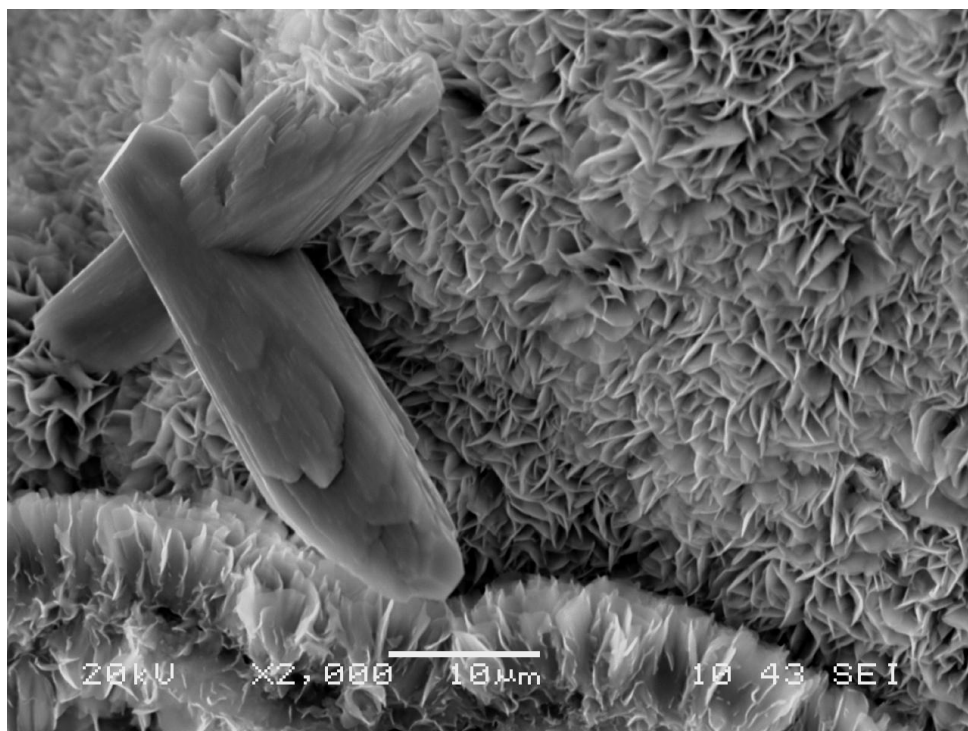




ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ ΚΡΗΤΗΣ
ΤΜΗΜΑ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΟΡΥΚΤΩΝ ΠΟΡΩΝ

**«Διερεύνηση των αντιμικροβιακών ιδιοτήτων
σμεκτιτικών αργίλων. Επίδραση του φορτίου
κρυσταλλικής δομής»**

ΚΥΡΙΑΖΗΣ – ΑΘΑΝΑΣΙΟΣ ΣΙΣΜΑΝΗΣ
Διπλωματική Εργασία



Επιβλέπων Καθηγητής: Δρ. Γεώργιος Χρηστίδης

XANIA 2015

Περιεχόμενα

ΠΡΟΛΟΓΟΣ.....	3
ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	4
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 ^ο : ΣΜΕΚΤΙΤΕΣ	6
1.1 ΓΕΝΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ.....	6
1.2 ΔΟΜΗ ΚΑΙ ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΤΩΝ ΣΜΕΚΤΙΤΩΝ	8
1.3 ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΤΩΝ ΣΜΕΚΤΙΤΩΝ	13
1.4. ΧΡΗΣΕΙΣ ΤΩΝ ΣΜΕΚΤΙΤΩΝ.....	16
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 ^ο : ΒΑΚΤΗΡΙΑ	21
2.1 ΓΕΝΙΚΑ ΓΙΑ ΤΑ ΒΑΚΤΗΡΙΑ	22
2.2 ΜΕΓΕΘΟΣ ΤΩΝ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ.....	23
2.3 ΔΙΑΧΩΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ	23
2.4 ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑ ΑΠΟΙΚΙΩΝ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ	24
2.5 ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΖΟΥΝ ΤΟΥΣ ΠΑΘΟΓΟΝΟΥΣ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΥΣ.....	25
2.6 ΚΑΤΑΠΟΛΕΜΗΣΗ ΤΩΝ ΠΑΘΟΓΟΝΩΝ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ	25
2.7 ΤΟ ΒΑΚΤΗΡΙΟ <i>Escherichia coli</i>	26
2.8 ΤΟ ΒΑΚΤΗΡΙΟ <i>Enterococcus faecalis</i>	28
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 ^ο : ΑΝΤΙΒΑΚΤΗΡΙΑΚΗ ΔΡΑΣΗ ΜΕΤΑΛΛΩΝ	30
3.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	30
3.2 ΑΝΤΙΒΑΚΤΗΡΙΑΚΗ ΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΑΡΓΥΡΟΥ	31
3.3 ΑΝΤΙΒΑΚΤΗΡΙΑΚΗ ΔΡΑΣΗ ΑΛΛΩΝ ΜΕΤΑΛΛΩΝ	33
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4 ^ο : ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	35
4.1 ΥΛΙΚΑ	35
4.2. ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΤΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ	36
4.2 ΑΠΟΧΩΡΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΑΡΓΙΛΙΚΟΥ ΚΛΑΣΜΑΤΟΣ	38
4.3 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΙΟΝΤΟΕΝΑΛΛΑΚΤΙΚΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ.....	38
4.4 ΣΤΟΙΧΕΙΟΜΕΤΡΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ.....	38
4.5 ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΠΡΟΣΡΟΦΗΣΗΣ ΤΟΥ ΑΡΓΥΡΟΥ	40
4.6 ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΤΩΝ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ.....	40
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5 ^ο : ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	42
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	46
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	47
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	48

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στο Τμήμα Μηχανικών Ορυκτών Πόρων του Πολυτεχνείου Κρήτης. Τα εργαστηριακά πειράματα πραγματοποιήθηκαν στα εργαστήρια Γεωχημείας του Τμήματος Μηχανικών Ορυκτών Πόρων, καθώς και στο εργαστήριο Μικροβιολογίας του Τμήματος Μηχανικών Περιβάλλοντος. Το ενδιαφέρον μου για τους αργίλους, οι οποίοι χρησιμοποιούνται σε πολλούς τομείς της βιομηχανίας, με οδήγησε στην απόφαση να ασχοληθώ με το συγκεκριμένο αντικείμενο. Στα πλαίσια ολοκλήρωσης της παρούσας εργασίας θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον Καθηγητή του Τμήματος Μηχανικών Ορυκτών Πόρων κ. Γεώργιο Χρηστίδη για την πολύτιμη βοήθειά του και καθοδήγηση σε όλη τη διάρκεια πραγματοποίησης των εργασιών μου για την εκπόνηση της διπλωματικής. Επίσης, θα ήθελα να εκφράσω ευχαριστίες στην κ. Δέσποινα Πεντάρη, Λέκτορα του παραπάνω Τμήματος για την ουσιαστική συμβολή της στην ολοκλήρωση των εργασιών. Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω και την κ. Δανάη Βενιέρη, Επίκουρη Καθηγήτρια του παραπάνω Τμήματος για την καθοδήγησή της σε ό,τι αφορά στο κομμάτι της εργασίας με τα βακτήρια.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ο στόχος της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι η διερεύνηση της αντιβακτηριακής δράσης σμεκτιτών εμπλουτισμένων με άργυρο. Η διερεύνηση πραγματοποιήθηκε πειραματικά *in vitro* σε δύο βακτήρια, *Enterococcus faecalis* και *Escherichia coli*.

Στη διεθνή βιβλιογραφία υπάρχουν πολλές μελέτες πάνω στις αντιβακτηριακές ιδιότητες και τη φύση των συνθετικών αργίλων (Herrera *et al.*, 2000; Wilson, 2003; Williams *et al.*, 2004; Hu *et al.*, 2005; Tong *et al.*, 2005; Haydel *et al.*, 2008 μεταξύ άλλων). Κάθε φυσική εμφάνιση αντιβακτηριακής αργίλου έχει ξεχωριστή ορυκτολογική σύνθεση (Williams *et al.*, 2011) και κοινό χαρακτηριστικό την παρουσία διογκώσιμων αργιλικών ορυκτών (σμεκτίτες) και σιδηρούχων φάσεων (π.χ. σιδηροσμεκτίτης, βιοτίτης, μαγνητίτης, αιματίτης, γκαιτίτης, αμφιβολίτης, ιαροσίτης). Η παρουσία του σιδηροπυρίτη σε κάποια υλικά μπορεί να έχει σημαντική βακτηριοκτόνο δράση (Cohn *et al.*, 2006).

Τα αργιλικά υλικά είναι γνωστό ότι έχουν ιαματικές ιδιότητες από τα αρχαία χρόνια. Οι άνθρωποι συνήθιζαν να χρησιμοποιούν τις αργίλους ως επιδερμικά σκευάσματα για την καταπολέμηση δερματικών παθήσεων, ως εδώδιμα προϊόντα για την συμπλήρωση των διατροφικών τους συνηθειών (πηγές πρόσληψης σιδήρου και ψευδαργύρου) αλλά και ως σκευάσματα για την καταπολέμηση εντερικών και στομαχικών διαταραχών (Sayetta 1986, Lacey 1990, Wiley, Andrea S. 2006). Η πρακτική αυτή είναι γνωστή ως γεωφαγία (Wilson 2003).

Στη σύγχρονη εποχή η λήψη ξηρών ή ένυδρων αργίλων χρησιμοποιείται ως πηγή διατροφικών στοιχείων, ως αντιοξειδωτικός παράγοντας, ως θεραπεία των γαστρεντερικών παθήσεων και της οξείας ή χρόνιας διάρροιας (Carretero 2002). Η υψηλή ικανότητα προσρόφησης, η ιοντοεναλλακτική ικανότητα καθώς και η πολύ λεπτή κοκκομετρία συγκεκριμένων αργίλων όπως των σμεκτιτών αλλά και των καολινικών αργίλων, είναι σημαντικοί παράγοντες για τους οποίους αυτά τα ορυκτά χρησιμοποιούνται για την προσρόφηση ελαίων, εκκρίσεων και τοξινών και καταπολέμηση μολύνσεων του δέρματος. Υπάρχει σημαντική διαφοροποίηση μεταξύ της ιαματικής και αντιβακτηριακής αργίλου. Ενώ οι άργιλοι μπορούν να θεραπεύσουν διάφορες ασθένειες με τις μοναδικές φυσικές τους ιδιότητες (π.χ. υψηλή τάση προσρόφησης, μεγάλη ειδική επιφάνεια, υψηλή θερμοχωρητικότητα

και ιοντοεναλλακτική ικανότητα), στην πραγματικότητα μόνο μερικές φυσικές άργιλοι έχουν ταυτοποιηθεί ότι εξαλείφουν παθογενή βακτήρια.

Στα κεφάλαια που ακολουθούν θα γίνει αρχικά αναφορά στους σμεκτίτες, στα βακτήρια, και στην αντιβακτηριακή δράση των μετάλλων και συγκεκριμένα του αργύρου.

Στο **Πρώτο Κεφάλαιο** θα αναφερθούν τα γενικά χαρακτηριστικά και οι ιδιότητες των σμεκτιτών με ιδιαίτερη αναφορά στις φυσικές και μη αντιβακτηριακές τους ιδιότητες, ενώ θα αναφερθούν και οι κυριότερες χρήσεις τους στη σύγχρονη βιομηχανία.

Στο **Δεύτερο Κεφάλαιο** θα αναφερθούν γενικά χαρακτηριστικά και ιδιότητες των βακτηρίων. Πιο συγκεκριμένα, θα παρατεθούν στοιχεία για τα βακτήρια *Enterococcus faecalis* και *Escherichia coli*, που επιλέχτηκαν ως καταλληλότερα για τη συγκεκριμένη μελέτη.

Στο **Τρίτο Κεφάλαιο** θα παρουσιαστούν οι αντιβακτηριακές ιδιότητες ορισμένων μετάλλων, με ιδιαίτερη αναφορά στον άργυρο. Είναι ευρέως γνωστό ότι τα μεταλλικά ιόντα, όπως ο άργυρος, ο χαλκός και ο ψευδάργυρος έχουν ισχυρή ανασταλτική και βακτηριοκτόνο δράση σε ένα ευρύ φάσμα βακτηρίων (Berger *et al.*, 1976; Domek *et al.*, 1984; Gordon *et al.*, 1994).

Στο **Τέταρτο Κεφάλαιο** θα αναφερθούν τα υλικά και οι μέθοδοι που ακολουθήθηκαν κατά τη διαδικασία του πειράματος.

Στο **Πέμπτο Κεφάλαιο** θα παρουσιαστούν τα αποτελέσματα της πειραματικής διαδικασίας και τέλος, θα παρουσιαστούν τα συμπεράσματα.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1^ο: ΣΜΕΚΤΙΤΕΣ

1.1 ΓΕΝΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

Ο όρος "άργιλος" αναφέρεται σε ένα υλικό που απαντάται στη φύση και αποτελείται πρώτιστα από ορυκτά των οποίων η κοκκομετρία κυμαίνεται κάτω από 2 μm , παρουσιάζει πλαστικότητα με κατάλληλα ποσοστά υγρασίας και σκληραίνει κατά την ξήρανση ή την όπτηση. Αν και η άργιλος περιέχει συνήθως φυλλοπυριτικά υλικά, μπορεί να περιέχει και άλλα υλικά που ενισχύουν τις παραπάνω ιδιότητες (Guggenheim, 1995). Οι άργιλοι είναι κρυσταλλικά, κολλοειδή υλικά, τα οποία συνιστούν το ενεργό μεταλλικό μέρος του εδάφους. Οι περισσότερες άργιλοι είναι κρυσταλλικές και έχουν μια καθορισμένη και επαναλαμβανόμενη δομή που αποτελείται από άτομα πυριτίου και αργιλίου συγκρατούμενα από στρωματικά επίπεδα ατόμων οξυγόνου. Οι άμορφες άργιλοι είναι ιδιαίτερα κοινές σε εδάφη που έχουν σχηματιστεί από ηφαιστειακή τέφρα, το οποίο συνιστά επίσης ένα πορώδες μέσο. Τα πιο κοινά αργιλικά ορυκτά είναι ο καολινίτης (kaolinite), ο ιλλίτης (illite) και ο μοντοριλλονίτης (monmorillonite).

Ο όρος μπεντονίτης χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά το 1898 από τον Knight, με σκοπό να περιγράψει μια άργιλο, η οποία εντοπίστηκε στην περιοχή Fort Benton του Wyoming των Η.Π.Α. Από τις αρχές του εικοστού αιώνα έγινε δεκτό ότι οι μπεντονίτες απαντούν κυρίως με την μορφή στρωμάτων μέσα σε ιζηματογενή πετρώματα, τα οποία δημιουργήθηκαν την εποχή του Κρητιδικού και Τριτογενούς από εξαλλοίωση ηφαιστειακού υλικού. Αυτή ήταν μια πρώτη προσέγγιση του όρου μπεντονίτη. Στη συνέχεια ακολούθησαν κάποιο άλλοι ορισμοί του υλικού με βάση τον τρόπο γένεσής του, την ορυκτολογία αλλά και τις βιομηχανικές του χρήσεις.

Συγκεκριμένα οι Ross & Shannon (1962), όρισαν σαν μπεντονίτη ένα πέτρωμα, που αποτελείται κατά κύριο λόγο από ένα αργιλικό ορυκτό, το σμεκτίτη, το οποίο προέρχεται από αφυέλωση [διαδικασία στην οποία η ηφαιστειακή ύαλος μετατρέπεται σε λεπτομερή κρυσταλλικά ή κρυπτοκρυσταλλικά ορυκτά (π.χ. σμεκτίτες, ζεόλιθοι, οπάλιος)] ενός ηφαιστειακού υλικού, συνήθως τόφφου ή ηφαιστειακού γυαλιού, όπως άστριους (κυρίως σανίδινο και ολιγόκλαστο), βιοτίτη, χαλαζία, πυρόξενους και ζιρκόνιο (Stamatakis, 1989, Stamatakis et al., 1998). Ο πιο πλήρης ορισμός του μπεντονίτη, ως βιομηχανικό πέτρωμα, δόθηκε από τον

R.E.Grim στο παγκόσμιο συνέδριο αργίλων στην Μαδρίτη της Ισπανίας, στις 27 Ιουνίου του 1972 (Lefond, 1983). Σύμφωνα με αυτόν, μπεντονίτης είναι μια άργιλος, η οποία αποτελείται κατά μεγάλο μέρος από ορυκτά της ομάδας του σμεκτίτη, με κύριο αντιπρόσωπο τον μοντοριλλονίτη, ανεξάρτητα από το μηχανισμό γένεσής του. Πήρε την ονομασία του από την τοποθεσία Fort Benton της πολιτείας Wyoming των Η.Π.Α., όπου πρωτοανακαλύφθηκε και άρχισε να εξορύσσεται.

Οι σμεκτίτες σχηματίζονται και είναι πιο σταθεροί σε επιφανειακά και σε ρηχά υπόγεια περιβάλλοντα. Σε βάθος 2000-4000 m οι σμεκτίτες μετατρέπονται σε μικτές αργίλους ιλλίτη/σμεκτίτη (I/Σ), και σε ακόμα μεγαλύτερα βάθη σε ιλλίτη μέσω της δέσμευσης Κ σε ενδοστρωματικές θέσεις, ή ακόμα σε χλωρίτη αν υπάρχει αφθονία Mg. Οι σμεκτίτες είναι μόνιμα συστατικά των εδαφών, ειδικά σε ημι-άνυδρες και άνυδρες περιοχές. Ηπειρωτικά και ωκεάνεια δείγματα από το Κρητιδικό μέχρι σήμερα συχνά περιέχουν σμεκτίτες. Αν και είναι γνωστοί καθαροί σμεκτίτες του Ιουρασικού, οι περισσότερες οικονομικά εκμεταλλεύσιμες αποθέσεις έχουν ηλικία Κρητιδικού ή νεότερης.

Η ευρεία εξάπλωση των σμεκτιτικών ορυκτών οφείλεται στους πολλαπλούς τρόπους γένεσης, συμπεριλαμβανομένης της καθίζησης από υδατικά συστήματα που περιέχουν τα κατάλληλα χημικά στοιχεία, και της εξαλλοίωσης πυριτικών, Αl-πλούσιων, σιδηρούχων και μαγνησιούχων ορυκτών, και ειδικότερα από την εξαλλοίωση ηφαιστειακού γυαλιού. Το μεγαλύτερο ποσοστό εκμεταλλεύσιμων σμεκτιτών έχουν σχηματιστεί από την υδρόλυση ηφαιστειακών υλικών που έχουν στερεοποιηθεί στην επιφάνεια του φλοιού (extrusive volcanics), αν και συγκεκριμένοι τύποι ηφαιστειακών υλικών που έχουν κρυσταλλωθεί στο εσωτερικό του φλοιού (intrusive volcanics) έχουν επίσης εξαλλοιωθεί σε σμεκτίτες κοντά στην επιφάνεια από τις περιβαλλοντολογικές συνθήκες. Εξαιτίας της έντονης ηφαιστειακής δράσης που υπήρξε κατά την Κρητιδική περίοδο, σμεκτιτικές αποθέσεις είναι γνωστές σε όλες τις ηπείρους, εκτός της Ανταρκτικής.

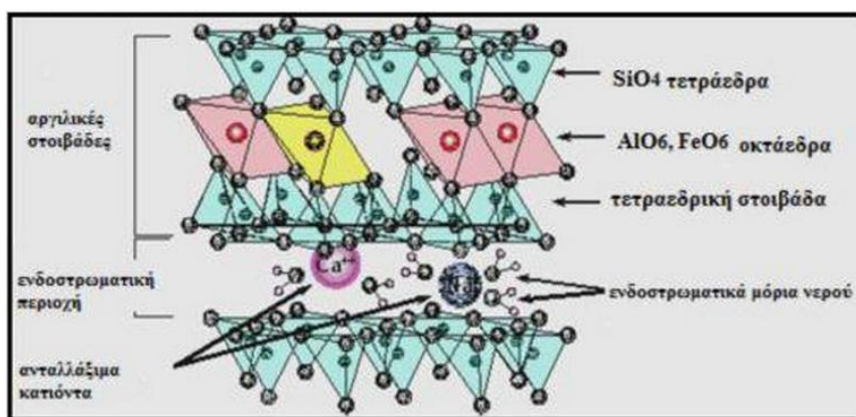
1.2 ΔΟΜΗ ΚΑΙ ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΤΩΝ ΣΜΕΚΤΙΤΩΝ

Παλαιότερα οι ταξινομήσεις των αργιλικών ορυκτών γίνονταν με βάση κυρίως τη χημική σύστασή τους και όχι τη δομή τους. Αργότερα, η ταξινόμηση λάμβανε υπόψη κυρίως τη δομή τους. Σήμερα, γίνεται προσπάθεια να συμπεριληφθούν και οι δύο παράμετροι. Η ταξινόμηση των σμεκτιτών έγινε για πρώτη φορά από τους Ross & Hendricks (1945), εν συνεχεία από το Brown (1955), ακολούθησαν οι Warshaw & Roy (1961), οι Brigatti & Poppi (1981), ο Bailey (1982), ο Guven (1988), οι Drits et al. (1998) και οι Christidis & Eberl (2003).

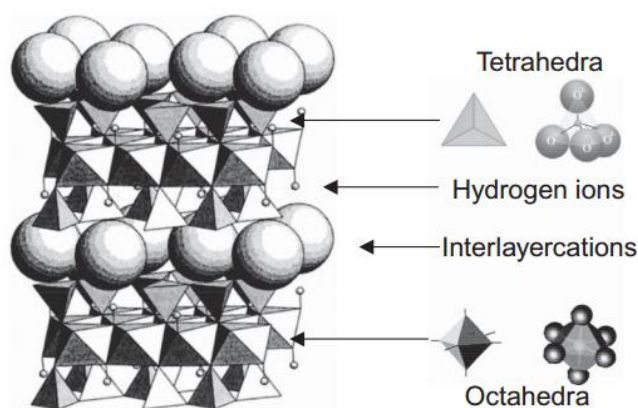
Γενικά η ταξινόμηση των αργιλικών ορυκτών γίνεται με βάση:

A) Τον τύπο των στιβάδων

Τα αργιλικά ορυκτά χαρακτηρίζονται ως 1:1 ή 2:1 φυλλοπυριτικά ορυκτά. Τα ορυκτά της ομάδας του σμεκτίτη δομικά ανήκουν στα φυλλοπυριτικά ορυκτά με δομή 2:1. Χαρακτηρίζονται επομένως από την ύπαρξη μιας οκταεδρικής στιβάδας μεταξύ δύο τετραεδρικών στιβάδων. Η οκταεδρική στιβάδα είναι τύπου γκιψίτη $[Al(OH)_6]$, δηλαδή αποτελείται από θετικά φορτισμένα ιόντα αργιλίου (Al^{3+}) που περιβάλλονται από αρνητικά ιόντα οξυγόνου (O^{2-}) και υδροξύλια (OH^-). Τα αρνητικά ιόντα διευθετούνται με τέτοιο τρόπο γύρω από το κατίον του αργιλίου ώστε να σχηματίζουν οκτάεδρα. Οι τετραεδρικές στιβάδες αποτελούνται από τετράεδρα πυριτίου τα οποία καταλαμβάνουν το κέντρο του τετράεδρου, ενώ αρνητικά φορτισμένα ιόντα οξυγόνου καταλαμβάνουν τις κορυφές του τετράεδρου. Παρακάτω παρουσιάζεται ένα σχηματικό διάγραμμα της δομής των σμεκτιτών (Σχήμα 1 και Σχήμα 2), στο οποίο οι δομικές μονάδες συγκρατούνται μεταξύ τους με κατίοντα, τα οποία είναι ικανά να εξισορροπήσουν το αρνητικό φορτίο που προκύπτει από τις αντικαταστάσεις του αργιλίου στις οκταεδρικές θέσεις και του πυριτίου στις τετραεδρικές θέσεις από άλλα κατίοντα και με μόρια νερού.



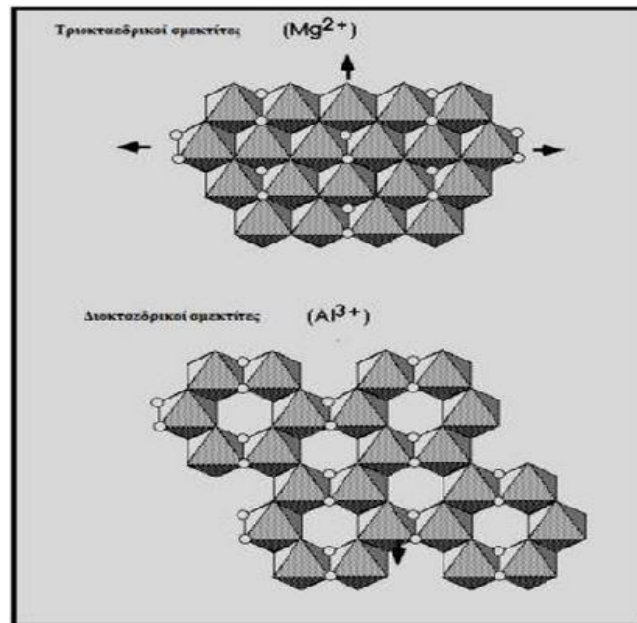
Σχήμα 1: Δομή Σμεκτίτη (πηγή www.snowdriftfarm.com)



Σχήμα 2: Κρυσταλλική δομή σμεκτιτών (Williams and Haydel 2010)

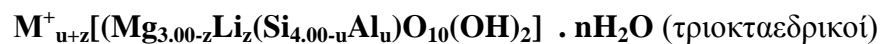
B) Το βαθμό πλήρωσης της οκταεδρικής στιβάδας

Με βάση το βαθμό πλήρωσης της οκταεδρικής στιβάδας διακρίνονται σε διοκταεδρικούς και τριοκταεδρικούς αντίστοιχα (Σχήμα 3 και Σχήμα 4). Στους διοκταεδρικούς μόνο οι δύο από τις τρεις διαθέσιμες οκταεδρικές θέσεις είναι κατειλημμένες ενώ στους τριοκταεδρικούς και οι τρεις οκταεδρικές θέσεις καταλαμβάνονται από οκταεδρικά κατιόντα.

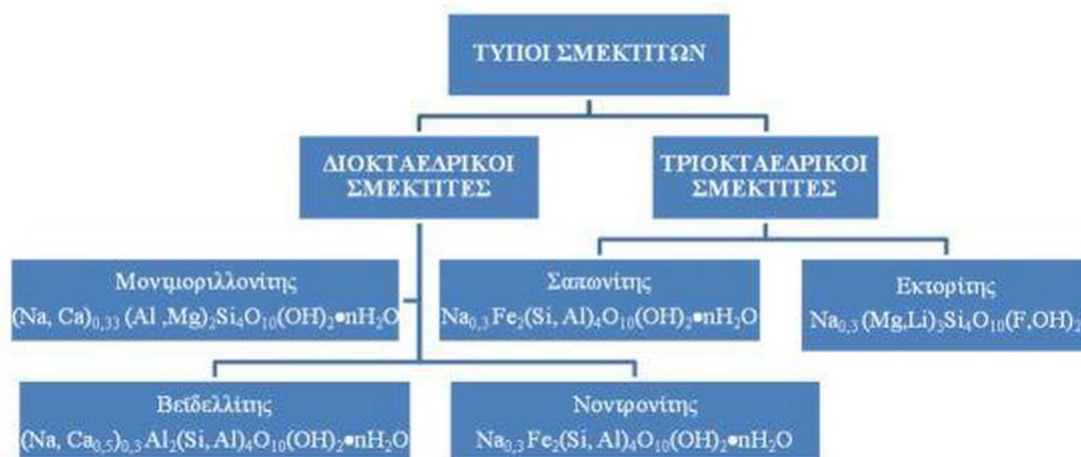


Σχήμα 3: Κρυσταλλική δομή τριοκταεδρικών / διοκταεδρικών σμεκτιτών (πηγή : www.mycoad.com/eng_5_15.htm).

Ο θεωρητικός χημικός τύπος των σμεκτιτών είναι ο εξής:



Όπου M^{+} αντιπροσωπεύει τα ανταλλάξιμα κατιόντα (κυρίως Mg, Ca, Na και K).



Σχήμα 4: Κυριότεροι διοκταεδρικοί και τριοκταεδρικοί σμεκτίτες.

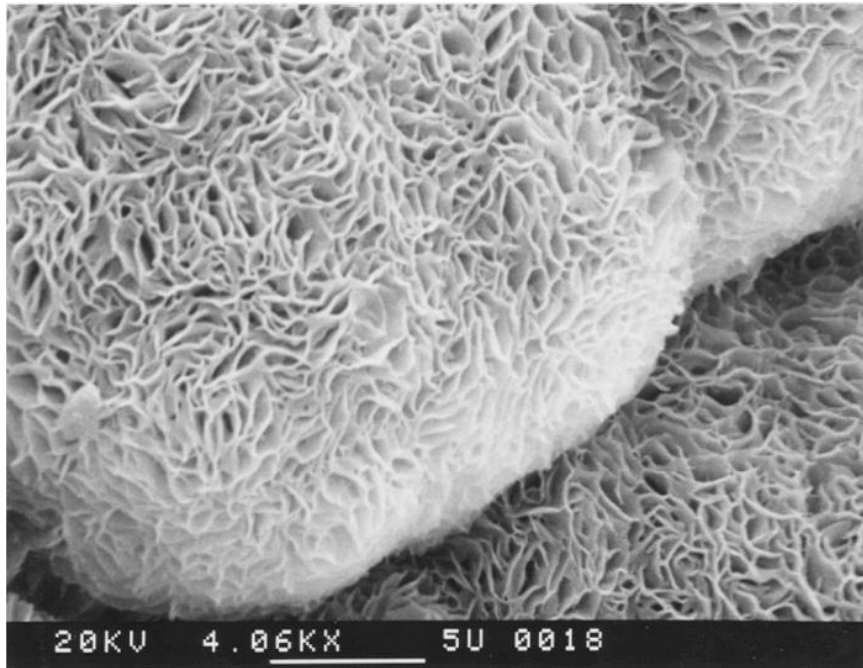
Γ) το φορτίο κρυσταλλικής δομής, ως κριτήριο στην ταξινόμηση των σμεκτιτών (Christidis et al., 2006).

Στη συγκεκριμένη προσέγγιση λαμβάνονται υπόψη, το μέγεθος του φορτίου

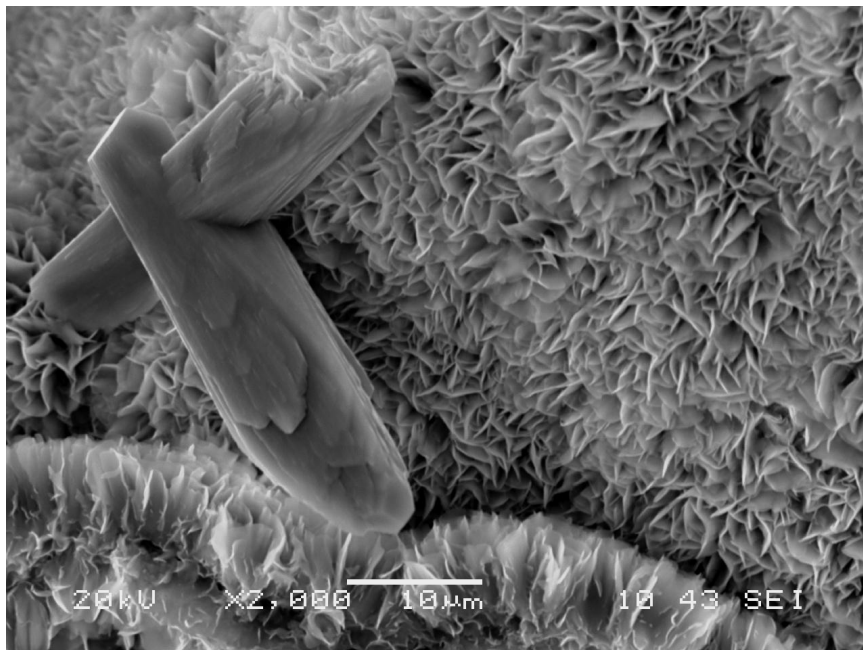
κρυσταλλικής δομής, η θέση του φορτίου κρυσταλλικής δομής, η δομή της οκταεδρικής στιβάδας και ο περιεχόμενος σίδηρος (Fe) στην οκταεδρική στιβάδα. Στον Πίνακα 1 παρουσιάζεται συνοπτικά η ταξινόμηση των σμεκτιτών ανάλογα με τα χαρακτηριστικά τους.

Πίνακας 1: Ταξινόμηση των σμεκτιτών (Christidis et al., 2006, Emmerich et al., 2009).

Δομικά χαρακτηριστικά	Περιορισμοί	Χαρακτηρισμός
Φορτίο κρυσταλλικής δομής (mol/f.u)	<0.425	χαμηλού φορτίου
	0.425-0.47	ενδιάμεσου φορτίου
	>0.47	υψηλού φορτίου
Οκταεδρική δομή	w _{cv} 100-75%, w _{tv} 0-25%	cv
	w _{cv} 74-50%, w _{tv} 26-50%	cv/tv
	w _{cv} 49-25%, w _{tv} 51-75%	tv/cv
	w _{cv} 24-0%, w _{tv} 76-100%	tv
Περιεχόμενος Fe (mol/f.u)	0-0.30 (0-15%)	-
(% Fe στην οκταεδρική στιβάδα)	0.31-1 (16-50%)	σιδηρούχος
Θέση φορτίου κρυσταλλικής δομής	O 100-90%, T 0-10%	μοντμοριλλονίτης
	O 89-50%, T 11-50%	βειδελλιτικός μοντμοριλλονίτης
	O 49-10%, T 51-90%	μοντμοριλλονιτικός βειδελλίτης
	O 9-0%, T 91-100%	βειδελλίτης



Εικόνα 1: Φωτογραφία διοκταεδρικού σμεκτίτη από ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (Anthony Priestas, Boston University)



Εικόνα 2: Φωτογραφία τριοκταεδρικού σμεκτίτη από ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (Anthony Priestas, Boston University)

1.3 ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΤΩΝ ΣΜΕΚΤΙΤΩΝ

Το ευρύ πεδίο χρήσης και επιστημονικού ενδιαφέροντος για τα ορυκτά του σμεκτίτη πηγάζει από τις φυσικοχημικές τους ιδιότητες, πολλές εκ των οποίων δεν επιδεικνύονται από κανένα άλλο γνωστό φυσικό ορυκτό. Οι μοναδικές φυσικοχημικές ιδιότητες των σμεκτιτών είναι αποτέλεσμα :

- i) Του εξαιρετικά μικρού κρυσταλλικού μεγέθους
- ii) Των διαφορών στη χημική τους σύσταση
- iii) Των δομικών χαρακτηριστικών που προκαλούνται από χημικούς παράγοντες
- iv) Της μεγάλης ιντοεναλλακτικής τους ικανότητας
- v) Της μεγάλης επιφάνειάς τους η οποία είναι χημικά ενεργή
- vi) Των διακυμάνσεων στο είδος των ανταλλάξιμων ιόντων και του επιφανειακού φορτίου.
- vii) Της αλληλεπίδρασής τους με ανόργανα και οργανικά ρευστά

Ορισμένα είδη σμεκτιτών παρουσιάζουν **αντιβακτηριακές ιδιότητες**. Μια σειρά από φυσικές ή και χημικές ιδιότητες μπορούν να αυξήσουν την αντιβακτηριακή δράση των αργίλων. Η βακτηριοκτόνος δράση μπορεί να οφείλεται στην επιφανειακή έλξη μεταξύ των αργιλικών ορυκτών και των βακτηρίων που μπορεί να παρεμποδίζει παθητικά ή ενεργητικά την πρόσληψη των θρεπτικών συστατικών, να διαρρήξει το κυτταρικό περίβλημα και να διαταράξει την εκροή των μεταβολιτών (Williams et al., 2011). Η υψηλή κατιοντική ανταλλακτική ικανότητα των διάφορων ορυκτών αργίλων προσφέρεται για τη δημιουργία ανόργανων αντιβακτηριακών υλικών. Συνθετικές αντιβακτηριακές άργιλοι παρασκευάζονται με ανταλλαγή των αρχικών τους ιόντων με ιόντα με γνωστή αντιβακτηριακή δράση, όπως του αργύρου (Ohashi, 1993, Ohashi et al., 1998, Marini et al., 2007), με το σκεπτικό ότι τα προσφάτως ανταλλαχθέντα ιόντα θα απελευθερωθούν σταδιακά για μακροπρόθεσμη αντιβακτηριακή δράση. Για το λόγο αυτό ο άργυρος χρησιμοποιείται σε μεγαλύτερο βαθμό ως ανταλλάξιμο κατιόν από άλλα κατιόντα με αντιβακτηριακή δράση, αν και παράλληλα ερευνάται και ο εμπλουτισμός με χαλκό (Zhou et al., 2004; Zhao et al., 2006; Gant et al., 2007). Εντούτοις ενώ αυτά τα

ανόργανα προϊόντα έχουν αντιβακτηριακή δράση και χαμηλή τοξικότητα, θέματα που σχετίζονται με την αναγωγή των ιόντων αργύρου σε στοιχειακό άργυρο, και η επακόλουθη απώλεια της αντιβακτηριακής αποτελεσματικότητας, δημιουργούν προβλήματα (Li et al., 2002).

ΙΟΝΤΟΕΝΑΛΛΑΚΤΙΚΗ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ (CEC)

Η ιοντοεναλλακτική ικανότητα (Cation Exchange Capacity – CEC) των αργιλικών ορυκτών ορίζεται ως η ποσότητα των κατιόντων που είναι διαθέσιμα για ανταλλαγή σε δεδομένο pH (Bergaya et al., 2006) και εκφράζεται σε χιλιοστο-ισοδύναμα (meq)/ 100 gr αργίλου ξηρής αργίλου (Bergaya & Vayer, 1997). Η CEC προκύπτει από δύο τύπους φορτίου που προκύπτουν: α) από τη δομική αντικατάσταση στην οκταεδρική και/ή τετραεδρική στιβάδα και β) από θραυσμένους δεσμούς στα όρια των κρυστάλλων. Το φορτίο που εμφανίζεται στα άκρα των κρυστάλλων χαρακτηρίζεται ως μεταβλητό και η τιμή του μεταβάλλεται ανάλογα με τη φύση του διαλύματος (ιοντική ισχύς, pH). Η συνεισφορά του μεταβλητού φορτίου στο ολικό φορτίο εξαρτάται από τη μορφολογία των αργιλικών σωματιδίων και το λόγο πλευρικής / βασικής επιφάνειας. Στη περίπτωση των σμεκτιτών ποικίλλει μεταξύ 10 και 20% επί του συνολικού φορτίου (Aderson & Sposito, 1991). Ενδεικτικές τιμές της ιοντοεναλλακτικής ικανότητας σε ουδέτερο pH (pH=7), για διάφορα αργιλικά ορυκτά δίνονται στον Πίνακα 2.

Πίνακας 2: Τιμές ιοντοεναλλακτικής ικανότητας αντιπροσωπευτικών αργιλικών ορυκτών (Grim, 1968).

Ορυκτό	Ιοντοεναλλακτική ικανότητα (meq/100gr)
Καολινίτης	3 - 15
Αλλοϋσίτης • 2H ₂ O	5 - 10
Αλλοϋσίτης • 4H ₂ O	40 - 50
Ιλλίτης	10 - 40
Μοντμοριλλονίτης	70 - 120
Χλωρίτης	10 - 30
Σεπίόλιθος /παλυγορσκήτης	20 - 30

Η σημασία των ανταλλάξιμων ιόντων στην εμπορική εκμετάλλευση των σμεκτιτικών αργίλων είναι καθοριστική. Παραδείγματος χάριν, οι σμεκτίτες με κυρίαρχο ανταλλάξιμο ιόν το νάτριο εμφανίζουν υψηλό βαθμό διασποράς και μέγιστη ανάπτυξη πολλών προσανατολισμένων στρωμάτων νερού στις ενδοστρωματικές επιφάνειες, γεγονός που συχνά οδηγεί σε πλήρη διαχωρισμό των μεμονωμένων κρυστάλλων. Σε αντίθεση, οι σμεκτίτες με την ίδια χημική συμπεριφορά αλλά με κυρίαρχο ανταλλάξιμο ιόν το ασβέστιο ή μαγνήσιο ακόμα και σε πλήρη ενυδάτωση εμφανίζουν πολύ μικρό βαθμό διόγκωσης. Τα ανταλλάξιμα ιόντα των σμεκτιτών αργίλων καθορίζονται κυρίως από εξαλλοίωση ή από συγκέντρωση ιόντων στο διάλυμα όταν ο σχηματισμός οφείλεται σε ιζηματογένεση. Επιπλέον, η συγκέντρωση των ανταλλάξιμων κατιόντων στους σμεκτίτες, οι οποίοι έχουν προέλθει από εξαλλοίωση του ηφαιστειακού γυαλιού σε θαλάσσιο περιβάλλον επηρεάζεται και από ιόντα των διαλυμάτων των πόρων (Odom, 1984).

1.4. ΧΡΗΣΕΙΣ ΤΩΝ ΣΜΕΚΤΙΤΩΝ

Υπάρχουν πολλές βιομηχανικές και χημικές χρήσεις των σμεκτιτών, οι οποίες εξαρτώνται από μια ή περισσότερες μοναδικές ιδιότητες αυτής της ομάδας ορυκτών. Κατά τη διάρκεια των δεκαετιών 1960 και 1970, οι διάφορες ιδιότητες των σμεκτιτών διερευνήθηκαν ενδελεχώς, με αποτέλεσμα να εισαχθούν πολλές καινούριες χρήσεις, ειδικότερα στον περιβαλλοντικό και στον χημικό τομέα και συνοψίστηκαν στην εργασία του Odom (1984).

Τα σμεκτιτικά ορυκτά χρησιμοποιούνται εδώ και πολλές δεκαετίες και έπαιξαν σημαντικό ρόλο στη βιομηχανική επανάσταση και στην ανάπτυξη της πετρελαϊκής βιομηχανίας, καθώς αυτές οι άργιλοι χρησιμοποιήθηκαν εκτεταμένα για καλουπώσεις μετάλλων και στις γεωτρήσεις πετρελαίου.

Οι σμεκτίτες ανάλογα με τις εφαρμογές τους στη βιομηχανία, διακρίνονται σε τρεις βασικές κατηγορίες: α) στους νατριούχους, β) στους ασβεστιούχους-μαγνησιούχους και γ) στους όξινους ή τύπου Fuller .

Πίνακας 3: Βιομηχανικές και χημικές χρήσεις σμεκτιτών

<i>Μεγάλες ποσότητες</i>	<i>Μικρές ποσότητες</i>
Συνδετικά σε άμμους χύτευσης	ιατρική, φαρμακευτική, κοσμετολογία
γεωτρήσεις πετρελαίου	Βαφές
φιλτράρισμα, καθαρισμός, αποχρωματισμός	πλινθοκεραμοποιία, σωλήνες αποχετεύσεως
σφαιροποίηση σιδηρομεταλλεύματος	προϊόντα γύψου
σφαιροποίηση ζωοτροφών	απόρριψη ραδιενεργών αποβλήτων
αδιαβροχοποίηση	Σμάλτο
απορροφητικό μέσο σε άμμους υγιεινής ζώων	αγγειοπλαστική, κεραμική
φορέας φυτοφαρμάκων	Λιπαντικά
απορροφητικό ελαίων	Λιπάσματα
	Απορρυπαντικά
	Κονιάματα
	Καταλύτες
	επικάλυψη χάρτου
	επικάλυψη σπόρων
	Κόλλες
	καθαρισμός νερού

Οι κυριότερες χρήσεις του σμεκτίτη αναφέρονται συνοπτικά παρακάτω.

Άμμοι Χύτευσης

Αρκετά εκατομμύρια τόνοι σμεκτίτη χρησιμοποιούνται ετησίως στη μεταλλουργική βιομηχανία ως συνδετικό υλικό στις άμμους χύτευσης. Στην Ευρώπη και στην Ασία αυτή είναι η κύρια αγορά διοχέτευσης των σμεκτιτών, ενώ στη Β. Αμερική έρχεται δεύτερη μετά την πετρελαιοβιομηχανία. Οι σμεκτίτες αναμειγνύονται σε ποσοστό 5% έως 10% με άμμο και νερό ώστε να προσδώσουν πλαστικότητα και συνεκτικότητα στην άμμο προκειμένου να δημιουργηθεί το καλούπι χύτευσης. Μετά τη δημιουργία του καλουπιού, ο σμεκτίτης προσδίδει αρκετή ανθεκτικότητα στην άμμο ώστε να διατηρήσει το σχήμα της κοιλότητας, πριν, κατά τη διάρκεια και μετά τη χύτευση του μετάλλου στο καλούπι.

Ο τύπος του σμεκτίτη που επιλέγεται για την παραπάνω εφαρμογή εξαρτάται από διάφορους παράγοντες, όπως τη γεωγραφική προέλευσή του, την τεχνική χύτευσης, τη συγκεκριμένη εφαρμογή και την τιμή. Οι φυσικοί νατριούχοι σμεκτίτες έχουν μεγαλύτερη ανθεκτικότητα και υψηλότερη θερμοκρασία τήξης και για τους λόγους αυτούς προτιμώνται στη βιομηχανία του χάλυβα. Οι νατριούχοι και οι ασβεστιούχοι σμεκτίτες είναι κατάλληλοι για τη χύτευση σιδήρου.

Γεωτρητικές πολφοί και σχετικές χρήσεις

Η παρασκευή γεωτρητικών πολφών είναι η δεύτερη πιο διαδεδομένη χρήση των σμεκτιτών. Οι σμεκτίτες που χρησιμοποιούνται για τις γεωτρητικές πολφούς πρέπει να πληρούν τις προδιαγραφές του American Petroleum Institute, (A.P.I.) και της Oil Companies Materials Association (O.C.M.A.), για την κοκκομετρία, το ιξώδες, τις ρεολογικές ιδιότητες και την απώλεια υγρών.

Μια άλλη χρήση της υψηλής διογκωτικής ικανότητας των σμεκτιτών και ειδικότερα των νατριούχων σμεκτιτών είναι στο να σφραγίζουν ρηχές γεωτρητικές οπές ώστε να αποφευχθεί ρύπανση του υδροφόρου ορίζοντα. Η άργιλος συμπυκνώνεται σε μεγάλα σφαιρίδια που βυθίζονται στην οπή και στη συνέχεια ενυδατώνονται και διογκώνονται.

Λόγω της υψηλής θερμοκρασιακής αντοχής τους, οι νατριούχοι σμεκτίτες χρησιμοποιούνται σε γεωτρήσεις μεγάλου βάθους και σε γεωθερμικές περιοχές. Αυτοί οι σμεκτίτες δεν υπόκεινται σε μεγάλη αύξηση του ιξώδους ως αποτέλεσμα των υψηλών θερμοκρασιών σε αντίθεση με τους κοινούς σμεκτίτες.

Σφαιροποίηση μεταλλευμάτων και ζωοτροφών (Pelletization)

Οι σμεκτίτες χρησιμοποιούνται ευρέως ως συνδετική ύλη στη σφαιροποίηση ζωοτροφών, σιδηρομεταλλευμάτων και άλλων λεπτόκοκκων στερεών. Προστίθενται στις ζωοτροφές σε ποσοστό περίπου 2% για να μειώσουν την τριβή κατά τη διαδικασία της σφαιροποίησης. Παράλληλα λειτουργούν ως διατροφικά συμπληρώματα στις ζωοτροφές. Επιπρόσθετα, κάποιοι σμεκτίτες χρησιμοποιούνται ως πρόσθετα στις ζωοτροφές των παραγωγικών ζώων με σκοπό τη δέσμευση των επικίνδυνων για τα ζώα και τον άνθρωπο, μυκοτοξινών που μπορεί να περιέχονται σε αυτές (Κουρουσέκος, 2010). Χρησιμοποιούνται τόσο οι νατριούχοι, όσο και οι ασβεστιούχοι σμεκτίτες.

Ο εμπλουτισμός σιδηρομεταλλεύματος χαμηλής ποιότητας (τακονίτης) προϋποθέτει ότι το πέτρωμα έχει έρθει σε χαμηλή κοκκομετρία ώστε να απομακρυνθούν οι προσμείξεις. Ο εμπλουτισμός πραγματοποιείται συνήθως σε υγρό μέσο. Η σφαιροποίηση του σιδηρομεταλλεύματος προερχόμενο από τον τακονίτη με τη χρήση σμεκτιτών ως συνδετικών υλικών πρωτοεμφανίστηκε στις Η.Π.Α. στα μέσα της δεκαετίας του 1950 και μέχρι τα μέσα της δεκαετίας του 1970 αποτελούσε την κύρια και μοναδική χρήση των σμεκτιτών. Σε αυτή τη διαδικασία χρησιμοποιούνται τόσο οι φυσικοί νατριούχοι όσο και οι ενεργοποιημένοι με νάτριο σμεκτίτες. Άλλος ένας σημαντικός παράγοντας είναι ότι οι νατριούχοι σμεκτίτες απορροφούν το επιπλέον νερό, το οποίο απομένει από τα φίλτρα κενού, στη διαδικασία της σφαιροποίησης του σιδηρομεταλλεύματος.

Έργα πολιτικού μηχανικού (civil engineering)

Η χρήση των σμεκτιτών σε αυτό τον τομέα ξεκίνησε στα μέσα της δεκαετίας του 1950 και γνωρίζει ακμή από τότε. Οι σμεκτίτες χρησιμοποιούνται ως ενέματα σε ρωγμές και σχισμές για να επιτευχθεί η στεγανοποίηση του εδάφους, για παροχή μη μηχανικής υποστήριξης στην εκσκαφή και κατασκευή τοιχωμάτων των σηράγγων, για αύξηση της πλαστικότητας των κονιαμάτων και του σκυροδέματος, για αδιαβροχοποίηση τσιμεντένιων υπόγειων τοίχων και δαπέδων και για λίπανση καλωδίων και σωληνώσεων μέσα σε αγωγούς.

Οι ιδιότητες των σμεκτιτών που είναι ιδιαίτερες σημαντικές στον τομέα αυτό, είναι το ιξώδες, η θιξοτροπία (thixotropy), η στεγανότητα και η

πλαστικότητα. Για το λόγο αυτό προτιμώνται οι σμεκτίτες που έχουν υψηλή ικανότητα διόγκωσης και καλή διασπορά, δηλαδή οι νατριούχοι, όπως και μερικοί ασβεστούχοι σμεκτίτες ενεργοποιημένοι με νάτριο.

Υλικά Απορρόφησης (Absorbents)

Λόγω των απορροφητικών τους ιδιοτήτων οι σμεκτίτες και οι Fullers earths, χρησιμοποιούνται ευρέως στην παρασκευή άμμου υγιεινής των κατοικίδιων ζώων, για την απορρόφηση ελαίων και γράσων από δάπεδα, καθώς και σε ορισμένα φυτοφάρμακα. Αναφορικά με την άμμο υγιεινής των ζώων ο κατάλληλος τύπος σμεκτίτη είναι διαφορετικός ανάλογα με τις προδιαγραφές της κάθε χώρας.

Οι σμεκτίτες για την απορρόφηση ελαίων και γράσων από τα δάπεδα δεν πρέπει να γίνονται ολισθηροί όταν βρέχονται. Για το λόγο αυτό μόνο συγκεκριμένα είδη σμεκτιτών είναι κατάλληλα για αυτή τη χρήση. Ενίοτε η ολισθηρότητα μειώνεται και η απορροφητικότητα αυξάνεται μέσω της ασβεστοποίησης.

Φιλτράρισμα, Αποχρωματισμός, Καθαρισμός

Μεγάλες ποσότητες σμεκτιτών χρησιμοποιούνται ετησίως για την επεξεργασία ζωικών και ορυκτών ελαίων, για τον αποχρωματισμό φυτικών ελαίων και για τον εξευγενισμό του κρασιού. Οι περισσότεροι από τους σμεκτίτες που χρησιμοποιούνται για το φιλτράρισμα και τον αποχρωματισμό των ελαίων είναι κυρίως ασβεστιούχοι που έχουν υποστεί όξινη κατεργασία για την αύξηση της ιδιότητας του αποχρωματισμού.

Επιπροσθέτως, οι σμεκτίτες χρησιμοποιούνται για την απομάκρυνση κολλοειδών προσμείξεων από το κρασί. Οι κολλοειδείς προσμείξεις έχοντας θετικό φορτίο, πήζουν, όταν μικρή ποσότητα αρνητικά φορτισμένου σμεκτίτη τοποθετηθεί στο κρασί. Οι σμεκτίτες χρησιμοποιούνται επίσης για τον καθαρισμό της μύρας, του ξυδιού και των χυμών φρούτων.

Ιατρική

Οι περισσότερες ιατρικές εφαρμογές των αργιλικών ορυκτών επικεντρώνονται στη βελτίωση της πέψης στην προστασία/ καθαρισμό του δέρματος και στη θεραπεία ορισμένων δερματικών παθήσεων. Ενδιαφέρον παρουσιάζει η πειραματική θεραπεία της δερματικής ασθένειας *Buruli ulcer*, με

ενθαρρυντικά αποτελέσματα για τη συνέχιση της έρευνας στο πεδίο αυτό (Williams, and Haydel, 2010). Ωστόσο, ενώ η φυσική προσρόφηση του νερού και της οργανικής ύλης είναι οι πιο γνωστές ιδιότητες των θεραπευτικών αργίλων, ο γεωχημικός μηχανισμός που ελέγχει τις αντιβακτηριακές ιδιότητες των αργίλων δεν έχει ερευνηθεί ακόμη τόσο συστηματικά (Williams and Haydel, 2010).

Άλλες χρήσεις

Οι σμεκτίτες έχουν και μια σειρά ακόμη εφαρμογών όπως κόλλες σε υλικά latex και σε ασφαλτικά υλικά, απόρριψη πυρηνικών αποβλήτων, γράσα, μελάνι, κοσμετολογία, βαφές, καταλύτες, σαπυνοποιία, κεραμοποιία, επικάλυψη καρπών, καθαρισμός νερού και κονιάματα.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2^ο : ΒΑΚΤΗΡΙΑ

Η επιστήμη, που ασχολείται με τη μελέτη και την έρευνα των μικροοργανισμών ονομάζεται Μικροβιολογία. Ο όρος «μικροοργανισμοί» δεν καθορίζει κάποια ιδιαίτερη ομάδα έμβιων όντων, αλλά απλώς περιγράφει ένα ορισμένο τύπο οργανισμών, που περιλαμβάνει εκτός από τους μονοκύτταρους και πολυκύτταρους, που αποτελούνται κυρίως από ένα είδος κυττάρων χωρίς διαφοροποίηση.

Τα κύτταρα που συνιστούν τη βιολογική δομική μονάδα, είναι σχεδόν πάντοτε πολύ μικρού μεγέθους. Οι μικροοργανισμοί που αποτελούνται από ένα μόνο κύτταρο, είναι αόρατοι με γυμνό μάτι (το ανθρώπινο μάτι δεν μπορεί να διακρίνει αντικείμενα με διάμετρο μικρότερη από 0,1 mm). Αυτός ήταν και ο λόγος που τα μικρόβια δεν ήταν γνωστά μέχρις ότου εφευρέθηκε το μικροσκόπιο το 17^ο αιώνα από τον Ολλανδό Antony Van Leeuwenhoek (1632-1723). Ο Ιπποκράτης ήδη πριν δύο χιλιετίδες υποπτευόταν αόρατους νοσογόνους παράγοντες και μιλούσε για «μίασμα».

Η σύγχρονη επιστήμη κατατάσσει τα κύτταρα των φυτών και των ζώων, που έχουν σχεδόν παρόμοια κατασκευή με τα πρωτόζωα, τους μύκητες και τα φύκη, στα ευκαρυωτικά κύτταρα. Αντίθετα, τα βακτήρια, που έχουν μια πιο απλή και αρχέγονη κυτταρική δομή στα κύτταρά τους, ονομάζονται προκαρυωτικά (Σαρρής *et al.* 1991). Στον Πίνακα 4 αναφέρονται οι κυριότερες διαφορές μεταξύ ευκαρυωτικού και προκαρυωτικού κυττάρου.

Πίνακας 4: Οι κυριότερες διαφορές μεταξύ ευκαρυωτικού και προκαρυωτικού κυττάρου (Σαρρής et al., 1991).

	Προκαρυωτικά κύτταρα	Ευκαρυωτικά κύτταρα
	Βακτήρια, κυανοφύκη	Φυτά, ζώα, φύκη, μύκητες, πρωτόζωα
Πυρηνική μεμβράνη	-	+
Μιτωτική διαίρεση	-	+
Αριθμός χρωματοσωμάτων	1 (;)	>1
Κυτταροπλασματικά ρεύματα	-	- ή +
Μιτοχόνδρια	-	+
Χλωροπλάστες	-	- ή +
Κινητικά όργανα	Βλεφαρίδες βακτηριακές, αξονικά νημάτια	Μαστίγια, βλεφαρίδες κ.ά.
Αμοιβαδοειδείς κινήσεις	-	- ή +

2.1 ΓΕΝΙΚΑ ΓΙΑ ΤΑ ΒΑΚΤΗΡΙΑ

Τα βακτήρια αποτελούν μια μεγάλη και ετερογενή ομάδα μικροοργανισμών και διακρίνονται από τα ευκαρυωτικά κύτταρα από το μέγεθός τους. Οι μικρότερες μορφές κυμαίνονται από 0,2 – 2 μm, έχουν προκαρυωτική κυτταρική κατασκευή και ένα μοναδικό χρωμόσωμα. Στην πλειονότητά τους, τα βακτήρια είναι μονοκύτταρα και πολλαπλασιάζονται με διχοτόμηση. Τα βακτήρια ανάλογα με το σχήμα τους διακρίνονται σε (Σαρρής κ α., 1991):

- Κοκκοειδή: βακτήρια που έχουν σχήμα σφαιρικό (π.χ. σταφυλόκοκκοι, στρεπτόκοκκοι)
- Βακτηριοειδή: βακτήρια που έχουν σχήμα βακτηρίας (π.χ. Clostridium, Corynebacterium)
- Κοκκοβακτηριοειδή: βακτήρια με σχήμα ωοειδές, ενδιάμεση μορφή μεταξύ κόκκων και βακτηριοειδών

- Δονάκια: έχουν σχήμα βακτηριοειδές αλλά είναι κυρτά, δηλαδή σχηματίζουν καμπύλη (π.χ. *Campylobacter*)
- Σπειροειδή ή ελικοειδή: χαρακτηρίζονται από σπείρες που αποτελούνται από κάμψεις και περιστροφές, ενός κυλινδρικού κυττάρου, γύρω από τον άξονά του (π.χ. *Leptospira*)
- Ακτινομυκητιακά: βακτήρια με επιμήκεις ακαθόριστες προβολές που σχηματίζουν νηματοειδείς διακλαδώσεις.

2.2 ΜΕΓΕΘΟΣ ΤΩΝ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ

Μονάδα μέτρησης του μεγέθους των βακτηρίων είναι το μm (μικρόμετρο, $1 \mu\text{m} = 10^{-6} \text{ m}$). Το μέγεθός τους κυμαίνεται σε ευρύτατα όρια ανάλογα με το είδος αλλά και στο ίδιο είδος εξαρτάται από την ηλικία και το περιβάλλον. Η μέτρηση των βακτηρίων γίνεται με τη βοήθεια ειδικών οργάνων, των μικρομετρητών. Επίσης, η μέτρηση των βακτηρίων μπορεί να πραγματοποιηθεί και κατά προσέγγιση σε σύγκριση με στοιχείο γνωστού μεγέθους (Σαρρής *et al.*, 1991).

2.3 ΔΙΑΧΩΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ

Μία βασική χρώση των βακτηρίων είναι η κατά Gram που μας δίνει τη δυνατότητα να διαχωρίσουμε τα βακτήρια σε δύο μεγάλες κατηγορίες, τα Gram θετικά και τα Gram αρνητικά βακτήρια. Έχει αποδειχτεί ότι η διαφορά μεταξύ Gram+ και Gram- βακτηρίων οφείλεται στη διαφορετική δομή των κυτταρικών τους τοιχωμάτων. Γενικά στα Gram+ η ποσότητα της πεπτιδογλυκάνης είναι μεγαλύτερη από εκείνη των Gram-. Πολλά περιέχουν στο κυτταρικό τους τοίχωμα σημαντική ποσότητα τειχοϊκών οξέων, που αποτελούν το 50% του ξηρού βάρους του κυτταρικού τοιχώματος και το 10% του ολικού ξηρού βάρους του βακτηριακού κυττάρου. Ακόμα, το τοίχωμα ορισμένων Gram+ περιέχει μόρια πολυσακχαριτών. Από την άλλη μεριά, στα Gram- βακτήρια υπάρχουν εξωτερικά της στοιβάδας της πεπτιδογλυκάνης τρία στρώματα πολυμερών μορίων, δηλαδή ένα στρώμα λιποπρωτεΐνης, που ακολουθείται από μια εξωτερική μεμβράνη και τέλος από ένα στρώμα λιποπολυσακχαρίτες (LPS). Ο LPS είναι τοξικός για τα ζώα και ονομάστηκε ενδοτοξίνη των Gram- βακτηρίων (Beveridge, 2001).

Η χρώση κατά Gram

Τα κύρια στάδια της χρώσης είναι τα εξής:

- Το βακτηριακό επίχρισμα μονιμοποιείται με θέρμανση και χρωματίζεται διαδοχικά με ένα διάλυμα ιώδους της γεντιανής και στη συνέχεια έκπλυση και εναπόθεση διαλύματος ιωδίου.
- Κατόπιν διαφοροποιούμε με έκπλυση – με ένα οργανικό διαλύτη – όπως αλκοόλη ή μίγμα αλκοόλης – ακετόνης, ακολουθεί έκπλυση με νερό και στη συνέχεια χρωματίζουμε πάλι με διάλυμα φουξίνης και εκ νέου έκπλυση με νερό.
- Ορισμένα βακτήρια αποχρωματίζονται γρήγορα από τον οργανικό διαλύτη και χρωματίζονται με την τελευταία χρωστική (φουξίνη), ενώ άλλα δεν αποχρωματίζονται από τον οργανικό διαλύτη και κατακρατούν την αρχική χρωστική (ιώδες της γεντιανής).
- Τα πρώτα ονομάζονται αρνητικά κατά Gram και φαίνονται κατά τη μικροσκόπηση ερυθρά (έχουν χρωματιστεί με τη φουξίνη), ενώ τα δεύτερα ονομάζονται θετικά κατά Gram (έχουν χρωματιστεί με το ιώδες της γεντιανής) (Beveridge, 2001).

2.4 ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑ ΑΠΟΙΚΙΩΝ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ

Οι αποικίες είναι συσσωρεύματα θυγατρικών κυττάρων που συνήθως προέρχονται από τον πολλαπλασιασμό ενός κυττάρου. Αν γίνει σπορά ενός βακτηρίου σε ένα υγρό θρεπτικό υπόστρωμα, μετά την επώαση παρατηρείται θολερότητα του υγρού υποστρώματος ή κροκίδωση ή ένας επιφανειακός υμένας. Στις περιπτώσεις αυτές δεν σχηματίζονται αποικίες αλλά ένας διάχυτος μικροβιακός πληθυσμός μέσα στο υγρό περιβάλλον (υπόστρωμα).

Αν, όμως, πραγματοποιηθεί μια σπορά στην επιφάνεια κάποιου στερεού θρεπτικού υποστρώματος, παρατηρείται συνήθως η δημιουργία αποικιών που αποτελούνται από θυγατρικά κύτταρα που βρίσκονται σε κατάσταση συσσώρευσης (φυσιολογικός υπερπληθυσμός). Στις αποικίες αυτές διακρίνουμε ορισμένες διαφορές ανάλογα με το μικροβιακό είδος, όπως το σχήμα (κυκλικό, ακτινωτό), το μέγεθος (σε mm), το ύψος, την όψη της επιφάνειας (ομαλή, ρυτιδωμένη), το χρώμα (λευκή, κίτρινη κ.ά.), τη διαφάνεια, τη σύσταση (Σαρρής *et al.* 1991).

2.5 ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΖΟΥΝ ΤΟΥΣ ΠΑΘΟΓΟΝΟΥΣ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΥΣ

Τα παθογόνα βακτήρια προκαλούν βλάβες στους μεγαλοοργανισμούς. Έτσι, με τον όρο μόλυνση υποδηλώνεται η παρουσία παθογόνων μικροβίων στο σώμα (δέρμα, βλεννογόνοι κ.ά.) ή σε τροφές και αντικείμενα. Επιπλέον, λοίμωξη είναι η είσοδος και ο πολλαπλασιασμός μικροβίων στο μεγαλοοργανισμό η οποία συνοδεύεται από αντίδραση.

Παθογόνος δύναμη είναι η ικανότητα των μικροοργανισμών να προκαλούν νόσο ή να δημιουργούν προοδευτικά οργανική βλάβη. Ακόμα, η λοιμογόνος δύναμη ενός βακτηρίου καθορίζεται από τον αριθμό των μικροοργανισμών ή τα μικρογραμμάρια της τοξίνης που είναι απαραίτητα για να σκοτώσουν ένα δεδομένο ξενιστή όταν χορηγούνται διαμέσου μιας καθορισμένης οδού.

Τα παθογόνα βακτήρια προκαλούν νόσο με διάφορους μηχανισμούς. Οι πιο γνωστοί είναι η παραγωγή τοξινών, η παραγωγή ενζύμων και η διέγερση βλαβερής ανοσολογικής αντίδρασης (Σαρρήs *et al.*, 1991).

2.6 ΚΑΤΑΠΟΛΕΜΗΣΗ ΤΩΝ ΠΑΘΟΓΟΝΩΝ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ

Τα βακτήρια και γενικά οι μικροοργανισμοί είναι δυνατό να καταπολεμηθούν με ειδικές αντιμικροβιακές ουσίες (αντιμικροβιακά – αντιβιοτικά). Οι αντιμικροβιακές ουσίες αναστέλλουν τον πολλαπλασιασμό των μικροοργανισμών ή τους εξοντώνουν χωρίς να παραβιάζουν τη λειτουργία των κυττάρων του ζωικού ή ανθρώπινου οργανισμού. Αυτό οφείλεται στο ότι παρεμβαίνουν σε μεταβολικές ή άλλες λειτουργίες των μικροοργανισμών οι οποίες δεν επιτελούνται από τα ζωικά ή ανθρώπινα κύτταρα. Άμεση συνέπεια είναι ότι τα διάφορα αντιβιοτικά δεν δρουν κατά των ιών, καθ' όσον αυτοί αποτελούν «παρασιτούντες» σε βάρος των κυττάρων μικροοργανισμούς, στερούμενοι ιδίου μεταβολικού συστήματος.

Οι αντιμικροβιακές ουσίες διακρίνονται:

1. Αναλόγως του αντιμικροβιακού τους φάσματος
 - a. **Ευρέος φάσματος**, όταν δρουν κατά Gram (+) και (-) βακτηρίων
 - b. **Στενού φάσματος**, όταν δρουν μόνο κατά Gram (+) ή μόνο κατά Gram (-) βακτηρίων
2. Αναλόγως της αντιμικροβιακής τους δράσης

- a. **Μικροβιοκτόνα**, όταν καταστρέφουν τους παθογόνους μικροοργανισμούς
- b. **Μικροβιοστατικά**, όταν αναστέλλουν την ανάπτυξη και την ικανότητα πολλαπλασιασμού

Η δράση των αντιμικροβιακών ουσιών μπορεί να επιτευχθεί με:

A) Αναστολή σύνθεσης του κυτταρικού τοιχώματος

B) Αναστολή πρωτεϊνικής σύνθεσης

Γ) Αναστολή παραγωγής του φολικού οξέος: το φολικό οξύ είναι μια βιταμίνη απαραίτητη για την ανάπτυξη των κυττάρων. Ο άνθρωπος δεν διαθέτει μηχανισμό σύνθεσης φολικού οξέος για αυτό το λαμβάνει με την τροφή, αντιθέτως τα διάφορα βακτήρια έχουν αναπτυγμένο τον παραπάνω μηχανισμό, ο οποίος αδρανοποιείται από τη χρήση π.χ. σουλφοναμιδών (Μπουζιανάς, 2006).

2.7 ΤΟ ΒΑΚΤΗΡΙΟ *Escherichia coli*

Το βακτήριο *Escherichia coli* (*E. coli*) ανήκει στην οικογένεια *Enterobacteriaceae* και στο γένος *Escherichia*. Η *E. coli* απομονώθηκε για πρώτη φορά το 1885 από τον Theobald Escherich, από κόπρανα παιδιού.

Είναι ευθέα χοντρά βακτηρίδια με αποστρογγυλωμένα άκρα. Το μήκος τους κυμαίνεται, συνήθως, από 2-3 μm. Ορισμένα στελέχη περιβάλλονται από κάψα (έλυτρο), που αποτελείται από βλεννοπολυσακχαρίτες, στις οποίες οφείλεται η βλενώδης όψη των αποικιών της *E. coli*. Τα περισσότερα βακτηριδιακά στελέχη διαθέτουν περίτριχες βλεφαρίδες και είναι κινητά (Σαρρής *et al.*, 1991).

Κατανομή στη φύση – Ανθεκτικότητα

Η *E. coli* έχει παγκόσμια εξάπλωση. Βρίσκεται φυσιολογικά στο έντερο του ανθρώπου και των ζώων, από όπου αποβάλλεται με τα κόπρανα, διασπείρεται στο περιβάλλον (έδαφος, νερά, φυτά, αέρα κ.ά.) και μολύνει τα τρόφιμα.

Η *E. coli* αποτελεί δείκτη της υγιεινής κατάστασης του νερού και των τροφίμων. Η απομόνωσή της σε μεγάλο αριθμό δειγμάτων π.χ. νερού, υποδηλώνει ότι στο νερό καταλήγουν κοπρανώδη υπολείμματα, που έχουν ως αποτέλεσμα την πιθανή

μόλυνση αυτού και με σαλμονέλλες, γεγονός το οποίο αποτελεί σοβαρό κίνδυνο για τη δημόσια υγεία.

Τα περισσότερα στελέχη της *E. coli* καταστρέφονται σε 15 λεπτά στη θερμοκρασία των 60° C. Στα συνήθη απολυμαντικά παρουσιάζουν ευαισθησία. Σε ξηρή κατάσταση αυξάνεται η αντοχή τους και διατηρούνται για μήνες. Εξαιτίας της αλόγιστης χρήσης των αντιβιοτικών και των χημειοθεραπευτικών στην πρόληψη και τη θεραπεία, τα περισσότερα παθογόνα στελέχη της *E. coli* απέκτησαν αντοχή στις διάφορες θεραπευτικές ουσίες (Σαρρής *et al.*, 1991).

Καλλιεργητικά χαρακτηριστικά

Η *E. coli* αναπτύσσεται καλά σε κοινά θρεπτικά υποστρώματα. Οι αποικίες της σε κοινό άγαρ είναι αδιαφανείς, λευκόφαιες και μεγαλύτερες από τις αποικίες των σαλμονελλών. Πολλά στελέχη στο αιματούχο άγαρ προκαλούν αιμόλυση (Σαρρής *et al.* 1991).

Παθογόνος δράση

Είναι ευκαιριακά παθογόνα και προκαλούν στα διάφορα όργανα του ανθρώπου και των ζώων φλεγμονές, διαπυήσεις, μαστίτιδες, λοιμώξεις του ουροποιητικού συστήματος, αρθρίτιδες κ.ά. Σε νεογνήτα και νεαρά άτομα προκαλούν ακόμη εντερίτιδες και σηψαιμίες. Πρόκειται για νοσήματα των νεογνήτων σε ορισμένα είδη ζώων, όπως είναι τα χοιρίδια και οι μόσχοι, όπου η *E. coli* αποτελεί τη συχνότερη αιτία νοσηρότητας και θνησιμότητας σε παγκόσμια κλίμακα.

Απαραίτητη προϋπόθεση για την πρόκληση διάρροιας είναι ο πολλαπλασιασμός της παθογόνου *E. coli* στο λεπτό έντερο, όπου φυσιολογικά υπάρχει σε πολύ περιορισμένο αριθμό. Η απότομη αύξηση του αριθμού των εντεροπαθογόνων *E. coli* στο λεπτό έντερο, αποδίδεται σε διάφορες αιτίες, όπως είναι οι πεπτικές διαταραχές, που απολήγουν σε δυσπεψία, η ανεπαρκής ανοσία στα κολοβακτηρίδια κ.ά. (Σαρρής *et al.*, 1991).

Θεραπεία

Η θεραπεία πραγματοποιείται με τη χορήγηση αντιβιοτικών από το στόμα ή παρεντερικά. Η επιλογή της θεραπευτικής ουσίας πρέπει να γίνεται σύμφωνα με τη δοκιμή της ευαισθησίας (αντιβιογράμμα). Πολύ δε περισσότερο όταν πρόκειται για *E.*

coli, αφού τα βακτηρίδια αυτά πολύ συχνά και σε βραχύ χρονικό διάστημα (5-7 ημέρες) γίνονται ανθεκτικά στις χορηγούμενες θεραπευτικές ουσίες (Σαρρής *et al.*, 1991).

2.8 ΤΟ ΒΑΚΤΗΡΙΟ *Enterococcus faecalis*

Το βακτήριο *Enterococcus faecalis* ανήκει στο γένος *Enterococcus* και μέχρι πριν κάποια χρόνια ανήκε στην οικογένεια *Streptococcaceae* και ήταν γνωστό ως *Streptococcus faecalis* (Schleifer and Kilpper-Balz, 1984). Ανήκει στα Gram+ βακτήρια.

Κατανομή στη φύση – Ανθεκτικότητα

Οι εντερόκοκκοι έχουν παγκόσμια εξάπλωση και είναι σαπρόφυτα του γαστρεντερικού σωλήνα και του γεννητικού συστήματος ανθρώπου και ζώων. Μπορούν να επιζήσουν για εβδομάδες ή και μήνες στη σκόνη και στο περιβάλλον των ζώων με την προϋπόθεση ότι δεν βρίσκονται κάτω από την άμεση επίδραση του ηλιακού φωτός. Επίσης, είναι ευαίσθητοι στη θερμότητα (καταστρέφονται στους 54° C σε 30 λεπτά), υπάρχουν, όμως, και στελέχη που αντέχουν σε μεγαλύτερες θερμοκρασίες. Δεν είναι ευαίσθητοι στη δράση των απολυμαντικών, βαρέων μετάλλων ή αιθανόλης (Amyes, 2007).

Παθογένεια

Ο *Enterococcus faecalis* μπορεί να προκαλέσει ενδοκαρδίτιδα και βακτηριαμία, λοιμώξεις του ουροποιητικού συστήματος, μηνιγγίτιδα και άλλες βλάβες στον ανθρώπινο οργανισμό (Amyes, 2007).

Πρόληψη – Θεραπεία

Η πρόληψη είναι πολύ δύσκολη αν όχι αδύνατη. Είναι δυνατόν, όμως, να περιοριστούν οι μολύνσεις όταν τηρούνται αυστηρά οι κανόνες υγιεινής και αντισηψίας.

Οι εντερόκοκκοι είναι ανθεκτικοί στην πενικιλίνη, καθώς και σε άλλες αντιμικροβιακές ουσίες, όπως οι αμινογλυκοσιδάσες, οι κεφαλοσπορίνες, η κλινδαμυκίνη και οι τριμεθοπρίμη-σουλφοναμίδες. Θα μπορούσε να γίνει συνδυαστική θεραπεία με στρεπτομυκίνη ή τετρακυκλίνες ή πριν από κάθε

θεραπευτική αγωγή να γίνεται τεστ ευαισθησίας του στελέχους στα αντιβιοτικά (Arias et al., 2010).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3^ο : ANTIBAKTΗΡΙΑΚΗ ΔΡΑΣΗ ΜΕΤΑΛΛΩΝ

3.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τα μέταλλα χρησιμοποιούνται ως αντιμικροβιακοί παράγοντες από την αρχαιότητα. Η σύγχρονη έρευνα έχει καταδείξει ότι τα μέταλλα μπορούν να προκαλέσουν σοβαρή βλάβη στα μικροβιακά κύτταρα, ως αποτέλεσμα οξειδωτικού στρες, πρωτεϊνικής δυσλειτουργίας ή καταστροφής της κυτταρικής μεμβράνης. Συγκεκριμένα μεταλλικά ιόντα είναι σημαντικά για τη δομή της κυτταρικής μεμβράνης και του DNA. Περίπου οι μισές από τις γνωστές πρωτεΐνες εκτιμώνται ότι εξαρτώνται από τα μεταλλικά άτομα για τη δομή τους και για τη συμμετοχή τους σε κομβικές κυτταρικές διαδικασίες, όπως η μεταφορά ηλεκτρονίων και η κατάλυση (Waldron and Robinson, 2009). Εντούτοις, αυτά τα απαραίτητα μέταλλα είναι θανατηφόρα για όλα τα κύτταρα, όταν βρίσκονται σε μεγάλες ποσότητες. Επιπλέον, ορισμένα όχι και τόσο απαραίτητα μέταλλα, όπως ο άργυρος (Ag), ο υδράργυρος (Hg) και το τελλούριο (Te), είναι ιδιαίτερα δηλητηριώδη στα περισσότερα βακτήρια και έχουν μικροβιοκτόνο δράση σε μικρές συγκεντρώσεις (Harrison et al. 2004).

Στη σύγχρονη εποχή οι μεταλλικές ενώσεις έχουν μια σειρά εφαρμογών στη βιομηχανία, τη γεωργία και τον τομέα της υγείας. Αυτό επιτεύχθηκε έπειτα από την ανακάλυψη ότι συγκεκριμένα μέταλλα διαταράσσουν το ανθεκτικό σε αντιβιοτικά βιοφίλμ, ασκούν βακτηριοκτόνο δράση σε συνδυασμό με άλλα βιοκτόνα, αναστέλλουν μεταβολικές διεργασίες με συγκεκριμένο τρόπο και σκοτώνουν βακτήρια ανθεκτικά σε πολλαπλά φάρμακα. Αν και η φυσιολογική προσαρμογή και αντίσταση των βακτηρίων σε αυτά τα μέταλλα έχει ερευνηθεί για δεκαετίες, πολύ λιγότερη σημασία έχει δοθεί στους βιοφυσικούς και βιοχημικούς μηχανισμούς με τους οποίους τα μέταλλα ασκούν τοξικότητα στα βακτήρια, στους ζυμομύκητες και σε άλλους ευκαρυωτικούς μικροοργανισμούς. Το τελευταίο γεγονός οφείλεται στη μεταβολική διαφορετικότητα των μικροοργανισμών που περιπλέκει τη μελέτη της τοξικότητας των μετάλλων (Lemire, 2013).

Ορισμένα βακτήρια έχουν αρχίσει να εμφανίζουν ανθεκτικότητα σε μικροβιοκτόνα. Για παράδειγμα το *E.coli* αναπτύσσει ανθεκτικότητα λόγω της παραγωγής ευρέος φάσματος β-λακταμασών. Αυτή η ανθεκτικότητα προσδίδει

ανοσία στους μικροοργανισμούς απέναντι στις κεφαλοσπορίνες πρώτης έως τέταρτης γενιάς ή στις κινολόνες στα σύγχρονα αντιβιοτικά. Επομένως είναι επιτακτική η διερεύνηση νέων αντιμικροβιακών παραγόντων. Από αυτή την άποψη τα μεταλλικά νανοσωματίδια είναι υποψήφια για την ανάπτυξη μιας νέα κατηγορίας αντιμικροβιακών παραγόντων. Τα μεταλλικά νανοσωματίδια είναι λιγότερο τοξικά από τα ιόντα, συμπεριφέρονται ως βιοτικά (biotics), έχουν παρατεταμένη δράση και διεγείρουν το μηχανισμό λειτουργίας των μικροθρεπτικών συστατικών και τη δραστηριότητα των αντιοξειδωτικών ενζύμων (Mamonova, 2013).

Η τοξικότητα των μεταλλικών νανοσωματιδίων εξαρτάται τόσο από τη μέθοδο έκθεσης των μικροοργανισμών σε αυτά, όσο και από το μέγεθος των νανοσωματιδίων. Χρησιμοποιούνται νανοσωματίδια από μέταλλα όπως η αλουμίνη, ο χαλκός, ο χρυσός, το μαγνήσιο, ο άργυρος, το τιτάνιο και ο ψευδάργυρος. Μεταλλικά οξείδια, όπως το οξείδιο ψευδαργύρου (ZnO), το διοξείδιο του τιτανίου (TiO₂) και το οξείδιο του μαγνησίου (MgO) δεν είναι μόνο σταθερά, αλλά θεωρούνται και ασφαλή για τον ανθρώπινο οργανισμό. Η τοξικότητα των νανοσωματιδίων μπορεί να ελεγχθεί με δύο μεθόδους: α) καλλιέργεια σε υγρό μέσο που περιέχει νανοσωματίδια και β) ηλεκτροψεκασμός των νανοσωματιδίων απευθείας πάνω στην επιφάνεια των βακτηρίων. Στην πρώτη μέθοδο υπάρχει αξιοσημείωτη συσσώματωση, που αποτρέπει την αποτελεσματική αλληλεπίδραση των νανοσωματιδίων με τα βακτήρια. Από την άλλη πλευρά, η δεύτερη μέθοδος του ηλεκτροψεκασμού επιτρέπει την άμεση αλληλεπίδραση μεταξύ των νανοσωματιδίων και των κυττάρων (Wu et al., 2010)

3.2 ΑΝΤΙΒΑΚΤΗΡΙΑΚΗ ΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΑΡΓΥΡΟΥ

Είναι γνωστό ότι τα ιόντα και οι ενώσεις του αργύρου είναι εξαιρετικά τοξικές για τους μικροοργανισμούς εμφανίζοντας βιοκτόνα συμπεριφορά σε πάνω από δεκαέξι είδη βακτηρίων συμπεριλαμβανομένων του *E. coli*. Ο αντιβακτηριακός μηχανισμός των αργυρικών ιόντων συνδέεται στενά με την αλληλεπίδρασή τους με τις θειολικές (σουλφυδρικές) ομάδες, αν και δεν μπορούν να αποκλειστούν και άλλες κατηγορίες. Αμινοξέα, όπως η κυστεΐνη και άλλες ενώσεις που περιέχουν θειολικές ομάδες, εξουδετερώνουν τη δράση του αργύρου ενάντια σε βακτήρια. Σε αντίθεση, αμινοξέα που περιέχουν δισουλφιδικούς δεσμούς, αμινοξέα που δεν

περιέχουν θείο, καθώς και ενώσεις που δεν περιέχουν θείο, δεν εξουδετερώνουν τη δράση των ιόντων αργύρου. Αυτά και άλλα ευρήματα υποδεικνύουν ότι η αντίδραση των ιόντων αργύρου με θειολικές ομάδες σε ένζυμα και πρωτεΐνες παίζει καθοριστικό ρόλο στην αντιμικροβιακή τους δράση, αν και άλλα κυτταρικά στοιχεία, όπως οι δεσμοί υδρογόνου, μπορεί επίσης να εμπλέκονται.

Επιπροσθέτως, θεωρείται ότι ο άργυρος δρα δεσμεύοντας κομβικές λειτουργικές ομάδες ενζύμων. Τα ιόντα αργύρου απελευθερώνουν κατιόντα καλίου (K^+) από τα βακτήρια. Έτσι, το βακτηριακό πλάσμα ή κυτταροπλασματική μεμβράνη που συνδέονται με πολλά σημαντικά ένζυμα, προσβάλλονται εύκολα από τα ιόντα αργύρου. Εκτός από τις επιδράσεις τους στα βακτηριακά ένζυμα, τα ιόντα αργύρου προκαλούν αξιοσημείωτη αναστολή της βακτηριακής ανάπτυξης και εναποτίθενται στο κυτταρικό κενό και το κυτταρικό τοίχωμα ως κοκκία. Επίσης διαπιστώθηκε ότι τα ιόντα αργύρου αναστέλλουν την κυτταρική διαίρεση και καταστρέφουν το κυτταρικό περίβλημα και συστατικά των βακτηρίων. Τα βακτηριακά κύτταρα αυξάνονται σε μέγεθος και η κυτταροπλασματική μεμβράνη με τα κυτταροπλασματικά περιεχόμενα υφίστανται δομικές ανωμαλίες. Ακόμη, τα ιόντα αργύρου αντιδρούν με νουκλεϊκά οξέα, κυρίως περισσότερο με τις βάσεις του DNA, παρά με τις φωσφορικές του ομάδες, παρόλο που αυτή η αντίδραση δεν είναι τόσο σαφής (Jung et al., 2008).

Για αυτό το λόγο τα ιόντα αργύρου, χρησιμοποιούνται ως αντιβακτηριακός παράγοντας, στη θεραπεία εγκαυμάτων, τραυμάτων, και άλλων βακτηριακών μολύνσεων, όπως επίσης και για τη κατασκευή συνθετικών οδοντιατρικών ρητινών, στη σύνθεση ινών με ιοντοεναλλακτική ικανότητα καθώς και στην επικάλυψη ιατρικών συσκευών. Επιπλέον, πριν από μερικά χρόνια παρατηρήθηκε ότι υβριδικά νανοσωματίδια αργύρου με αμφιφιλικά υπερδιακλαδωμένα μακρομόρια αποτελούν αποτελεσματικό υλικό με αντιμικροβιακή λειτουργία για την επικάλυψη επιφανειών (Aymonier et al., 2002).

Τα ιόντα αργύρου χρησιμοποιούνται επίσης και σε μια σειρά μη ιατρικών εφαρμογών, όπως ηλεκτρικές και μη συσκευές. Η αργή απελευθέρωση «νανοαργύρου» από επενδύσεις σε πλυντήρια ρούχων, πλυντήρια πιάτων, ψυγεία και καθίσματα τουαλέτας ήδη διατίθενται στην αγορά και διαφημίζονται. Είναι πλέον ξεκάθαρη η έκθεση σε ένα ευρύ φάσμα ασυνήθιστων εφαρμογών αργυρούχων προϊόντων που προορίζονται να λειτουργούν ως αντιμικροβιακά (Jung et al., 2007).

3.3 ANTIBAKTΗΡΙΑΚΗ ΔΡΑΣΗ ΑΛΛΩΝ ΜΕΤΑΛΛΩΝ

Εκτός από τον άργυρο, και άλλα μέταλλα εμφανίζουν αντιβακτηριακή δράση. Παρακάτω αναφέρονται συνοπτικά κάποια από τα μέταλλα αυτά και οι αντιβακτηριακές τους ιδιότητες, όπως παρουσιάζονται στη μελέτη των Sachindri Rana και Kalai chevan (2011).

A. Νανοσωματίδια Αλουμινίου

Τα νανοσωματίδια οξειδίου του αλουμινίου έχουν ευρύ φάσμα εφαρμογών στη βιομηχανία. Σε σχέση με το E.coli, τα νανοσωματίδια αλουμινίου παρουσιάζουν μέτρια ανασταλτική δράση, μόνο σε πολύ υψηλές συγκεντρώσεις, γεγονός που μπορεί να οφείλεται σε αλληλεπίδραση του επιφανειακού φορτίου μεταξύ των νανοσωματιδίων και των κυττάρων.

B. Νανοσωματίδια Οξειδίου του Χαλκού

Οι αντιμικροβιακές ιδιότητες των νανοσωματιδίων του χαλκού έχουν επίσης ελεγχθεί χρησιμοποιώντας μικροοργανισμούς, όπως το E. Coli, Bacillus subtilis, Staphylococcus aureus, κτλ., με ενθαρρυντικά αποτελέσματα.

Γ. Νανοσωματίδια Χρυσού

Τα νανοσωματίδια χρυσού παρουσιάζουν μεγαλύτερη σταθερότητα όταν έρχονται σε επαφή με βιολογικά υγρά. Πιο αποτελεσματική φαίνεται η αντιβακτηριακή τους δράση σε συνδυασμό με κεφαλοσπορίνες, όπως η κεφακλόρη.

Δ. Νανοσωματίδια οξειδίου του Μαγνησίου

Τα νανοσωματίδια οξειδίου του μαγνησίου χρησιμοποιούνται ευρέως σε διάφορους τομείς, ενώ πρόσφατα διαπιστώθηκε ότι έχουν καλύτερη βακτηριοκτόνο δράση σε υδατικά περιβάλλοντα. Επιδεικνύουν μεγάλη αντιβακτηριακή δράση, λόγω της μεγάλης ειδικής τους επιφάνειας και αλληλεπιδρούν καλύτερα με τα αρνητικά φορτισμένα βακτήρια, λόγω του θετικού τους φορτίου.

Ε. Νανοσωματίδια διοξειδίου του Τιτανίου

Τα νανοσωματίδια διοξειδίου του τιτανίου αποσυνθέτουν οργανικά στοιχεία με το σχηματισμό και τη συνεχή απελευθέρωση ριζών του υδροξυλίου και

υπεροξειδικών ιόντων, όταν εκτίθενται σε μη θανατηφόρο υπεριώδη ακτινοβολία.

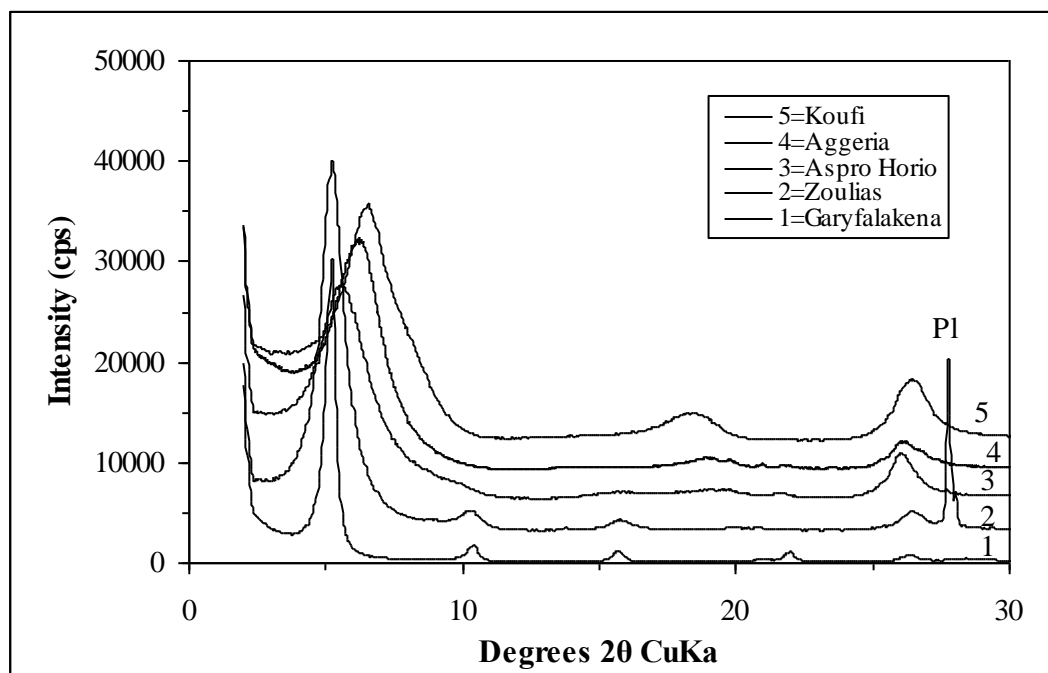
ΣΤ. Νανοσωματίδια οξειδίου του Ψευδάργυρου

Η εφαρμογή νανοσωματιδίων του οξειδίου ψευδάργυρου μπορεί να αποτρέψει παθογόνους οργανισμούς που προσβάλλουν τα τρόφιμα (όπως *Salmonella enteritidis* και *E. coli*). Επιπλέον έχει διαπιστωθεί η τοξικότητά τους σε μεσόφιλα και αλλόφιλα βακτήρια (όπως π.χ. *Enterobacter sp.*, *Marinobacter sp.* και *Bacillus subtilis*).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4^ο : ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

4.1 ΥΛΙΚΑ

Στην παρούσα εργασία χρησιμοποιήθηκαν 4 δείγματα μπεντονίτη της Μήλου. Τα τρία από αυτά (Μήλος 10, Μήλος 17 και Αγγεριά είχαν παρουσιαστεί αναλυτικά από το Χρηστίδη (2002). Τα δείγματα επιλέχθηκαν λόγω του υψηλού φορτίου κρυσταλλικής δομής τους, που υπερβαίνει τα 0,47 ηλεκτρόνια ανά μισή κυψελίδα (e/huc). Εκτός από σμεκτίτη τα αργιλικά κλάσματα των δειγμάτων περιέχουν μικρές ποσότητες Κ-αστρίου. Τα ακτινογραφήματα των αργιλικών κλασμάτων των δειγμάτων μετά από κορεσμό με κάλιο παρουσιάζονται στην Εικόνα 3.



Εικόνα 3. Διαγράμματα XRD των κορεσμένων με Κ αργιλικών κλασμάτων των δειγμάτων μπεντονίτη που χρησιμοποιήθηκαν στην εργασία. Τα διαγράμματα χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό του φορτίου κρυσταλλικής δομής (layer charge-LC)

4.2. ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΤΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

1^ο βήμα: Τα δείγματα των αργίλων λειοτριβήθηκαν σε γουδί από αχάτη και στη συνέχεια 10g δείγματος τοποθετήθηκαν σε πλαστική φιάλη των 250 ml και προστέθηκαν 150 ml νερού.

2^ο βήμα: Τα δοχεία τοποθετήθηκαν σε οριζόντιο αναταράκτη (Εικόνα 4) για μία ώρα ώστε να ομογενοποιηθεί το περιεχόμενο.



Εικόνα 4: Οριζόντιος αναταράκτης

3^ο βήμα: Τα δείγματα επεξεργάστηκαν σε μηχανήμα των υπερήχων (Vibra cell, Sonics & Materials) (Εικόνα 5) ώστε να διαλυθούν τυχόν συσσωματώματα και να διασπαρεί το αργιλικό υλικό.



Εικόνα 5: Vibra cell, Sonics & Materials

4^ο βήμα: Τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε φυγοκέντρική διαχωριστή (K-80, Labware) (Εικόνα 6) για 20min στις 9000rpm. Μετά τη φυγοκέντρωση απομακρύνθηκε το υπερκείμενο νερό. Τα δύο τελευταία βήματα της έκπλυσης επαναλήφθηκαν έως ότου η μετρούμενη αγωγιμότητα (LC) του νερού στο αιώρημα να μην ξεπερνά τα 40 $\mu\text{S}/\text{m}$.



Εικόνα 6: Φυγοκεντρικός διαχωριστής K-80, Labware

Τα δείγματα, τα οποία στην αρχική τους κατάσταση (πριν τη μέτρηση της αγωγιμότητας) ήταν συσσωματωμένα λόγω της περιεχόμενης υγρασία, τοποθετήθηκαν σε κεραμικά χωνευτήρια και στη συνέχεια σε ξηραντήριο (D-6450, Heraeus) (Εικόνα 7) στους 60°C για δύο ώρες ώστε να αφαιρεθεί η υγρασία. Η διαδικασία ολοκληρώθηκε ακολουθώντας τα παραπάνω βήματα.



Εικόνα 7: Ξηραντήριο D-6450, Heraeus

4.2 ΑΠΟΧΩΡΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΑΡΓΙΛΙΚΟΥ ΚΛΑΣΜΑΤΟΣ

Τα αιωρήματα τα οποία βρίσκονταν στα πλαστικά δοχεία των 250 ml, ανακινήθηκαν και αφέθηκαν να καθιζάνουν. Η απομόνωση του αργιλικού κλάσματος πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με τον νόμο του Stokes. Τα σωματίδια με μέγεθος άνω των 2μm καθιζάνουν σε χρονικό περιθώριο δύο περίπου ωρών αφήνοντας στα πάνω 2 cm του εναιωρήματος το αργιλικό κλάσμα κοκκομετρίας κάτω των 2μm το οποίο στη συνέχεια αφαιρούνταν και τοποθετούνταν σε κεραμικό σκεύος ώστε να ακολουθήσει η απαιτούμενη ξήρανση. Η διαδικασία επαναλήφθηκε έως ότου απομονώθηκε ικανοποιητική ποσότητα αργιλικού κλάσματος, περίπου δύο γραμμαρίων.

4.3 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΙΟΝΤΟΕΝΑΛΛΑΚΤΙΚΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ

Η ιοντοεναλλακτική ικανότητα (Cation Exchange Capacity – CEC) των δειγμάτων προσδιορίστηκε χρησιμοποιώντας τον εξής εμπειρικό τύπο (σχέση 1):

$$CEC \text{ (meq/100g)} = (LC - 0.108) / 0.0033 \quad (1)$$

Στη συνέχεια η ιοντοεναλλακτική ικανότητα μετατράπηκε σε meq ανά γραμμάριο δείγματος.

4.4 ΣΤΟΙΧΕΙΟΜΕΤΡΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

Η στοιχειομετρική ανάλυση των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε στο φασματόμετρο ατομικής προσρόφησης (AAAnalyst 100, PERKIN ELMER) (Εικόνα 8). Τα δείγματα προετοιμαστήκαν για ανάλυση μέσω της διαδικασίας της διαλυτοποίησης με σύντηξη. Για την διαλυτοποίηση με σύντηξη, που πραγματοποιήθηκε στο εργαστήριο Ανόργανης και Οργανικής Γεωχημείας και Οργανικής Πετρογραφίας χρησιμοποιήθηκε, σαν συντηκτικό μέσο, LiCO_3 και H_3BO_3 και ακολούθησε διαλυτοποίηση του τηγμένου δείγματος με HNO_3 .



Εικόνα 8: Φασματόμετρο ατομικής προσρόφησης AAnalyst 100, PERKIN ELMER

Η διαδικασία που ακολουθήθηκε είναι η εξής:

- 1000μg δείγματος και 5000μg συντηκτικού μέσου αναμιγνύονται σε χωνευτήριο Pt.
- Το μίγμα τοποθετείται σε φούρνο (D-2804, Nabertherm) (Εικόνα 9) στους 980° C για 20 λεπτά.



Εικόνα 9: Φούρνος D-2804, Nabertherm

- Αφού ψυχθεί το υαλώδες τήγμα, το χωνευτήριο μεταφέρεται σε ποτήρι ζέσης και προστίθενται 10 ml HNO₃ 1M.

- Στη συνέχεια τοποθετήθηκε σε οριζόντιο αναταράκτη μέχρι να διαλυθεί εντελώς το τήγμα.
- Το διάλυμα που προέκυψε αραιώθηκε και τοποθετήθηκε σε πλαστική φιάλη για περεταίρω ανάλυση στη συσκευή φασματομετρίας ατομικής προσρόφησης.

4.5 ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΠΡΟΣΡΟΦΗΣΗΣ ΤΟΥ ΑΡΓΥΡΟΥ

Τα δείγματα κορέστηκαν σε ποσοτώσεις 1%, 10% και 20% χρησιμοποιώντας AgNO_3 . Η ποσότητα AgNO_3 που χρειάστηκε για τον κορεσμό των δειγμάτων υπολογίστηκε μέσω της ιοντοεναλλακτικής ικανότητας τους. Η διαδικασία που ακολουθήθηκε για τον κορεσμό των δειγμάτων είναι η εξής:

1^ο βήμα: Το απομονωμένο αργλικό κλάσμα τοποθετήθηκε σε σωλίνες φυγοκέντρωσης, προστέθηκε η υπολογισμένη ποσότητα AgNO_3 για τον αντίστοιχο βαθμό κορεσμού και στη συνέχεια οι σωλίνες πληρώθηκαν με απιοντισμένο νερό.

2^ο βήμα: Οι σωλίνες με το εναιώρημα αποθηκεύτηκαν σε σκοτεινό μέρος για επτά ημέρες ώστε να επιτευχθεί ο κορεσμός.

3^ο βήμα: Τα δείγματα φυγοκεντρήθηκαν και τα διαχωρισμένα ιζήματα αποξηράνθηκαν στους 60°C, στη συνέχεια λειοτριβήθηκαν και αποθηκεύτηκαν σε πλαστικά δοχεία ώστε να ελεγχθούν οι αντιβακτηριακές τους ιδιότητες.

4.6 ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΤΩΝ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ

Τα βακτήρια που χρησιμοποιήθηκαν στο συγκεκριμένο πείραμα είναι το *Enterococcus faecalis* και το *Escherichia coli*. Τα βακτήρια μεταφέρθηκαν από τις αρχικές αποικίες του εργαστηρίου σε τρυβλία τα οποία περιείχαν Mueller-Hinton άγαρ και στη συνέχεια τοποθετήθηκαν σε επωαστήριο (*Heraeus incubator*, *Thermo scientific*) (Εικόνα 10) όπου παραμείναν για 20 ώρες στους 37° C. Στη συνέχεια ποσότητα βακτηρίων μεταφέρθηκαν σε διάλυμα θρεπτικού ζωμού ώστε να επιτευχθεί οπτική απορρόφηση 0.1 μετρημένη σε φασματοφωτόμετρο μήκους κύματος 600nm. Κατόπιν τα κελιά του microplate πληρώθηκαν με μείγμα διαλύματος βακτηρίων και δείγματος ώστε να προκύψουν συγκεντρώσεις αργίλων των 100, 50 και 25 $\mu\text{g/ml}$. Επίσης κάποια κελιά πληρώθηκαν αποκλειστικά με εναιώρημα βακτηρίων, αργίλων

και θρεπτικού ζωμού ώστε μετά τις μετρήσεις να μπορεί να απομονωθεί η οπτική πυκνότητα που προκύπτει από την αλληλεπίδραση των αργίλων με τα βακτήρια. Μετά την πλήρωση των κελιών οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν σε συσκευή Microplate reader (Labtech-LT-4000, Applied biosystems) (Εικόνα 11) σε μήκος κύματος 630 nm. Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν σε δύο χρόνους, σε χρόνο 0 h και 24 h. Η μέτρηση μετά το πέρας των 24 h πραγματοποιήθηκε αφού τα microplate τοποθετήθηκαν σε επωαστήριο στους 37° C.



Εικόνα 10: Επωαστήριο Heraeus, Thermo scientific



Εικόνα 11: Συσκευή microplate reader, Labtech-LT-4000, Applied biosystems

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5^ο : ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

5.1. ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΑΡΓΙΛΙΚΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

Οι μετρούμενες τιμές CEC σε σχέση με το φορτίο κρυσταλλικής δομής (LC) των δειγμάτων παρουσιάζονται στον Πίνακα 5. Οι τιμές του φορτίου κρυσταλλικής δομής είναι από το Χρηστίδη (2002).

Πίνακας 5: Τιμές ιοντοεναλλακτικής ικανότητας

Δείγμα	LayerCharge (e/huc)	CEC (meq/g)
Milos 10	0,49	1,158
Milos 17	0,61	1,521
Aggeria deposit Milos	0,55	1,339
AK 6.4	0,47	1,097

Τα αποτελέσματα της χημικής ανάλυσης των αργιλικών κλασμάτων παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 6). Από τα αποτελέσματα της χημικής ανάλυσης παρατηρούμε ότι το πιο διαδεδομένο οξείδιο είναι το SiO_2 σε ποσοστό 50% - 60% ,ενώ ακολουθεί το Al_2O_3 με ποσοστό που κυμαίνεται στο 10%, στη συνέχεια είναι το Fe_2O_3 με ποσοστό 3% περίπου, ενώ τα K_2O , MgO είναι 1% με 2%, τέλος βρίσκονται τα CaO , Na_2O , MnO με ποσοστά που κυμαίνονται 1% και κάτω.

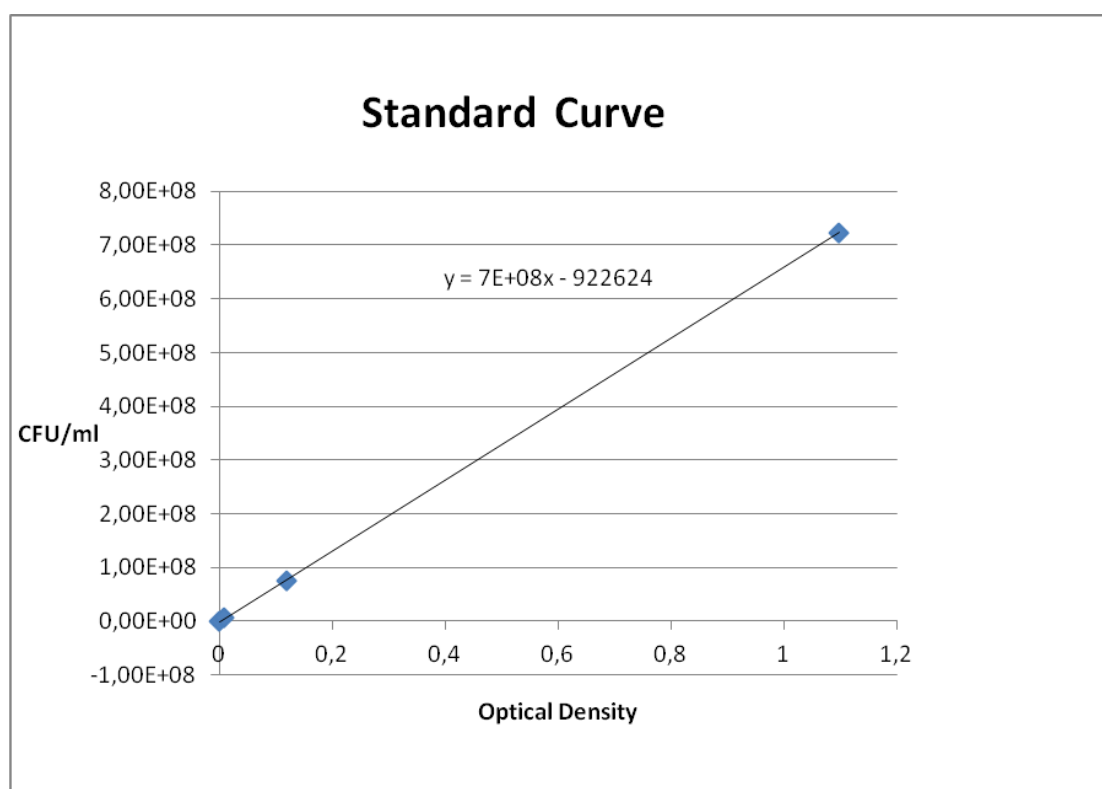
Στην συγκεκριμένη χημική ανάλυση δεν έχει πραγματοποιηθεί απώλεια πύρωσης ώστε να αφαιρεθεί η περιεχόμενη υγρασία που αναμενόταν να είναι 20% περίπου, καθώς και το κρυσταλλικό νερό που συνήθως είναι 5% περίπου. Επίσης τα δείγματα δεν ελεγχθήκαν για TiO_2 , που συνήθως περιέχεται σε ποσοστά κοντά στο 1%.

Πίνακας 6: Αποτελέσματα της χημικής ανάλυσης των δειγμάτων.

	Οξείδια (%)							
	CaO	Na₂O	K₂O	MgO	Fe₂O₃	MnO	Al₂O₃	SiO₂
Milos Aggeria	0.004	0.090	1.826	2.635	3.439	0.017	10.313	52.527
AK 6.4	0.611	1.728	1.615	1.940	2.183	0.023	12.773	59.615
Milos 17	0.387	0.202	1.300	0.251	3.151	0.021	11.435	59.293
Milos 10	0.906	1.146	0.842	1.765	3.513	0.011	9.847	63.255

5.2. ANTIBAKTΗΡΙΑΚΗ ΔΡΑΣΗ

Στο διάγραμμα 1 παρουσιάζεται η πρότυπη καμπύλη μονάδας σχηματισμού αποικιών – οπτικής πυκνότητας, που χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό των αποικιών των βακτηρίων στην παρούσα μελέτη



Διάγραμμα 1: Πρότυπη καμπύλη μονάδας σχηματισμού αποικιών – οπτικής πυκνότητας

Στους παρακάτω πίνακες (Πίνακες 7 και 8) παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της αλληλεπίδρασης των εμπλουτισμένων σε άργυρο αργίλων σε ποσοστό 1% με τα βακτήρια *Escherichia coli* και *Enterococcus faecalis*. Ενώ στον πίνακα 9 παρουσιάζεται η ανάπτυξη των βακτηρίων χωρίς την αλληλεπίδραση με κάποιο δείγμα.

Πίνακας 7: Αποτελέσματα της αλληλεπίδρασης των εμπλουτισμένων σε άργυρο αργίλων σε ποσοστό 1% με το βακτήριο *Escherichia coli*.

Χρόνος Επώασης(h)	Milos 17 (mg/ml)			Milos Aggeria (mg/ml)			
	100	50	25	100	50	25	
0	$4,13 \times 10^7$	$3,51 \times 10^7$	$4,42 \times 10^7$	$2,99 \times 10^7$	$6,37 \times 10^7$	$3,69 \times 10^7$	CFU
24	$3,32 \times 10^8$	$3,17 \times 10^8$	$3,22 \times 10^8$	$2,97 \times 10^8$	$2,84 \times 10^8$	$2,94 \times 10^8$	

Χρόνος Επώασης(h)	AK 6.4 (mg/ml)			Milos 10 (mg/ml)			
	100	50	25	100	50	25	
0	$1,82 \times 10^7$	$2,43 \times 10^7$	$1,97 \times 10^7$	$3,90 \times 10^7$	$3,68 \times 10^7$	$3,47 \times 10^7$	CFU
24	$2,54 \times 10^8$	$2,79 \times 10^8$	$3,11 \times 10^8$	$3,08 \times 10^8$	$2,53 \times 10^8$	$2,68 \times 10^8$	

Πίνακας 8: Αποτελέσματα της αλληλεπίδρασης των εμπλουτισμένων σε άργυρο αργίλων σε ποσοστό 1% με το βακτήριο *Enterococcus faecalis*.

Χρόνος Επώασης(h)	Milos 17 (mg/ml)			Milos Aggeria (mg/ml)			
	100	50	25	100	50	25	
0	$1,49 \times 10^7$	$3,20 \times 10^7$	$2,99 \times 10^7$	$1,16 \times 10^7$	$2,29 \times 10^7$	$1,51 \times 10^7$	CFU
24	$1,96 \times 10^8$	$2,21 \times 10^8$	$2,58 \times 10^8$	$2,34 \times 10^8$	$2,29 \times 10^8$	$2,49 \times 10^8$	

Χρόνος Επώασης (h)	AK 6.4 (mg/ml)			Milos 10 (mg/ml)			
	100	50	25	100	50	25	
0	$1,19 \times 10^7$	$1,26 \times 10^7$	$0,80 \times 10^7$	$7,21 \times 10^7$	$3,90 \times 10^7$	$2,89 \times 10^7$	CFU
24	$1,96 \times 10^8$	$2,22 \times 10^8$	$2,5 \times 10^8$	$2,06 \times 10^8$	$1,81 \times 10^8$	$1,99 \times 10^8$	

Πίνακας 9: Ανάπτυξη βακτηρίων σε σκέτο άγαρ

Χρόνος Επώασης (h)	Βακτήρια		
	E.coli	E.faecalis	
0	$3,64 \times 10^7$	$2,24 \times 10^7$	CFU
24	$2,73 \times 10^8$	$2,11 \times 10^8$	

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στα προηγούμενα κεφάλαια αυτής της εργασίας αναφέρθηκαν οι αντιβακτηριακές ιδιότητες των αργίλων, καθώς και των μετάλλων. Παράλληλα περιγράφηκε η πειραματική διαδικασία που συμπεριλήφθηκε στο αντικείμενο αυτής της εργασίας και παρουσιάστηκαν τα αποτελέσματα που προέκυψαν από αυτή.

Τα συμπεράσματα που μπορούν να εξαχθούν είναι τα παρακάτω. Αρχικά, διαπιστώθηκε ότι τα δείγματα των αργίλων που εμπλουτίστηκαν σε συγκέντρωση αργύρου 1%, δεν παρουσίασαν κάποια αντιβακτηριακή ιδιότητα σε κανένα από τα δύο βακτήρια που ελέγχθηκαν (*E. coli* και *Enterococcus faecalis*). Παρατηρήθηκε μάλιστα ότι η καμπύλη ανάπτυξης των βακτηρίων που καλλιεργήθηκαν στο παραπάνω περιβάλλον ακολουθεί την ανάπτυξη των βακτηρίων που καλλιεργήθηκαν σε σκέτο άγαρ. Αυτό υποδηλώνει ότι ούτε τα συγκεκριμένα διαλύματα αργίλων παρέχουν από μόνα τους κάποια αντιβακτηριακή ιδιότητα σε αυτές τις συγκεντρώσεις.

Το παραπάνω αποτέλεσμα θα μπορούσε να οφείλεται στη μορφή του αργύρου στα διαλύματα. Στη περίπτωση που ο άργυρος δεν είναι ελεύθερος στο διάλυμα αλλά βρίσκεται σε ανταλλάξιμες θέσεις στο κρυσταλλικό πλέγμα του σμεκτίτη, τότε είναι πολύ πιθανό να μην είναι βιοδιαθέσιμος για να αλληλεπιδράσει με τα βακτήρια και να εμφανίσει αντιβακτηριακή δράση.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ο στόχος της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι η διερεύνηση της αντιβακτηριακής δράσης των εμπλουτισμένων με άργυρο αργίλων. Η διερεύνηση πραγματοποιήθηκε πειραματικά *in vitro* σε δύο βακτήρια, *Enterococcus faecalis* και *Escherichia coli*. Τα αποτελέσματα της πειραματικής διαδικασίας υποδεικνύουν ότι η αντιβακτηριακή ιδιότητα των αργίλων εμπλουτισμένων με άργυρο σε ποσοστά 1% δεν είναι εμφανής και επίσης ότι δεν προκύπτει κάποια ξεκάθαρη αντιβακτηριακή ιδιότητα των σμεκτιτών.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Aymonier, C., Schlotterbeck, U., Antonietti, Zacharias, P., Thomann, R., L., Tiller, J.C., Mecking, S., 2002. Hybrids of nanoparticles with amphiphilic hyperbranched macromolecules exhibiting antimicrobial properties. *Chemical Communications*, 24: 3018.

Amyes, S.G. 2007. Enterococci and streptococci. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 29 (3): 43–52.

Anderson, S.J., and Sposito, G., 1991. Cesium-absorption method for measuring accessible structural surface charge. *Soil Science Society of American Journal*, 55: 1569-1576.

Arias, C.A., Contreras, G.A. and Murray, B.E., 2010. Management of multidrug-resistant enterococcal infections. *Clinical Microbiological Infections*, 16: 555–62.

Bailey, S.W., 1982. Nomenclature for regular interstratifications. *American Mineralogist*, 67: 394-398.

Bergaya, F., and Vayer, M., 1997. CEC of clays: measurement by absorption of a copper ethylene-diamine complex. *Applied Clay Science*, 12: 275-280.

Bergaya, F., Lagaly, G., and Vayer, M., 2006. Cation and Anion Exchange. *Handbook of Clay Science*, pp 979-1001

Beveridge, T.J. 2001. Use of the Gram stain in microbiology. *Biotechnology Histochemistry*, 76: 111–118.

Berger, T.J., Spadaro, J.A., Chapin, S.E. and Becker, R.O. 1976. Electrically generated silver ions: Quantitative effects on bacterial and mammalian cells. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 9: 357–358.

Brigatti, M.F. and Poppi, L., 1981. A mathematical model to distinguish the

members of the dioctahedral smectite series. *Clay Minerals*, 16: 81-89.

Brown, G., 1955. Report of the clay minerals group subcommittee on nomenclature of clay minerals. *Clay Minerals Bulletin*, 2: 294-301.

Carretero, M.I. and Lagaly, G. 2007. Clays and health: An introduction. *Applied Clay Science*, 36: 1-3

Cohn, C., Laffers, R., Simon, S. R., O’Riordan, T. and Schoonen, M. A. A. 2006. Role of pyrite in formation of hydroxyl radicals in coal: possible implications for human health. *Particle and Fibre Toxicology*, 3: 16.

Christidis, G.E. 1998. Comparative study of the mobility of major and trace elements during alteration of an andesite and a rhyolite to bentonite, in the islands of Milos and Kimolos, Aegean Greece. *Clays and Clay Minerals*, 46: 379-399.

Christidis, G.E., 2006. Genesis and compositional heterogeneity of smectites. Part III. Alteration of basic pyroclastic rocks. A case study from the Troodos Ophiolite Complex, Cyprus. *American Mineralogist*, 91: 685-701

Christidis G.E., 2008. Do bentonites have contradictory characteristics? An attempt to answer unanswered questions. *Clay Minerals*, 43: 515-529.

Christidis, G.E. and Mitsis, J. 2006. A new Ni-rich stevensite from the ophiolite complex of Orthys, central Greece. *Clays and Minerals*, 54: 653-666

Christidis G. E. & Eberl. D.D., 2003. Determination of layer charge characteristics of smectites. *Clays and Clay Minerals*, 51, 644-655

Christidis G.E. & Huff, W.D., 2009. Geological Aspects and Genesis of Bentonites. *Elements*, 5, 93-98.

Domek, M.J., LeChevallier, M.W., Cameron, S.C. and McFeters, G.A. 1984.

Evidence for the role of copper in the injury process of coliform bacteria in drinking water. *Applied and Environmental Microbiology*, 48: 289–293.

Drits, V.A., Lindgreen, H., Salyn, A.L., Ylagan, R., and McCarty, D.K., 1998. Semiquantitative determination of trans-vacant and cis-vacant 2:1 layers in illites and illitesmectites by thermal analysis and X-ray diffraction. *American Mineralogist*, 83: 1188-1198.

Gant, V.A., Wren, M.W.D., Rollins, M.S.M., Jeanes, A., Hickok, S.S. and Hall, T.J. 2007. Three novel highly charged copper-based biocides: Safety and efficacy against healthcare- associated organisms. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 60: 294–299.

Gordon, A.S., Howell, L.D. and Harwood, V. 1994. Response of diverse heterotrophic bacteria to elevated copper concentrations. *Canadian Journal of Microbiology*, 40: 408–411.

Grim, R.E. 1968. Clay Mineralogy. 2nd edition, McGraw- Hill, New York.

Güven, N. 1988. Smectite. In: Hydrous Phyllosilicates (Exclusive of Micas) (S.W. Bailey, editor). Reviews in Mineralogy, 19. Mineralogical Society of America, Washington D.C, pp 497-559.

Harrison, J.J., Ceri, H., Stremick, C., Turner, R.J., 2004. Biofilm susceptibility to metal toxicity. *Environmental Microbiology*, 6: 1220-1227.

Herrera, P., Burghardt, R.C. and Phillips, T.D. 2000. Adsorption of *Salmonella enteritidis* by cetylpyridinium-exchanged montmorillonite clays. *Veterinary Microbiology*, 74: 259–272

Hu, C.H., Xu, Z.R. and Xia, M.S. 2005. Antibacterial effect of Cu²⁺-exchanged montmorillonite on *Aeromonas hydrophila* and discussion on its mechanism. *Veterinary Microbiology*, 109: 83–88.

Jung, W. K., S. H. Kim, H. C. Koo, S. Shin, J. M. Kim, Y. K. Park, S. Y. Hwang, H. Yang, and Y. H. Park. 2007. Antifungal activity of the silver ion against contaminated fabric. *Mycoses* 50:265–269.

Jung, W.K., Koo, H.C., Kim, K.W., Shin, S., Kim, S. H., and Park, Y.K ,2008. Antibacterial Activity and Mechanism of Action of the Silver Ion in *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Applied and Environmental Microbiology*, 74 (7): 2171–2178.

Knight, J.E., 1977. A thermodynamical study of alunite, enargite, luzonite and tennantite deposits. *Economic Geology*, 72: 1321-1336

Lacey, E.P. 1990. Broadening the perspective of pica: Literature review. *Public Health Reports*, 105: 29–35

Laird,D.A., Scott, A.D. and Fenton, T.E., 1987. Interpretation of Alkylammonium Characterization of Soil Clays. *Soil Science Society of America Journal*, 51: 1659-1663.

Lagaly, G., and Weiss, A., 1969. Determination of the Layer Charge in Mica-type Silicates. *Proceedings of the International Clay Conference, 1969 Tokyo*, 1: 61-80, Israel Universities Press, Jerusalem.

Lemire, A. J, Harrison, J. J. and Turner, R. J., 2013. Antimicrobial activity of metals: mechanisms, molecular targets and applications. *Nature Reviews Microbiology* 11: 371–384

Li, B., Yu, S., Hwang, J.Y. and Shi, S. 2002. Antibacterial vermiculite nano-material. *Journal of the Minerals Metals & Materials Society*, 1: 61–68.

Livi K.J.T., Christidis, G.E., Arkai P. & Veblen, D.R., 2008. White mica domain formation: A model for paragonite margarite and muscovite formation during prograde metamorphism. *American Mineralogist* 93: 520-527.

Mamonova, I.A., 2013. Study of the Antibacterial Action of Metal Nanoparticles on Clinical Strains of Gram- Negative Bacteria. *World Journal of Medical Sciences*, 8 (4): 314-317

Marini, M., Bondi, M., Iseppi, R., Toselli, M. and Pilati, F. 2007. Preparation and antibacterial activity of hybrid materials containing quaternary ammonium salts via sol-gel process. *European Polymer Journal*, 43: 3621–3628.

Odom, I.E. 1984. Smectite clay minerals: Properties and uses. *Philisophical Transactions of the Royal Society London*, A 311: 391-409

Ohashi, F. 1993. Antimicrobial and antifungal agents derived from clay minerals. *Journal of Antibacterial and Antifungal Agents, Japan*, 21(11): 591–595.

Ohashi, F., Oya, A., Duclaux, L. and Beguin, F. 1998. Structural model calculation of antimicrobial and antifungal agents derived from clay minerals. *Applied Clay Science*, 12: 435–445.

Ross, C.S. and Hendricks, S.B., 1945. Minerals of bentonite and related clays and their physical properties. *American Ceramics Society Journal*, 9(2): 77-96

Ross, C.S., and Shannon, E.V., 1962. The minerals of bentonite and related clays and their physical properties. *American Ceramics Society Journal*, 9(2): 77-96

Sachindri Rana and Kalaichelvan P.T., 2011. Antibacterial activity of metal nanoparticles. *Advanced biotechnology*, II (02): 21- 23

Schleifer, K.H. and Kilpper-Balz, R. 1984. Transfer of *Streptococcus faecalis* and *Streptococcus faecium* to the genus *Enterococcus* nom. rev. as *Enterococcus faecalis* comb. nov. and *Enterococcus faecium* comb. nov. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 34: 31–34.

Stamatakis M.G., 1989. Authigenic silicates and silica polymorphs in the Miocene saline-alkaline deposits of the Karlovassi basin, Samos Island, Greece. *Economic Geology*, 84: 788-798.

Stamatakis M.G., Hall A., Lutat U. & Walsh J.N., 1998. Mineralogy, origin and commercial value of the zeolite-rich tuffs in the Petrota-Pentalofos area, Evros County, Greece. *Estudios Geologicos*, 54: 315-322.

Sayetta, R.B. 1986. Pica: An overview. *American Family Physician*, 33: 181–185.

Tong, G., Yulong, M., Peng, G. and Zirong, X. 2005. Antibacterial effects of the Cu(II)- exchanged montmorillonite on *Escherichia coli* K88 and *Salmonella choleraesuis*. *Veterinary Microbiology*, 105: 113–122.

Waldron, K. J., Robinson, N. J., 2009. How do bacterial cells ensure that metalloproteins get the correct metal? *Nature Reviews Microbiology*, 7: 25-35

Warshaw, C.M. and Roy, R., 1961. Classification and a scheme for the identification of layer silicates. *Geological Society of American Bulletin*, 72: 1455-1492.

Weiss, A. and Kanter, I., 1960. Aber ein einfaches Verfahren zur Bestimmung der Schichtladung von quellungsfähigen Silikaten. *Zeitschrift für Naturforschung*, 16b: 804.

Wiley, Andrea S., 2006. "Geophagy". in Katz, Solomon H.. *Encyclopedia of Food and Culture*. New York: Charles Scribner's Sons. 2: 120–121

Williams, L.B., and Haydel, S.E.. 2010. Evaluation of the medicinal use of clay minerals as antibacterial agents. *International Geology Review*, 52:7-8, 745-770.

Williams, L.B., Metge, D.W, Eberl, D.D., Harvey, R.W., Turner, A.G., Prapaipong, P., Poret- Peterson, A.T. 2011. What makes a Natural Clay Antibacterial? *Environmental Science and Technology*, 45: 3768- 3773

Wu, B., Y., Wang, Y. H., Lee, A., Horst, Z., Wang, et. al. 2010. Comparative ecotoxicities of nano-ZnO particles under aquatic and aerosol exposure modes. *Environmental Science and Technology*, 104: 1484- 1489.

Wilson, M.J. 2003. Clay mineralogical and related characteristics of geophagic materials. *Journal of Chemical Ecology*, 29:1525–1547

Zhao, D., Zhou, J. and Liu, N. 2006. Preparation and characterization of Mingguang palygorskite supported with silver and copper for antibacterial behavior. *Applied Clay Science*, 33: 161-170.

Zhou, Y., Xia, M., Ye, Y. and Hu, C. 2004. Antimicrobial ability of Cu^{2+} -montmorillonite. *Applied Clay Science*, 27: 215-218.

Κουρουσέκος, Γ. 2010. Μέθοδοι πρόληψης και ελέγχου των μυκοτοξινών. *Γεωτεχνικά Επιστημονικά Θέματα*, 20: 56- 64.

Μπουζιανάς, Δ. 2006. Μαθήματα Κτηνιατρικής Φαρμακολογίας. Εκδόσεις: Σύγχρονη Παιδεία, Θεσσαλονίκη.

Σαρρής, Κ., Ηλιάδης, Ν., Μπουρτζή-Χατζοπούλου, Ε. και Κουμπατή-Αρτοποιού, Μ. 1991. Μαθήματα Γενικής και Ειδικής Μικροβιολογίας. Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Έκδοση: Υπηρεσία Δημοσιευμάτων, Θεσσαλονίκη.

Ηλεκτρονική Βιβλιογραφία

<http://www.uest.gr/pythagoras>