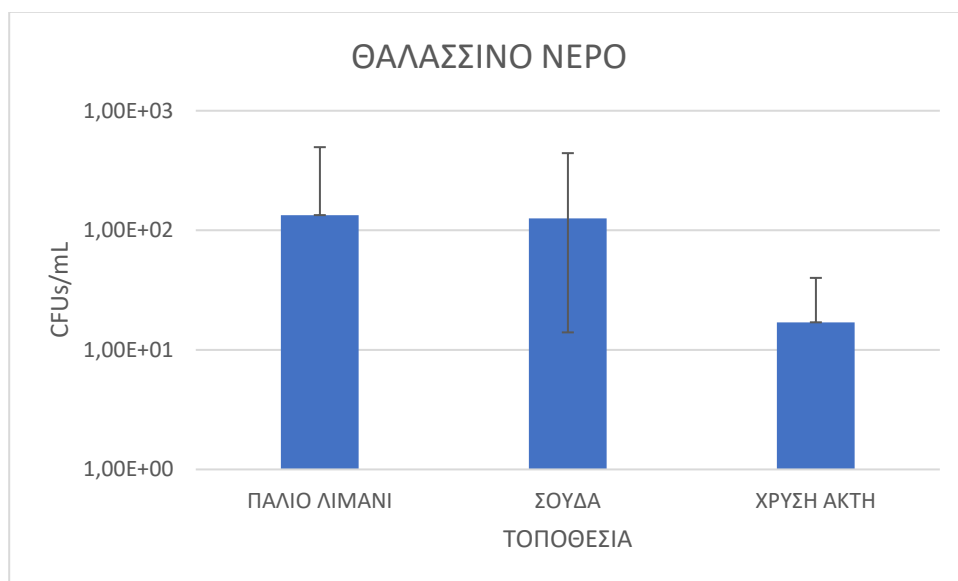
δειγματοληψία. Παρουσία του δείκτη καταγράφεται στην εκροή κατά την πρώτη, δεύτερη και τέταρτη δειγματοληψία.

Στο Διάγραμμα 19, τα error bars και για τα τρία στάδια (εισροή, δευτεροβάθμια επεξεργασία και εκροή) είναι μικρού μεγέθους, γεγονός που υποδηλώνει σταθερότητα μεταξύ των μετρήσεων και ικανοποιητική απόδοση της εγκατάστασης.

Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (ΟΜΧ) 37°C



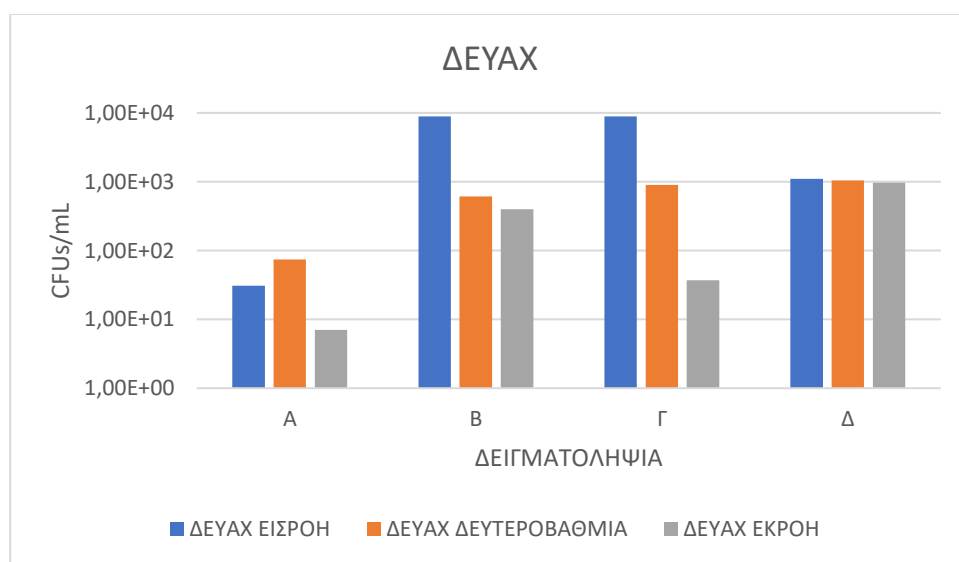
Διάγραμμα 20: Ανίχνευση και ποσοτικοποίηση Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (ΟΜΧ) 37°C στο Θαλασσινό νερό.



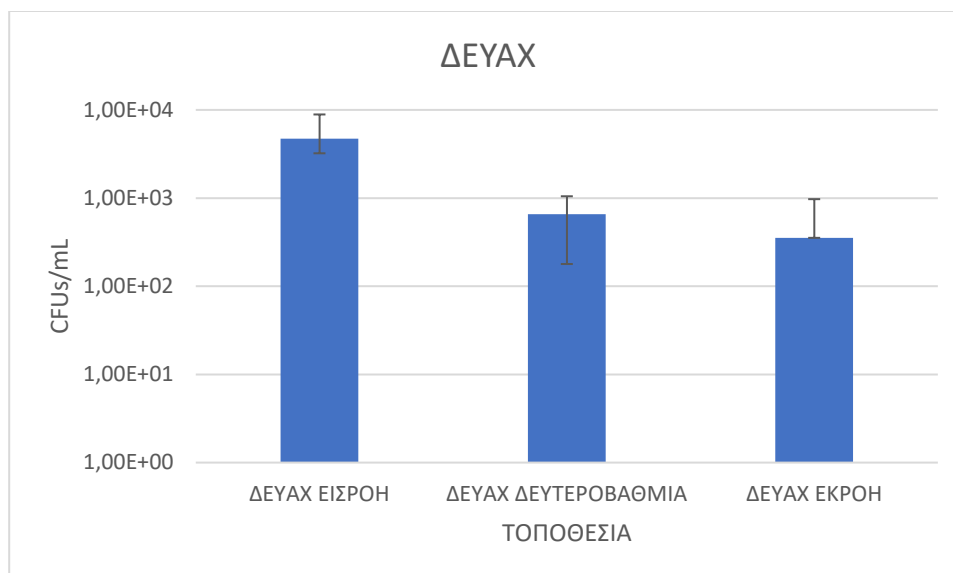
Διάγραμμα 21: Συνολική παρουσία Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (ΟΜΧ) 37°C στο Θαλασσινό νερό.

Στο Διάγραμμα 20 και Διάγραμμα 21 παρουσιάζεται η συγκέντρωση της Ολικής Μικροβιακής Χλωρίδας στους 37°C στις παραλίες του Παλιού Λιμανιού, της Σούδας και της Χρυσής Ακτής, σε τέσσερις διαφορετικές δειγματοληψίες. Στο Διάγραμμα 20, κατά την πρώτη δειγματοληψία, παρατηρείται παρουσία αποικιών μόνο στην παραλία της Σούδας. Στη δεύτερη δειγματοληψία, καταγράφονται αποικίες και στις τρεις παραλίες. Κατά την τρίτη δειγματοληψία σημειώνεται απότομη αύξηση των αποικιών στις παραλίες του Παλιού Λιμανιού, της Σούδας και της Χρυσής Ακτής, με τις τιμές να είναι οι υψηλότερες σε σύγκριση με τις υπόλοιπες δειγματοληψίες. Στην τέταρτη δειγματοληψία παρατηρείται μείωση της συγκέντρωσης και στις τρεις περιοχές, σε σχέση με την τρίτη.

Στο Διάγραμμα 21, τα error bars δείχνουν ότι η παραλία της Χρυσής Ακτής παρουσιάζει τη μεγαλύτερη σταθερότητα μεταξύ των μετρήσεων, λόγω του μικρού εύρους τους. Αντίθετα, η Σούδα εμφανίζει μεγάλη διακύμανση στις τιμές, όπως φαίνεται από το μεγάλο error bar. Το Παλιό Λιμάνι εμφανίζει ενδιάμεση σταθερότητα, με error bar μεγαλύτερο από της Χρυσής Ακτής αλλά μικρότερο από της Σούδας.



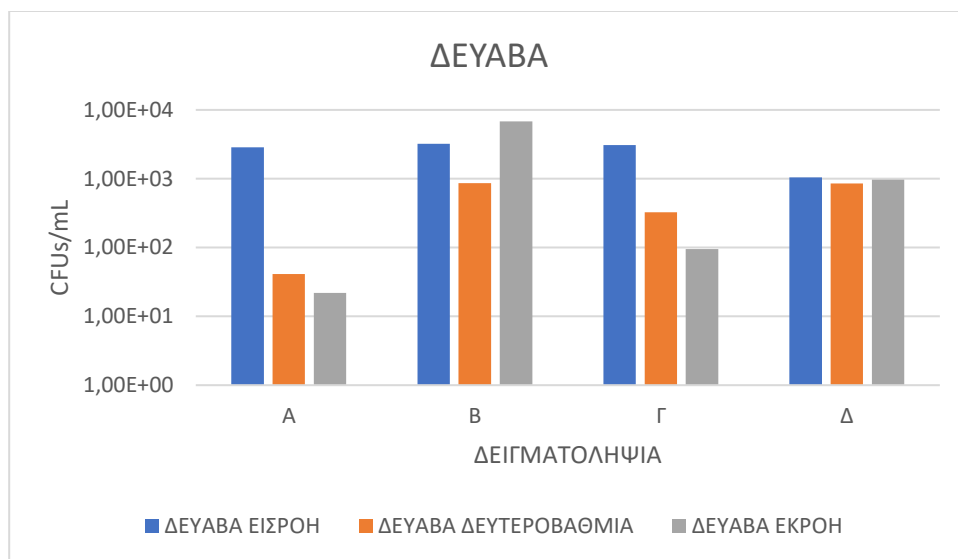
Διάγραμμα 22: Ανίχνευση και ποσοτικοποίηση Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (ΟΜΧ) 37°C στην ΔΕΥΑΧ.



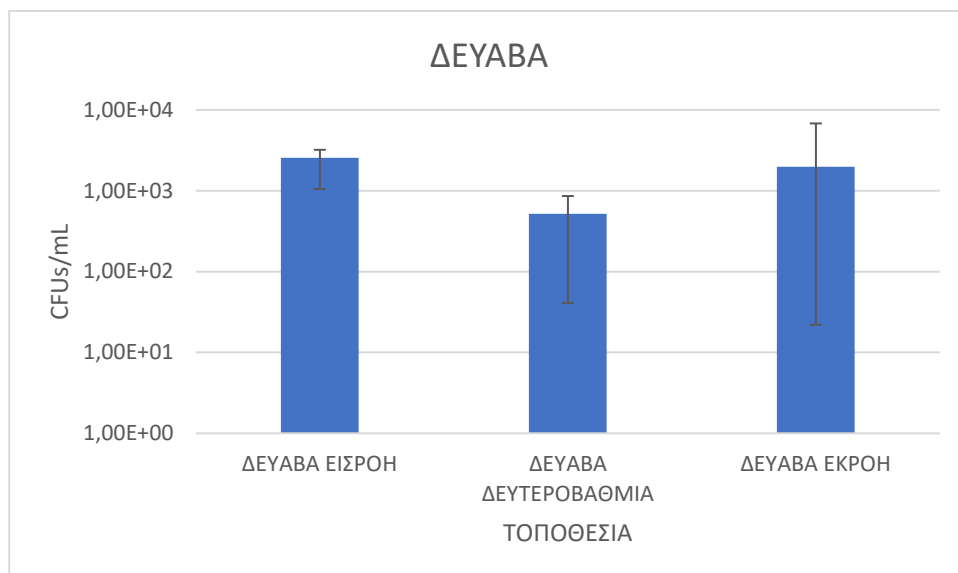
Διάγραμμα 23: Συνολική παρουσία Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (ΟΜΧ) 37°C στην ΔΕΥΑΧ.

Στο Διάγραμμα 22 και Διάγραμμα 23 παρουσιάζεται η συγκέντρωση αποικιών της Ολικής Μικροβιακής Χλωρίδας στους 37°C στην εισροή, μετά τη δευτεροβάθμια επεξεργασία και στην εκροή λυμάτων της ΔΕΥΑΧ (Δημοτική Επιχείρηση Ύδρευσης και Αποχέτευσης Χανίων). Στο Διάγραμμα 22, κατά την πρώτη δειγματοληψία, παρατηρείται ότι η συγκέντρωση αποικιών μετά τη δευτεροβάθμια επεξεργασία είναι υψηλότερη από αυτή της εισροής, γεγονός που δεν είναι αναμενόμενο και πιθανώς οφείλεται σε αστοχία κατά την αρχική φάση επεξεργασίας. Αντιθέτως, στη δεύτερη και τρίτη δειγματοληψία, καταγράφεται ομαλή και αποτελεσματική λειτουργία του συστήματος, καθώς η συγκέντρωση αποικιών μειώνεται προοδευτικά από την εισροή έως την εκροή. Επιπλέον, ο μέγιστος αριθμός αποικιών εντοπίζεται στην εισροή της δεύτερης δειγματοληψίας και είναι συγκρίσιμος με την εισροή της τρίτης. Στην τέταρτη δειγματοληψία, η επεξεργασία λειτουργεί ορθά, καθώς παρατηρείται μείωση των αποικιών από την εισροή προς την εκροή, αν και σε μικρότερο βαθμό.

Στο Διάγραμμα 23, τα error bars υποδεικνύουν μικρές διακυμάνσεις ανάμεσα στις μετρήσεις σε όλα τα στάδια της επεξεργασίας. Τα error bars είναι μέτριας έκτασης, γιατί υπάρχει μια σταθερή και σχετικά συνεπή απόδοση της εγκατάστασης καθ' όλη τη διάρκεια των δειγματοληψιών.



Διάγραμμα 24: Ανίχνευση και ποσοτικοποίηση Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (ΟΜΧ) 37°C στην ΔΕΥΑΒΑ.



Διάγραμμα 25: Συνολική παρουσία Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (ΟΜΧ) 37°C στην ΔΕΥΑΒΑ.

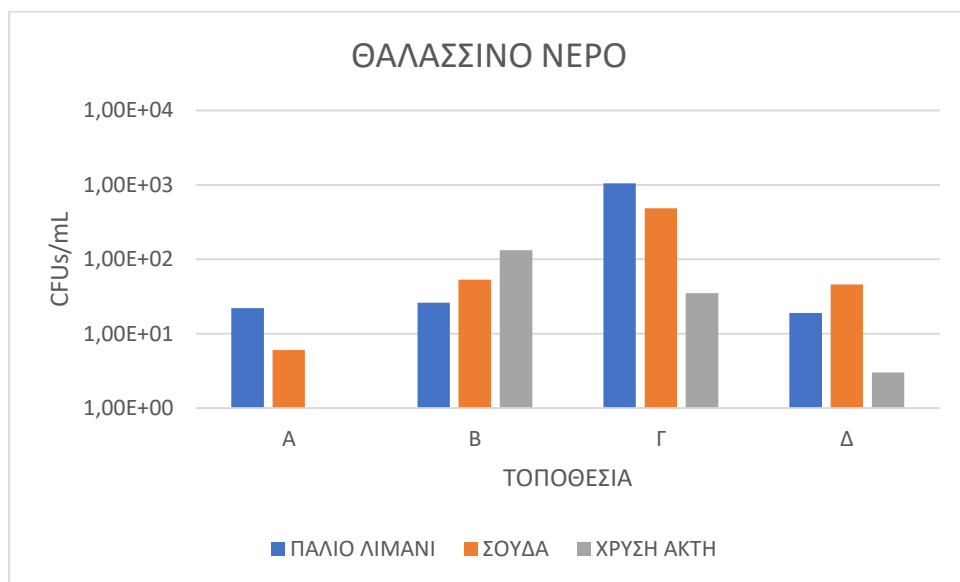
Στο Διάγραμμα 24 και Διάγραμμα 25 παρουσιάζεται η συγκέντρωση Ολικής Μικροβιακής Χλωρίδας στους 37°C στην εισροή, τη δευτεροβάθμια επεξεργασία και την εκροή λυμάτων στη ΔΕΥΑΒΑ (Δημοτική Επιχείρηση Ύδρευσης και Αποχέτευσης Βορείου Άξονα Χανίων). Στο

Διάγραμμα 24, κατά την πρώτη και τρίτη δειγματοληψία παρατηρείται προοδευτική μείωση του αριθμού αποικιών από την εισροή προς την εκροή, γεγονός που υποδεικνύει ότι η επεξεργασία λυμάτων λειτουργεί ικανοποιητικά.

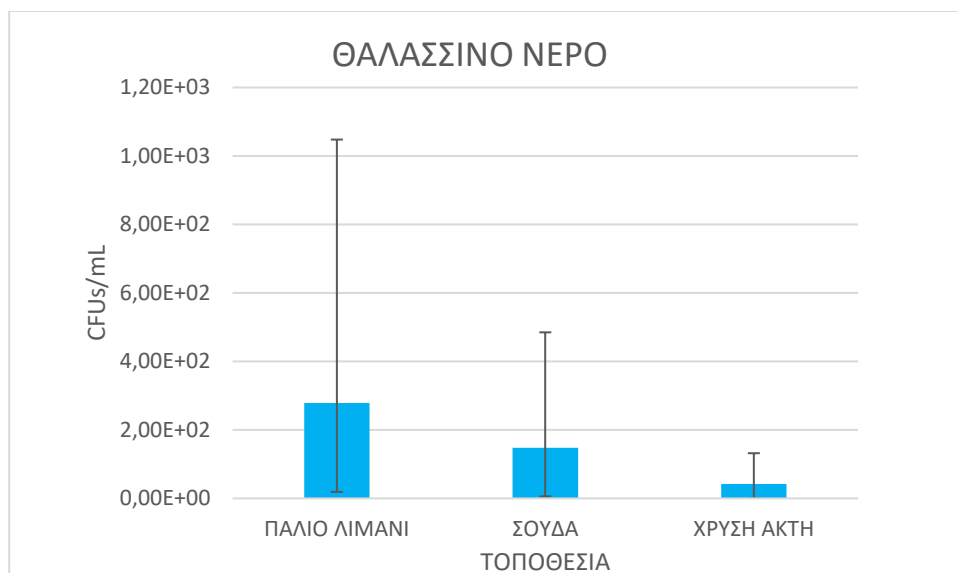
Αντίθετα, στη δεύτερη δειγματοληψία, ενώ η συγκέντρωση στην εισροή είναι μεγαλύτερη από τη δευτεροβάθμια επεξεργασία, η εκροή παρουσιάζει τη μέγιστη τιμή αποικιών. Η ασυνήθιστη αυτή παρατήρηση ενδέχεται να οφείλεται σε φαινόμενο επαναμόλυνσης των επεξεργασμένων λυμάτων. Στην τέταρτη δειγματοληψία, η εκροή εμφανίζει μεγαλύτερη συγκέντρωση αποικιών σε σύγκριση με τη δευτεροβάθμια επεξεργασία, αλλά χαμηλότερη από την εισροή.

Στο Διάγραμμα 25, τα error bars δείχνουν μικρή διακύμανση στην εισροή, γεγονός που δηλώνει σταθερότητα στις μετρήσεις. Ωστόσο, στη δευτεροβάθμια επεξεργασία και στην εκροή, τα error bars είναι αισθητά μεγαλύτερα. Αυτό υποδηλώνει μειωμένη αποτελεσματικότητα της μονάδας στην απομάκρυνση της Ολικής Μικροβιακής Χλωρίδας στους 37°C και αστάθεια ως προς την απόδοση των επιμέρους σταδίων επεξεργασίας.

Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (ΟΜΧ) 22°C



Διάγραμμα 26: Ανίχνευση και ποσοτικοποίηση Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (ΟΜΧ) 22°C στο Θαλασσινό νερό.

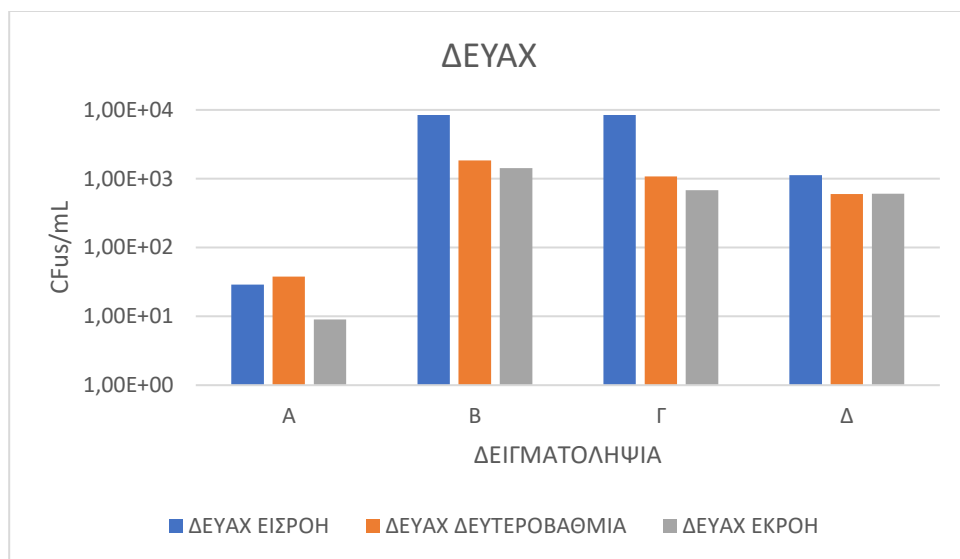


Διάγραμμα 27: Συνολική παρουσία Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (OMX) 22°C στο Θαλασσινό νερό.

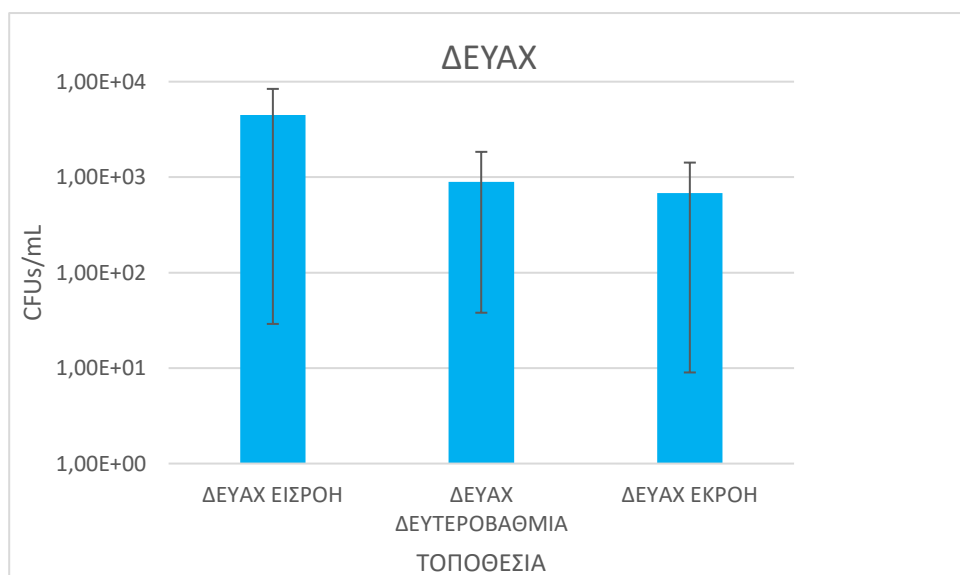
Στο Διάγραμμα 26 και Διάγραμμα 27 απεικονίζεται η συγκέντρωση της Ολικής Μικροβιακής Χλωρίδας (OMX) στους 22°C στις παραλίες του Παλιού Λιμανιού, της Σούδας και της Χρυσής Ακτής, κατά τις τέσσερις δειγματοληψίες που πραγματοποιήθηκαν σε διαφορετικές χρονικές περιόδους.

Στο Διάγραμμα 26, κατά την πρώτη δειγματοληψία αποικίες OMX στους 22°C καταγράφονται μόνο στις παραλίες του Παλιού Λιμανιού και της Σούδας. Στις επόμενες τρεις δειγματοληψίες (δεύτερη, τρίτη και τέταρτη), αποικίες εντοπίζονται και στις τρεις παραλίες, με τη μέγιστη συγκέντρωση να παρατηρείται στο Παλιό Λιμάνι κατά την τρίτη δειγματοληψία.

Στο Διάγραμμα 27, τα error bars στο Παλιό Λιμάνι και στη Σούδα είναι αρκετά μεγάλα, γεγονός που υποδηλώνει σημαντική διακύμανση μεταξύ των μετρήσεων και αστάθεια στην ποιότητα του νερού. Αντίθετα, η Χρυσή Ακτή εμφανίζει μικρό error bar, το οποίο υποδεικνύει μεγαλύτερη σταθερότητα στις μετρήσεις της OMX στους 22°C και συνεπώς πιο σταθερή μικροβιολογική ποιότητα του νερού.



Διάγραμμα 28: Ανίχνευση και ποσοτικοποίηση Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (ΟΜΧ) 22°C στην ΔΕΥΑΧ.

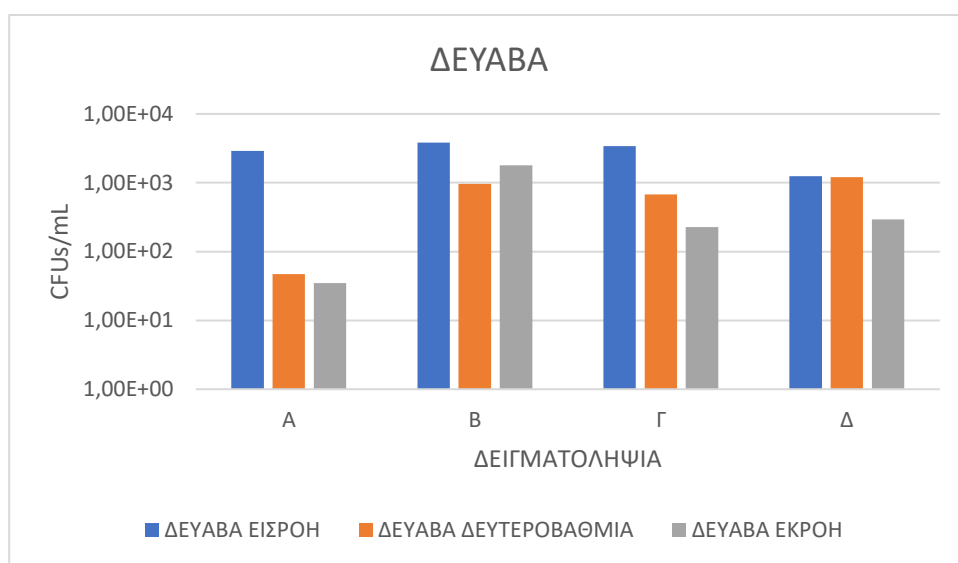


Διάγραμμα 29: Συνολική παρουσία Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (ΟΜΧ) 22°C στην ΔΕΥΑΧ.

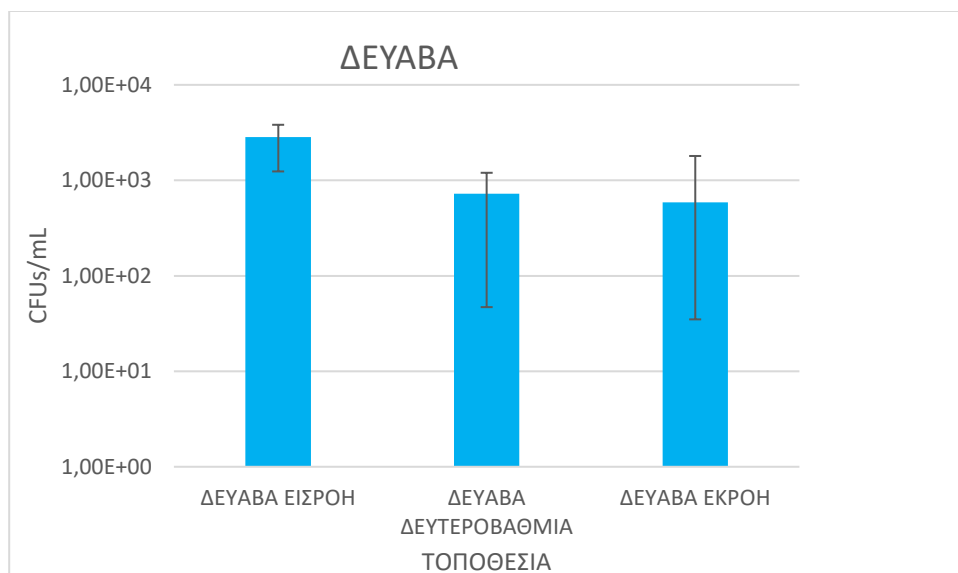
Στο Διάγραμμα 28 και Διάγραμμα 29 παρουσιάζεται η συγκέντρωση αποικιών της Ολικής Μικροβιακής Χλωρίδας (ΟΜΧ) στους 22°C στην εισροή, μετά τη δευτεροβάθμια επεξεργασία και στην εκροή λυμάτων της ΔΕΥΑΧ (Δημοτική Επιχείρηση Ύδρευσης και Αποχέτευσης

Χανίων). Στο Διάγραμμα 28, κατά την πρώτη δειγματοληψία, ο μεγαλύτερος αριθμός αποικιών εντοπίζεται στη δευτεροβάθμια επεξεργασία, ενώ ακολουθούν η εισροή και, τέλος, η εκροή. Στη δεύτερη και τρίτη δειγματοληψία παρατηρείται σταδιακή μείωση των αποικιών από την εισροή προς την εκροή, υποδεικνύοντας αποτελεσματική λειτουργία της μονάδας. Στην τέταρτη δειγματοληψία, η εισροή παρουσιάζει τον υψηλότερο αριθμό αποικιών, ωστόσο η δευτεροβάθμια επεξεργασία εμφανίζει λιγότερες αποικίες σε σχέση με την εκροή.

Στο Διάγραμμα 29, τα error bars είναι σχετικά μεγάλα, γεγονός που υποδηλώνει ότι η απομάκρυνση της OMX στους 22°C από την εγκατάσταση δεν είναι πάντα αποτελεσματική, με σημαντικές διακυμάνσεις στην απόδοση της επεξεργασίας.



Διάγραμμα 30: Ανίχνευση και ποσοτικοποίηση Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (OMX) 22°C στην ΔΕΥΑΒΑ.



Διάγραμμα 31: Συνολική παρουσία Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (OMX) 22°C στην ΔΕΥΑΒΑ.

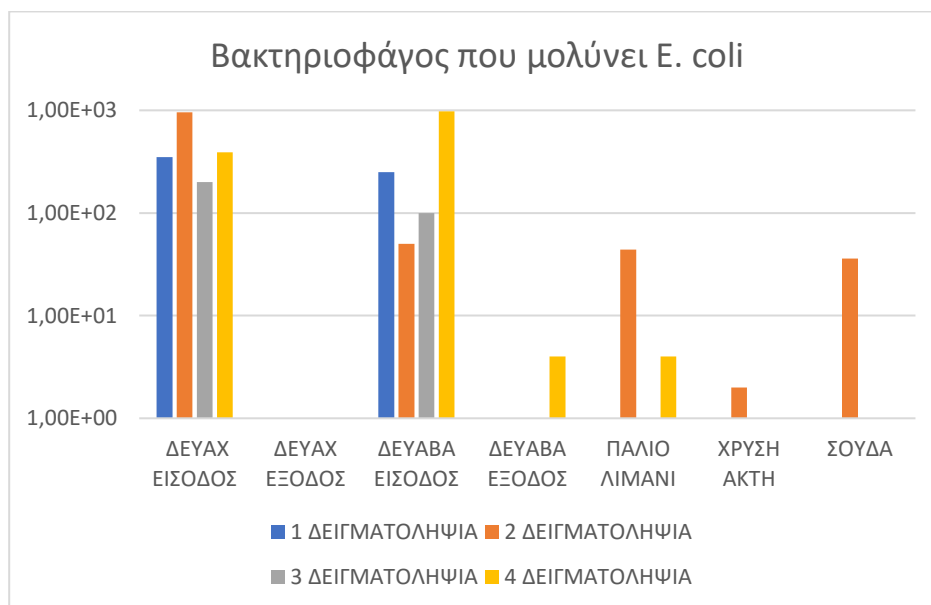
Στο Διάγραμμα 30 και Διάγραμμα 31 απεικονίζεται η συγκέντρωση της Ολικής Μικροβιακής Χλωρίδας (OMX) στους 22°C στην εισροή, μετά τη δευτεροβάθμια επεξεργασία και στην εκροή λυμάτων της ΔΕΥΑΒΑ (Δημοτική Επιχείρηση Ύδρευσης και Αποχέτευσης Βορείου Άξονα Χανίων). Στο Διάγραμμα 30, κατά την πρώτη, τρίτη και τέταρτη δειγματοληψία παρατηρείται μείωση του αριθμού αποικιών από την εισροή προς την εκροή, γεγονός που υποδηλώνει ορθή λειτουργία της μονάδας επεξεργασίας λυμάτων. Αντίθετα, στη δεύτερη δειγματοληψία, παρά το γεγονός ότι οι αποικίες στην εισροή είναι περισσότερες από αυτές στη δευτεροβάθμια επεξεργασία, η εκροή παρουσιάζει τον υψηλότερο αριθμό αποικιών, φαινόμενο που πιθανόν οφείλεται σε επαναμόλυνση των επεξεργασμένων λυμάτων.

Στο Διάγραμμα 31, το error bar στην εισροή είναι αρκετά μεγάλο, υποδηλώνοντας σημαντική διακύμανση στις μετρήσεις, ενώ τα error bars στη δευτεροβάθμια επεξεργασία και την εκροή είναι παρόμοιου μεγέθους, αλλά μικρότερα σε σχέση με την εισροή. Αυτό υποδεικνύει αστάθεια στην ποιότητα των λυμάτων καθ' όλη τη διάρκεια της επεξεργασίας, με διακυμάνσεις στην απόδοση και στο τελικό επεξεργασμένο νερό.

Ανίχνευση και ποσοτικοποίηση Βακτηριοφάγων

Οι βακτηριοφάγοι, είναι ιοί που μολύνουν βακτήρια και χρησιμοποιούνται ως εμμέσους δείκτες κοπρανώδους μόλυνσης. Σε αυτή την εργασία ελέγχθηκαν δυο είδη βακτηριοφάγων εκείνοι που μολύνουν *E. coli* και εκείνοι που μολύνουν *S. aureus*. Τα σημεία δειγματοληψίας είναι το Παλιό λιμάνι, η Χρυσή ακτή, η Σούδα και εισροή και η εκροή της ΔΕΥΑΧ και ΔΕΥΑΒΑ.

Βακτηριοφάγος που μολύνει *E. coli*



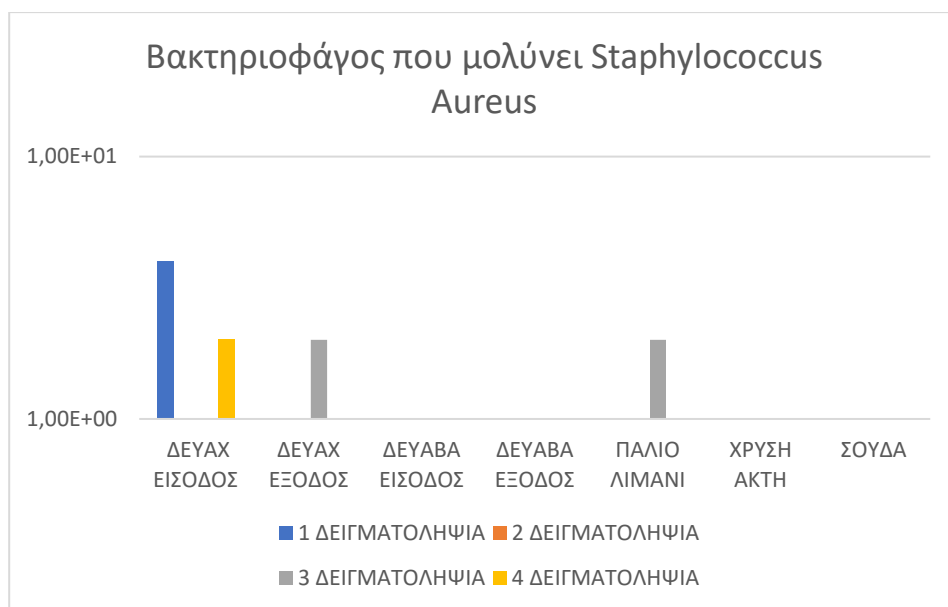
Διάγραμμα 32: Ανίχνευση και ποσοτικοποίηση Βακτηριοφάγων που μολύνουν *E. coli*.

Στο Διάγραμμα 32 απεικονίζεται ο αριθμός αποικιών βακτηριοφάγων που μολύνουν *E. coli* στις τοποθεσίες εισροής και εκροής των μονάδων της ΔΕΥΑΧ (Δημοτική Επιχείρηση Ύδρευσης και Αποχέτευσης Χανίων) και της ΔΕΥΑΒΑ (Δημοτική Επιχείρηση Ύδρευσης και Αποχέτευσης Βορείου Άξονα Χανίων), καθώς και στις παραλίες Παλιό Λιμάνι, Χρυσή Ακτή και Σούδα. Στις εισροές της ΔΕΥΑΧ και της ΔΕΥΑΒΑ, κατά τις τέσσερις δειγματοληψίες, καταγράφονται αποικίες βακτηριοφάγων *E. coli*. Η μέγιστη συγκέντρωση στην εισροή της ΔΕΥΑΧ καταγράφηκε στη δεύτερη δειγματοληψία, ενώ στην εισροή της ΔΕΥΑΒΑ η υψηλότερη συγκέντρωση σημειώθηκε στην τέταρτη δειγματοληψία.

Στην εκροή της ΔΕΥΑΧ δεν ανιχνεύθηκαν αποικίες βακτηριοφάγων, ενώ στην εκροή της ΔΕΥΑΒΑ εντοπίστηκαν μόνο κατά την τέταρτη δειγματοληψία. Στο θαλασσινό νερό, βακτηριοφάγοι που μολύνουν *E. coli* βρέθηκαν στο Παλιό Λιμάνι κατά τη δεύτερη και τέταρτη

δειγματοληψία, ενώ στην Χρυσή Ακτή και στη Σούδα ανιχνεύθηκαν μόνο στη δεύτερη δειγματοληψία.

Βακτηριοφάγος που μολύνει *S. aureus*



Διάγραμμα 33: Ανίχνευση και ποσοτικοποίηση Βακτηριοφάγων που μολύνουν *S. aureus*.

Στο Διάγραμμα 33 απεικονίζεται ο αριθμός αποικιών βακτηριοφάγων που μολύνουν *S. aureus* στις τοποθεσίες εισροής και εκροής των μονάδων της ΔΕΥΑΧ (Δημοτική Επιχείρηση Ύδρευσης και Αποχέτευσης Χανίων) και της ΔΕΥΑΒΑ (Δημοτική Επιχείρηση Ύδρευσης και Αποχέτευσης Βορείου Άξονα Χανίων), καθώς και στις παραλίες Παλιό Λιμάνι, Χρυσή Ακτή και Σούδα. Στην εισροή της ΔΕΥΑΧ, βακτηριοφάγοι που μολύνουν *S. aureus* ανιχνεύθηκαν στην πρώτη και τέταρτη δειγματοληψία, με τη μεγαλύτερη συγκέντρωση να παρατηρείται στην πρώτη. Στην εκροή της ΔΕΥΑΧ, βακτηριοφάγοι που μολύνουν *S. aureus* βρέθηκαν μόνο κατά την τρίτη δειγματοληψία. Στο θαλασσινό νερό, βακτηριοφάγοι που μολύνουν *S. aureus* εντοπίστηκαν αποκλειστικά στο Παλιό Λιμάνι κατά την τρίτη δειγματοληψία.

Στατιστική Ανάλυση

Στο κομμάτι της στατιστικής ανάλυσης των μικροβιολογικών δεδομένων που συλλέχθηκαν Θαλασσινό νερό (Σούδα, Παλιό Λιμάνι, Χρυσή Ακτή), Εισροής (ΔΕΥΑΧ και ΔΕΥΑΒΑ), Δευτεροβάθμια επεξεργασία (ΔΕΥΑΧ και ΔΕΥΑΒΑ) και Τριτοβάθμια επεξεργασία (ΔΕΑΧ και ΔΕΥΑΒΑ). Χρησιμοποιείται η Ανάλυση Διασποράς (ANOVA) για να εξεταστούν οι πιθανές στατιστικά σημαντικές διαφορές των μέσων συγκεντρώσεων βακτηρίων/ιών μεταξύ των σημείων δειγματοληψίας. Επίσης, εξετάζεται ο βαθμός συσχέτισης μεταξύ των διαφορετικών μικροβιολογικών δεικτών μέσω του συντελεστή συσχέτισης Pearson, ώστε να εντοπιστεί η γραμμική ή μη σχέση ανάμεσα σε δύο δει. Ο σκοπός της στατιστικής ανάλυσης είναι καλύτερη κατανόηση της συμπεριφοράς των μικροοργανισμών στο περιβάλλον και στη συνολική αξιολόγηση της ποιότητας του νερού.

Θαλασσινό νερό

Ανάλυση Διασποράς (ANOVA).

Για την αξιολόγηση πιθανών στατιστικά σημαντικών διαφορών μεταξύ δεικτών κοπρανώδους ή ιικής μόλυνσης, όπως *Escherichia coli*, *Enterococcus* sp., *Clostridium perfringens*, Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (ΟΜΧ) στους 22°C και 37°C, καθώς και βακτηριοφάγων που μολύνουν *E. coli* και *Staphylococcus aureus* στο θαλασσινό νερό από τις παραλίες Παλιό Λιμάνι, Σούδα και Χρυσή Ακτή, χρησιμοποιήθηκε Ανάλυση Διασποράς (ANOVA).

Πίνακας 4: Ανάλυση Διασποράς (ANOVA) για Θαλασσινό νερό για τους δείκτες κοπρανώδους ή ιικής μόλυνσης, όπως *Escherichia coli*, *Enterococcus* sp., *Clostridium perfringens*, Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (OMX) στους 22°C και 37°C, καθώς και βακτηριοφάγων που μολύνουν *E. coli* και *Staphylococcus aureus*.

Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	1,93E+08	11	17575476	1,027086	0,432172	1,924308
Within Groups	1,23E+09	72	17111986			
Total	1,43E+09	83				
TRUE						

Τα αποτελέσματα της ANOVA είναι:

- **F = 1, p = 0,43**
- **F κρίσιμο = 1,9**

Η ανάλυση διακύμανσης που εφαρμόστηκε για τη σύγκριση των μέσων τιμών μεταξύ δεικτών κοπρανώδους ή ιικής μόλυνσης, όπως *Escherichia coli*, *Enterococcus* sp., *Clostridium perfringens*, Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (OMX) στους 22°C και 37°C, καθώς και βακτηριοφάγων που μολύνουν *E. coli* και *Staphylococcus aureus* στο θαλασσινό νερό έδωσε τιμή **F = 1,0**, η οποία είναι μικρότερη από την αντίστοιχη **κριτική τιμή F κρίσιμο = 1,9**. Το p-value είναι 0,43 που είναι μεγαλύτερο από το επίπεδο σημαντικότητας που ορίστηκε ($\alpha=0,05$), άρα δεν απορρίπτεται η μηδενική υπόθεση. Αυτό σημαίνει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των μέσων όρων των μικροοργανισμών στα Θαλασσινό νερό, γιατί οι μεγάλες αποκλίσεις που υπάρχουν μεταξύ των μέσων τιμών εξουδετερώνονται από την εσωτερική διακύμανση (variance).

Ανάλυση συσχέτισης Pearson Correlation

Για να ελεγχθεί πιο αναλυτικά η σχέση μεταξύ των μικροοργανισμών στα Θαλασσινό νερό των παραλιών Παλιό λιμάνι, Σούδα και Χρυσή Ακτή, πραγματοποιήθηκε υπολογισμός του Pearson Correlation. Με αυτή την μέθοδο μπορεί να χαρακτηριστεί η γραμμική σχέση ανάμεσα σε δύο μεταβλητές.

Πίνακας 5: Ανάλυση *Pearson Correlation* για τα Θαλασσινό νερό.

	<i>E. coli</i>	<i>Enterococcus</i> Sp.	<i>C. perfringens</i>	Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (ΟΜΧ) 37°C	Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (ΟΜΧ) 22°C	Βακτηριοφάγος που μολύνει <i>E. coli</i>	Βακτηριοφάγος που μολύνει <i>S. aureus</i>
<i>E. coli</i>	1	-0,054	-0,07	0,62	0,32	-0,16	-0,098
<i>Enterococcus</i> Sp.	-0,054	1	-0,23	0,6	0,73	-0,24	0,82
<i>C. perfringens</i>	-0,07	-0,23	1	-0,11	-0,15	-0,15	-0,091
Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (ΟΜΧ) 37°C	0,62	0,6	-0,11	1	0,94	-0,34	0,72
Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (ΟΜΧ) 22°C	0,32	0,73	-0,15	0,94	1	-0,17	0,9
Βακτηριοφάγος που μολύνει <i>E. coli</i>	-0,098	-0,24	-0,15	-0,2	-0,17	1	-0,13
Βακτηριοφάγος που μολύνει <i>S. aureus</i>	-0,13	0,82	-0,091	0,72	0,9	-0,13	1

Τα αποτελέσματα Pearson Correlation χωρίζονται σε κατηγορίες ανάλογα τον αριθμό συντελεστή συσχέτισης r :

- $r=0$ τότε δεν υπάρχει σχέση μεταξύ των δύο μεταβλητών.
- $r=-1$ υπάρχει τέλεια αρνητική συσχέτιση.
- $r=1$ υπάρχει τέλεια θετική συσχέτιση.
- $0,8 \leq r < 1$ ή $-1 < r \leq -0,8$ η σχέση μεταξύ των μεταβλητών θεωρείται ισχυρή.
- $0,5 \leq r < 0,8$ ή $-0,8 < r \leq -0,5$ η σχέση μεταξύ των μεταβλητών θεωρείται μέτρια ισχυρή
- $0 < r < 0,5$ ή $-0,5 < r < 0$ η σχέση θεωρείται ασθενής.
-

Το αποτέλεσμα της ανάλυσης συσχέτισης Pearson Correlation είναι ο διαχωρισμός των συσχετίσεων των μικροβιολογικών δεικτών ανάλογα τις τιμές του συντελεστή συσχέτισης κατατάσσονται σε ισχυρές, μέτριες, ασθενείς είτε θετικές είτε αρνητικές. Οι ισχυρές θετικές συσχετίσεις είναι *Enterococcus Sp.* – βακτηριοφάγοι που μολύνουν *S. aureus* $r = 0,82$, Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (OMX) 37°C – Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (OMX) 22°C $r = 0,94$, Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (OMX) 22°C – βακτηριοφάγοι που μολύνουν *S. aureus* $r = 0,90$. Οι μέτριες ισχυρές συσχετίσεις είναι *E. coli* – Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (OMX) 37°C $r = 0,62$, *Enterococcus Sp.* – Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (OMX) 37°C $r = 0,60$, *Enterococcus Sp.* – Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (OMX) 22°C $r = 0,73$, Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (OMX) 37°C – βακτηριοφάγοι που μολύνουν *S. aureus* $r = 0,72$. Έπειτα, οι ασθενείς θετικές συσχετίσεις είναι *E. coli* – Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (OMX) 22°C $r = 0,32$. Τέλος, οι αρνητικές ασθενείς συσχετίσεις είναι *E. coli* – *Enterococcus Sp.* $r = -0,054$, *E. coli* – *C. perfringens* $r = -0,07$, *E. coli* – βακτηριοφάγοι που μολύνουν *E. coli* $r = -0,16$, *E. coli* – βακτηριοφάγοι που μολύνουν *S. aureus* $r = -0,099$, *Enterococcus Sp.* – *C. perfringens* $r = -0,23$, *Enterococcus Sp.* – βακτηριοφάγοι που μολύνουν *E. coli* $r = -0,24$, *C. perfringens* – Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (OMX) 37°C $r = -0,11$, *C. perfringens* – Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (OMX) 22°C $r = -0,15$, *C. perfringens* – βακτηριοφάγοι που μολύνουν *E. coli* $r = -0,15$, *C. perfringens* – βακτηριοφάγοι που μολύνουν *S. aureus* $r = -0,091$, Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (OMX) 37°C – βακτηριοφάγοι που μολύνουν *E. coli* $r = -0,34$, Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (OMX) 22°C – βακτηριοφάγοι που μολύνουν *E. coli* $r = -0,17$, Βακτηριοφάγοι που μολύνουν *E. coli* – βακτηριοφάγοι που μολύνουν *S. aureus* $r = -0,13$.

Εισροή από ΔΕΥΑΧ και ΔΕΥΑΒΑ

Ανάλυση Διασποράς (ANOVA).

Για την αξιολόγηση πιθανών στατιστικά σημαντικών διαφορών μεταξύ των λυμάτων της εισροής από ΔΕΥΑΧ και ΔΕΥΑΒΑ για τους δείκτες κοπρανώδους ή ιικής μόλυνσης, όπως *Escherichia coli*, *Enterococcus* sp., *Clostridium perfringens*, Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (ΟΜΧ) στους 22°C και 37°C, καθώς και βακτηριοφάγων που μολύνουν *E. coli* και *Staphylococcus aureus*, χρησιμοποιήθηκε Ανάλυση Διασποράς (ANOVA).

Πίνακας 6: Ανάλυση Διασποράς (ANOVA) για εισροή για τους δείκτες κοπρανώδους ή ιικής μόλυνσης, όπως *Escherichia coli*, *Enterococcus* sp., *Clostridium perfringens*, Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (ΟΜΧ) στους 22°C και 37°C, καθώς και βακτηριοφάγων που μολύνουν *E. coli* και *Staphylococcus aureus*

ANOVA						
Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	4,05E+21	7	5,78E+20	0,999662	0,44322	2,207436
Within Groups	2,78E+22	48	5,79E+20			
Total	3,18E+22	55				

TRUE

Τα αποτελέσματα της ANOVA είναι:

- **F = 1, p = 0,44**
- **F κρίσιμο = 2,2**

Η ανάλυση διακύμανσης που εφαρμόστηκε για τη σύγκριση των μέσων τιμών δεικτών κοπρανώδους ή ιικής μόλυνσης, όπως *Escherichia coli*, *Enterococcus* sp., *Clostridium perfringens*, Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (ΟΜΧ) στους 22°C και 37°C, καθώς και βακτηριοφάγων που μολύνουν *E. coli* και *Staphylococcus aureus* στην εισροή έδωσε τιμή **F = 1,0**, η οποία είναι μικρότερη από την αντίστοιχη **κριτική τιμή Fκρίσιμο = 2,2**. Το p-value είναι 0,44 που είναι μεγαλύτερο από το επίπεδο σημαντικότητας που ορίστηκε ($\alpha=0,05$), άρα δεν απορρίπτεται η μηδενική υπόθεση. Αυτό σημαίνει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές

διαφορές μεταξύ των μέσων όρων των μικροοργανισμών στα λύματα εισροής , γιατί οι μεγάλες αποκλίσεις που υπάρχουν μεταξύ των μέσων τιμών εξουδετερώνονται από την εσωτερική διακύμανση (variance).

Ανάλυση συσχετίσεις Pearson Correlation

Για να ελεγχθεί πιο αναλυτικά η σχέση μεταξύ των μικροοργανισμών των λυμάτων της εισροής από ΔΕΥΑΧ και ΔΕΥΑΒΑ , πραγματοποιήθηκε υπολογισμός του Pearson Correlation. Με αυτή την μέθοδο μπορεί να χαρακτηριστεί η γραμμική σχέση ανάμεσα σε δύο μεταβλητές.

Πίνακας 7: Ανάλυση Pearson Correlation για εισροής από ΔΕΥΑΧ και ΔΕΥΑΒΑ.

	<i>E. coli</i>	<i>Enterococcus Sp.</i>	<i>C. perfringens</i>	Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (OMX) 37°C	Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (OMX) 22°C	Βακτηριοφάγος που μολύνει <i>E. coli</i>	Βακτηριοφάγος που μολύνει <i>S. aureus</i>
<i>E. coli</i>	1	-0,14	0,34	-0,05	0,019	-0,4	-0,2
<i>Enterococcus Sp.</i>	-0,14	1	-0,20	-0,31	-0,31	0,63	-0,2
<i>C. perfringens</i>	0,34	-0,2	1	0,56	0,58	0,39	-0,29
Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (OMX) 37°C	-0,05	-0,31	0,56	1	1	0,12	-0,55
Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (OMX) 22°C	0,019	-0,31	0,58	1	1	0,08	-0,074
Βακτηριοφάγος που μολύνει <i>E. coli</i>	-0,4	0,63	0,39	0,12	0,08	1	-0,074

μολύνει <i>E. coli</i>							
Βακτηριοφάγος που μολύνει <i>S. aureus</i>	-0,2	-0,2	-0,29	-0,55	-0,59	-0,074	1

Το αποτέλεσμα της ανάλυσης συσχέτισης Pearson Correlation είναι ο διαχωρισμός των συσχετίσεων των μικροβιολογικών δεικτών ανάλογα τις τιμές του συντελεστή συσχέτισης κατατάσσονται σε ισχυρές, μέτριες, ασθενείς είτε θετικές είτε αρνητικές. Οι ισχυρές θετικές συσχετίσεις είναι Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (OMX) 37°C – Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (OMX) 22°C ($r=1$). Οι μέτριες ισχυρές συσχετίσεις *Enterococcus Sp.* – Βακτηριοφάγοι που μολύνουν *E. coli* ($r=0,63$), *C. perfringens* – Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (OMX) 37°C ($r=0,56$), *C. perfringens* – Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (OMX) 22°C ($r=0,58$). Έπειτα, οι ασθενείς θετικές συσχετίσεις είναι *E. coli* – *C. perfringens* ($r=0,34$), *E. coli* – Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (OMX) 22°C ($r=0,019$), *C. perfringens* – Βακτηριοφάγοι που μολύνουν *E. coli* ($r=0,39$), Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (OMX) 37°C – Βακτηριοφάγοι που μολύνουν *E. coli* ($r=0,12$), Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (OMX) 22°C – Βακτηριοφάγοι που μολύνουν *E. coli* ($r=0,08$). Στην συνέχεια, η μέτρια αρνητική συσχέτιση είναι Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (OMX) 37°C – Βακτηριοφάγοι που μολύνουν *S. aureus* ($r=-0,55$). Τέλος, η ασθενείς αρνητικές συσχετίσεις είναι *E. coli* – *Enterococcus Sp.* ($r=-0,14$), *E. coli* – Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (OMX) 37°C ($r=-0,051$), *E. coli* – Βακτηριοφάγοι που μολύνουν *E. coli* ($r=-0,40$), *E. coli* – Βακτηριοφάγοι που μολύνουν *S. aureus* ($r=-0,20$), *Enterococcus Sp.* – *C. perfringens* ($r=-0,20$), *Enterococcus Sp.* – Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (OMX) 37°C ($r=-0,31$), *Enterococcus Sp.* – Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (OMX) 22°C ($r=-0,31$), *Enterococcus Sp.* – Βακτηριοφάγοι που μολύνουν *S. aureus* ($r=-0,20$), *C. perfringens* – Βακτηριοφάγοι που μολύνουν *S. aureus* ($r=-0,29$), Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (OMX) 22°C – Βακτηριοφάγοι που μολύνουν *S. aureus* ($r=-0,074$), Βακτηριοφάγοι που μολύνουν *E. coli* – Βακτηριοφάγοι που μολύνουν *S. aureus* ($r=-0,074$).

Δευτεροβάθμια επεξεργασία από ΔΕΥΑΧ και ΔΕΥΑΒΑ

Ανάλυση Διασποράς (ANOVA).

Για την αξιολόγηση πιθανών στατιστικά σημαντικών διαφορών μεταξύ των λυμάτων της Δευτεροβάθμια επεξεργασίας από ΔΕΥΑΧ και ΔΕΥΑΒΑ για τους δείκτες κοπρανώδους ή ιικής μόλυνσης, όπως *Escherichia coli*, *Enterococcus* sp., *Clostridium perfringens*, Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (ΟΜΧ) στους 22°C και 37°C, χρησιμοποιήθηκε Ανάλυση Διασποράς (ANOVA).

Πίνακας 8: Ανάλυση Διασποράς (ANOVA) για την Δευτεροβάθμια επεξεργασία από ΔΕΥΑΧ και ΔΕΥΑΒΑ για τους δείκτες κοπρανώδους ή ιικής μόλυνσης, όπως *Escherichia coli*, *Enterococcus* sp., *Clostridium perfringens*, Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (ΟΜΧ) στους 22°C και 37°C.

ANOVA						
Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	1,26E+10	7	1,79E+09	0,555454	0,785838	2,312741
Within Groups	1,03E+11	32	3,23E+09			
Total	1,16E+11	39				
TRUE						

Τα αποτελέσματα της ANOVA είναι:

- **F = 0,56, p = 0,79**
- **F κρίσιμο = 2,3**

Η ανάλυση διακύμανσης που εφαρμόστηκε για τη σύγκριση των μέσων τιμών μεταξύ των δεικτών κοπρανώδους ή ιικής μόλυνσης, όπως *Escherichia coli*, *Enterococcus* sp., *Clostridium perfringens*, Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (ΟΜΧ) στους 22°C και 37°C στην δευτεροβάθμια επεξεργασία έδωσε τιμή **F = 1,0**, η οποία είναι μικρότερη από την αντίστοιχη **κριτική τιμή F**

κρίσιμο= 2,3. Το p-value είναι 0,79 που είναι μεγαλύτερο από το επίπεδο σημαντικότητας που ορίστηκε ($\alpha=0,05$), άρα δεν απορρίπτεται η μηδενική υπόθεση. Αυτό σημαίνει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των μέσων όρων των μικροοργανισμών στην δευτεροβάθμια επεξεργασία, γιατί οι μεγάλες αποκλίσεις που υπάρχουν μεταξύ των μέσων τιμών εξουδετερώνονται από την εσωτερική διακύμανση (variance).

Ανάλυση συσχέτισης *Pearson Correlation*

Για να ελεγχθεί πιο αναλυτικά η σχέση μεταξύ των μεταξύ των λυμάτων της Δευτεροβάθμια επεξεργασίας από ΔΕΥΑΧ και ΔΕΥΑΒΑ, πραγματοποιήθηκε υπολογισμός του *Pearson Correlation*. Με αυτή την μέθοδο μπορεί να χαρακτηριστεί η γραμμική σχέση ανάμεσα σε δύο μεταβλητές.

Πίνακας 9: Ανάλυση *Pearson Correlation* για την Δευτεροβάθμια επεξεργασία από ΔΕΥΑΧ και ΔΕΥΑΒΑ.

	<i>E. coli</i>	<i>Enterococcus</i> <i>Sp.</i>	<i>C.</i> <i>perfringens</i>	Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (ΟΜΧ) 37°C	Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (ΟΜΧ) 22°C
<i>E. coli</i>	1	-0,2	-0,33	0,4	0,14
<i>Enterococcus</i> <i>Sp.</i>	-0,2	1	-0,22	0,28	0,26
<i>C.</i> <i>perfringens</i>	-0,33	-0,22	1	-0,83	-0,83
Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (ΟΜΧ) 37°C	0,4	0,28	-0,83	1	0,6
Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (ΟΜΧ) 22°C	0,14	0,26	-0,78	0,6	1

Το αποτέλεσμα της ανάλυσης συσχέτισης *Pearson Correlation* είναι ο διαχωρισμός των συσχετίσεων των μικροβιολογικών δεικτών ανάλογα τις τιμές του συντελεστή συσχέτισης

κατατάσσονται σε ισχυρές, μέτριες, ασθενείς είτε θετικές είτε αρνητικές. Οι μέτρια θετική συσχέτιση είναι *Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (OMX)* 37°C – *Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (OMX)* 22°C ($r = 0,6$). Στην συνέχεια οι ασθενείς θετικές συσχετίσεις είναι *E. coli* – *Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (OMX)* 37°C ($r = 0,4$), *E. coli* – *Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (OMX)* 22°C ($r = 0,14$), *Enterococcus Sp.* – *Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (OMX)* 37°C ($r = 0,28$), *Enterococcus Sp.* – *Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (OMX)* 22°C ($r = 0,26$). Ενώ, η αρνητική ισχυρή συσχέτιση είναι *C. perfringens* – *Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (OMX)* 37°C ($r = -0,83$) και η μέτρια αρνητική συσχέτιση *C. perfringens* – *Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (OMX)* 22°C ($r = -0,78$). Τέλος, οι ασθενείς αρνητικές συσχετίσεις είναι *E. coli* – *Enterococcus Sp.* ($r = -0,2$), *E. coli* – *C. perfringens* ($r = -0,33$), *Enterococcus Sp.* – *C. perfringens* ($r = -0,22$).

Εκροή από ΔΕΑΧ και ΔΕΥΑΒΑ

Ανάλυση Διασποράς (ANOVA)

Για την αξιολόγηση πιθανών στατιστικά σημαντικών διαφορών μεταξύ των λυμάτων της εκροής από ΔΕΥΑΧ και ΔΕΥΑΒΑ για τους δείκτες κοπρανώδους ή ιικής μόλυνσης, όπως *Escherichia coli*, *Enterococcus sp.*, *Clostridium perfringens*, *Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (OMX)* στους 22°C και 37°C, καθώς και βακτηριοφάγων που μολύνουν *E. coli* και *Staphylococcus aureus*, χρησιμοποιήθηκε Ανάλυση Διασποράς (ANOVA).

Πίνακας 10: Ανάλυση Διασποράς (ANOVA) για την Εκροής από ΔΕΥΑΧ και ΔΕΥΑΒΑ για τους δείκτες κοπρανώδους ή ιικής μόλυνσης, όπως Escherichia coli, Enterococcus sp., Clostridium perfringens, Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (OMX) στους 22°C και 37°C, καθώς και βακτηριοφάγων που μολύνουν E. coli και Staphylococcus aureus .

ANOVA

Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	5,76E+10	7	8,23E+09	0,997433	0,444739	2,207436
Within Groups	3,96E+11	48	8,25E+09			
Total	4,54E+11	55				

TRUE

Anova: Single Factor

Τα αποτελέσματα της ANOVA είναι:

- **F = 1, p = 0,44**
- **F κρίσιμο = 2,2**

Η ανάλυση διακύμανσης που εφαρμόστηκε για τη σύγκριση των μέσων τιμών δεικτών κοπρανώδους ή ιικής μόλυνσης, όπως *Escherichia coli*, *Enterococcus* sp., *Clostridium perfringens*, Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (OMX) στους 22°C και 37°C, καθώς και βακτηριοφάγων που μολύνουν *E. coli* και *Staphylococcus aureus* στην εκροή έδωσε τιμή **F = 1,0**, η οποία είναι μικρότερη από την αντίστοιχη **κριτική τιμή F κρίσιμο = 2,2**. Το p-value είναι 0,44 που είναι μεγαλύτερο από το επίπεδο σημαντικότητας που ορίστηκε ($\alpha=0,05$), άρα δεν απορρίπτεται η μηδενική υπόθεση. Αυτό σημαίνει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των μέσων όρων των μικροοργανισμών στα λυμάτων κατά εκροή, γιατί οι μεγάλες αποκλίσεις που υπάρχουν μεταξύ των μέσων τιμών εξουδετερώνονται από την εσωτερική διακύμανση (variance).

Ανάλυση συσχέτισης *Pearson Correlation*

Για να ελεγχθεί πιο αναλυτικά η σχέση μεταξύ των μικροοργανισμών των λυμάτων της εκροής από ΔΕΥΑΧ και ΔΕΥΑΒΑ, πραγματοποιήθηκε υπολογισμός του *Pearson Correlation*. Με αυτή την μέθοδο μπορεί να χαρακτηριστεί η γραμμική σχέση ανάμεσα σε δύο μεταβλητές.

Πίνακας 11: Ανάλυση *Pearson Correlation* για την τριτοβάθμια επεξεργασία από ΔΕΥΑΧ και ΔΕΥΑΒΑ.

	<i>E. coli</i>	<i>Enterococcus Sp.</i>	<i>C. perfringens</i>	Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (ΟΜΧ) 37°C	Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (ΟΜΧ) 22°C	Βακτηριοφάγος που μολύνει <i>E. coli</i>	Βακτηριοφάγος που μολύνει <i>S. aureus</i>
<i>E. coli</i>	1	1	-0,14	-0,034	-0,21	0,97	-0,14
<i>Enterococcus Sp.</i>	1	1	-0,099	0,0085	-0,18	0,96	-0,2
<i>C. perfringens</i>	-0,14	-0,099	1	-0,2	-0,2	-0,18	-0,14
Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα	-0,034	0,0085	-0,2	1	0,74	-0,08	-0,55

(OMX) 37°C							
Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (OMX) 22°C	-0,21	-0,18	-0,39	0,74	1	-0,27	0,028
Βακτηριοφά γος που μολύνει <i>E.</i> <i>coli</i>	-0,14	0,63	0,39	0,12	0,08	1	-0,074
Βακτηριοφά γος που μολύνει <i>S.</i> <i>aureus</i>	-0,2	-0,2	-0,29	-0,55	-0,59	-0,18	1

Το αποτέλεσμα της ανάλυσης Pearson Correlation είναι ο διαχωρισμός των συσχετίσεων των μικροβιολογικών δεικτών ανάλογα τις τιμές του συντελεστή συσχέτισης κατατάσσονται σε ισχυρές, μέτριες, ασθενείς είτε θετικές είτε αρνητικές. Οι ισχυρές θετικές συσχετίσεις είναι *E. coli* – *Enterococcus Sp.* ($r = 1$), *E. coli* – Βακτηριοφάγοι που μολύνουν *E. coli* ($r = 0,97$), *Enterococcus Sp.* – Βακτηριοφάγοι που μολύνουν *E. coli* ($r = 0,96$). Η μέτρια θετική συσχέτιση είναι Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (OMX) 37°C – Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (OMX) 22°C ($r = 0,74$). Έπειτα, οι ασθενείς θετικές συσχετίσεις *Enterococcus Sp.* – Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (OMX) 37°C ($r = 0,0085$), Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (OMX) 22°C – Βακτηριοφάγοι που μολύνουν *S. aureus* ($r = 0,029$). Στην συνέχεια, η μέτρια αρνητική συσχέτιση είναι Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (OMX) 37°C – Βακτηριοφάγοι που μολύνουν *S. aureus* ($r = -0,55$). Τέλος, η ασθενείς αρνητικές συσχετίσεις είναι *E. coli* – *C. perfringens* ($r = -0,14$), *E. coli* – Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (OMX) 37°C ($r = -0,034$), *E. coli* – Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (OMX) 22°C ($r = -0,21$), *E. coli* – Βακτηριοφάγοι που μολύνουν *S. aureus* ($r = -0,14$), *Enterococcus Sp.* – *C. perfringens* ($r = -0,099$), *Enterococcus Sp.* – Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (OMX) 22°C

($r = -0,18$), *Enterococcus Sp.* – Βακτηριοφάγοι που μολύνουν *S. aureus* ($r = -0,20$), *C. perfringens* – Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (ΟΜΧ) 37°C ($r = -0,20$), *C. perfringens* – Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (ΟΜΧ) 22°C ($r = -0,39$), *C. perfringens* – Βακτηριοφάγοι που μολύνουν *E. coli* ($r = -0,18$), *C. perfringens* – Βακτηριοφάγοι που μολύνουν *S. aureus* ($r = -0,14$), Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (ΟΜΧ) 37°C – Βακτηριοφάγοι που μολύνουν *E. coli* ($r = -0,08$).

Στατιστικά συμπεράσματα

Η εφαρμογή της μονοπαραγοντικής Ανάλυσης Διασποράς (ANOVA) σε όλα τα περιβάλλοντα δειγματοληψίας (θαλασσινό νερό, εισροή, εκροή) έδειξε ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των μέσων τιμών συγκέντρωσης των μικροοργανισμών. Το γεγονός αυτό υποδηλώνει ότι οι παρατηρούμενες διακυμάνσεις μεταξύ των δεικτών δεν είναι επαρκώς μεγάλες ώστε να υπερβούν τη διακύμανση εντός των ομάδων. Άρα, οι μέσες συγκεντρώσεις των μικροοργανισμών δεν εμφανίζουν σημαντικές διαφορές μεταξύ τους σε κάθε κατηγορία περιβάλλοντος.

Αντίθετα, η ανάλυση συσχέτισης Pearson ανέδειξε σημαντικά ευρήματα, τα οποία συνδέονται άμεσα με τον βασικό στόχο της μελέτης, δηλαδή τη διερεύνηση πιθανών συσχετίσεων μεταξύ δεικτών κοπρανώδους και ιικής μόλυνσης. Ισχυρές θετικές συσχετίσεις καταγράφηκαν μεταξύ *E. coli* και *Enterococcus Sp.*, καθώς και μεταξύ *E. coli* και των βακτηριοφάγων που το μολύνουν (φάγοι *E. coli*). Αυτά τα αποτελέσματα ενισχύουν τη θέση ότι οι συγκεκριμένοι δείκτες μπορούν να χρησιμοποιούνται συμπληρωματικά στην παρακολούθηση της μικροβιακής ποιότητας των υδάτων. Παρόμοια συσχέτιση παρατηρήθηκε και μεταξύ της Ολικής Μικροβιακής Χλωρίδας στους 22°C και 37°C, υποδεικνύοντας ότι οι δύο δείκτες καταγράφουν παρόμοια μικροβιακή δραστηριότητα.

Αντιθέτως, *Clostridium perfringens* εμφάνισε κυρίως ασθενείς ή αρνητικές συσχετίσεις με τους υπόλοιπους μικροοργανισμούς, γεγονός που υποδηλώνει ότι δεν αποτελεί αξιόπιστο δείκτη πρόσφατης ρύπανσης. Αντίστοιχα, ο βακτηριοφάγος που μολύνει *Staphylococcus aureus* δεν παρουσίασε σταθερές ή ισχυρές συσχετίσεις με άλλους δείκτες, καθιστώντας αβέβαιη τη χρησιμότητά του ως δείκτη κοπρανώδους ή ιικής επιβάρυνσης.

Συνολικά, η στατιστική ανάλυση ανέδειξε ότι η συνδυαστική χρήση δεικτών, όπως *E. coli*, *Enterococcus Sp.* και οι σχετικοί βακτηριοφάγοι, μπορεί να προσφέρει πιο αξιόπιστη εικόνα για την αξιολόγηση της μικροβιακής ποιότητας των υδάτων, σε αντίθεση με την αποσπασματική χρήση ενός μόνο δείκτη. Η διαφοροποίηση των συσχετίσεων σε κάθε περιβαλλοντική

κατηγορία επιβεβαιώνει την ανάγκη για πολυπαραμετρική προσέγγιση στην παρακολούθηση των υδάτινων συστημάτων.

Συμπεράσματα

Η παρούσα μελέτη ανέδειξε τη σημασία της συγκριτικής αξιολόγησης μικροβιολογικών δεικτών κοπρανώδους και πιθανώς ιικής μόλυνσης για την παρακολούθηση της ποιότητας του υδάτινου περιβάλλοντος. Εξετάστηκαν δείκτες όπως *Escherichia coli*, *Enterococcus sp.*, *Clostridium perfringens*, η Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (ΟΜΧ) σε 22°C και 37°C, καθώς και βακτηριοφάγοι που μολύνουν *E. coli* και *Staphylococcus aureus*, τόσο σε θαλασσινό νερό (Παλιό Λιμάνι, Σούδα, Χρυσή Ακτή) όσο και σε λύματα σε διαφορετικά στάδια επεξεργασίας (εισροή, δευτεροβάθμια, εκροή) από τις εγκαταστάσεις των ΔΕΥΑΧ και ΔΕΥΑΒΑ. Τα αποτελέσματα των τεσσάρων δειγματοληψιών έδειξαν γενικά καλή μικροβιολογική ποιότητα, με κάποιες υπερβάσεις των νομοθετικών ορίων κυρίως στην παραλία της Σούδας και σε επεξεργασμένα λύματα. Οι συγκεντρώσεις των *E. coli* και *Enterococcus sp.* ήταν χαμηλές στις περισσότερες περιπτώσεις, συμβατές με τις απαιτήσεις για κολύμβηση. Ωστόσο, η παρουσία του *C. perfringens* και οι αυξημένες τιμές ΟΜΧ σε συγκεκριμένα σημεία υποδηλώνουν πιθανή παλαιότερη ρύπανση ή ελλιπή απολύμανση. Η πορεία μείωσης του μικροβιακού φορτίου κατά την επεξεργασία των λυμάτων ήταν εμφανής, ιδιαίτερα από την εισροή έως την εκροή, αποδεικνύοντας τη λειτουργική επάρκεια των εγκαταστάσεων. Παρόλα αυτά, εντοπίστηκαν περιπτώσεις όπως στη ΔΕΥΑΒΑ, όπου στην τέταρτη δειγματοληψία η συγκέντρωση *E. coli* στην εκροή υπερέβη τη δευτεροβάθμια επεξεργασία, γεγονός που υποδεικνύει πιθανή επαναμόλυνση ή αστοχία απολύμανσης. Οι βακτηριοφάγοι *E. coli* καταγράφηκαν σε σταθερά επίπεδα στις εκροές, επιβεβαιώνοντας τη χρησιμότητά τους ως δείκτες πρόσφατης κοπρανώδους ρύπανσης. Αντίθετα, οι βακτηριοφάγοι του *S. aureus* παρουσίασαν μεταβλητή παρουσία, καθιστώντας αβέβαιη τη χρησιμότητά τους. Η ανάλυση ANOVA δεν ανέδειξε στατιστικά σημαντικές διαφορές στις μέσες τιμές μεταξύ των μικροοργανισμών ανά περιβαλλοντική κατηγορία, καθώς το p-value ήταν υψηλότερο από το όριο σημαντικότητας (0,05) σε όλες τις περιπτώσεις. Ωστόσο, η συσχέτιση Pearson αποκάλυψε ισχυρές θετικές σχέσεις μεταξύ *E. coli*, *Enterococcus sp.* και των βακτηριοφάγων τους, καθώς και μεταξύ ΟΜΧ στους 22°C και 37°C. Αντίθετα, ο *C. perfringens* και οι φάγοι του *S. aureus* εμφάνισαν ασθενείς ή αρνητικές συσχετίσεις. Συμπερασματικά, η παράλληλη παρακολούθηση πολλών μικροοργανισμών –και όχι μόνο ενός– ενισχύει την αξιοπιστία των εκτιμήσεων για τη μικροβιακή επιβάρυνση και επιτρέπει την έγκαιρη ανίχνευση περιβαλλοντικών πιέσεων ή αστοχιών σε συστήματα επεξεργασίας. Οι δείκτες *E. coli* και *Enterococcus sp.* αναδεικνύονται ως οι πλέον κατάλληλοι για την παρακολούθηση της ποιότητας του νερού, ενώ για δείκτες όπως ο *C. perfringens* και οι φάγοι του *S. aureus* απαιτείται περαιτέρω διερεύνηση.

Μελλοντικές προτάσεις

- Μακροχρόνια παρακολούθηση, δηλαδή επέκταση της εργασίας με περισσότερες δειγματοληψίες (1 χρόνο) ώστε να γίνει εποχιακή σύγκριση δηλαδή θερινοί μήνες με χειμερινούς μήνες.
- Μελέτη και αξιολόγηση πέρα από τους καθιερωμένους δείκτες κοπρανώδους μόλυνσης και άλλους μικροβιολογικούς παράγοντες, όπως ιολογικοί δείκτες ή ιικοί δείκτες που σχετίζονται με Αδενοϊούς (Adenoviruses) και Εντεροϊούς (Enteroviruses) , πρωτόζωα όπως *CryptoSporidium parvum*, *Giardia lamblia* και παράσιτα.
- Αναθεώρηση και ενίσχυση του θεσμικού πλαισίου, ώστε να ενσωματωθούν επιπλέον μικροβιολογικοί δείκτες (Ολική Μικροβιακή Χλωρίδα (ΟΜΧ) 37°C και 22°C, *C. perfringens*, Βακτηριοφάγοι που μολύνουν *S. aureus*, Βακτηριοφάγοι που μολύνουν *E. coli*) στους υποχρεωτικούς παραμέτρους με κατάλληλα όρια για θαλάσσια ύδατα και εκροής βιολογικού.
- Διενέργεια πειραμάτων και σε άλλες υδατικές μήτρες. (λίμνες, ποτάμια, και παραπάνω παραλίες)
- Περεταίρω στατιστική μελέτη με την χρήση όπως πολλαπλή γραμμική παλινδρόμηση, χ^2 , τεστ t του Student.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Ελληνική βιβλιογραφία

Βενιέρη Δ., Γουνάκη Ι., (2017). Πανεπιστημιακές σημειώσεις μαθήματος «Περιβαλλοντικής Μικροβιολογίας», Σχολή Μηχανικών Περιβάλλοντος, Πολυτεχνείο Κρήτης, Χανιά.

Κυριαζή, Αφροδίτη, (2022). Επίδραση της υδατικής μήτρας στην απόδοση απολύμανσης κατά την αδρανοποίηση βακτηρίων, Διπλωματική εργασία, Πολυτεχνείο Κρήτης, Χανιά

Λυρώνη Μαρία, (2016). *Αδρανοποίηση του βακτηριοφάγου MS2 στα απόβλητα με διάφορες τεχνικές απολύμανσης*. Διπλωματική εργασία, Διπλωματική εργασία, Πολυτεχνείο Κρήτης, Χανιά.

Δάρας, Τρύφων Ι., Σύψας, Παναγιώτης Θ., (2010). Πιθανότητες και Στατιστική – Θεωρία & Εφαρμογές. Εκδόσεις Ζήτη.

Ελληνική Δημοκρατία, (1997). Κοινή Υπουργική Απόφαση 5673/400/1997 – Επεξεργασία αστικών λυμάτων. ΦΕΚ Β' 192/1997.

Ελληνική Δημοκρατία, (2009). ΚΥΑ 8600/416/2009 – Ποιότητα υδάτων κολύμβησης σύμφωνα με την Οδηγία 2006/7/ΕΚ. ΦΕΚ Β' 356/2009.

Ξένη βιβλιογραφία

Montgomery, C. Douglas & Runger, C. George, 2017. *Εφαρμοσμένη Στατιστική και Πιθανότητες για Μηχανικούς*. 6η έκδοση. Επιστ. επιμέλεια: Πολυχρόνης Οικονόμου. ISBN: 978-960-418-708-9.

Blanch, A.R., Belanche-Muñoz, L., Bonjoch, X., et al. (2006). *Integrated analysis of bacterial and chemical indicators of faecal pollution for the assessment of recreational water quality*. *Water Research*, 40(17), pp.3249–3260. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2006.06.032>

Korajkic, A., McMin, B.R. & Harwood, V.J. (2018). *Relationships between microbial indicators and pathogens in recreational water settings*. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 15(12), p.2842. <https://doi.org/10.3390/ijerph15122842>

Cabral, J.P.S. (2010). *Water Microbiology. Fecal indicators in the environment. International Journal of Environmental Research and Public Health*, 7(12), pp.4676–4703. <https://doi.org/10.3390/ijerph7124676>

Payment, P. & Locas, A. (2011). *Pathogens in water: Value and limits of correlation with microbial indicators. Ground Water*, 49(1), pp.4–11. <https://doi.org/10.1111/j.1745-6584.2010.00707.x>

Singh, K.P., Malik, A., Mohan, D. & Sinha, S. (2004) Statistical evaluation of water quality parameters using correlation and regression analysis. *Ecological Modelling*, 178(1–2), pp. 1–17. <https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2003.11.006>

Shrestha, S. & Kazama, F. (2007) Assessment of surface water quality using multivariate statistical techniques: A case study of the Fuji river basin, Japan. *Environmental Modelling & Software*, 22(4), pp. 464–475. <https://doi.org/10.1016/j.envsoft.2006.02.001>

Ghasemian, A. (2022) Isolation and characterization of bacteriophages against MRSA strains. *Iranian Journal of Microbiology*, 14(4), pp. 350–357.

Abd-Allah, E.F., Saber, M., El-Sayed, M. & Ghoniem, A. (2021) Bacteriophages and their potential in the diagnosis and therapy of bacterial infections. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 11, Article 638.

Payment, P., Waite, M. & Dufour, A. (2003) Introducing parameters for the assessment of drinking water quality. In: *Assessing Microbial Safety of Drinking Water: Improving Approaches and Methods*. Geneva: WHO, pp. 47–77.

Bartram, J. & Rees, G. (2000) *Monitoring Bathing Waters: A Practical Guide to the Design and Implementation of Assessments and Monitoring Programmes*. London: E & FN Sp.on.

World Health Organization (2011) *Guidelines for Drinking-water Quality*, 4th Edition. Geneva: WHO Press.

Cabral, J.P.S. (2010) Water Microbiology. Bacterial Pathogens and Water. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 7(10), pp. 3657–3703.

European Parliament and Council (2006) *Directive 2006/7/EC concerning the management of bathing water quality*. Official Journal of the European Union

Ιστοσελίδα

World Health Organization (WHO) (2008) *Guidelines for Drinking-water Quality: Volume 1 – Recommendations*. 3rd ed. Geneva: World Health Organization. Chapter 13. Available at: https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/204412/9789241547604_eng.pdf

<https://www.eea.europa.eu/el/themes/water/intro>

<https://www.deyamp.gr/oikologia-periballon-nero/to-nero-kai-i-simasia-tou/>

(<https://indeepanalysis.gr/analyseis/arthra/mikroviologikh-poiothta-tou-posimou-nerou-mikroviologikoi-deiktes>,

<https://www.deyava.gr>

<https://deyach.gr/viologikos>