



ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ ΚΡΗΤΗΣ

ΣΧΟΛΗ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

Διπλωματική Εργασία

**ΑΠΟΜΑΚΡΥΝΣΗ ΑΝΑΔΥΟΜΕΝΩΝ ΟΡΓΑΝΙΚΩΝ ΡΥΠΩΝ
ΑΠΟ ΔΕΥΤΕΡΟΒΑΘΜΙΑ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΜΕΝΑ ΛΥΜΑΤΑ ΜΕ
ΧΡΗΣΗ ΥΓΡΟΒΙΟΤΟΠΟΥ**

Τριανταφύλλου Κωνσταντίνα

Χανιά – Μάρτιος 2017



ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ ΚΡΗΤΗΣ

ΣΧΟΛΗ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

Διπλωματική Εργασία

**ΑΠΟΜΑΚΡΥΝΣΗ ΑΝΑΔΥΟΜΕΝΩΝ ΟΡΓΑΝΙΚΩΝ ΡΥΠΩΝ
ΑΠΟ ΔΕΥΤΕΡΟΒΑΘΜΙΑ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΜΕΝΑ ΛΥΜΑΤΑ ΜΕ
ΧΡΗΣΗ ΥΓΡΟΒΙΟΤΟΠΟΥ**

Επιβλέπων: Καθηγητής κ. Καλογεράκης Νικόλαος

Εξεταστική Επιτροπή: Επίκουρος Καθηγητής κ. Παρανυχιανάκης Νικόλαος

Μεταδιδακτορική Ερευνήτρια κ. Μανουσάκη Ελένη

Χανιά – Μάρτιος 2017

Στην αδερφή μου, Νίνα

Οι αναδύομενοι οργανικοί ρύποι (Emerging Organic Contaminants, EOCs) είναι κατά κύριο λόγο σύνθετες οργανικές χημικές ενώσεις, και περιλαμβάνουν ανθρωπογενούς και φυσικής προέλευσης χημικές ουσίες, όπως οι φαρμακευτικές ουσίες και τα προϊόντα προσωπικής φροντίδας (Pharmaceuticals and Personal Care Products, PPCPs) και οι ενδοκρινικοί διαταράκτες (Endocrine Disrupting Chemicals, EDCs). Παρόλο που η συγκέντρωσή τους στο περιβάλλον είναι μικρή, έχουν τη δυνατότητα να έχουν δυσμενείς επιπτώσεις στους οργανισμούς. Η παρουσίας τους είναι συνεχής καθώς διοχετεύονται στο περιβάλλον ασταμάτητα. Η κύρια πηγή εισόδου τους στο φυσικό περιβάλλον είναι η έξοδος των βιολογικών καθαρισμών. Στα PPCPs ανήκουν δύο από τα πιο συχνά ανιχνεύσιμα αντιβιοτικά, η σιπροφλοξασίνη (ciprofloxacin, CIP) και η σουλφαμεθοξαζόλη (sulfamethoxazole, SMX), ενώ από τα EDCs η BPA θεωρείται από τους πιο μελετημένους ρύπους.

Δεδομένου ότι οι εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων συμβατικού τύπου δεν χαρακτηρίζονται από την ικανότητά τους στην απομάκρυνση των EOCs, διότι δεν έχουν σχεδιαστεί για τον συγκεκριμένο σκοπό, ποικίλων ειδών τεχνικές έχουν εφαρμοστεί τα τελευταία χρόνια, με στόχο την αποδοτικότερη επεξεργασία των EOCs. Οι φυσικές μέθοδοι απομάκρυνσης των EOCs, έχουν αποδειχθεί μη αποδοτικές στην απομάκρυνση των EOCs, ενώ η εφαρμογή βελτιωμένων τεχνικών τριτοβάθμιου τύπου επεξεργασίας, παρόλο που είναι αποδοτικές, έχουν περιορισμένη εφαρμογή λόγω του υψηλού κόστους και κατανάλωσης ενέργειας. Ειδικότερα, οι εξεταζόμενες ενώσεις BPA, CIP και SMX έχει αποδειχθεί ότι δεν απομακρύνονται ικανοποιητικά με την εφαρμογή συμβατικών μεθόδων επεξεργασίας και γι' αυτό το λόγο ανιχνεύονται συχνά στο περιβάλλον σε υψηλές συγκεντρώσεις.

Μία μέθοδος, η οποία είναι απλή, περιβαλλοντικά αποδεκτή και αξιοποιεί την συνεργιστική δράση των φυτών με τους σχετιζόμενους με αυτά μικροοργανισμούς, για την επεξεργασία των ρύπων EOCs, είναι οι τεχνητοί υγροβιότοποι (TY). Οι TY βασίζονται στην τεχνολογία της

φυτοεξυγίανσης, η οποία στηρίζεται στην απορρόφηση της ένωσης από την ρίζα, στις εκκρίσεις της ρίζας και στην συνεισφορά των μικροοργανισμών της ριζόσφαιρας. Χαρακτηρίζονται ως χαμηλού κόστους, μη συμβατικές τεχνολογίες και με αποτελεσματικότητα στην απομάκρυνση των EOCs. Παρ' όλα αυτά, οι τρέχουσες γνώσεις σχετικά με την αποδοτικότητα της απομάκρυνσης των EOCs από τους ΤΥ και οι επιδράσεις διαφόρων σημαντικών παραμέτρων, κρίνονται ως περιορισμένες. Επιπλέον, αν και υπάρχουν αρκετές δημοσιευμένες μελέτες, οι οποίες εξετάζουν την συμβολή των φυτών στην απομάκρυνση των εν λόγω ενώσεων, δεν παύουν να υφίστανται ελλείψεις στο συγκεκριμένο θέμα.

Στην παρούσα διπλωματική εργασία, διεξήχθη μία προσέγγιση του συστήματος του υδρόβιου φυτού *Juncus acutus*, για την μελέτη της ικανότητας αυτού να απομακρύνει συγκεντρώσεις των οργανικών ρύπων BPA, CIP και SMX με χρήση τεχνητού υδροβιότοπου. Για το λόγο αυτό, χρησιμοποιήθηκε ένα σύστημα ΤΥ με *J. acutus* και μία μονάδα ελέγχου απουσία βλάστησης. Πραγματοποιήθηκε σχεδιασμός ενός κύκλου πειραμάτων, στον οποίο εξετάστηκαν η επίδραση του φυτού, η επίδραση του HRT και η εποχικότητα, στην απομάκρυνση των εν λόγω ενώσεων. Επίσης, μελετήθηκε η απόδοση του συστήματος για την επεξεργασία πρωτοβάθμια επεξεργασμένου λύματος.

Τα αποτελέσματα κατέδειξαν την ουσιώδη συμβολή των φυτών στην απομάκρυνση της BPA. Το ποσοστό απομάκρυνσης μάζας της ένωσης, προς αυτή που εισάγεται στον φυτεμένο υδροβιότοπο υπολογίστηκε άνω του 70%, σε σχέση με 27% όταν απουσίαζε η βλάστηση. Η συγκέντρωση της CIP έδειξε να απομακρύνεται σε σημαντικό ποσοστό στο σύστημα ελέγχου, υποδηλώνοντας τη συμμετοχή φυσικής αποδόμησης απουσία φυτών. Παρόλα αυτά, διαπιστώθηκε η συνεισφορά των φυτών στην απομάκρυνση. Σχετικά με την επίδραση του υδραυλικού χρόνου παραμονής, επισημάνθηκε η υπεροχή του συστήματος κατά τη λειτουργία σε HRT 2 d, ενώ στην περίπτωση της CIP ήταν μικρότερη. Η απομάκρυνση της SMX, έδειξε να επηρεάζεται ελαφρώς και γενικά υπογραμμίστηκε η ανθεκτικότητά της στην επεξεργασία. Παρατηρήθηκε επίσης ότι η απομάκρυνση της BPA επηρεάζεται από την εποχικότητα, ενώ τέλος, η απόδοσή του υδροβιότοπου ως δευτεροβάθμια επεξεργασία βρέθηκε μειωμένη στην απομάκρυνση της ένωσης, σε σύγκριση με το πλήθος των υπόλοιπων πειραμάτων.

Εν κατακλείδι, θεωρούμε ότι το *J. acutus* είναι σημαντικός υποψήφιος για εφαρμογή σε τεχνητούς υδροβιότοπους για επεξεργασία λυμάτων από αναδεδυμένους οργανικούς ρύπους. Τα μηδενικά

ορατά συμπτώματα καταπόνησης, ο χαρακτηριστικά υψηλός ρυθμός ανάπτυξης υπέργειου και υπόγειου τμήματος, καθώς και η σημαντική συνεισφορά του στην απομάκρυνση κάποιων από τις υπό εξέταση οργανικές ενώσεις, υπό συγκεκριμένες συνθήκες λειτουργίας, συντείνουν στο παραπάνω συμπέρασμα.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Πριν την παρουσίαση της παρούσας διπλωματικής εργασίας, αισθάνομαι την υποχρέωση να ευχαριστήσω ορισμένους από τους ανθρώπους που γνώρισα, συνεργάστηκα μαζί τους και κατείχαν πολύ σημαντικό ρόλο στην διεκπεραίωσή της.

Θα ήθελα καταρχάς να ευχαριστήσω και να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου στον επιβλέποντα Καθηγητή της διπλωματικής μου εργασίας, κ. Νικόλαο Καλογεράκη, για την ανάθεση της εν λόγω εργασίας, την εμπιστοσύνη που μου έδειξε και την καθοδήγησή του καθ' όλη τη διάρκεια εκπόνησής της. Επίσης, να ευχαριστήσω τα μέλη της εξεταστικής επιτροπής, την Μεταδιδακτορική Ερευνήτρια κ. Ελένη Μανουσάκη και τον Επίκουρο Καθηγητή κ. Νικόλαο Παρανυχιανάκη, για τον χρόνο που διέθεσαν για την αξιολόγηση της παρούσας εργασίας. Στη συνέχεια, οφείλω ένα μεγάλο ευχαριστώ στον υποψήφιο διδάκτορα κ. Σταύρο Χριστοφιλόπουλο, ο οποίος στάθηκε σημαντικός αρωγός στην προσπάθειά μου με την βοήθειά του από την αρχή μέχρι και το τέλος, με τις πολύτιμες επιστημονικές συμβουλές του και την άριστη συνεργασία. Επίσης, ευχαριστώ την Ελίνα Γιαντζή για την πολύτιμη γνωριμία και την ηθική στήριξή της κατά τη διάρκεια πραγματοποίησης των πειραμάτων. Ευχαριστώ ακόμη όλους τους ανθρώπους του εργαστηρίου Βιοχημικής Μηχανικής & Περιβαλλοντικής Βιοτεχνολογίας, για το ευχάριστο περιβάλλον και την άψογη συνεργασία μας κατά τη διάρκεια των πειραμάτων.

Τέλος, ένα τεράστιο ευχαριστώ από καρδιάς στους γονείς μου Γιώργο και Κική, για την αμέριστη αγάπη τους και την ψυχολογική και οικονομική υποστήριξή τους όλα αυτά τα χρόνια. Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω τις αδερφές μου Νίνα και Μαρία για την αγάπη τους και την πολύτιμη επέμβαση τους σε στιγμές όπου η στήριξή τους υπήρξε σωτήρια. Ένα τελευταίο και μεγάλο ευχαριστώ στους τέσσερις πολύ κοντινούς μου ανθρώπους, οι οποίοι μου στάθηκαν πάρα πολύ με το ανιδιοτελές ενδιαφέρον τους και την αγάπη τους για μένα.

Τριανταφύλλου Κωνσταντίνα,

Μάρτιος 2017.

Πίνακας περιεχομένων

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1	1
ΕΙΣΑΓΩΓΗ	1
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2	5
ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΥΠΟΒΑΘΡΟ	5
2.1 Αναδυόμενοι οργανικοί ρύποι.....	5
2.1.1 Ενδοκρινικοί διαταράκτες	6
2.1.2 Διοφαινόλη – Α	9
2.1.2.1 Διοφαινόλη-Α, παραγωγή και χρήση της	9
2.1.2.2 Φυσικοχημικές ιδιότητες της BPA.....	10
2.1.2.3 Πηγές και απελευθέρωση της BPA στο περιβάλλον.....	11
2.1.2.4 Η διοφαινόλη – Α στο φυσικό περιβάλλον.....	12
2.1.2.4.1 Περιβαλλοντικές συγκεντρώσεις	12
2.1.2.4.2 Τύχη στο υδάτινο περιβάλλον.....	12
2.1.3 Φαρμακευτικές ουσίες και τα προϊόντα προσωπικής φροντίδας.....	13
2.1.4 Σιπροφλοξασίνη	15
2.1.4.1 Σιπροφλοξασίνη, παραγωγή και χρήση της	15
2.1.4.2 Φυσικοχημικές ιδιότητες της CIP	16
2.1.4.3 Πηγές και η απελευθέρωση της CIP στο περιβάλλον	17
2.1.4.4 Η Σιπροφλοξασίνη στο φυσικό περιβάλλον.....	17
2.1.4.4.1 Περιβαλλοντικές συγκεντρώσεις	17
2.1.4.4.2 Τύχη στο υδάτινο περιβάλλον.....	18
2.1.5 Σουλφαμεθοξαζόλη.....	19
2.1.5.1 Σουλφαμεθοξαζόλη, παραγωγή και χρήση της	19
2.1.5.2 Φυσικοχημικές ιδιότητες της SMX.....	20
2.1.5.3 Πηγές και η απελευθέρωση της SMX στο περιβάλλον.....	20
2.1.5.4 Η Σουλφαμεθοξαζόλη στο φυσικό περιβάλλον.....	21
2.1.5.4.1 Περιβαλλοντικές συγκεντρώσεις	21
2.1.5.4.2 Τύχη στο υδάτινο περιβάλλον.....	22
2.1.6 Επιπτώσεις της παρουσίας αντιβιοτικών.....	23

2.2 Χρωματογραφία	23
2.2.1 Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Απόδοσης.....	24
2.2.2 Οργανολογία Υγρής Χρωματογραφίας Υψηλής Απόδοσης	25
2.3 Μικροεκχύλιση	28
2.3.1 Η έννοια της μικροεκχύλισης	28
2.3.2 Υγρή – Υγρή Μικροεκχύλιση Υποβοηθούμενη Από Vortex.....	29
2.4 Συμβατικές μέθοδοι επεξεργασίας των EOCs.....	32
2.5 Τεχνητοί υγροβιότοποι.....	32
2.5.1 Το σύστημα του Τεχνητού Υγροβιότοπου.....	32
2.5.2 Τεχνητοί Υγροβιότοποι οριζόντιας υποεπιφανειακής ροής	33
2.5.3 Οι Τεχνητοί Υγροβιότοποι στην επεξεργασία των EOCs.....	34
2.6 Φυτοεξυγίανση	35
2.6.1 Ο ορισμός της Φυτοεξυγίανσης	35
2.6.2 Ο ρόλος των φυτών	36
2.6.3 Κριτήρια επιλογής των φυτών.....	37
2.6.4 Το φυτό <i>Juncus acutus</i>	37
2.6.4.1 Γενικά στοιχεία για το γένος <i>Juncus</i>	37
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3	39
ΥΛΙΚΑ & ΜΕΘΟΔΟΙ	39
3.1 Περιγραφή συστήματος.....	39
3.1.1 Υγροβιότοπος με <i>Juncus acutus</i>	39
3.1.2 Υγροβιότοπος Ελέγχου	40
3.2 Πειραματικός σχεδιασμός.....	41
3.3 Υλικά	44
3.3.1 Αντιδραστήρια	44
3.3.2 Όργανα – Συσκευές.....	44
3.4 Αναλύσεις με HPLC.....	45
3.5 Αναλύσεις με VALLME	45
3.6 Υπολογισμοί.....	46
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4	50
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ & ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	50
4.1 Βαθμονόμηση	50

4.1.1 Βαθμονόμηση φθορισμομετρικού ανιχνευτή (FLD).....	51
4.1.2 Βαθμονόμηση ανιχνευτή παράταξης φωτοδιόδων (PDA)	55
4.2 Ποιοτικά χαρακτηριστικά νερού	57
4.3 Μελέτη της επίδρασης του <i>Juncus acutus</i> στην απομάκρυνση οργανικών ρύπων	59
4.3.1 Απομάκρυνση της BPA	60
4.3.2 Απομάκρυνση των αντιβιοτικών.....	63
4.4 Απόδοση του υγροβιότοπου σε διαφορετικές συνθήκες λειτουργίας	65
4.4.1 Επίδραση του υδραυλικού χρόνου παραμονής.....	65
4.4.1.1 Απομάκρυνση της BPA.....	66
4.4.1.2 Απομάκρυνση αντιβιοτικών	68
4.4.2 Επίδραση εποχικότητας στην απομάκρυνση της BPA	70
4.4.3 Λειτουργία του υγροβιότοπου ως δευτεροβάθμια επεξεργασία	72
4.5 Συμπεράσματα & Προτάσεις.....	75
BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	78

Ευρετήριο εικόνων

Εικόνα 1: Χημική δομή της δισφαινόλης (Sharma et al., 2016).....	11
Εικόνα 2: Η πορεία των αντιβιοτικών προς το περιβάλλον (Kümmerer, 2009).....	15
Εικόνα 3: Διάταξη ενός συστήματος HPLC (Μανουσάκη, 2003).....	26
Εικόνα 4: (α) Ο υγροβιότοπος του ποταμού Μορώνη και (β) ένα τυπικός εκπρόσωπος του είδους <i>Juncus acutus</i> στον τόπο όπου είχε γίνει η συλλογή τους για την κατασκευή του υγροβιότοπου.....	38
Εικόνα 5: Παρουσίαση του Υγροβιότοπου με τα <i>Juncus acutus</i> και του Υγροβιότοπου Ελέγχου στην εγκατάσταση επεξεργασίας λυμάτων της πόλης των Χανίων.	40
Εικόνα 6: (α) Παρουσίαση εισόδου και εξόδου στον Υγροβιότοπο με <i>Juncus acutus</i> στην εγκατάσταση επεξεργασίας λυμάτων της πόλης των Χανίων και (β) Παρουσίαση εξόδου στον Υγροβιότοπο με <i>Juncus acutus</i> στην εγκατάσταση επεξεργασίας λυμάτων της πόλης των Χανίων.	41
Εικόνα 7: Παρουσίαση της γραμμικότητας στον FLD στην περίπτωση της απευθείας έγχυσης διαλυμάτων της BPA.	52
Εικόνα 8: Παρουσίαση της γραμμικότητας στον FLD στην περίπτωση της απευθείας έγχυσης διαλυμάτων της CIP.....	53
Εικόνα 9: Παρουσίαση της γραμμικότητας στον FLD στην περίπτωση της χρήσης VALLME για τα διαλύματα της BPA.....	55
Εικόνα 10: Παρουσίαση της γραμμικότητας στον PDA στην περίπτωση της απευθείας έγχυσης διαλυμάτων της SMX.	56
Εικόνα 11: Οι συγκεντρώσεις της BPA στην είσοδο και στην έξοδο της μονάδας ελέγχου και του υγροβιότοπου με τα <i>J. acutus</i> . Η διακεκομμένη γραμμή υποδεικνύει την διακοπή επιμόλυνσης. Ως συγκέντρωση εξόδου έχει ληφθεί η διορθωμένη τιμή λόγω εξατμισοδιαπνοής.....	60
Εικόνα 12: Οι συγκεντρώσεις της CIP στην είσοδο και στην έξοδο της μονάδας ελέγχου και του υγροβιότοπου με τα <i>J. acutus</i> . Η διακεκομμένη γραμμή υποδεικνύει την διακοπή επιμόλυνσης. Ως συγκέντρωση εξόδου έχει ληφθεί η διορθωμένη τιμή λόγω εξατμισοδιαπνοής.....	63
Εικόνα 13: Οι συγκεντρώσεις της SMX στην είσοδο και στην έξοδο της μονάδας ελέγχου και του υγροβιότοπου με τα <i>J. acutus</i> . Η διακεκομμένη γραμμή υποδεικνύει την διακοπή επιμόλυνσης. Ως συγκέντρωση εξόδου έχει ληφθεί η διορθωμένη τιμή λόγω εξατμισοδιαπνοής.....	64
Εικόνα 14: Συγκριτική απεικόνιση της απόδοσης του υγροβιότοπου ως προς την απομάκρυνση της BPA, σε λειτουργία με διαφορετικό υδραυλικό χρόνο παραμονής. Οι συγκεντρώσεις στην έξοδο και για τα δύο πειράματα, αντιστοιχούν στις διορθωμένες τιμές λόγω εξατμισοδιαπνοής.....	67
Εικόνα 15: Συγκριτική απεικόνιση της απόδοσης του υγροβιότοπου ως προς την απομάκρυνση της CIP, σε λειτουργία με διαφορετικό υδραυλικό χρόνο παραμονής. Οι συγκεντρώσεις στην έξοδο και για τα δύο πειράματα, αντιστοιχούν στις διορθωμένες τιμές λόγω εξατμισοδιαπνοής.....	69
Εικόνα 16: Συγκριτική απεικόνιση της απόδοσης του υγροβιότοπου ως προς την απομάκρυνση της SMX, σε λειτουργία με διαφορετικό υδραυλικό χρόνο παραμονής. Οι συγκεντρώσεις στην έξοδο και για τα δύο πειράματα, αντιστοιχούν στις διορθωμένες τιμές λόγω εξατμισοδιαπνοής.....	70
Εικόνα 17: Συγκέντρωση της BPA ως προς τον χρόνο, για τη μελέτη της επίδρασης της εποχικότητας στην απομάκρυνση της BPA (πειράματα HR2 και OB).....	71
Εικόνα 18: Συγκέντρωση της BPA ως προς τον χρόνο, για την λειτουργία του υγροβιότοπου με <i>Juncus acutus</i> ως δευτεροβάθμια επεξεργασία.....	73

Ευρετήριο πινάκων

Πίνακας 1: Κύριες πηγές EDCs (Φροντιστής, 2011).....	8
Πίνακας 2: Λίστα των EOCs που χρησιμοποιήθηκαν	22
Πίνακας 3: Πειραματικός σχεδιασμός – Παρουσίαση πειραμάτων.....	42
Πίνακας 4: Υπολογισμός τυπικής και σχετικής τυπικής απόκλισης για την βαθμονόμηση του FLD για BPA (απευθείας έγχυση διαλυμάτων).	51
Πίνακας 5: Υπολογισμός τυπικής και σχετικής τυπικής απόκλισης για την βαθμονόμηση του FLD για CIP (απευθείας έγχυση διαλυμάτων).	53
Πίνακας 6: Υπολογισμός τυπικής και σχετικής τυπικής απόκλισης για την βαθμονόμηση του FLD για BPA (VALLME).	54
Πίνακας 7: Υπολογισμός τυπικής και σχετικής τυπικής απόκλισης για την βαθμονόμηση του PDA για SMX (απευθείας έγχυση διαλυμάτων).	56
Πίνακας 8 : Μέσες τιμές μετρήσεων των φυσικοχημικών παραμέτρων στην είσοδο και έξοδο του υγροβιότοπου με <i>Juncus acutus</i> και υπολογισμός του ποσοστού μείωσής τους.	57
Πίνακας 9: Αναλύσεις ΔΕΥΑΧ 2015 για τα ποιοτικά χαρακτηριστικά του νερού	58
Πίνακας 10: Παρουσίαση μετεωρολογικών δεδομένων, μέσης εξατμισοδιαπνοής και παροχών, κατά τη διάρκεια των πειραμάτων. Q_{in} είναι η μετρηθείσα παροχή εισόδου και Q_{out} η υπολογισθείσα παροχή εξόδου.	59
Πίνακας 11: Συγκριτική παρουσίαση αποτελεσμάτων των πειραμάτων στον υγροβιότοπο ελέγχου (απουσία βλάστησης) και στον υγροβιότοπο <i>J. acutus</i> . Ο χρόνος παραμονής (HRT) και στα δύο πειράματα είναι 1 ημέρα. C_{in} , C_{out} είναι η μέση τιμή των συγκεντρώσεις στην είσοδο και την έξοδο του υγροβιότοπου, όπως μετρήθηκαν στην HPHR1. Η σημείωση ET υποδεικνύει τον τη συμμετοχή της εξατμισοδιαπνοής για τον υπολογισμό της αναφερόμενης τιμής.	62
Πίνακας 12: Συγκριτική παρουσίαση αποτελεσμάτων των πειραμάτων HR1, HR2, PR, OB τα οποία έλαβαν χώρα στον υγροβιότοπο <i>J. acutus</i> . C_{in} , C_{out} είναι οι μετρηθείσες συγκεντρώσεις στην είσοδο και την έξοδο του υγροβιότοπου. Η σημείωση ET υποδεικνύει τη συμμετοχή της εξατμισοδιαπνοής για τον υπολογισμό της αναφερόμενης τιμής.....	74

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η ρύπανση του νερού αποτελεί κυρίαρχο περιβαλλοντικό πρόβλημα, καθώς έχει ως απόρροια την παγκόσμια ανησυχία. Η αυξημένη απελευθέρωση χημικών ενώσεων ανθρωπογενούς προέλευσης στο περιβάλλον, οφείλεται εν μέρει στην αστικοποίηση και στην βιομηχανοποίηση διότι ανεπεξέργαστα ή μερικώς επεξεργασμένα αστικά και βιομηχανικά λύματα καταλήγουν στους αποδέκτες (Avila et al., 2013). Οι αναδυόμενοι οργανικοί ρύποι (Emerging Organic Contaminants, EOCs) αποτελούνται από μία μεγάλη ομάδα συνθετικών και φυσικών χημικών ενώσεων, οι οποίες ανιχνεύονται συνήθως σε αστικά, βιομηχανικά, νοσοκομειακά ή γεωργικά λύματα (Talib and Randhir, 2016). Στην προαναφερόμενη κατηγορία ρύπων περιλαμβάνονται τα παρασιτοκτόνα, τα επιβραδυντικά καύσης, οι φαρμακευτικές ουσίες και τα προϊόντα προσωπικής φροντίδας (Pharmaceuticals and Personal Care Products, PPCPs), οι ενδοκρινικοί διαταράκτες (Endocrine Disrupting Chemicals, EDCs) και άλλες ουσίες οι οποίες δύναται να προκαλέσουν δυσμενείς επιδράσεις στο περιβάλλον, στην ανθρώπινη υγεία και στους ζωντανούς οργανισμούς (Ahmed et al., 2016) (Kuster et al., 2008).

Άλλες σημαντικές πηγές απελευθέρωσης των EOCs αποτελούν τα οικιακά απόβλητα, οι απορροές, οι γεωργικές δραστηριότητες (όπως οι καλλιέργειες και τα περιττώματα των ζώων), οι νοσοκομειακές εκροές, τα απόβλητα των υδατοκαλλιεργειών και των φαρμακοβιομηχανιών (Talib and Randhir, 2016) (Toro-Velez et al., 2016) (Pal et al., 2010) (Lapworth et al., 2012). Οι πιθανές επιδράσεις των EOCs στην ανθρώπινη υγεία και σε άλλους οργανισμούς έχουν μελετηθεί εμπεριστατωμένα σε πολλές έρευνες και ποικίλουν (Pal et al., 2014) (Pal et al., 2010). Οι EDCs, δηλαδή τα παρασιτοκτόνα, τα βιοκτόνα, οι χημικοί καταλύτες και οι πλαστικοποιητές δύναται να προκαλέσουν διαταραχές στο ενδοκρινικό σύστημα, επηρεάζοντας, με αυτόν τον τρόπο, αρνητικά την ανθρώπινη υγεία και διάφορους άλλους οργανισμούς (Ahmed et al., 2016) (Toro-Velez et al., 2016) (Bolong et al., 2009). Τα αντιβιοτικά από την άλλη, μία υποκατηγορία των PPCPs,

χαρακτηρίζονται ως υψηλής ανησυχίας φαρμακευτικές ουσίες, καθώς η μακροπρόθεσμη παρουσία τους σε χαμηλές συγκεντρώσεις μπορεί να οδηγήσει στην εξάπλωση των γονιδίων που εμπεριέχονται στα βακτήρια και παρουσιάζουν ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά (Ahmed et al., 2016) (Sui et al., 2015). Συνεπώς, τα γονίδια ανθεκτικότητας, στην συνέχεια, δύναται να μεταφερθούν στα παθογόνα που προκαλούν τις ανθρώπινες ασθένειες, γεννώντας έτσι υψηλό κίνδυνο για την ανθρώπινη υγεία (Pal et al., 2014).

Η απομάκρυνση των EOCs, τις τελευταίες δεκαετίες, κρίνεται ως υψηλού ενδιαφέροντος θέμα και έχει αποκτήσει μεγάλες διαστάσεις, λόγω των προαναφερόμενων δυσμενών επιπτώσεών τους (Sui et al., 2015). Η παρουσία των εν λόγω ρύπων στο υδάτινο περιβάλλον είναι ισχυρή, λόγω της μη ολοκληρωμένης απομάκρυνσής τους στις εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων συμβατικού τύπου. Με στόχο την αποδοτικότερη επεξεργασία των EOCs, έχουν εφαρμοστεί διαφόρων ειδών τεχνικές, οι οποίες περιλαμβάνουν φυσικές, χημικές και βιολογικές διεργασίες, όπως είναι η φωτόλυση, η υδρόλυση, η εξαέρωση, η ρόφηση, η απλή αραίωση και η βιοαποδόμηση, η οποία αποτελεί την πιο ευρέως εφαρμοσμένη μέθοδο σε σχέση με όλες τις υπόλοιπες (García-Rodríguez et al., 2014). Διάφορες τεχνικές βελτιωμένου τύπου επεξεργασίας, όπως η οζονοποίηση, ο ενεργός άνθρακας και οι βιοαντιδραστήρες μεμβράνης, έχουν εφαρμοστεί τα τελευταία χρόνια, έχοντας ως απόρροια αποδοτικά ποσοστά απομάκρυνσης των EOCs. Όμως, οι προαναφερόμενες διαδικασίες δεν χρησιμοποιούνται ευρέως, λόγω του υψηλού κόστους και της κατανάλωσης ενέργειας. Μία τεχνική, η οποία παρουσιάζει οικονομικό συμφέρον, είναι απλή και χαρακτηρίζεται ως αειφόρος εναλλακτική των συμβατικών μεθόδων επεξεργασίας των EOCs, είναι οι τεχνητοί υγροβιότοποι (TY) (Avila et al., 2013).

Οι TY είναι φυσικά συστήματα επεξεργασίας, τα οποία έχουν σχεδιαστεί και κατασκευαστεί για την αξιοποίηση των φυσικών λειτουργιών της βλάστησης του υγροβιότοπου, του εδαφικού μέσου και των σχετιζόμενων μικροοργανισμών, με στόχο την επεξεργασία των λυμάτων μέσα σε ένα πιο ελεγχόμενο περιβάλλον. Ο εν λόγω συνδυασμός των φυτών με τους μικροοργανισμούς τους για την επεξεργασία των λυμάτων, αποτελεί το πλεονέκτημα των TY έναντι των υπόλοιπων βιολογικών, φυσικών και χημικών διεργασιών, οι οποίες λαμβάνουν χώρα στους φυσικούς υγροβιότοπους (Zhang et al., 2015).

Η συνεισφορά των TY στην επεξεργασία των EOCs έχει αποτελέσει αρκετές φορές αντικείμενο μελέτης, κυρίως σε σχέση με τις παραμέτρους από τις οποίες εξαρτώνται οι μηχανισμοί

απομάκρυνσης, όπως είναι η βλάστηση, η εποχικότητα και οι αναερόβιες ή αερόβιες συνθήκες. Έχει αναφερθεί ότι στους οριζόντιας υποεπιφανειακής ροής TY (Horizontal Subsurface Flow, HSSF CWs), επικρατούν κυρίως αναερόβιες συνθήκες, οι οποίες γενικότερα είναι λιγότερο αποτελεσματικές σε σύγκριση με τις αερόβιες, επισημαίνοντας ότι η απομάκρυνση κάποιων υδροφοβικών ουσιών, όπως είναι η BPA, οφείλεται στην προσρόφηση (Garcia-Rodríguez et al., 2014). Μολαταύτα, έχουν δημοσιευτεί υψηλά ποσοστά απομάκρυνσης των EOCs από HSSF CWs, μεταξύ του εύρους 85 – 95% (Ávila et al., 2010). Ομοίως, στην βιβλιογραφία έχουν καταγραφεί αρκετές μελέτες σε σχέση με την απομάκρυνση των PPCPs μέσω TY, περιγράφοντας την διαδικασία της ρόφησης στο χαλίκι και σε διάφορα άλλα είδη εδάφους, καθώς και τον ρόλο των φυτών και των συσχετιζόμενων μικροοργανισμών τους (Li et al., 2014).

Διάφορες μελέτες έχουν διεξαχθεί σχετικά με τον ρόλο των μακρόφυτων στην απόδοση των TY, με τελικό συμπέρασμα ότι η επιλογή των φυτών δεν διαδραματίζει σημαντικό ρόλο (Brisson and Chazarenc, 2009). Παρ' όλα αυτά, οι TY δεν χαρακτηρίζονται ως μία νέα ανεπτυγμένη τεχνική, διότι τα είδη των φυτών τα οποία έχουν εξεταστεί για χρήση σε υγροβιότοπους είναι περιορισμένα. Η συνεργιστική δράση των φυτών με τους συσχετιζόμενους μικροοργανισμούς τους έχει παρουσιαστεί εμπεριστατωμένα σε μελέτη, στην οποία περιγράφονταν οι διεργασίες που πραγματοποιούνται στην περιοχή των ριζών, η μεταφορά οξυγόνου και οι μηχανισμοί απορρόφησης από την ρίζα. Συνεπώς, η έρευνα για την επιλογή των φυτών, τα οποία προορίζονται για συγκεκριμένες εφαρμογές, κρίνεται αναγκαία (Stottmeister et al., 2003). Μάλιστα, σε μία πρόσφατη μελέτη (Syranidou, 2016), παρουσιάστηκε εμπεριστατωμένα η δυνατότητα των ενδοφυτικών βακτηρίων του *J. acutus* στην απομάκρυνση της BPA από το έδαφος. Παρατηρήθηκε ότι διάφορα στελέχη παρουσίασαν ανθεκτικότητα στην BPA και η τελευταία μαζί με την CIP και την SMX, χρησιμοποιήθηκαν ως αποκλειστική πηγή άνθρακα.

Ο σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι η έρευνα της δυνατότητας του ελόφυτου *Juncus acutus* για αποδόμηση της δισφαινόλης - Α (BPA) και των αντιβιοτικών σουλφαμεθοξαζόλη (sulfamethoxazole, SMX) και σιπροφλοξασίνη (ciprofloxacin, CIP), υπό συγκεκριμένες παραμέτρους, όπως ο υδραυλικός χρόνος παραμονής (Hydraulic Retention Time, HRT) και η συγκέντρωση. Για τον εν λόγω σκοπό, χρησιμοποιήθηκε μία πιλοτική μονάδα HSSF CWs στην εγκατάσταση επεξεργασίας υγρών αποβλήτων του Νομού Χανίων και τροφοδοτήθηκε με δευτεροβάθμια επεξεργασμένο λύμα, τεχνητά επιμολυσμένο με τους εξεταζόμενους

οργανικούς ρύπους. Παράλληλα με την τροφοδότηση του ΤΥ, τα ποιοτικά χαρακτηριστικά της εισροής και εκροής του λύματος καταμετρούνταν, έτσι ώστε να επιτευχθεί η καλύτερη δυνατή εκτίμηση της αποδοτικότητας του ΤΥ.

2.1 Αναδυόμενοι οργανικοί ρύποι

Οι αναδυόμενοι οργανικοί ρύποι (Emerging Organic Contaminants, EOCs) είναι κατά κύριο λόγο σύνθετες οργανικές χημικές ενώσεις, των οποίων η ανίχνευση πραγματοποιήθηκε πρόσφατα, σε φυσικά περιβάλλοντα. Συνιστούν μία μεγάλη και σχετικά καινούργια ομάδα ρύπων, οι οποίοι μέχρι πρότινος δεν είχαν κατηγοριοποιηθεί (Ahmed et al., 2016). Σε αυτή την κατηγορία ρύπων περιλαμβάνονται ανθρωπογενούς και φυσικής προέλευσης χημικές ουσίες, φαρμακευτικά και προϊόντα προσωπικής φροντίδας (Pharmaceuticals and Personal Care Products, PPCPs), προϊόντα μεταβολισμού και αποδόμησης των PPCPs, ενδοκρινικοί διαταράκτες (Endocrine Disrupting Chemicals, EDCs), παράνομες φαρμακευτικές ουσίες, κατασκευαστικά ναυοϋλικά και γονίδια ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά, τα οποία εμπεριέχονται στα βακτήρια και στο έδαφος (Antibiotic Resistance Genes, ARGs) (Noguera-Oviedo and Aga, 2016).

Οι κυριότερες πηγές προέλευσης των EOCs είναι τα νοσοκομειακά απόβλητα (όπως απορρίμματα και ληγμένα φάρμακα), τα ιατρικά απόβλητα αστικού χαρακτήρα (φάρμακα που έχουν λήξει ή καταναλωθεί και οδηγούνται στο σύστημα αποχέτευσης και στην σηπτική δεξαμενή) και απόβλητα φαρμακοβιομηχανιών (φαρμακευτικές ουσίες οι οποίες εμπεριέχονται στα βιομηχανικά απόβλητα ή καταλήγουν υπό μορφή σκόνης στα φρεάτια απορροής). Επιπλέον, οι ρύποι EOCs έχουν ανιχνευθεί και σε φαρμακευτικές ουσίες που εφαρμόζονται στα ζώα (μέσω της ένεσης ορμονών και φαρμάκων σε πουλερικά και βοοειδή), σε απόβλητα ιχθυοκαλλιεργειών (μέσω της χρήσης ορμονών και αντιβιοτικών για την τροφή των ψαριών καθώς και της προσθήκης αντιβιοτικών στο νερό) και τέλος σε απόβλητα που προκύπτουν από τις εγκαταστάσεις

επεξεργασίας λυμάτων (υπολείμματα των αποβλήτων στα οποία εμπεριέχονται φάρμακα και ορμόνες) (Talib and Randhir, 2016).

Η παρουσία των EOCs στην ανθρώπινη ζωή και το υδάτινο περιβάλλον, σε περιβαλλοντικά αποδεκτές συγκεντρώσεις, δύναται να έχει δηλητηριώδεις επιδράσεις. Η συγκέντρωση των EOCs μπορεί να κυμαίνεται από χαμηλές τιμές ng L^{-1} έως υψηλές τιμές εκατοντάδων $\mu\text{g L}^{-1}$. Το εύρος τέτοιων τιμών συγκέντρωσης EOCs σε υδάτινο περιβάλλον, μπορεί να έχει αρνητικές επιδράσεις τόσο στην οικολογία όσο και στην ανθρώπινη υγεία. Η προσβολή του ενδοκρινικού συστήματος μιας ευρείας ποικιλίας οργανισμών αποτελεί μία από τις πιο βαρυσήμαντες προαναφερόμενες επιδράσεις των EOCs όπως επίσης και η συσσώρευσή τους στο έδαφος, στα φυτά και στα ζώα, σε περίπτωση που δεν πραγματοποιηθεί πλήρης απομάκρυνσή τους από τις συμβατικές διαδικασίες επεξεργασίας υγρών αποβλήτων (Ahmed et al., 2016). Εν κατακλείδι, οι EOCs μπορεί να μην έχουν ανιχνευθεί στο πόσιμο νερό, δύναται πάραυτα όπως αναλύθηκε και παραπάνω να προκαλέσουν σοβαρές διαταραχές ακόμη και σε συγκεντρώσεις χαμηλού επιπέδου, για τον λόγο αυτό άλλωστε αναφέρονται στην βιβλιογραφία και ως Ρύποι Επείγουσας Παρακολούθησης (Contaminants of Emerging Concern) (Noguera-Oviedo and Aga, 2016).

2.1.1 Ενδοκρινικοί διαταράκτες

Ως ενδοκρινικοί διαταράκτες (Endocrine Disrupting Chemicals, EDCs) ονομάζονται οι εξωγενείς ενώσεις οι οποίες δύναται να διαταράξουν το ορμονικό και ενδοκρινικό σύστημα, έχοντας συνεπώς επίδραση , στην υγεία και την αναπαραγωγή των ανθρώπων και των ζώων. Οι EDCs έχουν την ικανότητα να παρεμποδίσουν την παραγωγή και την απελευθέρωση ορμονών, προκαλώντας σοβαρά προβλήματα στον μεταβολισμό του ανθρώπου καθώς και διαταραχές κλινικής μορφής (Toro-Velez et al., 2016). Οι δυσμενείς επιδράσεις των EDCs σχετίζονται με τον θρυμματισμό των αυγών από πτηνά, ψάρια και χελώνες, προβλήματα σε συστήματα αναπαραγωγής, διαταραχές στο ανοσοποιητικό σύστημα των θαλάσσιων θηλαστικών, αδυναμία του ανθρώπινου σπέρματος, αύξηση των περιστατικών καρκίνου του στήθους και του προστάτη καθώς και περιστατικά ενδομητρίωσης (Ahmed et al., 2016).

Οι EDCs μπορούν να ταξινομηθούν σε δύο μεγάλες κατηγορίες εκ των οποίων η μία περιλαμβάνει τις χημικές ενώσεις με φυσική προέλευση και η άλλη τις συνθετικές ενώσεις. Στην πρώτη κατηγορία εμπεριέχονται φυσικές χημικές ενώσεις οι οποίες βρίσκονται στις τροφές του ανθρώπου και των ζώων (γνωστές ως φυτοοιστρογόνα, όπως η γενιστεΐνη ή η κουμεστρόλη). Η δεύτερη κατηγορία περιλαμβάνει συνθετικές χημικές ουσίες που χρησιμοποιούνται σαν βιομηχανικοί διαλύτες ή λιπαντικά καθώς και τα παραπροϊόντα αυτών (όπως τα πολυχλωριωμένα διφαινύλια (polychlorinated biphenyls, PCBs), πολυβρωμιωμένα διφαινύλια (polybrominated biphenyls, PBBs) και οι διοξίνες). Επιπλέον, στην προαναφερόμενη κατηγορία ανήκουν και τα πλαστικά (όπως η δισφαινόλη Α (bisphenol A, BPA), οι πλαστικοποιητές, τα φυτοφάρμακα (όπως το διχλωρο - διφαινυλοτριχλωροαιθάνιο (dichloro - diphenyltrichloroethane, DDT)), μυκητοκτόνα και διάφορες φαρμακευτικές ουσίες (όπως η διαιθυλοστιλβεστρόλη (diethylstilbestrol, DES) (Kabir et al., 2015).

Παράλληλα, στην βιβλιογραφία γίνεται αναφορά και σε μία τρίτη κατηγορία EDCs, εκείνων που συσχετίζονται με τις πηγές προέλευσής τους. Τέτοια παραδείγματα αφορούν κυρίως φυσικές και τεχνητές ορμόνες (όπως φυτοοιστρογόνα και ωμέγα-3 λιπαρά οξέα), φαρμακευτικές ουσίες με ορμονικές επιδράσεις (όπως ναπροξένη και μετοπρόπολη), χημικές ενώσεις βιομηχανικής ή οικιακής προέλευσης (όπως PCBs και επιβραδυντικά πυρός) και προϊόντα βιομηχανικών και οικιακών διαδικασιών (όπως πολυκυκλικοί αρωματικοί υδρογονάνθρακες (polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs), διοξίνες και πενταχλωροβενζόλιο) (Kabir et al., 2015).

Πίνακας 1: Κύριες πηγές EDCs (Φροντιστής, 2011).

Όξινοι φθαλικοί εστέρες (PAEs), πολυβρωμιούχοι διφαινυλαιθέρες (PBDE), τεταρτο – βρωμοδισφαινόλη Α (TBBA), τριβουτυλοκασσίτερος (TBT), πολυχλωριωμένες διβενζοδιοξίνες (PCDDs) και πολυχλωριωμένα διβενζοφουράνια (PCDFs).

Πηγή EDCs	Υδατικοί αποδέκτες	Τύπος πηγής	Τύπος Ε.Δ.
Εκροή αστικών λυμάτων	Επιφανειακά νερά Υπόγεια νερά	Σημειακή Μη σημειακή	Οιστρογόνα, Επιφανειοδραστικές, PAEs, BPA
Εκροή βιομηχανικών λυμάτων	Επιφανειακά νερά Υπόγεια νερά	Σημειακή Μη σημειακή	Επιφανειοδραστικές, PAHs, PCBs, PBDEs, φυτοφάρμακα, PAEs, BPA
Χρώματα για πλοία	Επιφανειακά νερά	Σημειακός	TBT
Γεωργικές απορροές (ζώα)	Επιφανειακά νερά Υπόγεια νερά	Μη σημειακή Μη σημειακή	Οιστρογόνα
Αστικές απορροές	Επιφανειακά νερά Υπόγεια νερά	Μη σημειακή Μη σημειακή	Φυτοφάρμακα, PAHs
Διασταλλάγματα Χ.Υ.Τ.Α	Υπόγεια νερά	Μη σημειακή	PAHs, PBDEs, TBBA, BPA, PAEs
Ατμοφαιρική εναπόθεση	Επιφανειακά νερά Υπόγεια νερά	Μη σημειακή Μη σημειακή	PAHs, PCBs, PCDDs, PCDFs, PBDEs, TBBA, φυτοφάρμακα
Φύση	Επιφανειακά νερά Υπόγεια νερά	Μη σημειακή Μη σημειακή	PAHs, ορμόνες

2.1.2 Δισφαινόλη – Α

2.1.2.1 Δισφαινόλη-Α, παραγωγή και χρήση της

Η δισφαινόλη-Α (BPA) (4,4-ισοπροπυλιδενοδιφαινόλη ή 2,2-(4,4-διϋδροξυδιφαινύλο)-προπάνιο, με μοριακό τύπο: $C_{15}H_{16}O_2$) είναι μία χημική ένωση, η οποία ανήκει στην κατηγορία των ενδοκρινικών διαταρακτών. Στο σύνολο των EDCs, η BPA θεωρείται από τους πιο μελετημένους ρύπους. Σχεδιάστηκε την δεκαετία του 1890 και χρησιμοποιήθηκε ως τεχνητό οιστρογόνο στις αρχές της δεκαετίας του 1930, λόγω της θετικής δράσης του στο αναπαραγωγικό σύστημα των θηλυκών ποντικών σε εργαστηριακά πειράματα (Giulivo et al., 2016). Σήμερα, η BPA χρησιμοποιείται ευρύτατα στην βιομηχανία πολυκαρβονικών πλαστικών, εποξικών ρητίνων καθώς και σε υλικά συσκευασίας. Στις Ηνωμένες Πολιτείες, η σύνθεση και η παραγωγή της BPA αγγίζει τους 771.000 τόνους (Χριστοφιλόπουλος, 2012), ενώ ετησίως αναφέρεται ότι η παγκόσμια παραγωγή της αγγίζει τους 3 εκ. τόνους (Deblonde et al., 2011). Κατά την διάρκεια της παραγωγής της BPA, απελευθερώνονται στην ατμόσφαιρα περίπου 100 τόνοι της προαναφερόμενης ένωσης, ενώ σχεδόν το 30% της παγκόσμιας παραγωγής εμφανίζεται στην Ευρωπαϊκή Ένωση (Χριστοφιλόπουλος, 2012).

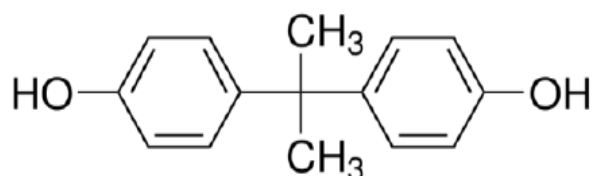
Η BPA αποτελεί ένα από τα πιο συχνά παραγόμενα και χρησιμοποιούμενα χημικά στον κόσμο (Michałowicz, 2014). Περίπου το 65% της παραγόμενης δισφαινόλης, χρησιμοποιείται στην βιομηχανία πλαστικών για την παραγωγή πολυανθρακικών και το 28% για εποξικές ρητίνες. Το υπόλοιπο (7%) χρησιμοποιείται σε άλλα προϊόντα, όπως επιβραδυντικά πυρός, ακόρεστα πολυεστερικά – ρητίνες στυρενίου, προϊόντα PVC κ.ά. (Χριστοφιλόπουλος, 2012). Τα παραγόμενα πλαστικά που εμπεριέχουν BPA, χρησιμοποιούνται σε πλαστικές τσάντες, σε συσκευασίες τροφίμων και ποτών, σε μπουκάλια μωρών, σε μπουκάλια γενικού τύπου, σε μεταλλικές κονσέρβες, σε κατασκευαστικά υλικά (Pal et al., 2014), για την κατασκευή οδοντικών ρητινών, για την εσωτερική κάλυψη μεταλλικών δοχείων, σε ιατρικές συσκευές μονάδων εντατικής θεραπείας νεογνών, σε σαπούνια, σε λοσιόν, σε σαμπουάν και σε αντηλιακά (Giulivo et al., 2016). Επιπλέον, χρησιμοποιείται ως προσθετικό σε θερμικό χαρτί (Χριστοφιλόπουλος, 2012) και σε CDs (Deblonde et al., 2011).

Η BPA αποτελεί ένα από τα πιο σημαντικά τεχνητά ξενοοιστρογόνα και παράλληλα τον πιο συχνά ανιχνεύσιμο ρύπο EDCs σε υπόγεια ύδατα. Παρ' όλα αυτά, αναφέρεται ότι οι επιδράσεις της στην ανθρώπινη υγεία είναι δυσμενείς και σχετίζονται με χρόνιες ασθένειες, όπως διαβήτης, παχυσαρκία, καρδιαγγειακές παθήσεις, εκ γενετής ελαττώματα και διαταραχές στο αναπαραγωγικό σύστημα (Syranidou, 2016). Επίσης, μελέτες έχουν δείξει ότι η BPA δύναται να παρουσιάσει ορμονική δράση σε χαμηλές συγκεντρώσεις και να αυξήσει τις ανωμαλίες στον ανθρώπινο οργανισμό, όπως διαταραχές στην σύναψη και μειωτική ανευπλοειδία. Σε μία πρόσφατη και εμπεριστατωμένη έρευνα σχετικά με τις επιπτώσεις των πλαστικών προσθετικών ουσιών που ανήκουν στην κατηγορία των EDCs, όπως είναι η BPA, αποδείχθηκε ότι ακόμη και τα βρέφη είναι εκτεθειμένα στην BPA, μέσω του μητρικού γάλακτος και των κονσερβοποιημένων τροφίμων για μωρά. Ο συντελεστής επικινδυνότητας (Hazard Index, HI) για την έκθεση των βρεφών στην BPA, έχει υπολογιστεί ότι είναι κάτω από ένα ($0.002 - 0.26$) και αντίστοιχα για τους ενήλικες που εκτίθενται στην BPA μέσω των κονσερβοποιημένων αναψυκτικών, ο HI κυμαίνεται μεταξύ των τιμών $0.002 - 0.03$. Μπορεί οι προαναφερόμενες τιμές να θεωρούνται χαμηλές, όμως ο κίνδυνος πρόκλησης καρκινογενών παθήσεων στον άνθρωπο από την BPA, παραμένει (Pal et al., 2014).

2.1.2.2 Φυσικοχημικές ιδιότητες της BPA

Η BPA είναι οργανική χημική ένωση και έχει μοριακό βάρος ίσο με 228.29 g cm^{-3} . Αποτελεί λευκό στερεό σε μορφή κρυστάλλων, με σημείο τήξης ίσο με 156°C και σημείο βρασμού 220°C (υπό πίεση 5 hPa). Ο συντελεστής κατανομής οκτανόλης – νερού της BPA, οποίος εκφράζεται με την χρήση λογαριθμικής μορφής, ισούται με 3.32 ($\log K_{ow} = 3.32$), τιμή που υποδηλώνει καλού επιπέδου διαλυτότητα σε λίπη και χαμηλού, αντίστοιχα, στο νερό (περίπου 200 mg dm^{-3} στους 25°C) (Syranidou, 2016). Η χαμηλή τιμή του $\log K_{ow}$ δείχνει, επίσης, την λιποφιλικότητα της συγκεκριμένης ένωσης καθώς και την τάση της να προσδένεται σε στερεές φάσεις στα υδατικά οικοσυστήματα (Φροντιστής, 2011). Ως ένωση με σταθερά Henry της τάξης του $4.03 \cdot 10^{-6}$, χαρακτηρίζεται από χαμηλή πτητικότητα (μικρότερη του νερού), ενώ είναι μέτρια υδατοδιαλυτή. Έχει μεγαλύτερη διαλυτότητα σε αλκαλικό pH, ενώ θεωρείται υδρόφοβη ένωση με σταθερά pK_a μεταξύ 9.59 και 11.30 (Χριστοφίλοπουλος, 2012). Η BPA ανήκει στην κατηγορία των φαινολών,

οι οποίες αποτελούνται από ένα υδροξύλιο προσδεμένο στον αρωματικό δακτύλιο. Η παρουσία των υδροξυλικών ομάδων καθορίζει και την καλή αντιδραστικότητά της. Όμοια με άλλες φαινόλες, η BPA μπορεί να μετατραπεί σε αιθέρες, εστέρες και άλατα. Επιπλέον, είναι εφικτή η ηλεκτρόφιλη υποκατάσταση όπως νίτρωση, σουφλιδίωση ή αλκυλίωση (Syranidou, 2016).



Εικόνα 1: Χημική δομή της δισφαινόλης (Sharma et al., 2016).

2.1.2.3 Πηγές και απελευθέρωση της BPA στο περιβάλλον

Η εισαγωγή της BPA στο περιβάλλον δύναται να χαρακτηριστεί ως ποικιλόμορφη. Μπορεί να απελευθερωθεί μέσω των αποβλήτων από τις εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων των βιομηχανιών, από την λυματολάσπη και μέσω των στραγγισμάτων από πλαστικά απόβλητα σε ΧΥΤΑ (Saiyood et al., 2010). Η BPA εισάγεται στο περιβάλλον και κατά την διάρκεια της παραγωγής, χρήσης ή φυσικής και χημικής αποδόμησης καταναλωθέντων προϊόντων, τα οποία εμπεριέχουν ποσότητα του προαναφερόμενου ρύπου EDCs και προορίζονται για απόρριψη. Οι διαδικασίες ανακύκλωσης αποτελούν εξίσου πηγή ρύπανσης από BPA. Πρόσφατη έρευνα έδειξε ότι λόγω της χρήσης πλαστικού ως κύριο υλικό για το πακεταρισμένο φαγητό, διότι έχει την δυνατότητα να παραχθεί σε διάφορα σχήματα και χρώματα, οι περισσότερες συσκευασίες πακεταρισμένου φαγητού εμπεριέχουν BPA, η οποία δύναται κάλλιστα να απελευθερωθεί. Ο Οργανισμός Τροφίμων και Φαρμάκων των Ηνωμένων Πολιτειών Αμερικής (Food and Drugs Administrator, FDA) απαγόρευσε το 2013 να αποτελεί η BPA, η οποία έχει χρησιμοποιηθεί στην παραγωγή εποξικών ρητινών, υλικό κατασκευής των συσκευασιών πακεταρισμένου φαγητού (Baluka and Rumbeiha, 2016).

Σύμφωνα με την Ευρωπαϊκή Επιτροπή, η απέκκριση της BPA σε υδάτινα περιβάλλοντα αποτελεί

των 92% των συνολικών απεκκρίσεων διαφόρων ρύπων (Deblonde et al., 2011). Μετρήσεις βιοσυσσώρευσης, οι οποίες έχουν διεξαχθεί σε ψάρια, δείχνουν ότι δεν υπάρχει σημαντική βιοσυσσώρευση σε σπονδυλωτά αλλά ελαφρώς υψηλότερη αναφέρεται στα ασπόνδυλα του γλυκού νερού (Χριστοφιλόπουλος, 2012). Τιμές συγκεντρώσεων της BPA σε οργανισμούς έχουν ανιχνευθεί και αναφερθεί στην βιβλιογραφία τα τελευταία 20 έτη, πιο συγκεκριμένα σε άλγη, ασπόνδυλα και ψάρια έχει υπολογιστεί ένα εύρος τιμών 0.04 - 0.4 μM και στον ανθρώπινο οργανισμό η συγκέντρωση της BPA κυμαίνεται στα 0.1 – 10 μM (Saiyood et al., 2010).

2.1.2.4 Η δισφαινόλη – Α στο φυσικό περιβάλλον

2.1.2.4.1 Περιβαλλοντικές συγκεντρώσεις

Ποικίλες έρευνες έχουν διεξαχθεί τα τελευταία 20 έτη για τις πηγές όπου εντοπίζονται ποσότητες BPA. Η BPA ανιχνεύεται κυρίως σε ύδατα, σε εγκαταστάσεις επεξεργασίας υγρών αποβλήτων (στην εκροή και στην ιλύ), στην εισροή των σηπτικών δεξαμενών, σε ΧΥΤΑ και σε επιφανειακά νερά. Τα επίπεδα συγκέντρωσης της BPA σε υδατικά δείγματα και δείγματα ιζημάτων, εξαρτώνται κυρίως από την πηγή του δείγματος και την χρονική στιγμή λήψης αυτού. Στην βιβλιογραφία αναφέρονται πολλαπλές τιμές συγκεντρώσεων της BPA ανάλογα με την προέλευση της εκάστοτε δειγματοληψίας. Η συγκέντρωση της BPA στην είσοδο και στην έξοδο μιας εγκατάστασης επεξεργασίας λυμάτων είναι συνήθως 2.07 $\mu\text{g L}^{-1}$ και 0.6 $\mu\text{g L}^{-1}$ αντίστοιχα (Gavrilescu et al., 2015), σε επιφανειακά νερά είναι μεγαλύτερη από 20 $\mu\text{g L}^{-1}$, σε ιζήματα ποταμών ανιχνεύεται σε ποσότητα μεγαλύτερη από 1.63 mg kg^{-1} (Kabir et al., 2015) και τέλος σε ΧΥΤΑ το επίπεδο συγκέντρωσης της BPA κυμαίνεται μεταξύ 0.07 – 269 $\mu\text{g L}^{-1}$ (Joseph et al., 2011).

2.1.2.4.2 Τύχη στο υδάτινο περιβάλλον

Η αποδόμηση της BPA συνιστά εύκολη διαδικασία σε εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων και επιφανειακών νερών και φωτοοξειδώνεται σαν αέρια BPA ή εναποτίθεται σαν σωματίδια από την

ατμόσφαιρα (Γιαντζή, 2007).

Η βιοαποδόμηση της BPA μπορεί να επιτευχθεί με την χρήση βακτηρίων, τα οποία υπάρχουν στις μονάδες επεξεργασίας λυμάτων και σε νερά ποταμών. Το ποσοστό απομάκρυνσης της προαναφερόμενης ένωσης στις εκροές βιολογικών καθαρισμών έχει υπολογιστεί μεγαλύτερο του 90% και οι χρόνοι ημίσειας ζωής σε ποταμούς παρατηρήθηκαν μικρότεροι των 5 ημερών. Τα άλγη παρουσιάζουν επίσης την ικανότητα απομάκρυνσης της BPA. Η απομάκρυνση ευνοείται κάτω από συνθήκες φωτός έως και 63%. Σημαντική παράμετρο από την οποία εξαρτάται η απομάκρυνση της BPA, αποτελεί και η θερμοκρασία. Σε θερμοκρασίες των 30 και 20 °C τα νερά ποταμών παρουσίασαν χρόνους ημίσειας ζωής 4 και 7 ημέρες αντίστοιχα, ενώ σε χαμηλότερες θερμοκρασίες της τάξεως των 4 °C, απομακρύνθηκε μόνο το 20% της BPA σε χρονικό διάστημα 20 ημερών. Οι αερόβιες ή αναερόβιες συνθήκες παρουσιάζουν, επίσης, μεγάλη επίδραση στην αποδόμηση της BPA. Σε αερόβιες συνθήκες, παρατηρήθηκε γρήγορη απομάκρυνση της BPA μεγαλύτερη του 90%, ενώ υπό αναερόβιες συνθήκες η απομάκρυνση της ήταν μικρότερη του 10% σε διάστημα 10 ημερών. Συνεπώς, τα αναερόβια βακτήρια έχουν περιορισμένη έως ανύπαρκτη βιοαποδομητικότητα, με αποτέλεσμα η BPA να παραμένει επί μακρόν διάστημα υπό αναερόβιες συνθήκες (Γιαντζή, 2007).

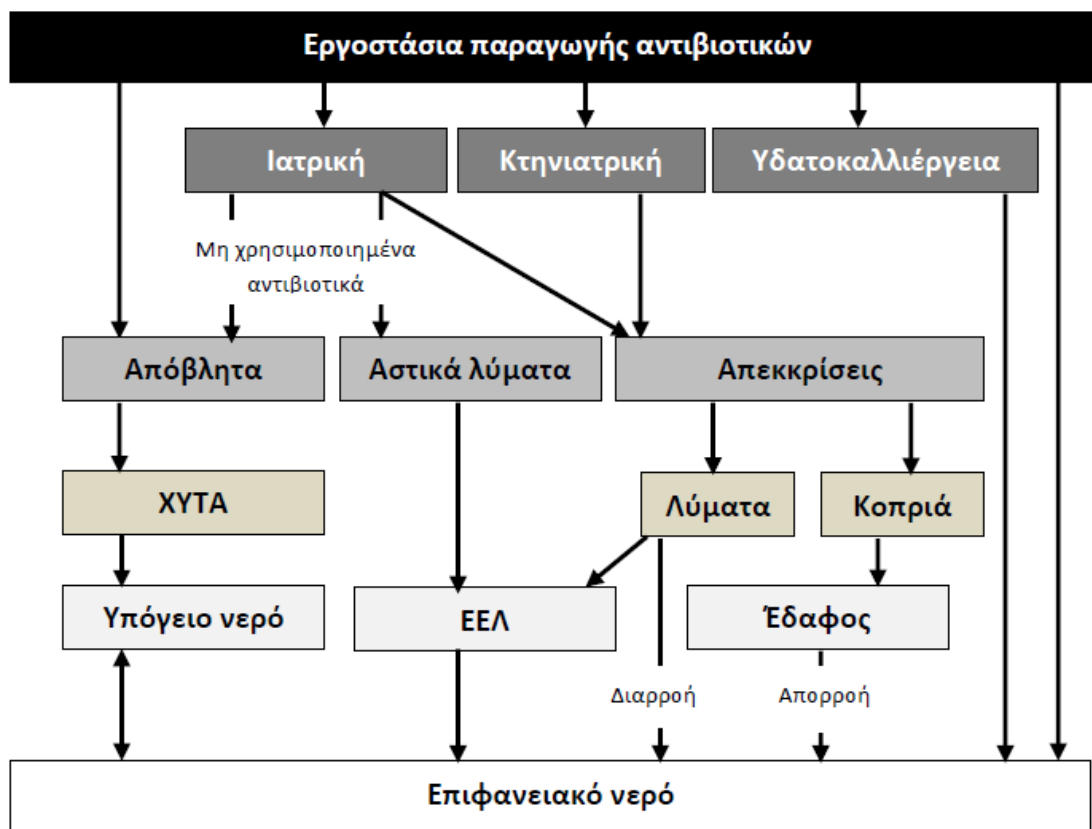
2.1.3 Φαρμακευτικές ουσίες και τα προϊόντα προσωπικής φροντίδας

Οι φαρμακευτικές ουσίες και τα προϊόντα προσωπικής φροντίδας (Pharmaceuticals and Personal Care Products, PPCPs) συνιστούν μία από τις πιο μεγάλες και αξιοσημείωτες κατηγορίες χημικών ουσιών των EOCs. Σε αυτή την κατηγορία, περιλαμβάνονται αντιβιοτικά, αναλγητικά, ρυθμιστές λιπιδίων, ψυχοτρόπα φάρμακα, β - αδρενεργικοί αναστολείς, στεροειδείς ορμόνες (Noguera-Oviedo and Aga, 2016) και προσωπικής φροντίδας προϊόντα όπως καλλυντικά, αρώματα, εντομοαπωθητικά και συντηρητικά (Wang and Chu, 2016).

Τα αντιβιοτικά αποτελούν τα προϊόντα με την ταχύτερη ανάπτυξη στον τομέα της υγείας και η χρήση τους έχει επιφέρει ποικίλες αλλαγές στο μοτίβο του σύγχρονου τρόπου ζωής (Gothwal and Shashidhar, 2015). Ανήκουν σε μία μεγάλη κατηγορία ενώσεων, οι οποίες καλούνται «αντιμικροβιακά». Αυτά τα φάρμακα χρησιμοποιούνται για να εξουδετερώσουν βακτήρια, χωρίς

να προκαλούν βλάβη στον ξενιστή και δύνανται να είναι φυσικής, ημισυνθετικής ή συνθετικής προέλευσης (Μπέζα, 2010). Υπάρχουν διάφορα είδη αντιβιοτικών, τα οποία μπορούν να ταξινομηθούν με βάση την χημική δομή, τους μηχανισμούς δράσης, το φάσμα δράσης και τις οδηγίες χορήγησής τους. Οι πιο συνηθισμένες ομάδες αντιβιοτικών, σύμφωνα με τους μηχανισμούς δράσης, είναι οι σουλφοναμίδες (όπως η σουλφαμεθοξαζόλη), β – λακτάμες, μονοβακτάμες, κινολόνες, φθοριοκινολόνες (όπως η σιπροφλοξασίνη), καρβαπενέμες, αμινογλυκοσίδες, τα γλυκοπεπτίδια, οι λινκομυκίνες, τα μακρολίδια, τα πολυπεπτίδια, τα πολυένια, οι ριφαμυκίνες, οι τετρακυκλίνες και η χλωραμφαινικόλη (Gothwal and Shashidhar, 2015).

Τα αντιβιοτικά χρησιμοποιούνται ευρέως στην ιατρική, την κτηνιατρική και τις υδατοκαλλιέργειες για την πρόληψη και τη θεραπεία βακτηριακών μολύνσεων αλλά και ως επιταχυντές ανάπτυξης (Gothwal and Shashidhar, 2015). Η αυξανόμενη χρήση τους οδήγησε στην αρκετά συχνή παρουσία τους στο περιβάλλον. Οι κύριες πηγές αντίχενωσης των αντιβιοτικών, είναι οι εκροές των εγκαταστάσεων επεξεργασίας υγρών αποβλήτων, τα επιφανειακά νερά, το πόσιμο νερό και τα υπόγεια ύδατα (Noguera-Oviedo and Aga, 2016). Στην Ευρώπη περίπου τα δύο τρίτα των αντιβιοτικών, που καταναλώνονται είναι για ιατρικούς σκοπούς ενώ το υπόλοιπο ένα τρίτο για την κτηνοτροφία (Martínez-Carballo et al., 2007). Η συχνή απελευθέρωση των αντιβιοτικών στο περιβάλλον κρίνεται ιδιαίτερα επικίνδυνη, διότι έχει ως αποτέλεσμα την δημιουργία γονιδίων, τα οποία εμπεριέχονται στα βακτήρια και στο έδαφος και παρουσιάζουν ανθεκτικότητα σε αντιβιοτικά (Antibiotic Resistance Genes, ARG) (Noguera-Oviedo and Aga, 2016). Η προαναφερόμενη ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά αυξάνεται στις περιπτώσεις εκροών ανεπεξέργαστων νοσοκομειακών και οικιακών αποβλήτων (García-Rodríguez et al., 2014). Τέλος, ακόμη και σε χαμηλές συγκεντρώσεις, τα αντιβιοτικά δύνανται να υποβαθμίσουν την ποιότητα του πόσιμου νερού και συνεπώς να έχουν αρνητικές επιδράσεις στην ανθρώπινη υγεία έως και χρόνιες ασθένειες (Rivera-Utrilla et al., 2013).



Εικόνα 2: Η πορεία των αντιβιοτικών προς το περιβάλλον (Kümmerer, 2009).

2.1.4 Σιπροφλοξασίνη

2.1.4.1 Σιπροφλοξασίνη, παραγωγή και χρήση της

Η σιπροφλοξασίνη (1 - cyclopropyl - 6 - fluoro - 1,4 - dihydro - 4 - oxo - 7 - (1 - piperazinyl) - 3 - quinoline carboxylic acid, με μοριακό τύπο: $C_{17}H_{18}FN_3O_3$) ή αλλιώς CIP, όπως προκύπτει από την αγγλική της ονομασία (ciprofloxacin), είναι ένα βακτηριοκτόνο αντιβιοτικό το οποίο ανήκει στην ομάδα των φθοριοκινολονών. Το 1962 πραγματοποιήθηκε η εισαγωγή της πρώτης κινολόνης, του ναλιδιξικού οξέος, στην κλινική χρήση και στα μέσα της δεκαετίας του 1980 η CIP, μία φθοριοκινολόνη με διευρυμένη αντιμικροβιακή δραστηριότητα *in vitro*, ξεκίνησε να εφαρμόζεται στο κλινικό τομέα (Colomer-Lluch et al., 2014). Ως αντιβακτηριδιακή φαρμακευτική ουσία, η CIP ασκεί την δράση της αναστέλλοντας την σύνθεση του DNA των βακτηρίων. Ουσιαστικά,

ανακόπτει τις λειτουργίες των ενζύμων τοποϊσομεράση II (DNA – γυράση των gram – αρνητικών βακτηρίων) και τοποϊσομεράση IV(στα gram – θετικά βακτήρια), τα οποία ελέγχουν την υπερελίκωση του DNA. HCIP, γενικά, αποτελεί την δραστικότερη από τις διαθέσιμες φθοριοκινολόνες κυρίως εναντίον των gram–αρνητικών βακτηρίων, παρότι ορισμένες από τις νεότερες φθοριοκινολόνες διερευνώνται ακόμη (Rodríguez - Martínez et al., 2011).

Η CIP χρησιμοποιείται ως αντιβιοτικό στον ιατρικό αλλά και στον κτηνιατρικό τομέα, με σκοπό την καταπολέμηση των βακτηριακών λοιμώξεων. Ειδικότερα, η CIP είναι δραστική έναντι των εντεροβακτηριοειδών (ιδιαίτερα των εντεροπαθογόνων όπως *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp.) και παρουσιάζει ιδιαίτερη αποτελεσματικότητα έναντι της *Pseudomonas aeruginosa*, γεγονός που την καθιστά αξιόλογο υποψήφιο για χρήση σε ουδετεροπενικούς ασθενείς. Έχει αποδειχθεί ευεργετική στη θεραπεία πολλών λοιμώξεων, όπως οι λοιμώξεις του ουροποιητικού, η οστεομυελίτιδα από εντεροβακτηριοειδή, άλλες λοιμώξεις από εντεροβακτηριοειδή, γονοκοκκικές λοιμώξεις και χρόνια βακτηριακή προστατίτιδα. Επιπροσθέτως, κατέχει θέση στη θεραπεία της βακτηραιμίας και των λοιμώξεων του δέρματος. HCIP θεωρείται το κύριο φάρμακο της θεραπείας με κινολόνες, ιδιαίτερα για την καταπολέμηση των gram – αρνητικών λοιμώξεων (Rodríguez - Martínez et al., 2011).

2.1.4.2 Φυσικοχημικές ιδιότητες της CIP

Η CIP αποτελεί οργανική χημική ένωση και έχει μοριακό βάρος ίσο με 331.3 g mol^{-1} . Η μορφή της είναι κρυσταλλική και το χρώμα της ανοιχτόχρωμο κίτρινο. Το σημείο τήξης του εν λόγω αντιβιοτικού ισούται με 257°C και σε pH ίσο με 7.04, το μόριο φέρει ταυτόχρονα ένα θετικό και ένα αρνητικό φορτίο. Ο συντελεστής κατανομής οκτανόλης – νερού της BPA, ο οποίος εκφράζεται με την χρήση λογαριθμικής μορφής, ισούται με 0.28 ($\log K_{ow} = 0.28$) σε pH ίσο με 7.04, τιμή που υποδηλώνει καλού επιπέδου διαλυτότητα στο νερό (περίπου 30000 mg L^{-1} στους 20°C) και αρκετά χαμηλού, αντίστοιχα, σε λίπη. Επιπλέον, η προαναφερόμενη τιμή του $\log K_{ow}$ της CIP δείχνει τον υδροφιλικό χαρακτήρα της συγκεκριμένης ένωσης καθώς και την τάση μη πρόσδεσής της στις στερεές φάσεις των υδατικών οικοσυστημάτων. Η σταθερά pK_a της CIP ισούται με 6.09, γεγονός που υποδηλώνει καλύτερη διαλυτότητα της τελευταίας σε όξινο pH. Η δομή της CIP, όπως και των υπόλοιπων φθοριοκινολονών, αποτελείται ουσιαστικά από τον βασικό

σκελετό των κινολονών 4-oxo-1,4-dihydroquinolin, με την προσθήκη ενός μορίου φθορίου στην θέση 6 και ενός μορίου πιπεραζίνης στην θέση 7 (Kosma et al., 2014) (Syranidou, 2016).

2.1.4.3 Πηγές και η απελευθέρωση της CIP στο περιβάλλον

Οι δίοδοι εισαγωγής της CIP στο περιβάλλον ποικίλουν. Τα λύματα αποτελούν μία από τις κύριες πηγές CIP στο υδάτινο περιβάλλον. Γενικά, η είσοδος της CIP στο αποχετευτικό σύστημα μπορεί να πραγματοποιηθεί είτε μέσω των ανθρώπινων απεκκρίσεων, λόγω της κατανάλωσής της για την καταπολέμηση διαφόρων βακτηριακών λοιμώξεων, είτε μέσω της έκπλυσής της με νερό βρύσης από τους νεροχύτες ή τις τουαλέτες. Επιπροσθέτως, ληγμένα και μη χρησιμοποιημένα φάρμακα τα οποία εμπεριέχουν CIP, εισέρχονται στα οικιακά απόβλητα μέσω των νοικοκυριών (Sui et al., 2015). Στα νοσοκομειακά απόβλητα, η CIP θεωρείται μία από τις πιο συχνά ανιχνεύσιμες φθοριοκινολόνες λόγω της ευρείας κλινικής της χρήσης (Van Doorslaer et al., 2014). Η κτηνιατρική χρήση της εν λόγω ένωσης αποτελεί ακόμη ένα μονοπάτι εισαγωγής της στο περιβάλλον διότι μετά την κατανάλωσή της, απεκκρίνεται μέσω των ζώων είτε στο έδαφος είτε απευθείας στα επιφανειακά ύδατα. Το γεγονός αυτό εγκυμονεί ιδιαίτερους περιβαλλοντικούς και όχι μόνο κινδύνους διότι το έδαφος μπορεί κάλλιστα να λειτουργήσει σαν κύρια πηγή ρύπανσης του ύδατος δεδομένου ότι η CIP έχει υδροφιλικό χαρακτήρα (Rivera-Utrilla et al., 2013). Τέλος, σε μελέτη αναφέρεται ότι η απελευθέρωση της CIP έχει οδηγήσει μέχρι και στην εμφάνισή της στο νερό βρύσης, σε πόλεις της Κίνας (Gothwal and Shashidhar, 2015).

2.1.4.4 Η Σιπροφλοξασίνη στο φυσικό περιβάλλον

2.1.4.4.1 Περιβαλλοντικές συγκεντρώσεις

Η CIP αποτελεί μία από τις πιο συχνά ανιχνεύσιμες χημικές ενώσεις στις απορροές των εγκαταστάσεων επεξεργασίας υγρών αποβλήτων της Ευρώπης (Loos et al., 2013) και της Αυστραλίας (Watkinson et al., 2007). Το εύρος των τιμών συγκέντρωσής της στις εκροές βιολογικών καθαρισμών της Ευρώπης, της Βόρειας Αμερικής, της Ασίας και της Αυστραλίας,

υπολογίζεται ότι είναι $40 - 3353 \text{ ng L}^{-1}$, $110 - 1100 \text{ ng L}^{-1}$, $42 - 720 \text{ ng L}^{-1}$ αντίστοιχα (Gavrilescu et al., 2015). Στα νοσοκομειακά απόβλητα η CIP ανιχνεύεται σε μεγαλύτερη συγκέντρωση σε σύγκριση με τις εισροές των εγκαταστάσεων επεξεργασίας υγρών αποβλήτων (Varela et al., 2014). Παρ' όλα αυτά, σε μελέτες έχει αναφερθεί ότι η ανάπτυξη γονιδίων ανθεκτικότητας στην εν λόγω χημική ένωση, παρουσιάζει σημαντική αύξηση στις εκροές βιολογικών καθαρισμών τα τελευταία χρόνια. Το γεγονός αυτό οδηγεί στην εξάπλωση των προαναφερόμενων γονιδίων και στα επιφανειακά ύδατα, με αποτέλεσμα την μείωση της ποιότητας του νερού και συνεπώς την αυξημένη επικινδυνότητά του για τον ζωικό αλλά και τον ανθρώπινο οργανισμό (Rodriguez-Mozaz et al., 2015). Ενδεικτικά, σε επιφανειακά ύδατα της Ισπανίας και της Κίνας, η μέση συγκέντρωση της CIP ισούται με 3 ng L^{-1} και 653 ng g^{-1} . Οι ανθρώπινες και γεωργικές δραστηριότητες έχουν συντελέσει στην ευαισθησία του αστικού υπόγειου υδροφορέα να ρυπαίνεται από αντιβιοτικά, με αποτέλεσμα η CIP να αποτελεί το πιο υψηλά ανιχνεύσιμο σε συγκέντρωση αντιβιοτικό σε σχέση με τα υπόλοιπα (323.75 ng L^{-1}) (Gothwal and Shashidhar, 2015). Τέλος, η CIP έχει βρεθεί σε συγκέντρωση μεταξύ του εύρους $17.8 - 167 \text{ mg kg}^{-1}$ και στους υδατικούς οργανισμούς καθώς και σε πτηνά (Li et al., 2012).

2.1.4.4.2 Τύχη στο υδάτινο περιβάλλον

Η βιοαποδόμηση της CIP δεν είναι μια εύκολα πραγματοποιήσιμη και αποτελεσματική διαδικασία, γεγονός που αποδεικνύεται και από την λιγοστή πληροφόρηση σχετικά με την απομάκρυνσή της με την βοήθεια βακτηρίων (Amorim et al., 2014). Επίσης, έχει παρατηρηθεί σε πειράματα μέσης κλίμακας ότι μετά την προσθήκη της εν λόγω ένωσης, πραγματοποιείται μείωση της βακτηριακής κοινότητας (Weber et al., 2011). Σε εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων με την χρήση συμβατικών μεθόδων, αναφέρεται ότι ποσοστό της τάξεως του $80 - 90\%$ της CIP δύναται να απομακρυνθεί διαμέσου της προσρόφησής της στην λάσπη, κάτι το οποίο σταθεροποιεί την εξεταζόμενη ένωση (Girardi et al., 2011). Παρ' όλα αυτά, το γεγονός ότι η CIP διαθέτει την ικανότητα ισχυρής προσρόφησής της στην λάσπη, οδηγεί στην απελευθέρωσή της μέσω των βιοστερεών στις γεωργικές καλλιέργειες, εγκυμονώντας σοβαρούς κινδύνους για υγεία των ζώων και κατ' επέκταση των ανθρώπων (Le-Minh et al., 2010). Ως αποτέλεσμα των προαναφερθέντων, η CIP εντοπίζεται στο έδαφος σε συγκέντρωση μεταξύ του εύρους $0.37 - 0.40$

mg kg⁻¹ (Girardi et al., 2011). Σχετικά με την φωτοαποδόμηση της CIP, παρουσιάζει υψηλή αποτελεσματικότητα και εξαρτάται κυρίως από τους ακόλουθους παράγοντες: pH, συγκέντρωση, επίπεδο συγκέντρωσης φωσφόρου, παρουσία οργανικών και από την ένταση του φωτός (Gothwal and Shashidhar, 2015). Τέλος, παρόλο που η CIP παρουσιάζει ευαισθησία στην οξονοποίηση, το όζον δεν αντιδρά χημικά με το τμήμα της χημικής ένωσης το οποίο είναι υπεύθυνο για τις φαρμακολογικές επιδράσεις (Amorim et al., 2014).

2.1.5 Σουλφαμεθοξαζόλη

2.1.5.1 Σουλφαμεθοξαζόλη, παραγωγή και χρήση της

Η σουλφαμεθοξαζόλη (4 – Amino – N - (5 – methylisoxazol – 3 - yl) - benzenesulfonamide, με μοριακό τύπο: C₁₀H₁₁N₃O₃S) είναι ένα βακτηριοστατικό αντιβιοτικό, το οποίο ανήκει στην ομάδα των σουλφοναμίδων και μάλιστα στην κατηγορία της ενδιάμεσης δράσης. Το εν λόγω αντιβιοτικό είναι ευρύτερα γνωστό με τον όρο SMX, ο οποίος προκύπτει από την αγγλική του ονομασία (sulfamethoxazole). Η δράση της σουλφαμεθοξαζόλης και όλων των σουλφοναμίδων ενάντια στα βακτήρια επικεντρώνεται στην αναστολή δημιουργίας του υδροφολικού οξέος και κατ' επέκταση του φολικού οξέος. Το σύμπλοκο αυτό είναι απαραίτητο για την επιβίωση των βακτηρίων, καθώς συμβάλλει στην ανάπτυξη και στον πολλαπλασιασμό τους. Συνεπώς, δεδομένου ότι η σουλφαμεθοξαζόλη παρεμποδίζει τις μεταβολικές διεργασίες για την ανάπτυξη των βακτηρίων, κατατάσσεται στα βακτηριοστατικά αντιβιοτικά (Avisar et al., 2009).

Η SMX χρησιμοποιείται τόσο για ιατρική όσο και για κτηνιατρική χρήση με στόχο την πρόληψη και την θεραπεία βακτηριακών λοιμώξεων, ενώ εκκρίνεται από τον οργανισμό χωρίς να υποστεί μεταβολή σε ποσοστό 15%. Πρωτίστως, ενεργεί ενάντια σε ευπαθείς σχηματισμούς των *Streptococcus*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae* και *Oral anaerobes*. Χρησιμοποιείται συνήθως για την αντιμετώπιση λοιμώξεων του ουροποιητικού συστήματος, για ωτίτιδες, χρόνιες βρογχίτιδες, διάρροια, εντερίτιδες, πνευμονίες και τοξοπλάσμωση. Επιπροσθέτως, χρησιμοποιείται ως εναλλακτική θεραπεία της ιγμορίτιδας (αντί των αντιβιοτικών που βασίζονται στην αμοξικιλίνη). Στον κλάδο της κτηνοτροφίας, εφαρμόζεται αρκετές φορές και ως επιταχυντής ανάπτυξης (Δρόσου, 2009).

2.1.5.2 Φυσικοχημικές ιδιότητες της SMX

Η SMX είναι οργανική χημική ένωση και έχει μοριακό βάρος ίσο με 253.3 g mol^{-1} . Το σημείο τήξης του εν λόγω αντιβιοτικού, είναι ίσο με 167°C και το σημείο ανάφλεξης 249.3°C . Ο συντελεστής κατανομής οκτανόλης – νερού της SMX, ο οποίος εκφράζεται με την χρήση λογαριθμικής μορφής, ισούται με 0.89 ($\log K_{ow} = 0.89$), τιμή που υποδηλώνει καλού επιπέδου διαλυτότητα στο νερό (περίπου 2800 mg L^{-1} στους 20°C) και αρκετά χαμηλού, αντίστοιχα, σε λίπη. Επιπροσθέτως, η προαναφερόμενη τιμή του $\log K_{ow}$ της SMX δείχνει τον υδροφιλικό χαρακτήρα της συγκεκριμένης ένωσης καθώς και την αποφυγή πρόσδεσής της στις οργανικές φάσεις των υδατικών οικοσυστημάτων. Έχει μεγαλύτερη διαλυτότητα σε όξινο pH με σταθερά pK_a μεταξύ 1.85 και 5.6. Η SMX, όπως αναφέρθηκε πρωτύτερα, ανήκει στην κατηγορία των σουλφοναμίδων, των οποίων η δομή χαρακτηρίζεται από μία συνηθισμένη ομάδα σουλφανιλαμίδης και από ένα πενταμελή ή εξαμελή ετεροκυκλικό δακτύλιο. Όμοια με τις άλλες σουλφοναμίδες, αναστέλλει την σύνθεση του φολικού οξέος με ταυτόχρονη παρεμπόδιση του ενζύμου dihydropteroate-συνθετάση (Kosma et al., 2014)(Syranidou, 2016).

2.1.5.3 Πηγές και η απελευθέρωση της SMX στο περιβάλλον

Η είσοδος της SMX στο περιβάλλον αποτελεί ουσιαστικά, αποτέλεσμα μιας σειράς αλληλένδετων διαδικασιών. Η SMX, όπως όλες οι χημικές ενώσεις που ανήκουν στην κατηγορία των σουλφοναμίδων, εκκρίνεται από το ανθρώπινο σώμα και τους ζωϊκούς οργανισμούς εν μέρει μη – μεταβολισμένη, αλλά επίσης και ως βιο – μετασχηματισμένο προϊόν. Επίσης ληγμένα και μη χρησιμοποιημένα φάρμακα τα οποία εμπεριέχουν SMX, εισάγονται στα οικιακά απόβλητα μέσω των νοικοκυριών. Άλλη μία αρκετά σημαντική πηγή απελευθέρωσης SMX στο περιβάλλον, αποτελούν και τα νοσοκομειακά απόβλητα λόγω της συχνής χρήσης του αντιβιοτικού για τους ασθενείς. Τα προαναφερθέντα γεγονότα έχουν ως αποτέλεσμα ίχνη SMX να εντοπίζονται σε όλα τα είδη επιφανειακών υδάτων (Δρόσου, 2009). Μάλιστα, σε δύο διαφορετικές έρευνες που πραγματοποιήθηκαν για την παρουσία ορισμένων αντιβιοτικών στο περιβάλλον, σε ποταμούς της Ισπανίας και της Νότιας Κορέας αντίστοιχα, ανιχνεύθηκαν υψηλές ποσότητες SMX. Έχει παρατηρηθεί ότι η εμφάνιση της SMX στα επιφανειακά ύδατα, έχει ως αποτέλεσμα και την κυκλοφορία της σε οπωροκηπευτικά που προορίζονται για ανθρώπινη κατανάλωση, γεγονός που

προκαλεί κίνδυνο για την υγεία. Μία από τις ταυτοποιημένες πηγές, από τις οποίες σημαντικές ποσότητες της εν λόγω ένωσης εισάγονται στο επιφανειακό νερό, είναι η εκροή λυμάτων. Τέλος, η απελευθέρωση της SMX έχει οδηγήσει μέχρι και στην παρουσία της στο θαλασσινό νερό, με αποτέλεσμα την δημιουργία σοβαρών προβλημάτων στους ευαίσθητους υδατικούς οργανισμούς (Gothwal and Shashidhar, 2015).

2.1.5.4 Η Σουλφαμεθοξαζόλη στο φυσικό περιβάλλον

2.1.5.4.1 Περιβαλλοντικές συγκεντρώσεις

Οι ανιχνευμένες συγκεντρώσεις της σουλφαμεθοξαζόλης ποικίλλουν από χώρα σε χώρα, με αποκορύφωμα έναν ποταμό στην Κίνα, όπου μπορεί να ξεπεράσει τα 4870 ng L^{-1} . Παρά το γεγονός ότι οι συγκεντρώσεις της ουσίας που έχουν ανιχνευτεί διαφέρουν από χώρα σε χώρα, εντούτοις η συχνότητα ανίχνευσης στα λύματα αγγίζει συχνά το 100%. Το γεγονός αυτό αποδεικνύει την υψηλή σταθερότητα της σουλφαμεθοξαζόλης, με αποτέλεσμα να προτείνεται ως δείκτης για την είσοδο των φαρμακευτικών ουσιών στο περιβάλλον (Jiang et al., 2014).

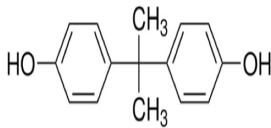
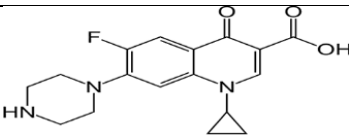
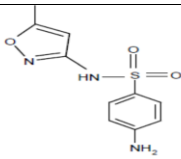
Ως πρωταρχική πηγή ανίχνευσης της SMX θεωρείται η εκροή εγκατάστασης επεξεργασίας υγρών αποβλήτων. Στην Ευρώπη, στην Βόρεια Αμερική, στην Ασία και στην Αυστραλία, το εύρος των τιμών συγκέντρωσης της SMX στις απορροές βιολογικών καθαρισμών, το οποίο έχει καταγραφεί στην βιβλιογραφία, είναι $91 - 794 \text{ ng L}^{-1}$, $5 - 2800 \text{ ng L}^{-1}$ και $3.8 - 1400 \text{ ng L}^{-1}$ αντίστοιχα. Επιπροσθέτως, στα επιφανειακά ύδατα η εξεταζόμενη ένωση έχει ανιχνευθεί στην Ευρώπη σε συγκέντρωση μικρότερη του εύρους $0.5 - 4 \text{ ng L}^{-1}$ (Gavrilescu et al., 2015). Υψηλές τιμές συγκέντρωσης της SMX έχουν παρατηρηθεί και σε υπόγεια ύδατα, με χαρακτηριστικά παραδείγματα αστικές περιοχές της Ισπανίας και δείγματα από υπόγεια ύδατα σε Χ.Υ.Τ.Α στην Κίνα (Syranidou, 2016). Η SMX αποτελεί μία από τις 18 σουλφοναμίδες οι οποίες έχουν ανιχνευθεί σε υπόγεια ύδατα της Καλιφόρνιας και της Ισπανίας, μεταξύ των τιμών $0.01 - 3460.57 \text{ ng L}^{-1}$. Στο θαλασσινό νερό, η παρουσία της SMX καθιστά υπολογίσιμη την συγκέντρωσή της ενδιάμεσα των ορίων $0.51 - 6.30 \text{ ng L}^{-1}$. Τέλος, λόγω της βιοσύνθεσης από τους μικροοργανισμούς του εδάφους, έχει ανιχνευθεί ποσότητα SMX στο έδαφος και στα ιζήματα αυτού ίση με 0.49 mg kg^{-1} (Gothwal and Shashidhar, 2015).

2.1.5.4.2 Τύχη στο υδάτινο περιβάλλον

Οι απόψεις για την ανθεκτικότητα της SMX στην βιοαποδόμηση δίστανται. Σε εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων με την χρήση συμβατικών μεθόδων, αναφέρεται ότι μπορεί να επιτευχθεί μέχρι και 90% απομάκρυνση της προαναφερόμενης ένωσης (Larcher and Yargeau, 2012). Παρ' όλα αυτά, σε διάφορες άλλες μελέτες έχει παρατηρηθεί μειωμένη αποδόμηση της εν λόγω ένωσης σε μονάδες επεξεργασίας λυμάτων συμβατικού τύπου (Syranidou, 2016). Σε σύγκριση με τις υπόλοιπες ενώσεις που ανήκουν στην κατηγορία των PPCPs, η βιοαποδόμηση της SMX δεν επηρεάζεται από τις αλλαγές του pH και της θερμοκρασίας, με αποτέλεσμα διάφορες διαδικασίες που συσχετίζονται με το pH, όπως η υδρόλυση, να μην καθιστούν αποτελεσματικές τεχνικές απομάκρυνσης (Sui et al., 2015). Ποσοστό απομάκρυνσης της SMX της τάξεως του 52 – 70%, έχει επιτευχθεί με την χρήση πιλοτικής μονάδας βιοαντιδραστήρα μεμβράνης (Syranidou, 2016). Επιπροσθέτως, η SMX διασπάται εύκολα με την χρήση ηλιακής ακτινοβολίας σε υδατικά διαλύματα, έχοντας χρόνο ημίσειας ζωής 2.4 ημέρες το χειμώνα και ο ρυθμός φωτοδιάσπασης αυξάνεται με την παρουσία χουμικών οξέων (Δρίλλια, 2005). Τέλος, η SMX παρουσιάζει μεγάλη διάρκεια ζωής στο περιβάλλον και παρόλο που εμφανίζεται σε χαμηλά επίπεδα, μπορεί να συσσωρευτεί σε ποικίλους οργανισμούς της τροφικής αλυσίδας (Δρόσου, 2009).

:

Πίνακας 2: Λίστα των EOCs που χρησιμοποιήθηκαν

Χημικές ενώσεις	Κατηγορία	Συντακτικός τύπος	log k_{ow}	Μοριακό βάρος (g mol ⁻¹)	pKa
BPA	Ενδοκρινικός διαταράκτης		3.32	228.29	9.59 – 11.30
CIP	Αντιβιοτικό - Φθοροκινολόνες		0.28	331.3	6.09
SMX	Αντιβιοτικό - Σουλφοναμίδες		0,89	253.3	1.85 – 5.6

2.1.6 Επιπτώσεις της παρουσίας αντιβιοτικών

Τα τελευταία 20 χρόνια, η αυξανόμενη χρήση των αντιβιοτικών σε νοσοκομειακό, οικιακό και κτηνιατρικό επίπεδο, έχει ως αποτέλεσμα την ύπαρξη υψηλών κινδύνων τόσο για την ανθρώπινη υγεία όσο και για το περιβάλλον (Weber et al., 2011).

Η CIP και η SMX, όπως η πλειονότητα των αντιβιοτικών, απελευθερώνονται στο περιβάλλον ως μη μεταβολισμένες χημικές ενώσεις σε ποσοστό έως και 70%, με αποτέλεσμα να καθιστούν ανθεκτικά σε αυτές πολλά στελέχη των μικροβιακών πληθυσμών. Το προαναφερόμενο γεγονός σε συνδυασμό με την συνεχόμενη απελευθέρωση αποβλήτων, τα οποία εμπεριέχουν CIP και SMX και την μακροχρόνια παραμονή τους στα επιφανειακά νερά, δύναται να έχει δυσμενείς επιπτώσεις στους υδρόβιους οργανισμούς (Van Doorslaer et al., 2014). Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί μία έρευνα στην οποία αποδείχθηκε ότι το βακτήριο *E-coli* που απομονώθηκε είτε από απόβλητα, είτε από πρωτοβάθμια λάσπη, είτε ακόμη και από επιφανειακά ύδατα, εμφανίζει ανθεκτικότητα στην SMX. Το ίδιο συνέβη και με δύο γένη βακτηρίων, τα *Acinetobacter* και τα *Enterococcusta* οποία απομονώθηκαν από πτηνοτροφεία και ιχθυοτροφεία και μελετήθηκε η ανθεκτικότητά τους κατά την παρουσία τους σε ειδικά ιχθυοτροφεία που χρησιμοποιούν ζωική κοπριά ως ενισχυτικό ανάπτυξης φωτοσυνθετικών οργανισμών (Δρίλλια, 2005). Επιπροσθέτως, τα δύο εξεταζόμενα αντιβιοτικά έχουν ανιχνευθεί και στο έδαφος και στα ιζήματα ύδατος, γεγονός που μπορεί να προκαλέσει προβλήματα στην σύσταση και δραστηριότητα των μικροβιακών πληθυσμών. Τέλος, η γενετοξικότητα που δημιουργείται λόγω της ύπαρξης των αντιβιοτικών CIP και SMX στα νοσοκομειακά απόβλητα καθώς και η εμφάνιση συγκεκριμένα της CIP στο πόσιμο νερό, θέτουν σε ρίσκο την ανθρώπινη υγεία (Sturini et al., 2012)(Avisar et al., 2009).

2.2 Χρωματογραφία

Η επίτευξη του ποσοτικού και ποιοτικού προσδιορισμού των οργανικών ενώσεων πραγματοποιείται με την χρήση μιας μεθόδου διαχωρισμού που συνίσταται από το μίγμα τους. Η διαχωριστική μέθοδος που εφαρμόζεται για τον προσδιορισμό της BPA, της CIP και της SMX είναι η υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (High Performance Liquid Chromatography, HPLC). Η μέθοδος μικροεκχύλισης ακολουθείται από την μέθοδο διαχωρισμού του μίγματος HPLC.

2.2.1 Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Απόδοσης

Η Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Απόδοσης αποτελεί μία από τις πιο αξιόπιστες αναλυτικές μεθόδους διαχωρισμού ουσιών από το μίγμα τους, καθώς θεωρείται ότι προσδιορίζει με ακρίβεια ευρύ φάσμα χημικών ενώσεων, τόσο οργανικών όσο και ανόργανων και ως εκ τούτου παρουσιάζει εκτεταμένη εφαρμογή στην επίλυση αναλυτικών και περιβαλλοντικών δειγμάτων (Μανουσάκη, 2003).

Η διαχωριστική τεχνική της HPLC βασίζεται στην συνδυαστική δράση μιας στατικής και μιας κινητής φάσης, γι' αυτό άλλωστε η HPLC αποτελεί εξέλιξη της κλασικής χρωματογραφίας στήλης. Στην Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Απόδοσης, το προς ανάλυση δείγμα εισάγεται στην κορυφή της στήλης και μέσω της κινητής φάσης τα συστατικά, με τη μορφή ζωνών, μετακινούνται και τελικά πραγματοποιείται διαδοχική εκχύλισή τους. Ο χρόνος ανάλυσης των δειγμάτων χρησιμοποιώντας την μέθοδο της HPLC είναι τις περισσότερες φορές μικρό της τάξης των μερικών λεπτών, ενώ η ακρίβεια και η επαναληψιμότητα είναι σε αξιόλογο επίπεδο (Μανουσάκη, 2003).

Η κατάλληλη χρήση του υλικού πλήρωσης της στήλης (στατική φάση) και του διαλύτη έκλουσης (κινητή φάση) αποτελούν κυρίαρχο παράγοντα για την επίτευξη της εφαρμογής της HPLC σε όλα τα είδη των μηχανισμών που λαμβάνουν χώρα στους χρωματογραφικούς διαχωρισμούς. Η HPLC ταξινομείται σε διάφορες μορφές ανάλογα με τις ιδιότητες των προς διαχωρισμό ενώσεων, όπως είναι η πολικότητα, η διαλυτότητα και το μοριακό βάρος. Παρακάτω παρουσιάζονται οι προαναφερόμενες μορφές της HPLC:

1. Χρωματογραφία Προσρόφησης:
 - α. Χρωματογραφία Προσρόφησης Αντίστροφης Φάσης
 - β. Χρωματογραφία Προσρόφησης Κανονικής Φάσης
2. Χρωματογραφία Κατανομής
3. Χρωματογραφία Ιοντοανταλλαγής
4. Χρωματογραφία Συγγένειας
5. Χρωματογραφία Αποκλεισμού Μεγέθους

Η μορφή της HPLC που χρησιμοποιήθηκε στην συγκεκριμένη μελέτη είναι Χρωματογραφία Προσρόφησης Αντίστροφης Φάσης (Adsorption Reversed Phase Chromatography), μία από τις πιο διαδεδομένες διαχωριστικές μεθόδους HPLC καθώς εφαρμόζεται στο 80% περίπου των αναλυτικών τεχνικών. Ο διαχωρισμός, σε αυτό το είδος χρωματογραφίας, στηρίζεται στο διαφορετικό βαθμό προσρόφησης στη στατική φάση και οι κυριότερες αλληλεπιδράσεις που πραγματοποιούνται είναι ηλεκτροστατικής φύσεως. Η στατική φάση αποτελείται από διοξείδιο του πυριτίου, συζευγμένο με διάφορες ομάδες όπως αλκύλια, αμινομάδες κ.α. και είναι λιγότερο πολική της κινητής, ενώ η κινητή φάση είναι ένας πολικός διαλύτης που αποτελείται από μίγματα οργανικών διαλυτών με υδατικά ρυθμιστικά διαλύματα ή νερό (Μανουσάκη, 2003).

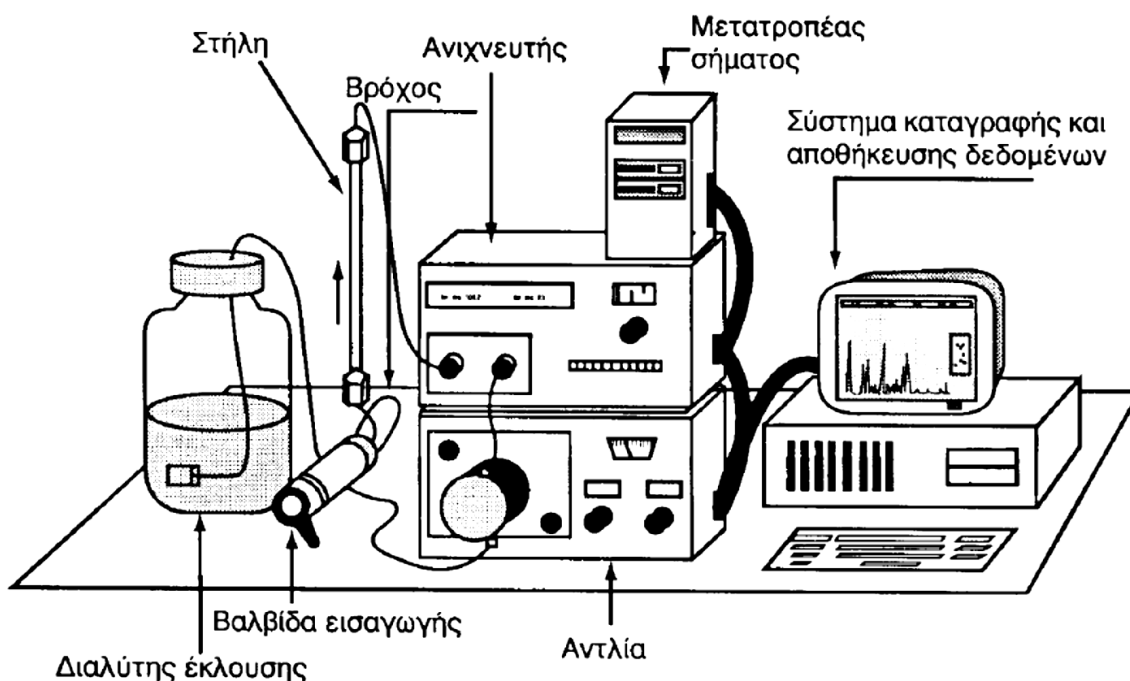
2.2.2 Οργανολογία Υγρής Χρωματογραφίας Υψηλής Απόδοσης

Ένα σύστημα Υγρής Χρωματογραφίας Υψηλής Απόδοσης αποτελείται από τα παρακάτω τμήματα:

1. Φιάλη(ες) αποθήκευσης διαλυτών
2. Ααντλία (υψηλής πίεσης)
3. Μονάδα εισαγωγής δείγματος
4. Χρωματογραφική στήλη
5. Ανιχνευτή
6. Σύστημα συλλογής και καταγραφής των αποτελεσμάτων
7. Δοχείο συλλογής αποβλήτων, όπως παρουσιάζεται στην Εικόνα 3.

Η προώθηση της κινητής φάσης διαμέσου του μικρόκοκκου υλικού πλήρωσης της στήλης πραγματοποιείται με τη χρήση αντλίας υψηλής πίεσης. Η αντλία υψηλής πίεση είναι απαραίτητη διότι η υψηλή πυκνότητα πλήρωσης της στήλης με αυτά τα πολύ μικρά σωματίδια μειώνει την ταχύτητα ροής της κινητής φάσης μέσα από τη στήλη (μεγάλη αντίσταση μεταφοράς) και για να επιτευχθεί μια λογική ταχύτητα ροής, απαιτείται η εφαρμογή υψηλής πίεσης στην κινητή φάση. Ο διαχωρισμός των συστατικών του δείγματος λαμβάνει χώρα στην αναλυτική στήλη. Η μέθοδος του χρωματογραφικού διαχωρισμού αρχίζει με την εισαγωγή του δείγματος στη στήλη με την

χρήση ειδικής βαλβίδας είτε με την χρήση αυτόματου δειγματολήπτη (όπως χρησιμοποιήθηκε και στην παρούσα εργασία). Η διέλευση της κινητής φάσης από τη χρωματογραφική στήλη καλείται έκλουση. Οι τεχνικές έκλουσης που εφαρμόζονται είναι δύο, η ισοκρατική κατά την οποία η σύσταση της κινητής φάσης παραμένει σταθερή και η βαθμιδωτή όπου η σύσταση της κινητής φάσης μεταβάλλεται με σταθερό ρυθμό. Κάθε ένα από τα συστατικά του δείγματος εκλύεται και παρουσιάζεται ως κορυφή (κωδωνοειδή καμπύλη Gauss) στο σύστημα καταγραφής και αποτελεί το χρωματογράφημα του διαχωρισμού, ενώ η αποθήκευση των αναλυτικών δεδομένων γίνεται στον ηλεκτρονικό υπολογιστή (Μανουσάκη, 2003).



Εικόνα 3: Διάταξη ενός συστήματος HPLC (Μανουσάκη, 2003).

Ο ανιχνευτής στην HPLC αποτελεί κρίσιμο στοιχείο του συστήματος, γιατί κάνει ορατό το διαχωρισμό που γίνεται στη στήλη και επιτρέπει την αξιοποίησή του στην ανάλυση. Τα είδη ανιχνευτών που μπορούν να χρησιμοποιηθούν στην HPLC παρουσιάζονται παρακάτω:

1. Ανιχνευτές ορατού-υπεριώδους
2. Ανιχνευτές παράταξης φωτοδίοδων

3. Αγωγιμομετρικοί ανιχνευτές
4. Ανιχνευτές δείκτη διάθλασης
5. Φασματογράφοι μάζας
6. Ηλεκτροχημικοί ανιχνευτές
7. Φθορισμομετρικοί ανιχνευτές
8. Ανιχνευτές ραδιενέργειας
9. Ανιχνευτές σκεδασμού του φωτός
10. Ανιχνευτές φλόγας

Οι ανιχνευτές που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα μελέτη είναι δύο, ένας φθορισμομετρικός ανιχνευτής και ένας ανιχνευτής παράταξης φωτοδίοδων.

Ο φθορισμομετρικός ανιχνευτής εφαρμόζεται συνήθως σε ενώσεις που φθορίζουν, δίνοντας σήμα ανάλογο προς την συγκέντρωση του συστατικού που φθορίζει. Αυτό το είδος ανιχνευτή είναι ειδικό και εκλεκτικό για ενώσεις οι οποίες έχουν στο μόριο τους ομάδες που διεγείρονται σε ενέργεια μικρότερου μήκους κύματος και εκπέμπουν ακτινοβολία υψηλότερου μήκους κύματος που καλείται φθορισμός. Η εκπομπή συνήθως μετριέται σε κάθετη διεύθυνση ως προς τη διέγερση. Η ευαισθησία του φθορισμομετρικού ανιχνευτή σε σχέση με τον ανιχνευτή UV είναι 10-1000 φορές υψηλότερη ακόμη και για ενώσεις που εμφανίζουν υψηλή απορρόφηση (Μανουσάκη, 2003).

Ο ανιχνευτής παράταξης φωτοδίοδων αποτελεί προηγμένο ανιχνευτή τύπου UV με τη δυνατότητα να παρακολουθεί ταυτόχρονα όλο το εύρος της περιοχής UV, χρησιμοποιώντας μια σειρά φωτοδίοδων που ανιχνεύουν το φως που διασπείρεται από ένα σταθερό μονοχρωμάτορα σε όλο το εύρος των μηκών κύματος, παρέχοντας μια διαχωριστική ικανότητα περίπου 1 nm. Χρήσιμος για πολύπλοκα μείγματα που περιέχουν ενώσεις με ευρέως διαφορετικές περιοχές απορρόφησης και για μίγματα που οι κορυφές αλληλεπικαλύπτονται χρωματογραφικά, αλλά μπορούν να διαχωριστούν από την άποψη της απορρόφησης στο UV. Ο ανιχνευτής παρέχει πλήρες φάσμα UV κάθε κορυφής του χρωματογραφήματος, που βοηθά στην ταυτοποίηση των αγνώστων (Χατζιωάννου Θ.Π. & Κούππαρης Μ.Α., 1990).

2.3 Μικροεκχύλιση

2.3.1 Η έννοια της μικροεκχύλισης

Η μικροεκχύλιση αποτελεί μία νέα και εξελιγμένη μέθοδο εκχύλισης, η οποία αναπτύχθηκε κυρίως τις τελευταίες δύο δεκαετίες, επιτυγχάνοντας ευκολότερη προετοιμασία δείγματος, μειωμένη κατανάλωση εκχυλιστικού μέσου και απλούστευση της αρχικής τεχνικής. Η σμίκρυνση των κλασικών τεχνικών εκχύλισης υπερνίκησε πολλά προβλήματα που εμφανίζονταν κατά την ανάλυση. Οι τεχνικές μικροεκχύλισης διαφοροποιούνται από τις κλασσικές τεχνικές εκχύλισης με την ιδιότητα της ελαχιστοποίησης της απαιτούμενης ποσότητας του δείγματος και της ποσότητας του εκχυλιστικού μέσου, μειώνοντας έτσι το συνολικό κόστος. Η μικροεκχύλιση στερεής φάσης (Solid Phase Microextraction, SPME) και η μικροεκχύλιση υγρής φάσης (Liquid Phase Microextraction, LPME) αποτελούν τις δύο κύριες και πρωταρχικές κατηγορίες μικροεκχύλισης (Μουσουράκη, 2012). Η εμφάνιση της Μικροεκχύλισης Στερεής Φάσης το 1990 αποτέλεσε σημείο αναφοράς στην εξέλιξη των τεχνικών εκχύλισης. Με το πέρας ορισμένων ετών, προτάθηκε στη βιβλιογραφία και η μικροεκχύλιση με διαλύτη, γνωστή και ως LPME (Yiantzi et al., 2010).

Η μέθοδος LPME αποτελεί ουσιαστικά μικρογραφία της κλασσικής μεθόδου υγρής - υγρής εκχύλισης, η οποία επιτυγχάνεται με την μείωση του λόγου των όγκων της φάσης δέκτη προς τη φάση δότη. Τα πλεονεκτήματα της μεθόδου είναι ότι συνδυάζει ταχύτητα, απλότητα, χαμηλό κόστος και είναι φιλική προς το περιβάλλον. Η μειωμένη σταθερότητα της σταγόνας είναι ένα σημαντικό μειονέκτημα της μεθόδου LPME που οφείλεται κυρίως στις διάφορες πολύπλοκες περιβαλλοντικές μήτρες και στους υψηλούς ρυθμούς ανάδευσης. Η συνεχής έρευνα πάνω στην τεχνική της LPME οδήγησε στην δημιουργία πολλών, γενικά, παραλλαγών της μεθοδολογίας που στοχεύουν στην βελτίωση της και κυρίως αφορούν στην εξάλειψη του προβλήματος της αστάθειας της σταγόνας. Παρακάτω παρουσιάζονται οι προαναφερόμενες υποκατηγορίες της LPME:

1. Μικροεκχύλιση Μονής Σταγόνας (Single Drop Microextraction, SDME)
2. Μικροεκχύλιση Απευθείας Αιωρούμενου Σταγονιδίου (Directly Suspended Droplet Microextraction, DSDME)

3. Υγρή – Υγρή Μικροεκχύλιση Διασποράς (Dispersive Liquid – Liquid Microextraction, DLLME)
4. Υγρή – Υγρή Μικροεκχύλιση Με Χρήση Υπερήχων (Ultrasound Assisted Liquid – Liquid Microextraction, UALLME)
5. Υγρή – Υγρή Μικροεκχύλιση Κοίλων Ινών (Hollow fiber – LPME)
6. Υγρή – Υγρή Μικροεκχύλιση Υποβοηθούμενη Από Vortex (Vortex Assisted Liquid – Liquid Microextraction, VALLME) (Μουσουράκη, 2012).

2.3.2 Υγρή – Υγρή Μικροεκχύλιση Υποβοηθούμενη Από Vortex

Η VALLME αποτελεί μία μέθοδο μικροεκχύλισης που χρησιμοποιεί το vortex για την αύξηση της συνολικής διεπιφάνειας οκτανόλης/νερού. Σύμφωνα με την τεχνική αυτή, η ουσία εκχυλίζεται από την υδατική φάση κατευθείαν μέσα στην αντίστοιχη οργανική. Η VALLME αναπτύχθηκε και χρησιμοποιήθηκε πρώτη φορά το 2009, για τον προσδιορισμό των αλκυλοφαινόλων Νονυλφαινόλης (Nonylphenol, NP), Οκτυλφαινόλης (Octylphenol, OP) και BPA, οι οποίες αποτελούν ενδοκρινικούς διαταράκτες και εμφανίζονται σε διαλύματα ύδατος και υγρών αποβλήτων. Η μέθοδος αυτή αποτέλεσε σημαντική ανάπτυξη στον κλάδο των τεχνικών μικροεκχύλισης και ιδιαίτερα στην διαδικασία προετοιμασίας δειγμάτων καθώς αναμόρφωσε θέματα απλότητας, μικρογράφησης και χρόνου απόδοσης (Yiantzi et al., 2010).

Η Υγρή – Υγρή Μικροεκχύλιση Υποβοηθούμενη από Vortex ανήκει στις τεχνικές μικροεκχύλισης υγρής φάσης, όπως παρουσιάστηκε παραπάνω. Οι κυριότερες απαιτήσεις της μεθόδου LPME ήταν η χρήση μιας φάσης δέκτη, η οποία να μην δύναται να αναμειχθεί με το υδατικό διάλυμα – δότη, όπου εμπεριέχεται η προς εξέταση ουσία και οι ενώσεις να χαρακτηρίζονται από μεγαλύτερη ικανότητα διαλυτότητας στην εκχυλιστική φάση σε σύγκριση με την αντίστοιχη του υδατικού διαλύματος. Τα χαρακτηριστικά αυτά της LPME οδήγησαν στην δημιουργία και εξέλιξη πολλών διαφορετικών μεθόδων, συμπεριλαμβανομένων μεταξύ άλλων την Μικροεκχύλιση Μονής Σταγόνας, την στατική και δυναμική LPME και την Hollow fiber – LPME (Yiantzi et al., 2010).

Η DLLME αποτελεί μία από τις τελευταίες μεθόδους υγρής μικροεκχύλισης που έχουν εξελιχθεί και είχε ως σκοπό την δημιουργία της κατάλληλης, σε σύσταση και καθαρότητα, σταγόνας μέσω της σύζευξης της οργανικής με την υδατική φάση. Η DLLME χαρακτηρίζεται ως ένα τριαδικό σύστημα συστατικού – διαλύτη κατά το οποίο, ένας μη υδατοδιαλυτός διαλύτης που εμπεριέχει το εκχυλιστικό μέσο διαλύεται σε έναν υδατοδιαλυτό διαλύτη διασκορπισματος και μετά πραγματοποιείται ένεση απευθείας στο υδατικό διάλυμα – δότη. Η διαδικασία αυτή έχει ως αποτέλεσμα την δημιουργία ενός θολού διαλύματος, αποτελούμενο από σχετικά καλές σταγόνες του διαλύτη εκχυλιστικού μέσου διασκορπισμένες σε όλη την υδατική φάση. Η φυγοκέντρωση αποτέλεσε σωτήρια λύση για την ανάκτηση των εξεταζόμενων ουσιών από τις σταγόνες του διαλύτη εκχυλιστικού μέσου. Η επίτευξη της διασποράς του εκχυλιστικού μέσου στην υδατική φάση μπορεί να ήταν δυνατή εντούτοις τα μειονεκτήματα της συγκεκριμένης μεθόδου όπως η αναγκαία χρήση ενός τρίτου συστατικού διαλύτη « διανομέα », με σκοπό την αύξηση του συντελεστή διαχωρισμού των εξεταζόμενων ουσιών από τον διαλύτη εκχυλιστικού μέσου και η δυσκολία αυτοματισμού, υπερσχύουν (Yiantzi et al., 2010).

Η μέθοδος ελεγχόμενης θερμοκρασίας ιοντική υγρή DLLME είναι μία εξέλιξη της κλασσικής DLLME και σχετίζεται με την διασπορά ιοντικής υγρής σταγόνας στην υδατική φάση σε υψηλές θερμοκρασίες. Για τον διαχωρισμό των ουσιών από τις σταγόνες του διαλύτη εκχυλιστικού μέσου, πραγματοποιήθηκε χρήση φυγόκεντρου και θερμοκρασιακή ψύξη. Βασικό μειονέκτημα της συγκεκριμένης μεθόδου είναι η μείωση της ποσότητας των προς εξέταση ουσιών η οποία οφείλεται στην εξάτμιση τους που προήλθε από την επικράτηση υψηλών θερμοκρασιών κατά την διάρκεια της διαδικασίας (Yiantzi et al., 2010).

Η χρήση υπερήχων αποτέλεσε άλλη μία προσπάθεια για την επίτευξη διασποράς της φάσης δέκτη – εκχυλιστικού μέσου μέσα στην φάση δότη – υδατική φάση. Η διαδικασία αυτή ονομάστηκε ομογενοποίηση καθώς είναι γνωστό ότι τα ετερογενή συστήματα υγρής – υγρής μικροεκχύλισης τείνουν να γίνουν ομοιόμορφα όταν υποβάλλονται σε υπερηχητική ακτινοβολία και χρησιμοποιήθηκε ως εναλλακτική μέθοδος υγρής – υγρής εκχύλισης. Η εφαρμογή υπερήχων στην μέθοδο της ομογενοποίησης πραγματοποιήθηκε προκειμένου να επιτευχθεί η επιτάχυνση της διαδικασίας, δημιουργώντας μικροσκοπικού μεγέθους σταγόνες αυξάνοντας την διεπιφάνεια μεταξύ των δύο υγρών καθώς και την αποτελεσματικότητα της

μεταφοράς των εξεταζόμενων ουσιών. Βασικά μειονεκτήματα της συγκεκριμένης τεχνικής ήταν η ελαχιστοποίηση της ισχύς του συστήματος παραγωγής υπερήχων λόγω του συχνού καθαρισμού του και η αδυναμία συνεχούς εκπομπής ακτινοβολίας υπερήχων με τον χρόνο. Επιπλέον, είναι αξιοσημείωτο να αναφερθεί ότι πέρα από αυτές τις χαμηλές συχνότητες και την σχετικά συχνή εφαρμογή, η αποδόμηση των εξεταζόμενων ουσιών μπορεί να προκύψει και μέσω της εφαρμογής υψηλής πίεσης και κλίσεων θερμοκρασίας, υψηλών διατμητικών δυνάμεων ή και από την δημιουργία ελεύθερων ριζών (Yiantzi et al., 2010).

Οι παραπάνω μέθοδοι που παρουσιάστηκαν αναλυτικά, η υγρή – υγρή μικροεκχύλιση διασποράς, η μέθοδος ελεγχόμενης θερμοκρασίας ιοντική υγρή DLLME και η ομογενοποίηση με χρήση ακτινοβολίας υπερήχων, θα μπορούσαν να χαρακτηριστούν ως εγχειρήματα για την αύξηση της συνολικής διεπιφάνειας οκτανόλης/νερού. Μολαταύτα, παρουσιάστηκαν διάφορα προβλήματα μετά το πέρας της διαδικασίας, καθιστώντας τις παραπάνω τεχνικές δύσκολες να επιτύχουν. Στην μέθοδο της VALLME υπάρχουν παράμετροι του πειράματος που επηρεάζουν την διαδικασία εκχύλισης, όπως ο οργανικός διαλύτης, ο χρόνος ανάδευσης, ο όγκος του υδατικού διαλύματος, το pH και η προσθήκη άλατος, οι οποίοι όμως ελέγχονται από την αρχή και βελτιστοποιούνται. Η οκτανόλη, δηλαδή ο οργανικός διαλύτης που χρησιμοποιείται ως φάση δέκτη στην παρούσα μέθοδο, έχει την ικανότητα αποτελεσματικής εκχύλισης αλκυλοφαινόλων σε σύγκριση με τα ιοντικά υγρά και τον τετραχλωράνθρακα, όπως έχει αναφερθεί στο παρελθόν. Ο ρόλος του vortex είναι να αναδεύσει τις δύο υγρές φάσεις μεταξύ τους και να δημιουργήσει έναν στρόβιλο, το μέγεθος και το σχήμα του οποίου εξαρτώνται από την ταχύτητα περιστροφής του ρήτορα. Σε περίπτωση μη αναμίξιμων υγρών και αυξημένης ταχύτητας, το αποτέλεσμα είναι ο διαχωρισμός της μίας από της δύο φάσης σε μικρά σταγονίδια. Οι συνθήκες ασταθούς ισορροπίας μετατρέπουν την ανάλυση σε δυσμενή κατάσταση καθώς οι τεχνικές μικροεκχύλισης χαρακτηρίζονται από ισορροπία και η μεταφορά μάζας μέσα από την οργανική φάση αποτελεί οριακό βήμα. Τα μικρά σταγονίδια στην συνέχεια, μπορούν να οδηγήσουν τις εξεταζόμενες ουσίες πιο γρήγορα σε ισορροπημένη φάση λόγω της μικρότερης απόστασης διάχυσης και της μεγάλης διεπιφάνειας. Τέλος, εφαρμόζεται φυγοκέντρηση και έπειτα η κυμαινόμενη φάση δέκτη – εκχυλίσεως διαμορφώνεται στην αρχική της μορφή, σε σχήμα μικροσταγόνας και αναλύεται μέσω του συστήματος HPLC (Yiantzi et al., 2010).

2.4 Συμβατικές μέθοδοι επεξεργασίας των EOCs

Η απομάκρυνση των EOCs, τις τελευταίες δεκαετίες, έχει αποσπάσει το ενδιαφέρον του επιστημονικού και συνάμα του βιομηχανικού κλάδου, με αποτέλεσμα να αυξηθούν οι έρευνες για την αποδοτικότητα των υφιστάμενων μεθόδων επεξεργασίας (Ahmed et al., 2016)(Sui et al., 2015).

Οι τεχνικές που εφαρμόστηκαν με στόχο την αποτελεσματικότερη επεξεργασία των εν λόγω ρύπων, μπορούν να κατηγοριοποιηθούν σε βιολογικές (όπως βιοαντιδραστήρες διαφόρων ειδών, ενεργός ιλύς, νιτροποίηση κτλ.), σε χημικές (όπως οξονοποίηση, φωτοκατάλυση, κροκίδωση κτλ.) ή φυσικές (όπως αντίστροφη όσμωση, ιζηματογένεση, νανοδιήθηση, μικροδιήθηση ή υπερδιήθηση κτλ.) (Ahmed et al., 2016). Οι βιολογικές μέθοδοι επεξεργασίας βασίζονται κυρίως στην διεργασία της βιοαποδόμησης, η οποία συνιστά και την πιο ευρέως χρησιμοποιούμενη τεχνική σε σύγκριση με όλες τις υπόλοιπες. Στις εγκαταστάσεις επεξεργασίας υγρών αποβλήτων τα τελευταία χρόνια, έχουν εφαρμοστεί βελτιωμένες τεχνικές τριτοβάθμιου τύπου επεξεργασίας, οι οποίες σημειώνεται ότι έχουν ποσοστό απομάκρυνσης συγκεκριμένων ρύπων EOCs έως 99%. Παρ' όλα αυτά, η εφαρμογή τους καλείται περιορισμένη λόγω του υψηλού κόστους και της κατανάλωσης ενέργειας (Garcia-Rodríguez et al., 2014). Μία μέθοδος η οποία χαρακτηρίζεται από χαμηλό κόστος, είναι απλή και περιβαλλοντικά αποδεκτή και αξιοποιεί την συνεργιστική δράση των φυτών με τους σχετιζόμενους με αυτά μικροοργανισμούς, για την επεξεργασία των ρύπων EOCs, είναι οι τεχνητοί υγροβιότοποι (Zhang et al., 2015).

2.5 Τεχνητοί υγροβιότοποι

2.5.1 Το σύστημα του Τεχνητού Υγροβιότοπου

Η μέθοδος των τεχνητών υγροβιότοπων (Constructed Wetlands, TY) εφαρμόστηκε για πρώτη φορά, στις αρχές της δεκαετίας του 1950, χαρακτηριζόμενη ως μία μη συμβατική τεχνική βιολογικής επεξεργασίας (Töre et al., 2012)(Ahmed et al., 2016). Η χρήση των TY σχετίζεται κυρίως με την επεξεργασία είτε υγρών αποβλήτων, τα οποία προέρχονται από μικρές,

αποκεντρωμένες κοινωνίες, είτε εκροών από εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων συμβατικού τύπου (Kapellakis et al., 2012). Οι ΤΥ είναι συστήματα επεξεργασίας αποτελούμενα από ρηχές λίμνες, υποστρώματα ή χαντάκια, τα οποία εμπεριέχουν επιπλέουσα ή αναδύομενη ριζωμένη υγροτοπική βλάστηση (Garcia-Rodríguez et al., 2014). Ανάλογα με την υδρολογία τους, οι ΤΥ μπορούν να ταξινομηθούν σε υγροβιότοπους ελεύθερης επιφάνειας (Free Water Surface, FWS), οριζόντιας υποεπιφανειακής ροής (Horizontal Subsurface Flow, HSSF), κάθετης υποεπιφανειακής ροής (Vertical Subsurface Flow, VSSF) και σε υβριδικά συστήματα τα οποία συνιστούν συνδυασμό των προηγούμενων τύπων. Επιπροσθέτως, μία άλλη κατηγοριοποίηση των ΤΥ στηρίζεται στα είδη των φυτών που περιέχουν στο σύστημά τους, όπως τα επιπλέοντα μακρόφυτα, τα επιπλέοντα φύλλα από μακρόφυτα, τα βυθισμένα μακρόφυτα και τα αναδύομενα ριζωμένα μακρόφυτα (Dordio and Carvalho, 2013). Τέλος, με στόχο την επίτευξη μίας υψηλού επιπέδου ποιότητας νερού, οι ΤΥ συνδυάζονται με τις διαδικασίες της βιοαποδόμησης, της φωτοαποδόμησης, της ρόφησης και της φυτοαποδόμησης μεταξύ των φυτών, του υποστρώματος και του εδάφους, με το τελευταίο να αποτελεί τον κυρίαρχο παράγοντα για την ανάπτυξη των φυτών και των μικροοργανισμών (Garcia-Rodríguez et al., 2014) (Ahmed et al., 2016).

2.5.2 Τεχνητοί Υγροβιότοποι οριζόντιας υποεπιφανειακής ροής

Μεταξύ των προαναφερόμενων ειδών ΤΥ, οι οριζόντιας υποεπιφανειακής ροής ΤΥ (Horizontal Subsurface Flow CW, HSSF CW) χαρακτηρίζονται ως συστήματα ευρέως εφαρμοζόμενα. Αποτελούνται από υποστρώματα χαλικιού ή πέτρας, τα οποία λειτουργούν ως μέσα υποστήριξης της αναφυόμενης φυτικής βλάστησης. Στους HSSF CW, το λύμα τροφοδοτείται στην είσοδο του συστήματος και στη συνέχεια ρέει διαμέσου του πορώδους μέσου κάτω από την επιφάνεια του υποστρώματος, με σχετικά οριζόντια κατεύθυνση, μέχρι να φτάσει στην έξοδο του συστήματος όπου συλλέγεται και απορρίπτεται (Vymazal, 2010). Το λύμα, κατά την διάρκεια ροής του μέσα στον HSSF CW, θα έρθει σε επαφή με τα αερόβια, ανοξικά και αναερόβια τμήματα του υγροβιότοπου. Στο συγκεκριμένο είδος ΤΥ, αερόβιες συνθήκες επικρατούν μόνο στην περιοχή γύρω από τις ρίζες και στην ριζόσφαιρα, η οποία αποτελεί το μέσο διασποράς του οξυγόνου στο υπόστρωμα (Vymazal, 2014). Η βελτίωση της ποιότητας του ύδατος στους HSSF CW, επιτυγχάνεται μέσω της συνδυαστικής δράσης του εδάφους, των φυτών και των μικροοργανισμών

(Dordio and Carvalho, 2013). Επίσης, σε σύγκριση με τα υπόλοιπα είδη TY, οι HSSF δεν προκαλούν κινδύνους για την υγεία των ανθρώπων, των ζώων και των πτηνών, όπως συμβαίνει στην περίπτωση των FWS TY, λόγω της ύπαρξης ελεύθερης επιφάνειας νερού ακόμη και πριν την έναρξη της αποδόμησης. Τέλος, πραγματοποιείται συνεχόμενη ροή του λύματος στο σύστημα και όχι περιοδική όπως στους VSSF CWs, με αποτέλεσμα η διαδικασία επεξεργασίας να είναι λιγότερο χρονοβόρα (Kalogerakis and Christofilopoulos, 2015).

2.5.3 Οι Τεχνητοί Υγροβιότοποι στην επεξεργασία των EOCs

Οι συμβατικές μέθοδοι επεξεργασίας των λυμάτων που περιέχουν EOCs σε συνδυασμό με βελτιωμένες τριτοβάθμιου τύπου διαδικασίες, παρουσιάζουν την ικανότητα να απομακρύνουν αυτή την κατηγορία ρύπων. Παρ' όλα αυτά, το υψηλό επιπέδου κόστος των προαναφερόμενων μεθόδων περιορίζει αρκετά την εφαρμογή τους. Υπό αυτή την έννοια, μη συμβατικές τεχνικές χαμηλού κόστους συντήρησης, όπως οι TY, παρουσιάζουν αυξημένο ενδιαφέρον ως αποκεντρωμένα συστήματα επεξεργασίας διότι έχουν αποδειχθεί αποτελεσματικά στην απομάκρυνση των EOCs, ακόμη και σε λύματα τα οποία προέρχονται από μικρά αστικά κέντρα. Οι TY είναι αποδοτικοί στην επεξεργασία υγρών αποβλήτων προερχόμενων από οικιακές, βιομηχανικές και γεωργικές διεργασίες. Τέτοιου τύπου οικολογικά συστήματα οδηγούν στην επαναχρησιμοποίηση του νερού με έναν τρόπο που συμφέρει οικονομικά, ενώ παράλληλα δημιουργεί περιβάλλον άγριας ζωής σε μικρές περιοχές του υγροβιότοπου (Ávila et al., 2014).

Οι κύριοι μηχανισμοί απομάκρυνσης με TY οργανικών χημικών ενώσεων, όπως είναι οι EOCs, περιλαμβάνουν διάφορες ανεξάρτητες μεταξύ τους διαδικασίες, οι οποίες μπορούν να ταξινομηθούν ως βιοτικές (διεξάγονται με την χρήση ζωντανών οργανισμών, όπως είναι τα φυτά και οι μικροοργανισμοί) ή αβιοτικές διεργασίες (φυσικές ή χημικές). Οι βιοτικές διαδικασίες, οι οποίες διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην απομάκρυνση των EOCs με TY, βασίζονται στην βλάστηση του υγροβιότοπου και στον πληθυσμό των μικροοργανισμών. Σχετικά με την δεύτερη κατηγορία μηχανισμών απομάκρυνσης, η πιο σημαντική αβιοτική διεργασία που λαμβάνει χώρα στους TY, είναι η ρόφηση, η οποία διεξάγεται είτε στην επιφάνεια των ριζών του φυτού και του πορώδους μέσου (κυρίως στην περίπτωση των SSF CW, όπου υπάρχει υπόστρωμα) είτε στο βιοφίλμ (Dordio and Carvalho, 2013).

Η αποδοτικότητα των TY στην απομάκρυνση συγκεκριμένων ομαδοποιημένων ρύπων, οι οποίοι ανήκουν στους EOCs, έχει αποτελέσει αντικείμενο έρευνας τα τελευταία χρόνια. Μελέτες που αφορούν την επεξεργασία των EDCs με την χρήση TY, έχουν διεξαχθεί και περιλαμβάνουν βιολογικές (όπως βλάστηση, βακτήρια, πρωτόζωα κ.ά.) και φυσικοχημικές (όπως ρόφηση, απομόνωση κ.ά.) μεθόδους. Έχει αποδειχθεί ότι ο ρόλος της ριζόσφαιρας, όπου πραγματοποιούνται οι πιο σημαντικές διεργασίες, διευκολύνει την ελαχιστοποίηση των EDCs, με ποσοστά απομάκρυνσης να κυμαίνονται μεταξύ του 30 και του 90% (Toro-Velez et al., 2016). Η απομάκρυνση των PPCPs με TY αποτελεί επίσης πρόσφατο αντικείμενο μελέτης και περιλαμβάνει έναν συνδυασμό φυσικών, χημικών και βιολογικών διαδικασιών, οι οποίες εξαρτώνται από τις παραμέτρους σχεδιασμού και λειτουργικότητας της εκάστοτε επεξεργασίας. Πιο συγκεκριμένα, οι προαναφερόμενες διαδικασίες είναι η φωτολυτική αποδόμηση, η ρόφηση, η απορρόφηση από την ρίζα του φυτού και η φυτοαπόδομηση και η αποδόμηση μέσω μικροοργανισμών (Zhang et al., 2014).

Εν κατακλείδι, οι ιδιότητες μιας χημικής ένωσης των EOCs σε συνδυασμό με την εκάστοτε συγκέντρωσή της, με τα περιβαλλοντικά χαρακτηριστικά και διάφορες διεργασίες, όπως η απορρόφηση, η μεταφορά και η αποδόμηση, συνιστούν τους κύριους παράγοντες πορείας των EOCs στον υπόγειο υδροφόρα ενός TY (Zhang et al., 2014).

2.6 Φυτοεξυγίανση

2.6.1 Ο ορισμός της Φυτοεξυγίανσης

Η διαδικασία της φυτοεξυγίανσης (phytoremediation) των οργανικών ρύπων στους TY, στηρίζεται στην απορρόφηση της ένωσης από την ρίζα (plant uptake), στις εκκρίσεις της ρίζας των φυτών (root exudates) και στην συνεισφορά των μικροοργανισμών της ριζόσφαιρας (Stottmeister et al., 2003). Η απορρόφηση από την ρίζα και η μεταφορά των οργανικών ρύπων στα υπέργεια τμήματα του φυτού (βλαστοί και φύλλα), εξαρτώνται από την συγκέντρωση του ρύπου, τις φυσικοχημικές ιδιότητές του και το είδος του φυτού (Garcia-Rodríguez et al., 2014). Το $\log K_{ow}$ αποτελεί τον καθοριστικό παράγοντα εισόδου μίας οργανικής ένωσης στο φυτό, μέσω της απορρόφησής του από την ρίζα και στην συνέχεια της μετακίνησής του στα υπέργεια μέρη

του φυτού. Οργανικοί ρύποι με $\log K_{ow}$ μικρότερο του 1, παρουσιάζουν μεγάλη διαλυτότητα στο νερό και δεν μεταφέρονται με ευκολία στους βλαστούς και στα φύλλα. Με τιμή $\log K_{ow}$ μεγαλύτερη του 3.5, οι οργανικοί ρύποι χαρακτηρίζονται από ισχυρή ρόφηση στην ρίζα και ελάχιστη έως καθόλου μεταφορά στα υπέργεια τμήματα του φυτού. Γενικά, οργανικές ενώσεις με τιμές $\log K_{ow}$ μεταξύ των ορίων 0.5 – 3.5, παρουσιάζουν πιο εύκολη και γρήγορη απορρόφηση από την ρίζα του φυτού (Weyens et al., 2009).

2.6.2 Ο ρόλος των φυτών

Ποικίλες μελέτες έχουν διεξαχθεί σε σχέση με τον ρόλο των διαφόρων ειδών μακρόφυτου στην αποδοτικότητα των ΤΥ, καταλήγοντας στο συμπέρασμα ότι τα προαναφερόμενα κατέχουν πολυσήμαντη θέση σε ένα σύστημα ΤΥ. Η ύπαρξη των μακρόφυτων, ιδιαίτερα στους SSF CWs, συμβάλλει θετικά στην απομάκρυνση των EOCs, καθώς δημιουργούνται αερόβιες συνθήκες στο υπόστρωμα μέσω του οξυγόνου που απελευθερώνεται από τις ρίζες του φυτού. Μάλιστα, έχει αποδειχθεί ότι οι αερόβιες συνθήκες θεωρούνται πιο αποτελεσματικές για την βιοαποδόμηση, σε σύγκριση με τις αναερόβιες και ιδιαίτερα σε συνεργασία με τους μικροοργανισμούς της ριζόσφαιρας. Οι τελευταίοι αποτελούν κυρίαρχο παράγοντα των διαδικασιών αποδόμησης οργανικών ρύπων. Επιπροσθέτως, η απελευθέρωση οξυγόνου στην ριζόσφαιρα συνεισφέρει και στις οξειδωτικές χημικές διαδικασίες των ρύπων στα λύματα (Li et al., 2014).

Άλλη μία αξιοσημείωτη ιδιότητα των μακρόφυτων, είναι οι εκκρίσεις των ριζών τους (root exudates), όπως τα οργανικά οξέα, τα οποία κρίνονται απαραίτητα για την ανάπτυξη των μικροοργανισμών της ριζόσφαιρας. Η προαναφερόμενη ιδιότητα των μακρόφυτων σε συνδυασμό πολλά άλλα χαρακτηριστικά, όπως η σταθεροποιημένη επιφάνεια του υποστρώματος, η οποία δύναται να λειτουργήσει και σαν επιφάνεια για το βιοφίλμ, αποδεικνύουν ότι συνιστούν έναν βασικό παράγοντα σχεδιασμού. Κατά συνέπεια, για την σωστή λειτουργικότητα των μακρόφυτων είναι αναγκαία η ύπαρξη της βλάστησης, καθώς σε συνεργασία με την απορρόφηση από την ρίζα, τα μακρόφυτα δύνανται να απελευθερώσουν οργανικά οξέα από τις ρίζες τους και να αυξήσουν τον πληθυσμό των μικροοργανισμών, οδηγώντας την βιοαποδόμηση σε ένα αρκετά ικανοποιητικό επίπεδο (Li et al., 2014).

2.6.3 Κριτήρια επιλογής των φυτών

Η επιλογή των φυτών για τους ΤΥ διαδραματίζει πολυσήμαντο ρόλο διότι έχουν άμεση συσχέτιση με τις διαδικασίες επεξεργασίας των ΤΥ και αποτελούν απαραίτητο στοιχείο σχεδιασμού τέτοιων συστημάτων. Παρ' όλα αυτά, ελάχιστα είναι τα είδη των φυτών, τα οποία χρησιμοποιούνται ευρέως στους ΤΥ. Συνεπώς, η επιλογή των κατάλληλων φυτών πρέπει να αποτελεί το κύριο αντικείμενο έρευνας στον σχεδιασμό ενός συστήματος ΤΥ (Wu et al., 2015).

Τα υποψήφια φυτά για την διαδικασία της φυτοεξυγίανσης, η οποία λαμβάνει χώρα στους ΤΥ, πρέπει να έχουν ως κύρια χαρακτηριστικά την υψηλή παραγωγή βιομάζας, το εκτενές σύστημα ριζών, την ικανότητα ανθεκτικότητας σε υψηλές συγκεντρώσεις ρύπων και σε περιβαλλοντικές καταπονήσεις (Truu et al., 2015). Επιπροσθέτως, πρέπει να παρουσιάζουν ανθεκτικότητα σε συνθήκες υπερ-ευτροφικές και συνεχόμενου κορεσμού από νερό και να δύνανται να απορροφήσουν τον εκάστοτε ρύπο (Wu et al., 2015). Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, οι κατηγορίες φυτών που χρησιμοποιούνται στους ΤΥ, ταξινομούνται επί το πλείστον ως αναδυόμενα, επιπλέοντα και βυθισμένα. Σε διάφορες μελέτες έχει αποδειχθεί ότι τα αναδυόμενα μακρόφυτα αποτελούν το κυρίαρχο είδος φυτού στους ΤΥ και ένα από τα ελάχιστα είδη μακρόφυτων που παρουσιάζουν ανθεκτικότητα σε διάφορους οργανικούς ρύπους (Guiltonny-Philippe et al., 2015).

2.6.4 Το φυτό *Juncus acutus*

2.6.4.1 Γενικά στοιχεία για το γένος *Juncus*

Το γένος *Juncus* (*Juncus* spp.) αποτελείται από τα ελόφυτα, τα οποία είναι πολυετή ή σπάνια μονοετή σαν αγρωστώδη, με μία ευρεία κατανομή. Τα περισσότερα ελόφυτα χαρακτηρίζονται ως αυτόχθονα μονοκοτυλήδονα που ευδοκούν σε υγροβιότοπους. Παρουσιάζουν ανθεκτικότητα σε κορεσμένα από νερό περιβάλλοντα και τα περισσότερα είδη τους χαρακτηρίζονται ως ανθεκτικά στην αλατότητα και ελάχιστα ως υποχρεωτικά αλόφυτα. Τα ελόφυτα απελευθερώνουν οξυγόνο στην ριζόσφαιρα μέσω του αερεγχύματος, ανάλογα με το είδος τους και τις εκάστοτε συνθήκες. Για παράδειγμα, τα *J. inflexus* και *J. effusus* δημιουργούν μία σταθερή κωνικού σχήματος ζώνη οξυγόνου γύρω από τα ριζικά άκρα τους και μία ζώνη οξυγόνου στις πλευρικές τους ρίζες που

εναλλάσσεται μεταξύ μέρας και νύχτας. Εν αντιθέσει, το *J. articulatus* απελευθερώνει οξυγόνο συνεχώς κοντά στις ρίζες (Syranidou et al., 2016).



Εικόνα 4: (α) Ο υγροβιότοπος του ποταμού Μορώνη και (β) ένα τυπικός εκπρόσωπος του είδους *Juncus acutus* στον τόπο όπου είχε γίνει η συλλογή τους για την κατασκευή του υγροβιότοπου.

3.1 Περιγραφή συστήματος

3.1.1 Υγροβιότοπος με *Juncus acutus*

Ο υγροβιότοπος ήταν εγκατεστημένος στην Εγκατάσταση Επεξεργασίας Λυμάτων της πόλης των Χανίων. Περιείχε πέντε φυτά *Juncus acutus* τα οποία είχαν συλλεχθεί από τον φυσικό υγροβιότοπο του ποταμού Μορώνη της Σούδας (Χανιά, Ελλάδα) και ήταν κατασκευασμένος από ανοξείδωτο χάλυβα (2 m x 0.5 m x 0.5 m). Ως υπόστρωμα περιείχε χαλίκι μεγέθους 0.8 – 1.25 cm, συνολικού όγκου 0.4 m³. Το λύμα προερχόμενο από δευτεροβάθμια επεξεργασία, πριν εισαχθεί στον υγροβιότοπο, συλλεγόταν σε μία δεξαμενή εξισορρόπησης πολυαιθυλενίου όγκου 200 L, με την βοήθεια μιας ηλεκτρικής υποβρύχιας αντλίας τοποθετημένη στο εσωτερικό του καναλιού λυμάτων, ενώ η ενεργοποίησή της γινόταν μέσω ηλεκτρικού φλοτέρ, τοποθετημένο στο εσωτερικό της δεξαμενής εξισορρόπησης. Ο μεσόκοσμος τροφοδοτούνταν με λύμα από την δεξαμενή καθίζησης σε συνεχή ροή, με την βοήθεια μιας περισταλτικής αντλίας. Ένα πυκνό διάλυμα αποτελούμενο από μίγμα των εξεταζόμενων ενώσεων, αραιώθηκε σε μία δεξαμενή από ανοξείδωτο χάλυβα, χωρητικότητας 50 L, όπου η ομογενοποίηση διατηρήθηκε με την χρήση κυκλοφορητή ενυδρείου σταθερής παροχής 200 L h⁻¹. Μία περισταλτική αντλία χρησιμοποιήθηκε για την εισαγωγή των οργανικών ενώσεων στον ΤΥ, πριν εισαχθούν στο σύστημα του υγροβιότοπου, επιτυγχάνοντας η παροχή να κυμαίνεται στα 0.25 – 0.5 L h⁻¹. Ο συνολικός όγκος των επεξεργασμένων λυμάτων στο εσωτερικό του υγροβιότοπου διατηρήθηκε σταθερός στα 157 L, που αντιστοιχεί σε επίπεδο των 10 cm κάτω από την επιφάνεια του χαλικιού, μέσω ενός σωλήνα από τον οποίο το λύμα υπερχειλίζει από τον πυθμένα της πιλοτικής μονάδας στο συγκεκριμένο

ύψος. Οι μετεωρολογικές παράμετροι (θερμοκρασία και σχετική υγρασία) καταγράφονταν κάθε 3 ώρες με την χρήση συσκευής καταγραφής δεδομένων aDT-171.

3.1.2 Υγροβιότοπος Ελέγχου

Το πρώτο από τα έξι πειράματα που διεξήχθησαν, πραγματοποιήθηκε σε μία μονάδα ελέγχου χωρίς την παρουσία βλάστησης, το οποίο ήταν τοποθετημένο κοντά στον υγροβιότοπο με τα *J. acutus*. Η προαναφερόμενη μονάδα ουσιαστικά είναι ένας διαφορετικού τύπου υγροβιότοπος, διότι είναι ο μισός σε μέγεθος (1 m x 0.5 m x 0.5 m), σε σύγκριση με αυτόν που αναφέρθηκε παραπάνω. Ο συνολικός όγκος του υγρού στο σύστημα ήταν 57 L και η συνολική παροχή εισόδου 2.37 L h^{-1} . Τέλος, σχετικά με την επιμόλυνση, οι συγκεντρώσεις εισόδου των οργανικών ενώσεων υπολογίστηκαν σε ίσες τιμές με εκείνες του υγροβιότοπου με τα *J. acutus*.



Εικόνα 5: Παρουσίαση του Υγροβιότοπου με τα *Juncus acutus* και του Υγροβιότοπου Ελέγχου στην εγκατάσταση επεξεργασίας λυμάτων της πόλης των Χανίων.



Εικόνα 6: (α) Παρουσίαση εισόδου και εξόδου στον Υγροβιότοπο με *Juncus acutus* στην εγκατάσταση επεξεργασίας λυμάτων της πόλης των Χανίων και (β) Παρουσίαση εξόδου στον Υγροβιότοπο με *Juncus acutus* στην εγκατάσταση επεξεργασίας λυμάτων της πόλης των Χανίων.

3.2 Πειραματικός σχεδιασμός

Ο τεχνητός υγροβιότοπος με *Juncus acutus* λειτούργησε για την απομάκρυνση της BPA και των φαρμακευτικών ενώσεων CIP και SMX, κατά την χρονική περίοδο Φεβρουάριος 2016 – Δεκέμβριος 2016 και οι κύκλοι των πειραμάτων κατ’ ακολουθίαν. Διεξήχθησαν έξι πειράματα διάρκειας δύο εβδομάδων έκαστο, στα οποία οι κύριες μεταβολές σχετίζονταν με τον υδραυλικό χρόνο παραμονής (HRT), με την εποχικότητα και με τις συγκεντρώσεις επιμόλυνσης. Στα πειράματα “Control” και “T”, επιλέχθηκε η επιμόλυνση με αρκετές υψηλές συγκεντρώσεις των οργανικών ενώσεων, σε σχέση με τις τυπικές τιμές αστικών λυμάτων, ώστε να είναι ανιχνεύσιμες. Οι κύκλοι πειραμάτων παρουσιάζονται εμπεριστατωμένα στο Πίνακα 3.

Πίνακας 3: Πειραματικός σχεδιασμός – Παρουσίαση πειραμάτων

Πείραμα	Περιγραφή / σκοπός	HRT (days)	Συγκεντρώσεις επιμόλυνσης στην είσοδο του υδροβιότοπου		
			BPA ($\mu\text{g L}^{-1}$)	CIP (mg L^{-1})	SMX (mg L^{-1})
Control	Απουσία φυτών	1	100	1	5
<i>J. acutus</i> “T”	Επίδραση βλάστησης	1	100	1	5
<i>J. acutus</i> “HR1”	Επίδραση HRT	1	5	0.25	0.5
<i>J. acutus</i> “HR2”	Επίδραση HRT / εποχικότητας	2	5	0.25	0.5
<i>J. acutus</i> “PR”	Λύμα πρωτοβάθμιας επεξεργασίας	2	Χωρίς επιμόλυνση		
<i>J. acutus</i> “OB”	Επίδραση εποχικότητας	2	5	-	-

Κατά την διενέργεια των προαναφερόμενων πειραμάτων, πραγματοποιήθηκαν δειγματοληψίες, ένα δείγμα στην εισροή και ένα στην εκροή του ΤΥ. Η δειγματοληψία λάμβανε χώρα καθημερινά για τις υπό εξέταση οργανικές ενώσεις, ενώ δύο με τρεις φορές την εβδομάδα για τον υπολογισμό της τιμής των διαφόρων παραμέτρων ποιότητας νερού, δηλαδή του pH, των Ολικών Αιωρούμενων Στερεών (Total Suspended Solids, TSS), του Χημικά Απαιτούμενου Οξυγόνου (Chemical Oxygen Demand, COD) και της αγωγιμότητας. Η μέτρηση των προαναφερόμενων φυσικοχημικών παραμέτρων διεξαγόταν πέντε φορές συνολικά για κάθε πείραμα. Οι μετεωρολογικές παράμετροι (θερμοκρασία και σχετική υγρασία) μετρούνταν κάθε 3 ώρες από τον καταγραφέα δεδομένων aDT – 171. Σχετικά με τον ηλεκτρομηχανολογικό εξοπλισμό, η μέτρηση της παροχής της αντλίας επιμόλυνσης και της αντλίας παροχής λύματος, πραγματοποιούνταν κάθε δύο μέρες και ο καθαρισμός των φίλτρων και της υποβρύχιας αντλίας που είναι τοποθετημένη στον πυθμένα της δεξαμενής επιμόλυνσης, διεξαγόταν κάθε μέρα και δύο φορές την εβδομάδα αντίστοιχα.

Επιπροσθέτως, πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις της εξατμισοδιαπνοής, η οποία λήφθηκε υπόψη για τη διόρθωση της συγκέντρωσης εξόδου των οργανικών ενώσεων, της απομάκρυνσης της συγκέντρωσης και του ρυθμού απομάκρυνσης μάζας. Η μέτρηση της εξατμισοδιαπνοής γινόταν

με διακοπή εισόδου λύματος στον υγροβιότοπο για 24 h και μέτρηση του απομακρυσμένου όγκου υγρού που είχε λάβει χώρα κατά το διάστημα αυτό.

Απαραίτητη ήταν η παρασκευή πυκνών διαλυμάτων των υπό εξέταση ενώσεων, για την ομαλή επίτευξη της διαδικασίας της επιμόλυνσης. Αρχικά, έγινε ζύγιση των ενώσεων και έπειτα διάλυση με την αναγκαία ποσότητα μεθανόλης (MeOH) για την BPA και την SMX και νερού βρύσης, μετά από ρύθμιση του pH σε 2.4 με φωσφορικό οξύ (H_3PO_4), για την CIP. Προσθήκη των πυκνών διαλυμάτων στη δεξαμενή επιμόλυνσης και αραίωσή τους με νερό δικτύου, πραγματοποιούνταν κάθε 3 – 4 ημέρες.

Σημαντικές διαδικασίες για την συντήρηση των δειγμάτων απευθείας μετά την λήψη τους, αποτελέσαν η διήθηση και η οξίνιση του pH με διάλυμα υδροχλωρίου (HCl). Η διήθηση πραγματοποιήθηκε με την χρήση φίλτρων μικροϊνών γυαλιού $1\ \mu m$ (glass microfiber filters, GF/F, Whatman). Τα διαλύματα που προορίζονταν για ανάλυση της BPA, υπέστησαν διήθηση και έπειτα διατηρήθηκαν στην κατάψυξη σε θερμοκρασία $-8\ ^\circ C$. Η προετοιμασία των δειγμάτων που προορίζονταν για την ανάλυση των δύο αντιβιοτικών, περιλάμβανε διήθηση και οξίνιση του pH με διάλυμα HCl ενώ η συντήρησή τους μέχρι να αναλυθούν γινόταν σε ψυγείο θερμοκρασίας $4\ ^\circ C$.

Το επόμενο στάδιο της πειραματικής διαδικασίας αποτέλεσε η ανάλυση των υπό εξέταση οργανικών ενώσεων, οι οποίες περιέχονταν στα δείγματα εισροής και εκροής του τεχνητού υγροβιότοπου, σε ένα σύστημα Υγρής Χρωματογραφίας Υψηλής Απόδοσης (HPLC). Στα πειράματα όπου η επιμόλυνση διεξαγόταν με χαμηλές συγκεντρώσεις των προαναφερθέντων ενώσεων, χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος υγρής-υγρής μικροεκχύλισης (VALLME) υποβοηθούμενης από Vortex. Απαραίτητη διαδικασία πριν την έναρξη ανάλυσης των δειγμάτων για τις οργανικές ενώσεις στο σύστημα HPLC, ήταν η βαθμονόμηση του οργάνου για την BPA και τις φαρμακευτικές ενώσεις.

3.3 Υλικά

3.3.1 Αντιδραστήρια

Τα χημικά που χρησιμοποιήθηκαν για την προετοιμασία των δειγμάτων προς ανάλυση είναι τα παρακάτω:

1. BPA του οίκου Sigma - Aldrich
2. CIP του οίκου Fluka
3. SMX του οίκου Fluka
4. Οκτανόλη (1 - octanol) του οίκου Sigma - Aldrich καθαρότητας $\geq 99\%$
5. Ακετονιτρίλιο του οίκου Sigma - Aldrich με βαθμό καθαρότητας για Υγρή Χρωματογραφία $\geq 99,9\%$
6. Ακετόνη του οίκου Sigma - Aldrich, καθαρότητας $\geq 99,5\%$

Χρησιμοποιήθηκε υπερκάθαρο (δισ απαιονισμένο) νερό από σύστημα καθαρισμού ύδατος EASYpureRF, το οποίο προμηθεύτηκε από την εταιρία Barnstead/Thermolyne.

3.3.2 Όργανα – Συσκευές

1. Γυάλινο φιαλίδιο χωρητικότητας 22 mL με βιδωτό πράσινο πώμα μελαμίνης με επένδυση πολυτετραφθοροαιθυλενίου (Vial, screw top with solid green Melamine cap with PTFE liner)
2. Hamilton HPLC μικροσύριγγα των 100 μL , μοντέλο 710 SNR
3. Hamilton HPLC μικροσύριγγα των 50 μL , μοντέλο 705NR
4. HPLC σύστημα της Shimadzu
5. Αναδευτήρας τύπου vortex (Reax Control, Heidolph, Germany)
6. Φυγόκεντρος (Labofuge 400 Heraeus, Kendro Laboratory Products, Germany)

3.4 Αναλύσεις με HPLC

Ο διαχωρισμός και η ποσοτικοποίηση των οργανικών ενώσεων πραγματοποιήθηκαν με την χρήση συστήματος υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (HPLC) κατασκευασμένο από την Shimadzu (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan), το οποίο αποτελείται από μία αντλία δύο διαλυτών, έναν ανιχνευτή παράταξης φωτοδιόδων, έναν φθορισμομετρικό ανιχνευτή και έναν αυτόματο δειγματολήπτη. Η χρωματογραφική στήλη που χρησιμοποιήθηκε για τον διαχωρισμό της BPA ήταν η Nucleosil 100-5 C18 (250 mm x 4,6 mm x 5 μ m, Macherey - Nagel, Duren, Germany). Η κινητή φάση ήταν μίγμα σε αναλογία 50:50 ακετονιτρίλιο:νερό και η ανίχνευση επιτεύχθηκε με ανιχνευτή φθορισμού με μήκος κύματος διέγερσης τα 277 nm και εκπομπής τα 300 nm. Ο συνολικός χρόνος ανάλυσης ήταν 15 min και η θερμοκρασία του φούρνου ήταν 27 °C (Christofilopoulos et al., 2016). Στο πείραμα PR οι αναλύσεις των δειγμάτων της BPA, της CIP και της SMX, διεξήχθησαν με την εφαρμογή της μεθόδου προσθήκης γνωστής ποσότητας (standard addition) .

Η χρωματογραφική στήλη Alltech Prevail™ Organic Acid 5u (250 mm \times 4.6 mm \times 5 μ m, Deerfield, IL, USA) χρησιμοποιήθηκε για τον διαχωρισμό της CIP και της SMX στους 27 °C. Η κινητή φάση αποτελούνταν από 0.02 molL⁻¹ ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικού οξέους και ακετονιτρίλιο σε αναλογία 50:50, με την ταχύτητα ροής να διατηρείται στο 1.0 mL min⁻¹. Το έκλουσμα της στήλης παρακολουθούνταν για την SMX από έναν ανιχνευτή παράταξης φωτοδιόδων ρυθμισμένο στα 266 nm, ενώ για την CIP το μήκος κύματος διέγερσης ρυθμίστηκε στα 278 nm και εκπομπής στα 445 nm σε έναν φθορισμομετρικό ανιχνευτή (Christofilopoulos et al., 2016).

3.5 Αναλύσεις με VALLME

Η μέθοδος της Υγρής – Υγρής Μικροεκχύλισης υποβοηθούμενης από Vortex εφαρμόστηκε στην παρούσα εργασία για την ανάλυση της BPA στα πειράματα όπου η επιμόλυνση με τις οργανικές ενώσεις ήταν χαμηλής συγκέντρωσης. Για τον σκοπό αυτό χρησιμοποιήσαμε την τεχνική της VALLME προκειμένου να προσεγγίσουμε και τις πιο χαμηλές συγκεντρώσεις BPA , με αφορμή

την επιτυχημένη εφαρμογή της στην κατηγορία των αλκυλοφαινόλων. Αρχικά, μικροσύριγγα χωρητικότητας 100 μL , χρησιμοποιήθηκε για να εισάγει τον οργανικό διαλύτη (οκτανόλη) στην υδατική φάση και στην συνέχεια να συλλέξει και να κάνει την ένεση στο σύστημα HPLC για ανάλυση. Στην συνέχεια, 20 mL υδατικού δείγματος που εμπεριείχε BPA γνωστής συγκέντρωσης, η οποία προέκυψε κατόπιν επιμολύνσεως, τοποθετήθηκαν σε vial με βιδωτό πράσινο πώμα μελαμίνης με επένδυση πολυτετραφθοροαιθυλενίου χωρητικότητας 22 mL και 50 μL οκτανόλης εισήχθησαν αργά ως εκχυλιστικό μέσο. Το μίγμα υπέστη έντονη ανάδευση χρησιμοποιώντας vortex, για χρονική διάρκεια της τάξεως των 2 min στις 2500 rpm (μέγιστη ρύθμιση). Ως αποτέλεσμα, σχηματίστηκαν σταγονίδια τα οποία διευκόλυναν την μεταφορά μάζας της εξεταζόμενης ουσίας εντός της οργανικής φάσης. Ο διαχωρισμός των δύο φάσεων διεξήχθη μετά από φυγοκέντρωση στις 3500 rpm για 2 min. Με αυτό τον τρόπο, θα μπορούσε η οργανική φάση της οκτανόλης να αποκτήσει ενιαίο σχήμα σταγόνας, διευκολύνοντας κατά πολύ την λήψη 30 μL με την βοήθεια της μικροσύριγγας και να χρησιμοποιηθούν στην συνέχεια για ανάλυση στο σύστημα HPLC (Yiantzi et al., 2010).

3.6 Υπολογισμοί

Για την εκτίμηση της απόδοσης του συστήματος, προηγήθηκαν ορισμένοι υπολογισμοί οι οποίοι περιγράφονται στην ενότητα αυτή. Η εξατμισοδιαπνοή λήφθηκε υπόψη σε όλα τα πειράματα εκτός του πειράματος ελέγχου κατά το οποίο θεωρήθηκε αμελητέα, για τον υπολογισμό της παροχής εξόδου, της διορθωμένης συγκέντρωσης της ένωσης στην έξοδο, καθώς και για τον προσδιορισμό της πραγματικής απομάκρυνσης της ένωσης και του πραγματικού ρυθμού απομάκρυνσης της μάζας. Η διόρθωση των συγκεντρώσεων εξόδου υπολογίστηκε βάσει του Lv et al. (Lv et al., 2016), μέσω των εξισώσεων (1), (2):

$$\Delta V = \frac{(Q_t - V_{out})}{Q_t} \quad \text{Εξίσωση (1)}$$

$$\dot{\eta} \quad \Delta V = \frac{Q_{in} - Q_{out}^{adj}}{Q_{in}} \quad \text{Εξίσωση (2)}$$

Όπου ΔV : οι απώλειες λόγω εξατμισοδιαπνοής,

Q_{in} : η μετρηθείσα παροχή εισόδου σε $L d^{-1}$,

t: ο χρόνος σε d,

V_{out} : ο όγκος στην έξοδο σε L και

Q_{out}^{adj} : η παροχή στην έξοδο του υδροβιότοπου σε $L d^{-1}$.

Η παροχή εξόδου Q_{out}^{adj} υπολογίστηκε βάσει της εξίσωσης (3), ως η διαφορά της παροχής εισόδου Q_{in} με την μέση εξατμισοδιαπνοή ανά ώρα:

$$Q_{out}^{adj} = Q_{in} - E/24 \quad \text{Εξίσωση (3)}$$

Όπου ET: η μετρηθείσα εξατμισοδιαπνοή σε $L d^{-1}$.

Ακολούθως, η διόρθωση της μετρηθείσας συγκέντρωσης εξόδου πραγματοποιήθηκε με εφαρμογή της εξίσωσης (4) ως εξής:

$$C_{out}^{adj} = (1 - \Delta V) C_{out}^m \quad \text{Εξίσωση (4)}$$

Όπου C_{out}^{adj} , C_{out}^m η διορθωμένη και η μετρηθείσα συγκέντρωση στην έξοδο του υδροβιότοπου, αντίστοιχα (σε $\mu g L^{-1}$ για την BPA και $mg L^{-1}$ για τα δύο αντιβιοτικά).

Το ποσοστό % απομάκρυνσης των οργανικών ενώσεων, υπολογίστηκε ως ακολούθως:

$$\text{Απομάκρυνση ένωσης (\%)} = \frac{C_{in} - (1 - \Delta V) C_{out}}{C_{in}} \times 100 \quad \text{Εξίσωση (5)}$$

Όπου C_{in} , C_{out} είναι οι μετρηθείσες συγκεντρώσεις εισόδου και εξόδου, αντίστοιχα, σε $\mu\text{g L}^{-1}$ για την BPA και mg L^{-1} για τα δύο αντιβιοτικά.

Μετά τον υπολογισμό των παραπάνω, έλαβε χώρα ο προσδιορισμός του ρυθμού απομάκρυνσης μάζας των οργανικών ενώσεων (σε $\mu\text{g h}^{-1}$ ή mg h^{-1}), σύμφωνα με την παρακάτω εξίσωση, λαμβάνοντας υπόψη τις απώλειες λόγω εξατμισοδιαπνοής:

$$r_{out} = m_1 - m_2 = Q_{in}C_{in} - Q_{out}^{adj}C_{out} \quad \text{Εξίσωση (6)}$$

Όπου m_1 , m_2 είναι οι μάζα της ένωσης στην είσοδο και την έξοδο του υγροβιότοπου, Q_{in} , Q_{out}^{adj} οι παροχές εισόδου και εξόδου του υγροβιότοπου, αντίστοιχα και C_{in} , C_{out} οι μετρηθείσες συγκεντρώσεις εισόδου και εξόδου, αντίστοιχα.

Ένα άλλο μέγεθος το οποίο κρίθηκε σημαντικό για την αξιολόγηση της απόδοσης τους συστήματος, είναι ο λόγος της απομακρυνόμενης μάζας, προς τη μάζα της οργανικής ένωσης η οποία εισάγεται στο σύστημα (m_p). Το ποσοστό αυτό υπολογίστηκε μέσω των εξισώσεων (7),(8) και (9).

$$m_p(\%) = \frac{m_i^{degr}}{m_o^{in}} \times 100 \quad \text{Εξίσωση (7)}$$

$$m_i^{rem} = m_o^{in} - m_i^{out} \quad \text{Εξίσωση (8)}$$

$$m_i^{out} = Q_{adj\ i}^{out} \times C_{meas\ i}^{out} \times \Delta t_i \quad \text{Εξίσωση (9)}$$

Όπου m_i^{rem} : η μάζα της ένωσης που απομακρύνεται από το σύστημα σε χρόνο Δt ,

σε mg h^{-1} ,

m_i^{out} : η μάζα της ένωσης που εξάγεται από το σύστημα σε χρόνο Δt , σε mg h^{-1} ,

$Q_{adj\ i}^{out}$: η πραγματική παροχή στην έξοδο του συστήματος, σε L h^{-1} ,

$C_{meas\ i}^{out}$: η μετρηθείσα συγκέντρωση της ένωσης στην έξοδο του συστήματος, σε

mg L^{-1} και

Δt_i : ο χρόνος σε h.

Στην εξίσωση (9) για τον υπολογισμό του m_i^{out} , προκειμένου να έχουμε την ίδια μάζα εισόδου στο σύστημα (m_o^{in}), λαμβάνεται ως Δt_i ο διπλάσιος χρόνος στην περίπτωση που έχουμε χρόνο παραμονής δύο ημέρες, από αυτή όπου ο χρόνος παραμονής είναι μία ημέρα.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ & ΣΥΖΗΤΗΣΗ

4.1 Βαθμονόμηση

Η βαθμονόμηση αποτελεί υποκατηγορία των γενικών μεθόδων ποσοτικοποίησης. Στο συγκεκριμένο πείραμα, εφαρμόστηκε η μέθοδος πολλαπλών εξωτερικών προτύπων ή καμπύλης αναφοράς (multiple external standards / calibration curve), η οποία βασίζεται στην βαθμονόμηση της μετρητικής διατάξεως και γενικότερα της μεθόδου με χρήση προτύπων εργασίας (working standards) του αναλύτη.

Πραγματοποιήθηκαν τρεις βαθμονομήσεις για τον φθορισμομετρικό ανιχνευτή (Fluorescence Detector, FLD) και μία για τον ανιχνευτή παράταξης φωτοдиодων (Photodiode Array, PDA). Στην πρώτη περίπτωση, οι τρεις βαθμονομήσεις σχετίζονταν με την τεχνική της απευθείας έγχυσης διαλυμάτων (direct injection) των BPA και CIP και με την VALLME των διαλυμάτων BPA, σε συνδυασμό με τον FLD. Στην περίπτωση του PDA, η βαθμονόμηση διεξήχθη για την απευθείας έγχυση διαλυμάτων της SMX.

Η δημιουργία των διαφόρων προτύπων διαλυμάτων των ενώσεων για την κάθε περίπτωση βαθμονόμησης, πραγματοποιήθηκε με την χρήση της διαδικασίας της αραίωσης με απιονισμένο νερό ενός κύριου πρότυπου, το οποίο παρήχθη από πυκνό πρότυπο διάλυμα (stock solution) με την χρήση υπερκάθαρου (δισ απιονισμένου) νερού.

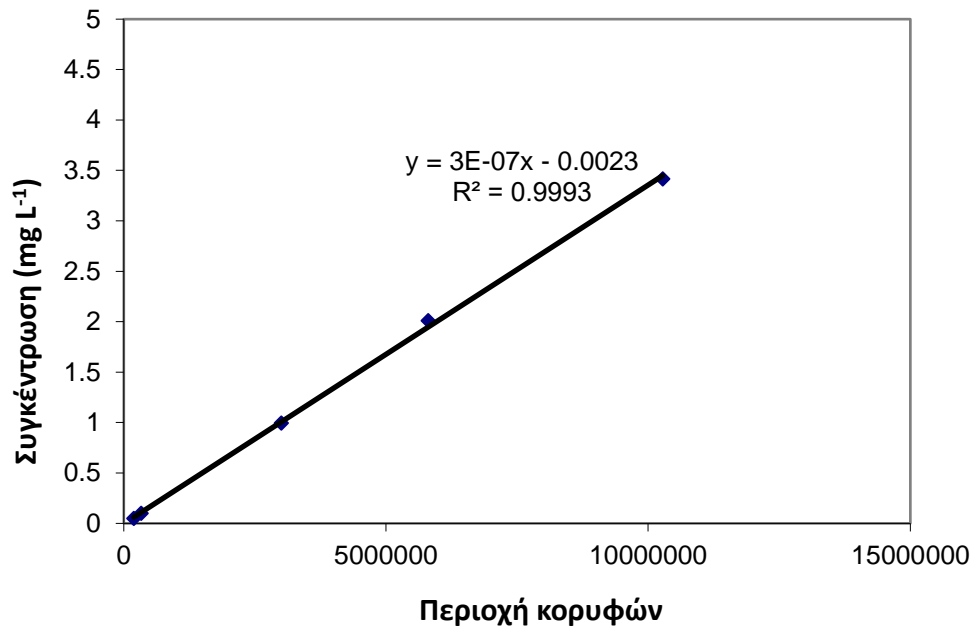
Σε κάθε βαθμονόμηση, υπολογίστηκε η τυπική απόκλιση (Standard Deviation – stdev), η οποία προκύπτει από τον λόγο (Area δείγματος) / (Μέση τιμή δειγμάτων), καθώς και η σχετική τυπική απόκλιση (Relative Standard Deviation – RSD), η οποία για μια σειρά μετρήσεων ισούται με τον λόγο (τυπική απόκλιση) / (μέση τιμή), ως ποσοστό επί τοις εκατό.

4.1.1 Βαθμονόμηση φθορισμομετρικού ανιχνευτή (FLD)

Για την βαθμονόμηση του FLD σε σχέση με την απευθείας έγχυση διαλυμάτων της BPA, αναλύθηκαν δέκα δείγματα από πέντε συγκεντρώσεις επιμολυσμένων δειγμάτων απιονισμένου νερού από 0.05 έως 3.416 ppm. Η γραμμικότητα κρίθηκε ικανοποιητική, με συντελεστή συσχέτισης $r^2 = 0.9993$. Τα αποτελέσματα των αναλύσεων παρουσιάζονται ενδεικτικά στον Πίνακα 4.

Πίνακας 4: Υπολογισμός τυπικής και σχετικής τυπικής απόκλισης για την βαθμονόμηση του FLD για BPA (απευθείας έγχυση διαλυμάτων).

Concentrationon (mg L ⁻¹)	Area	Avg Area	St. Deviation	RSD %
0.05	199541	190271	13110.	6.89
	181000			
0.11	344401	332292	17125	5.15
	320182			
0.99	2941361	3001277	84734	2.82
	3061193			
2.01	5681979	5803065	171241	2.95
	5924151			
3.42	10141720	10276682	190865	1.85
	10411644			

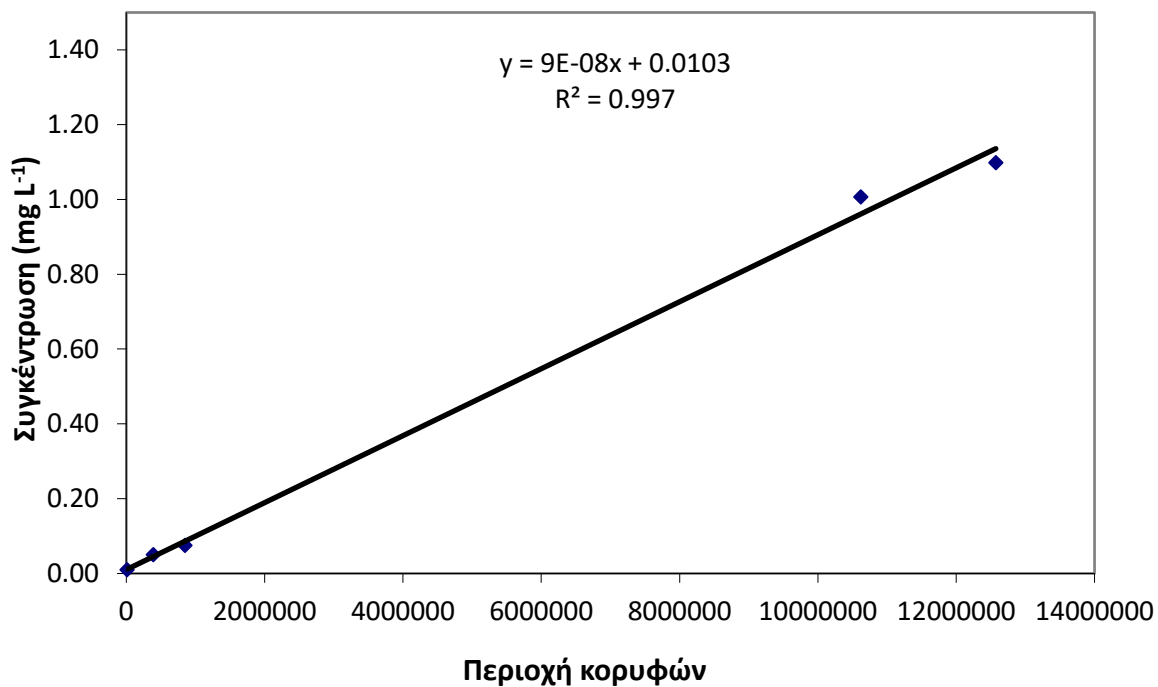


Εικόνα 7: Παρουσίαση της γραμμικότητας στον FLD στην περίπτωση της απευθείας έγχυσης διαλυμάτων της BPA.

Αντίστοιχα, για την εύρεση της καμπύλης αναφοράς στον FLD για την απευθείας έγχυση διαλυμάτων της CIP, δημιουργήθηκαν δεκαπέντε δείγματα από πέντε συγκεντρώσεις επιμολυσμένων δειγμάτων απιονισμένου νερού από 0.01 έως 1.10 ppm. Η γραμμικότητα κρίθηκε σχεδόν άριστη, με συντελεστή συσχέτισης $r^2 = 0.997$. Τα αποτελέσματα των αναλύσεων παρουσιάζονται στον Πίνακα 5.

Πίνακας 5: Υπολογισμός τυπικής και σχετικής τυπικής απόκλισης για την βαθμονόμηση του FLD για CIP (απευθείας έγχυση διαλυμάτων).

Concentration (ppm)	Area	Avg Area	St. Deviation	RSD %
1.10	12622933 13359556 11735685	12572725	813098	6.46
1.01	9614460 11699989 10554468	10622972	1044450	9.83
0.08	947508 871540 732692	850580	108931	12.80
0.05	423442 355472 395584	391499	34168	8.72
0.01	13902 14333 10046	12760	2360	18.50

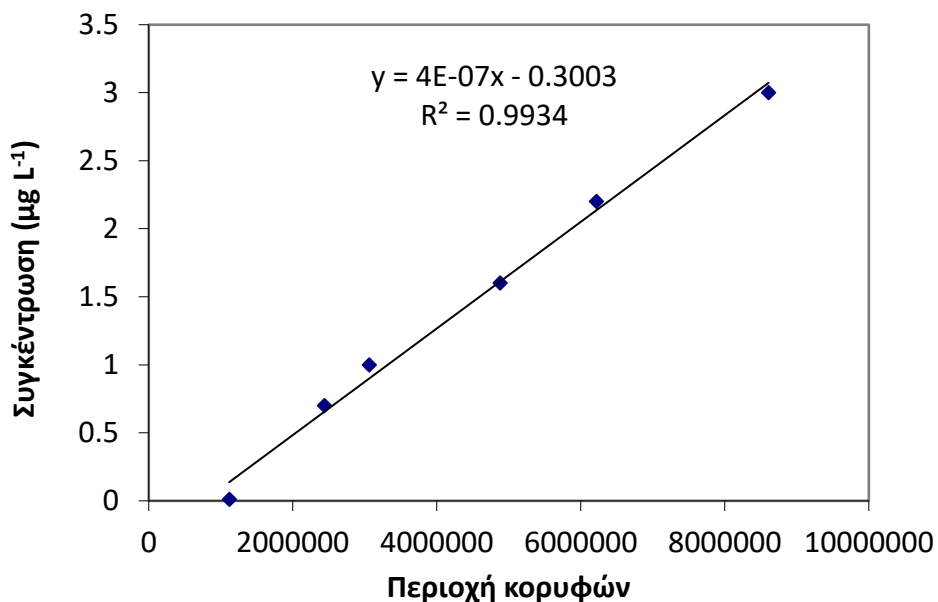


Εικόνα 8: Παρουσίαση της γραμμικότητας στον FLD στην περίπτωση της απευθείας έγχυσης διαλυμάτων της CIP.

Για την περίπτωση της βαθμονόμησης του FLD για την τεχνική της VALLME σε διαλύματα της BPA, διεξήχθη η ίδια διαδικασία με την διαφορά ότι παρήχθησαν δώδεκα δείγματα από έξι συγκεντρώσεις επιμολυσμένων δειγμάτων απιονισμένου νερού από 0.01 έως 3 ppb. Η γραμμικότητα κρίθηκε αρκετά ικανοποιητική, με συντελεστή συσχέτισης $r^2 = 0.993$. Τα αποτελέσματα των αναλύσεων παρουσιάζονται στον Πίνακα 6.

Πίνακας 6: Υπολογισμός τυπικής και σχετικής τυπικής απόκλισης για την βαθμονόμηση του FLD για BPA (VALLME).

Concentration (ppb)	Area	Avg Area	St. Deviation	RSD %
0.01	1007651	1117076	154749	13.85
	1226500			
0.7	2157328	2338387	256056	10.95
	2519446			
1	3154961	3059110	135553	4.43
	2963259			
1.6	4751734	4877403	177722	3.64
	5003072			
2.2	6337796	6114641	315589	5.16
	5891485			
3	8665559	8708205	60309	0.69
	8750850			



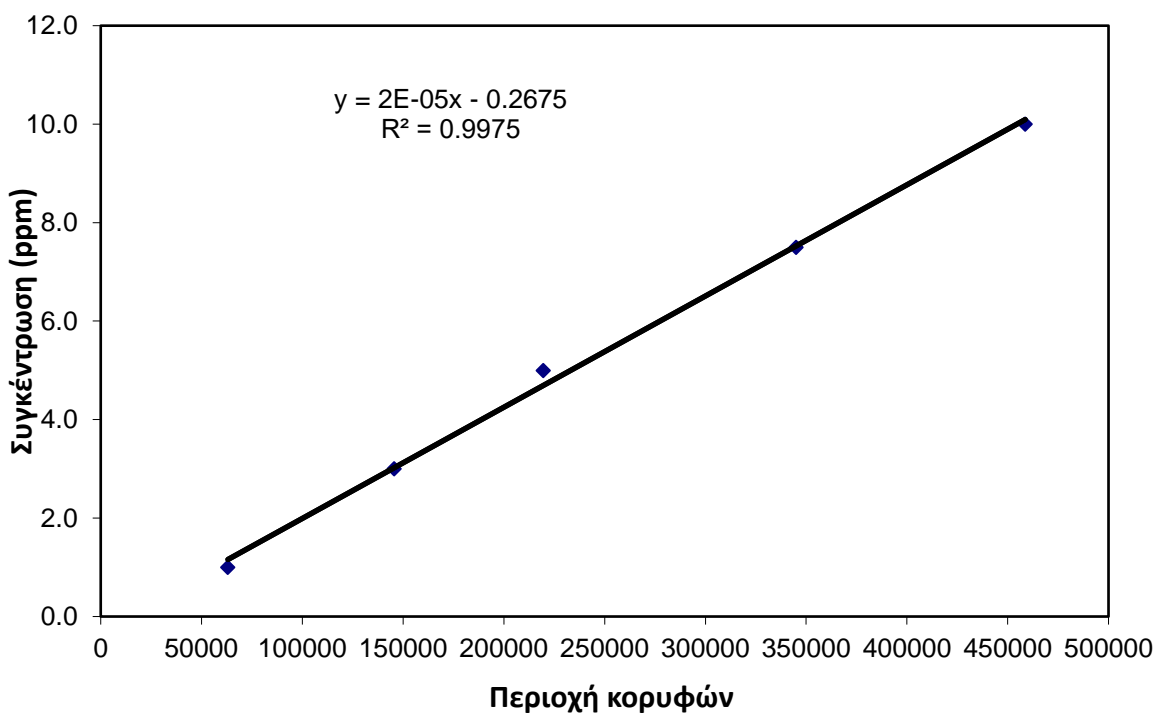
Εικόνα 9: Παρουσίαση της γραμμικότητας στον FLD στην περίπτωση της χρήσης VALLME για τα διαλύματα της BPA.

4.1.2 Βαθμονόμηση ανιχνευτή παράταξης φωτοδιόδων (PDA)

Η βαθμονόμηση του PDA για την απευθείας έγχυση των διαλυμάτων της SMX, περιλάμβανε την ανάλυση δεκαπέντε δειγμάτων από πέντε συγκεντρώσεις επιμολυσμένων δειγμάτων απιονισμένου νερού, με εύρος 1 έως 10 ppm. Η γραμμικότητα κρίθηκε σχεδόν άριστη, με συντελεστή συσχέτισης $r^2 = 0,997$. Τα αποτελέσματα των αναλύσεων παρουσιάζονται στον Πίνακα 7.

Πίνακας 7: Υπολογισμός τυπικής και σχετικής τυπικής απόκλισης για την βαθμονόμηση του PDA για SMX (απευθείας έγχυση διαλυμάτων).

Concentration (ppm)	Area	Avg Area	St. Deviation	RSD %
10.0	454048 459652 462252	458651	4192.660889	0.9141
7.5	343648 319456 372112	345072	26356.86658	7.6381
5.0	198786 231063 229107	219652	18096.93209	8.2389
3.0	152495 145587 144825	145568	4225.517878	2.9028
1.0	75412 56815 57141	63123	10644.123	16.8626



Εικόνα 10: Παρουσίαση της γραμμικότητας στον PDA στην περίπτωση της απευθείας έγχυσης διαλυμάτων της SMX.

4.2 Ποιοτικά χαρακτηριστικά νερού

Ο έλεγχος της ποιότητας του νερού περιλαμβάνει τον καθορισμό και τον έλεγχο ορισμένων παραμέτρων, οι οποίοι ονομάζονται ποιοτικά χαρακτηριστικά νερού ή παράμετροι ποιότητας. Στην παρούσα διπλωματική εργασία, πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις των παραμέτρων pH, αγωγιμότητας, TSS και COD. Στον Πίνακα 8 παρουσιάζονται εμπειριστατωμένα οι μέσες τιμές των προαναφερόμενων ποιοτικών χαρακτηριστικών για τα πειράματα T, HR1, HR2, PR και OB.

Πίνακας 8 : Μέσες τιμές μετρήσεων των φυσικοχημικών παραμέτρων στην είσοδο και έξοδο του υγροβιότοπου με *Juncus acutus* και υπολογισμός του ποσοστού μείωσής τους.

Φυσικοχημικές παράμετροι	Είσοδος ΤΥ με <i>Juncus</i> <i>acutus</i>	Έξοδος ΤΥ με <i>Juncus</i> <i>acutus</i>	Μείωση (%)
T			
pH	7.4	7.3	0.5
COD (mg L ⁻¹)	651.3	473.0	27.4
Conductivity (μ S cm ⁻¹)	1031.0	1194.3	
TSS (mg L ⁻¹)	31.2	9.3	70.3
HR1			
pH	7.37	7.14	3.1
COD (mg L ⁻¹)	75	49	34.7
Conductivity (μ S cm ⁻¹)	1054.6	1202.8	
TSS (mg L ⁻¹)	12.68	6.82	46.21
HR2			
pH	7.74	7.41	4.3
COD (mg L ⁻¹)	32	21	35.2
Conductivity (μ S cm ⁻¹)	1009	1965	-94.8
TSS (mg L ⁻¹)	9.31	2.47	73.47

Συνέχεια Πίνακα 8

PR			
pH	7.74125	7.12625	7.94445
COD (mg L ⁻¹)	465.299222	96.5163	79.2572
Conductivity ($\mu\text{S cm}^{-1}$)	1540.625	2475.5	
TSS (mg L ⁻¹)	71.26	33.5986	52.8507
OB			
pH	7.615	7.08	7.02561
COD (mg L ⁻¹)	54	23	57.4074
Conductivity ($\mu\text{S cm}^{-1}$)	1205.83333	1763.17	
TSS (mg L ⁻¹)	17.906	2.67714	85.0489

Στην διεξαγωγή των μετρήσεων των TSS, οι οποίες πραγματοποιήθηκαν για την εκτίμηση της απόδοσης του υγροβιότοπου με *Juncus acutus* στην απομάκρυνση των TSS που εμπεριέχονται στο λύμα, παρατηρήθηκε σχετικά υψηλή συγκέντρωση TSS στις εισόδους, στα πειράματα όπου ο υγροβιότοπος με *J. acutus* λειτουργούσε ως τριτοβάθμια επεξεργασία. Το προαναφερόμενο γεγονός θεωρητικά οφείλεται στη δημιουργία χλωρίδας στην περιοχή γύρω από την αντλία που αναρροφά το λύμα. Επιπροσθέτως, επειδή η προσθήκη των οργανικών ενώσεων και μικρής ποσότητας διαλύτη (μεθανόλης) στο σύστημα, θα είχε ως συνέπεια την αύξηση της συγκέντρωσης του COD, αν και το δευτεροβάθμια επεξεργασμένο λύμα είχε ήδη πολύ χαμηλές τιμές COD (Πίνακας 9), κρίθηκε απαραίτητη και η μέτρηση του τελευταίου.

Πίνακας 9: Αναλύσεις ΔΕΥΑΧ 2015 για τα ποιοτικά χαρακτηριστικά του νερού

Αναλύσεις ΔΕΥΑΧ 2015	Μέση συγκέντρωση (mg L ⁻¹)	
	IN	OUT
BOD	416	9
COD	538	22
SS	287	5
TN	46	10
NH ₄ -N	33	2
TP	6	7
NO ₃ -N	0	3

4.3 Μελέτη της επίδρασης του *Juncus acutus* στην απομάκρυνση οργανικών ρύπων

Σε αυτό το στάδιο της πειραματικής διαδικασίας, πραγματοποιήθηκε ουσιαστικά μία σύγκριση μεταξύ της μονάδας ελέγχου (απουσία βλάστησης) και του υγροβιότοπου με τα *Juncus acutus*. Σκοπός αυτής της σύγκρισης, ήταν η εκτίμηση της συνεισφοράς των φυτών στην απομάκρυνση των υπό μελέτη οργανικών ενώσεων.

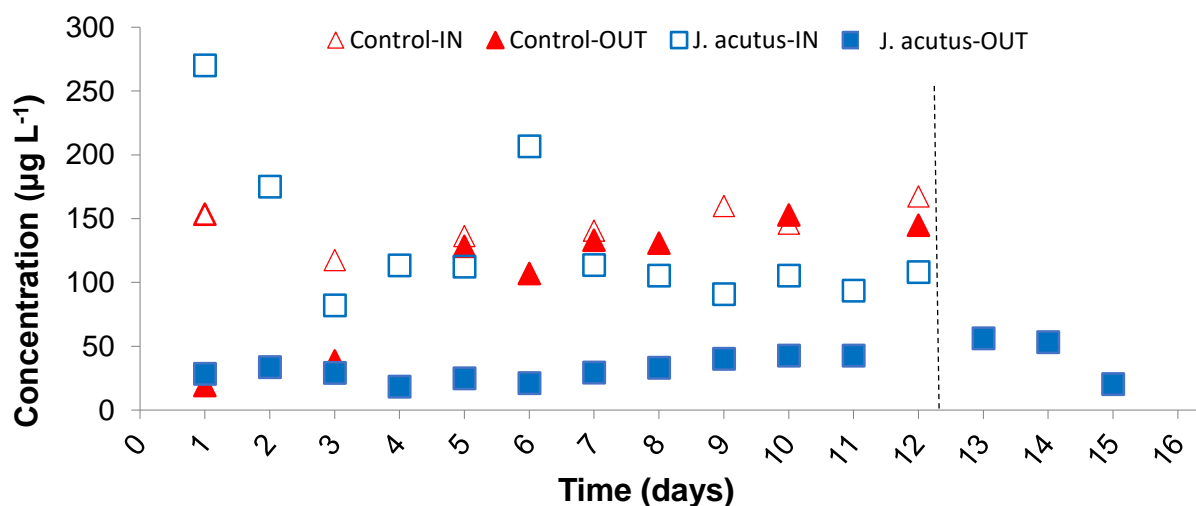
Στον παρακάτω πίνακα, παρουσιάζεται ο μήνας διεξαγωγής του κάθε πειράματος, οι μέσες μετεωρολογικές συνθήκες (θερμοκρασία αέρα και σχετική υγρασία) της διάρκειας διεξαγωγής των πειραμάτων, όπως αυτές υπολογίστηκαν μέσω των οχτώ μετρήσεων που λαμβάνονταν ημερησίως και η μετρηθείσα εξατμισοδιαπνοή ανά ημέρα. Επίσης η παροχή εισόδου και εξόδου, όπως η τελευταία υπολογίστηκε λαμβάνοντας υπόψη την ημερήσια εξατμισοδιαπνοή.

Πίνακας 10: Παρουσίαση μετεωρολογικών δεδομένων, μέσης εξατμισοδιαπνοής και παροχών, κατά τη διάρκεια των πειραμάτων. Q_{in} είναι η μετρηθείσα παροχή εισόδου και Q_{out}^{adj} η υπολογισθείσα παροχή εξόδου.

Πείραμα	Μήνας	Θερμοκρασία (°C) / Σχετική Υγρασία (%)	Εξατμισο-διαπνοή (L d ⁻¹)	Q_{in} (L h ⁻¹)	Q_{out}^{adj} (L h ⁻¹)
Control	Φεβρουάριος	14.4 / 67.6	-	2.37	2.37
T	Μάρτιος	16.2 / 65.9	20.0	6.54	5.71
HR1	Απρίλιος	21.9 / 57.5	25.0	6.54	5.50
HR2	Ιούνιος	29.7 / 53.1	32.5	3.27	1.92
PR	Ιούλιος	29.8 / 54.2	30.0	3.27	2.02
OB10	Δεκέμβριος	18.3 / 66.1	25.0	3.27	2.23

4.3.1 Απομάκρυνση της BPA

Τα δύο πειράματα διεξήχθησαν υπό κοινό HRT (1 d), καθώς και κάτω από τις ίδιες περιβαλλοντικές συνθήκες (θερμοκρασία και υγρασία), ενώ η ονομαστική συγκέντρωση είχε οριστεί τα $100 \mu\text{g L}^{-1}$. Η μέση θερμοκρασία και υγρασία, κατά την διάρκεια του πειράματος στην μονάδα ελέγχου, υπολογίστηκαν στους 14.4°C και 67.6% , αντίστοιχα και κατά την διεκπεραίωση του πειράματος στον υδροβιότοπο με φυτά στους 16.2°C και 65.9% , αντίστοιχα. Στην Εικόνα 11 παρουσιάζεται η συγκέντρωση της BPA ως προς τον χρόνο κατά την διάρκεια της χειμερινής περιόδου, όπου έλαβαν χώρα τα δύο πειράματα.



Εικόνα 11: Οι συγκεντρώσεις της BPA στην είσοδο και στην έξοδο της μονάδας ελέγχου και του υδροβιότοπου με τα *J. acutus*. Η διακεκομμένη γραμμή υποδεικνύει την διακοπή επιμόλυνσης. Ως συγκέντρωση εξόδου έχει ληφθεί η διορθωμένη τιμή λόγω εξατμισοδιαπνοής.

Στον Πίνακα 11, παρατηρείται ότι η συγκέντρωση εισόδου της BPA ήταν $146 \mu\text{g L}^{-1}$ και $131 \mu\text{g L}^{-1}$ και απομακρύνθηκαν ποσοστά της τάξεως του 27% και 76% για την μονάδα ελέγχου και τον υδροβιότοπο με *J. acutus*, αντίστοιχα. Ωστόσο, αξίζει να επισημανθεί ότι η διαφορά μεταξύ των τιμών του ρυθμού απομάκρυνσης μάζας οφείλεται εν μέρει στην διαφορετική τιμή του όγκου των δύο συστημάτων, γεγονός που οφείλεται στην ολική παροχή εισόδου με τιμές 2.4 L h^{-1} και 6.5 L h^{-1} για την μονάδα ελέγχου και τον υδροβιότοπο με τα φυτά, αντίστοιχα. Αξιοσημείωτο είναι το ποσοστό της απομακρυνόμενης μάζας προς τη μάζα που εισάγεται στο σύστημα, το οποίο είναι το μέγεθος το οποίο δίνει συγκρίσιμη πληροφορία για τα συστήματα διαφορετικού όγκου. Στη

δεξαμενή ελέγχου το m_p βρέθηκε 27% ενώ στην περίπτωση του υγροβιότοπου με τα *J. acutus*, άνω του 70%, καταδεικνύοντας το σημαντικό ρόλο των φυτών στην επεξεργασία του λύματος.

Στα παραπάνω αποτελέσματα, επισημαίνεται η συνεισφορά των φυτών και των σχετιζόμενων μικροοργανισμών τους, στην απομάκρυνση της χημικής ένωσης. Η ριζόσφαιρα αποτελεί την πιο σημαντική περιοχή των ΤΥ όσον αφορά την επεξεργασία των οργανικών ρύπων, καθώς εκεί διενεργούνται οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των φυτών, των μικροοργανισμών, των ξενοβιοτικών και του υποστρώματος (Stottmeister et al., 2003). Σε διάφορες μελέτες, έχει αναφερθεί ότι το οξυγόνο διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην απομάκρυνση των EDCs, προσδίδοντας έτσι πλεονέκτημα στα VF CW. Ωστόσο, οι αερόβιες συνθήκες οι οποίες επικρατούν κοντά στις ρίζες καθώς και οι αναερόβιες, υφίστανται στους HSSF CW και δύνανται να οδηγήσουν στην δημιουργία διαφόρων διαδικασιών αποδόμησης.

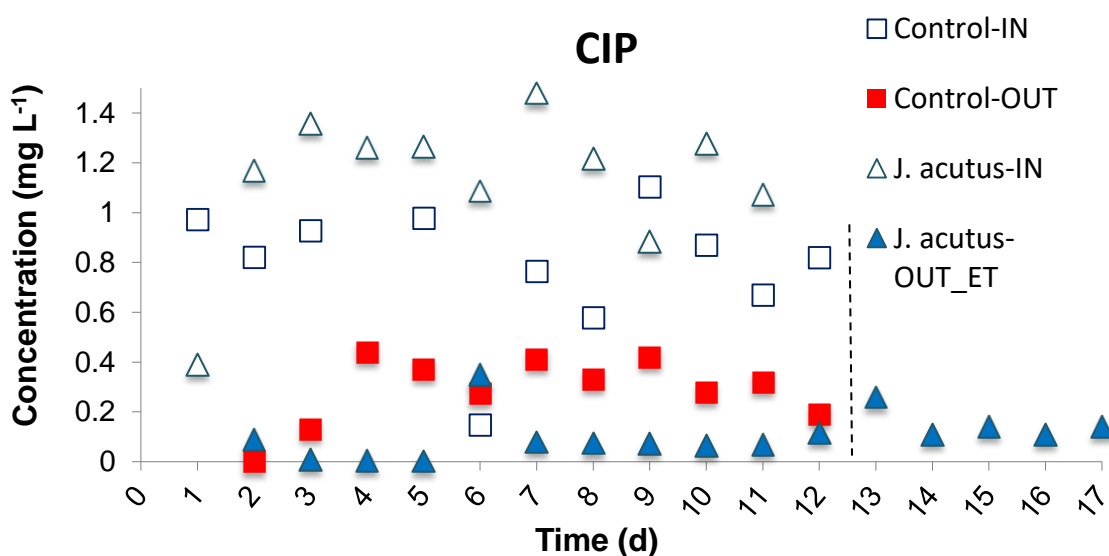
Το χαμηλό επίπεδο απομάκρυνσης της BPA στην μονάδα ελέγχου, μπορεί να αποδοθεί στον περιορισμό των διεργασιών αποδόμησης στο προαναφερόμενο σύστημα. Εντούτοις, πέραν της φυσικής αποδόμησης από υπάρχοντες μικροοργανισμούς, η ρόφηση πάνω στο βιοφίλμ, το οποίο έχει αναπτυχθεί στα χαλίκια, αποτελεί τον κυρίαρχο αβιοτικό μηχανισμό και εκτιμάται ως το πιο πιθανό σενάριο για την συγκεκριμένη απομάκρυνση (Dordio and Carvalho, 2013).

Πίνακας 11: Συγκριτική παρουσίαση αποτελεσμάτων των πειραμάτων στον υγροβιότοπο ελέγχου (απουσία βλάστησης) και στον υγροβιότοπο *J. acutus*. Ο χρόνος παραμονής (HRT) και στα δύο πειράματα είναι 1 ημέρα. C_{in}, C_{out} είναι η μέση τιμή των συγκεντρώσεις στην είσοδο και την έξοδο του υγροβιότοπου, όπως μετρήθηκαν στην HPHR1. Η σημείωση ET υποδεικνύει τον τη συμμετοχή της εξατμισοδιαπνοής για τον υπολογισμό της αναφερόμενης τιμής.

Χημική ένωση	Πείραμα	C _{in}		C _{out}		Μετρηθείσα απομάκρυνση (%)	Απομάκρυνση συγκεντρώσης, βάσει ET. (%)	Ρυθμός απομάκρυνσης μάζας, βάσει ET. BPA (μg h ⁻¹) CIP, SMX (mg h ⁻¹)	Αποδομήσιμη μάζα / Μάζα που εισάγεται (%)
BPA	Control	146.0		106.7		26.8	26.8	93.0	26.9
	<i>J. acutus</i>	131.0		41.7		68.2	76.2	618.5	73.2
CIP	Control	0.79		0.32		59.8	59.8	1.12	60.0
	<i>J. acutus</i>	1.21		0.10		91.9	93.9	7.38	93.1
SMX	Control	2.8		2.77		1.1	1.1	0.07	1.2
	<i>J. acutus</i>	3.6		3.52		3.0	27.2	3.64	18.5

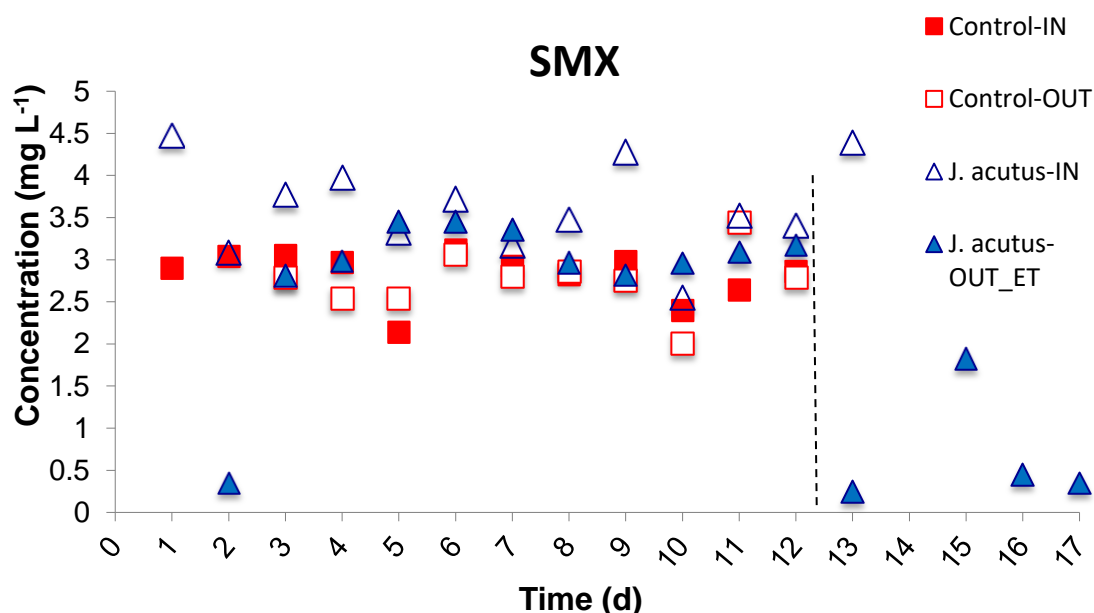
4.3.2 Απομάκρυνση των αντιβιοτικών

Στον Πίνακα 11, παρουσιάζεται η απόδοση των δύο συστημάτων στην απομάκρυνση των αντιβιοτικών CIP και SMX, η οποία χαρακτηρίζεται ως αρκετά ασταθής. Αρχικά, παρατηρείται ότι η απομάκρυνση της CIP στον υγροβιότοπο με τα ελόφυτα είναι ιδιαίτερα υψηλή, σε σύγκριση με το πείραμα του υγροβιότοπου ελέγχου (94% έναντι 60% αντίστοιχα). Ο ρυθμός απομάκρυνσης της μάζας στον υγροβιότοπο με τα ελόφυτα, βρέθηκε 7.4 mg L^{-1} σε σχέση με 1.1 mg L^{-1} στη μονάδα ελέγχου. Ωστόσο, σημαντικό μέρος της διαφοράς αυτής οφείλεται στον μικρότερο όγκο λύματος που επεξεργάζεται ο υγροβιότοπος ελέγχου στη μονάδα του χρόνου, όπως αναφέρθηκε και παραπάνω και η σύγκριση δεν δίνει σαφείς πληροφορίες. Για το λόγο αυτό, ενδεικτικότερη θεωρείται η τιμή του λόγου m_p , η οποία αποκαλύπτει τη συμβολή του συστήματος ελόφυτων – μικροοργανισμών, στην απομάκρυνση της CIP.



Εικόνα 12: Οι συγκεντρώσεις της CIP στην είσοδο και στην έξοδο της μονάδας ελέγχου και του υγροβιότοπου με τα *J. acutus*. Η διακεκομμένη γραμμή υποδεικνύει την διακοπή επιμόλυνσης. Ως συγκέντρωση εξόδου έχει ληφθεί η διορθωμένη τιμή λόγω εξατμισοδιαπνοής.

Όπως γίνεται αντιληπτό, στην περίπτωση της CIP, έχουμε μια φυσική απομάκρυνση και απουσία φυτών και των σχετιζόμενων με αυτά μικροοργανισμών στο σύστημα. Η ανάπτυξη μικροοργανισμών στο πορώδες μέσο, οι οποίοι είναι δυνατόν να συμμετέχουν στην αποδόμηση, είναι ένας πιθανός εμπλεκόμενος μηχανισμός απομάκρυνσης, εφόσον το σύστημα ήταν σε λειτουργία για μακρά χρονική περίοδο πριν την έναρξη του πειράματος, ικανή να προκαλέσει την ανάπτυξή τους μέσα σε αυτό. Παράλληλα, μια πιθανή αιτία της μείωσης αυτής είναι η προσρόφηση της ένωσης στην επιφάνεια του παραγόμενου βιοφίλμ στο πορώδες μέσο.



Εικόνα 13: Οι συγκεντρώσεις της SMX στην είσοδο και στην έξοδο της μονάδας ελέγχου και του υδροβιότοπου με τα *J. acutus*. Η διακεκομμένη γραμμή υποδεικνύει την διακοπή επιμόλυνσης. Ως συγκέντρωση εξόδου έχει ληφθεί η διορθωμένη τιμή λόγω εξατμισοδιαπνοής.

Η SMX όπως παρουσιάζεται στην Εικόνα 13 δεν παρουσίασε αντίστοιχη συμπεριφορά με την CIP. Για τον υδροβιότοπο ελέγχου, η απομάκρυνση της συγκέντρωσης ήταν μηδενική, ενώ στον υδροβιότοπο με τα ελόφυτα υπολογίστηκε 27%. Ο ρυθμός απομάκρυνσης μάζας της ένωσης βρέθηκε περίπου ο μισός από αυτόν της CIP στον υδροβιότοπο με τα ελόφυτα και 0.07 mg h^{-1} στο σύστημα ελέγχου. Η σημαντική διαφορά στον ρυθμό απομάκρυνσης μάζας της SMX σε σχέση με

αυτόν της CIP για την κάθε μονάδα, οφείλεται στις διαφορετικές συγκεντρώσεις εισόδου στη μονάδα. Ωστόσο στην περίπτωση των αντιβιοτικών, θα πρέπει να τονιστεί ότι οι συγκεντρώσεις που προστέθηκαν στο σύστημα είναι σημαντικά υψηλότερες από τις τυπικές συγκεντρώσεις που ανιχνεύονται στα αστικά λύματα, λόγω αδυναμίας της μεθόδου για προσδιορισμό συγκεντρώσεων της τάξης των $\mu\text{g L}^{-1}$.

4.4 Απόδοση του υγροβιότοπου σε διαφορετικές συνθήκες λειτουργίας

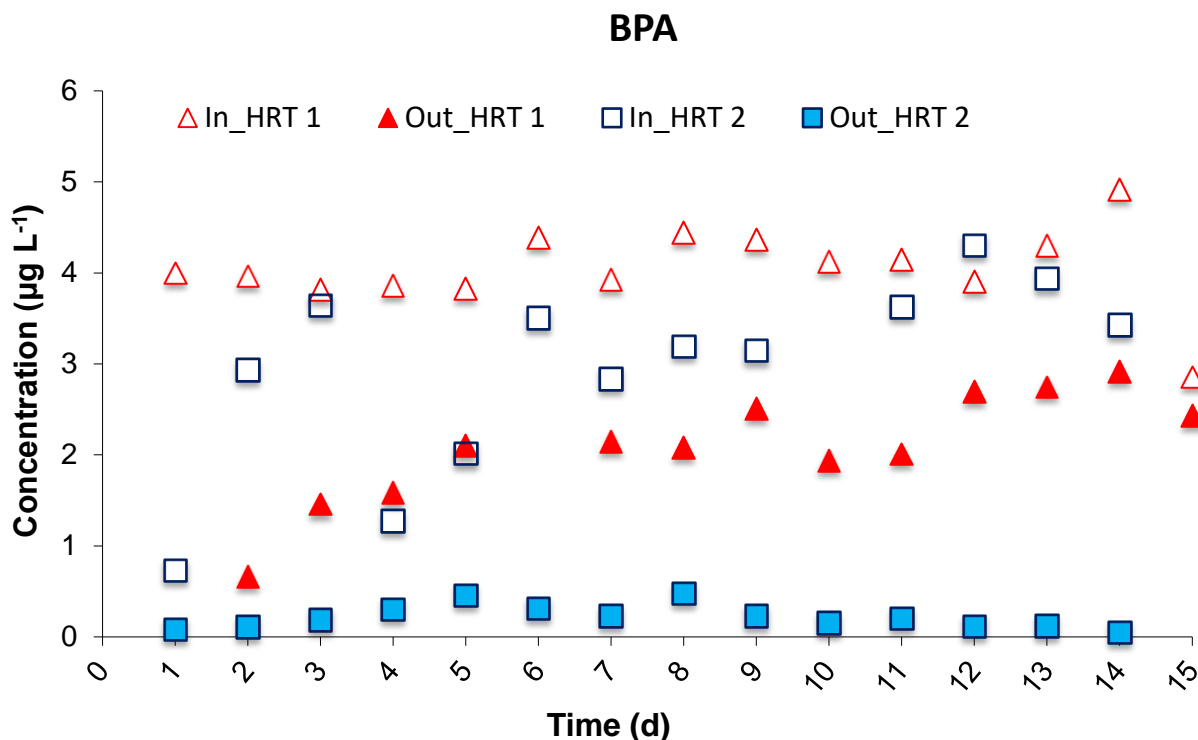
Στην επόμενη φάση της πειραματικής διαδικασίας, στόχος ήταν η μελέτη της επίδρασης του HRT και της εποχικότητας, στην απομάκρυνση των συγκεντρώσεων των οργανικών ενώσεων. Επιπροσθέτως, στο πείραμα PR σκοπός ήταν η εξέταση του υγροβιότοπου με τα *J. acutus*, σε λειτουργία δευτεροβάθμιας επεξεργασίας. Ο HRT ρυθμίστηκε στην 1 ημέρα μόνο για το πείραμα HR1, ενώ για τα υπόλοιπα ήταν διπλάσιος (2 ημέρες). Επίσης, η τιμή της ονομαστικής συγκέντρωσης της BPA μειώθηκε στα $5 \mu\text{g L}^{-1}$, ώστε να είναι πιο αντιπροσωπευτική των τυπικών τιμών λύματος.

4.4.1 Επίδραση του υδραυλικού χρόνου παραμονής

Ο υδραυλικός χρόνος παραμονής είναι από τις βασικότερες παραμέτρους οι οποίες επηρεάζουν την απόδοση ενός τεχνητού υγροβιότοπου. Ειδικά για την απομάκρυνση οργανικών ενώσεων, επηρεάζει τόσο αβιοτικές όσο και βιοτικές μεθόδους απομάκρυνσής τους από λύματα. Αυξάνοντας ο χρόνος παραμονής, αυξάνει ο χρόνος δράσης των μηχανισμών απομάκρυνσης. Έτσι για παράδειγμα, αυξάνει ο χρόνος επαφής των ενώσεων με το βιοφίλμ στο υπόστρωμα και την επιφάνεια των ριζών, καθώς επίσης και η διάρκεια αποδόμησης από τους μικροοργανισμούς της ριζόσφαιρας.

4.4.1.1 Απομάκρυνση της BPA

Στην Εικόνα 14 παρουσιάζεται μια γραφική απεικόνιση της απομάκρυνσης της συγκέντρωσης της BPA στον υδροβιότοπο με τα *J. acutus*, σε λειτουργία με διαφορετικό HRT, μίας και δύο ημερών (πείραμα HR1 και HR2, αντίστοιχα). Πρέπει να σημειωθεί ότι οι τιμές HRT και στις δύο περιπτώσεις, αφορούν τη θεωρητική τιμή HRT, αυτή δηλαδή που υπολογίστηκε βάσει της συνολικής παροχής εισόδου στο σύστημα. Όπως γίνεται αντιληπτό από το διάγραμμα και σύμφωνα με τον Πίνακα 12 ο διπλασιασμός του χρόνου παραμονής προκάλεσε σχεδόν διπλασιασμό του ποσοστού απομάκρυνσης της ένωσης, όταν η μέση μετρηθείσα συγκέντρωση εισόδου ήταν $4.1 \mu\text{g L}^{-1}$ και $3.1 \mu\text{g L}^{-1}$, αντίστοιχα. Όσον αφορά το ρυθμό απομάκρυνσης μάζας της BPA, όταν ο χρόνος παραμονής ήταν μια ημέρα ήταν μεγαλύτερος σε σχέση με το πείραμα με τον διπλάσιο χρόνο παραμονή ($12.8 \mu\text{g h}^{-1}$ και $9.4 \mu\text{g h}^{-1}$) αντίστοιχα. Αυτό οφείλεται σε δύο λόγους, όπως συμπεραίνεται από την Εξίσωση (6): αρχικά τη μεγαλύτερη παροχή στην είσοδο και επιπλέον λόγω της διαφορετικής μέσης συγκέντρωσης η οποία μετρήθηκε στην είσοδο των δύο δεξαμενών ($4.1 \mu\text{g L}^{-1}$ και $3.1 \mu\text{g L}^{-1}$). Παρόλο που η ονομαστική συγκέντρωση εισόδου και για τα δύο πειράματα είχε υπολογιστεί η ίδια ($5 \mu\text{g L}^{-1}$), οι μετρηθείσες συγκεντρώσεις διέφεραν ελαφρώς, σε πολύ ικανοποιητικό όμως επίπεδο, όταν αναφερόμαστε σε οργανικές ενώσεις σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις για ένα σύστημα το οποίο λειτουργεί σε συνθήκες όχι απόλυτα ελεγχόμενες.



Εικόνα 14: Συγκριτική απεικόνιση της απόδοσης του υδροβιότοπου ως προς την απομάκρυνση της BPA, σε λειτουργία με διαφορετικό υδραυλικό χρόνο παραμονής. Οι συγκεντρώσεις στην έξοδο και για τα δύο πειράματα, αντιστοιχούν στις διορθωμένες τιμές λόγω εξατμισοδιαπνοής.

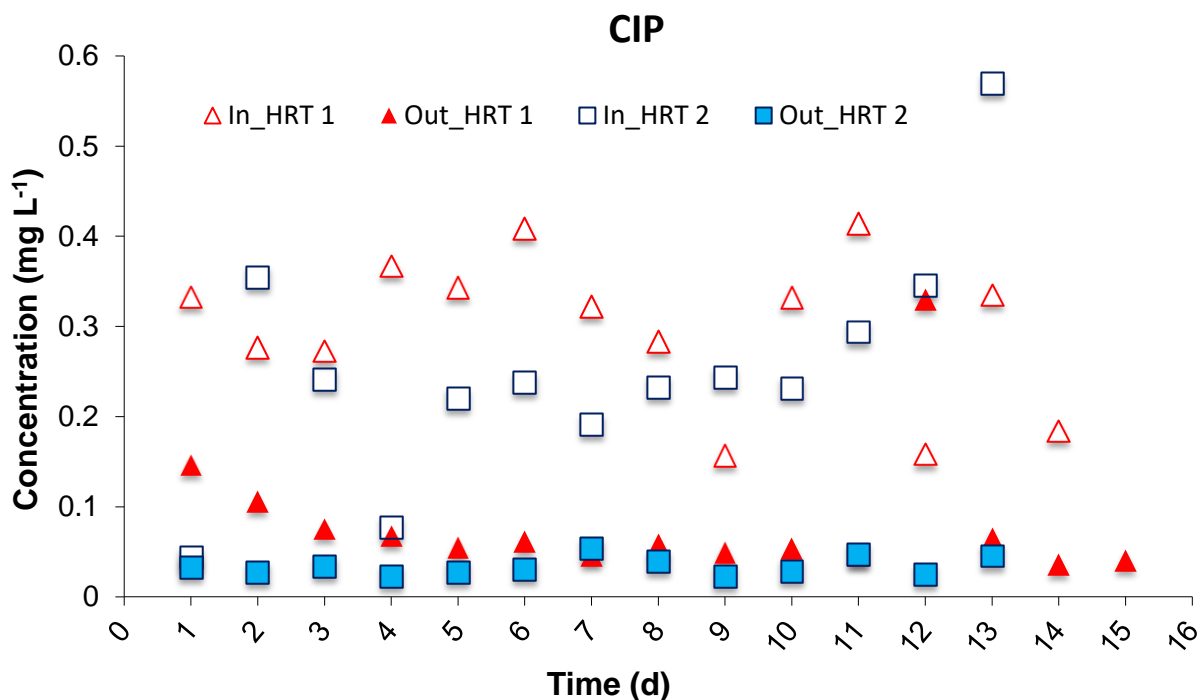
Από τον Πίνακα 12 επίσης, παρατηρείται ότι ενώ ο ρυθμός απομάκρυνσης μάζας για HRT 1 d είναι μεγαλύτερος όπως αναλύθηκε παραπάνω, η τιμή του m_p επί τοις εκατό, η οποία εκφράζει τον λόγο της αποδομήσιμης μάζας προς τη μάζα που εισάγεται στο σύστημα, αυξάνει με τον διπλασιασμό του HRT. Επειδή η παροχή έχει διαφορετική τιμή στα πειράματα HR1 και HR2, η σύγκριση του ρυθμού απομάκρυνσης μάζας μεταξύ των δύο προαναφερόμενων πειραμάτων δεν μας δίνει σαφή πληροφορία κάτι το οποίο επιτυγχάνεται μέσω του ποσοστού m_p . Σύμφωνα με αυτό, η σημαντική υπεροχή στην απόδοση του συστήματος όταν το HRT διπλασιάζεται, γίνεται άμεσα αντιληπτή από την ιδιαίτερα υψηλή τιμή του m_p (92%), έναντι της περίπτωσης όπου το HRT είναι 1 day (48%). Με βάση τα παραπάνω, συμπερασματικά για την απομάκρυνση της συγκέντρωσης της BPA από το δευτερογενώς επεξεργασμένο λύμα, το σύστημα εμφανίζει μεγάλη ευαισθησία ως προς την μεταβολή του HRT. Το ίδιο συμπέρασμα είχε διεξαχθεί και σε προηγούμενη μελέτη με χρήση ΤΥ υποεπιφανειακής ροής για την επεξεργασία αστικών λυμάτων

της πόλης του Ηρακλείου από τον εν λόγω ενδοκρινικό διαταράκτη (Kalogerakis and Christofilopoulos, 2015).

4.4.1.2 Απομάκρυνση αντιβιοτικών

Η απομάκρυνση των αντιβιοτικών κατά τις δυο διαφορετικές λειτουργίες του συστήματος, δεν ήταν αντίστοιχες με την περίπτωση της BPA, ενώ επίσης παρατηρήθηκε σημαντική διαφοροποίηση μεταξύ των απομακρύνσεων της συγκέντρωσης της CIP και της SMX. Όπως διακρίνεται στην Εικόνα 15, η επίδραση του HRT στην απομάκρυνση της συγκέντρωσης της CIP, είναι μικρότερη σε σχέση με την περίπτωση της BPA. Έτσι παρατηρούμε ότι αυτή αυξάνει από 77% σε 87%, όταν το HRT διπλασιάστηκε. Ο ρυθμός απομάκρυνσης της μάζας της CIP, υπολογίστηκε περίπου ο διπλάσιος για HRT 1 d από αυτόν στο διπλάσιο χρόνο παραμονής (1.5 mg h^{-1} και 0.7 mg h^{-1} , αντίστοιχα), για τους δύο λόγους που αναλύθηκαν και στην περίπτωση της BPA και γίνεται αντιληπτό από την Εξίσωση (6): τη μικρότερη μέση μετρηθείσα συγκέντρωση στην είσοδο και την υποδιπλάσια περίπου παροχή εισόδου λύματος, κατά τη διάρκεια του πειράματος με HRT 2 d. Όσον αφορά την τιμή m_p , η διαφορά στις δύο περιπτώσεις θεωρείται αμελητέα.

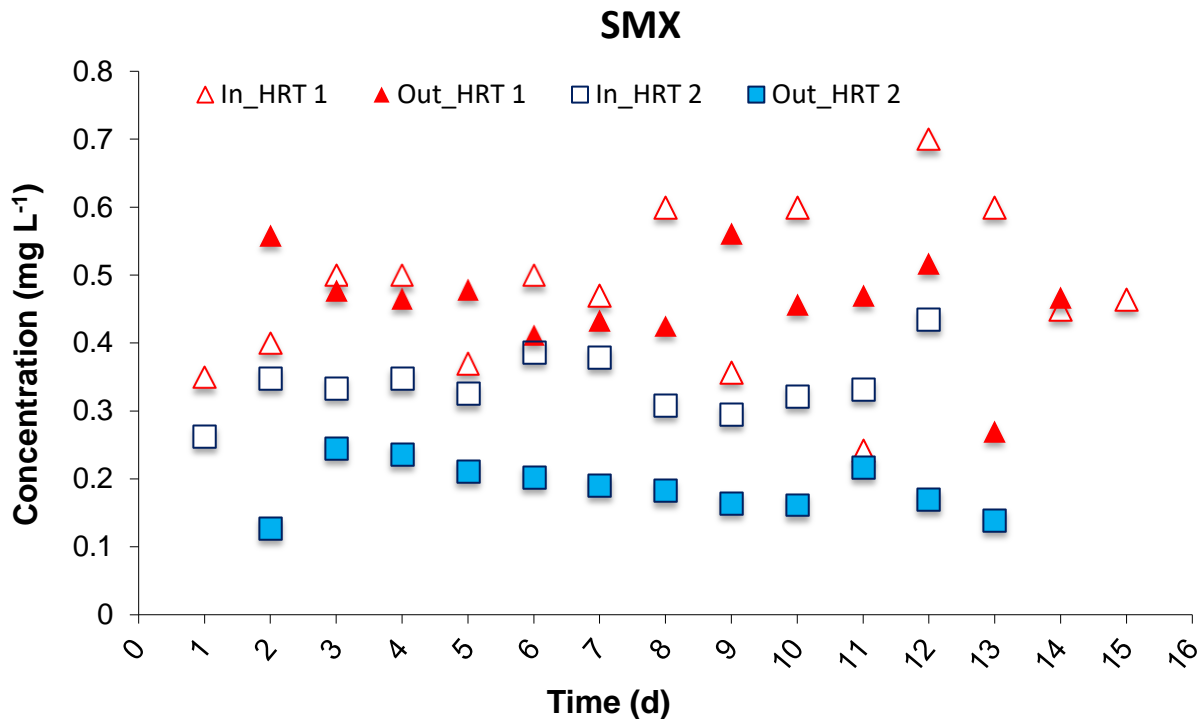
Η απόδοση του υδροβιότοπου ως προς την απομάκρυνση της SMX, εμφανίζεται λιγότερο ικανοποιητική, και για τους δύο υδραυλικούς χρόνους παραμονής, όπως αυτό διαπιστώνεται από τον Πίνακα 12 και την Εικόνα 16. Συγκεκριμένα, η απομάκρυνση της συγκέντρωσης λαμβάνοντας υπόψη την ET, είναι αμελητέα (3.2%), ενώ η μέση συγκέντρωση στην έξοδο μετρήθηκε μεγαλύτερη από αυτή στην είσοδο. Το φαινόμενο της αρνητικής απόδοσης απομάκρυνσης της SMX, αποτέλεσε αντικείμενο σχολιασμού στη διεθνή επιστημονική κοινότητα. Σε έρευνα που διεξήχθη από τους (Gulkowska et al., 2008), στην οποία μελετήθηκε η απομάκρυνση αντιβιοτικών σε εγκατάσταση επεξεργασίας λυμάτων, παρατηρήθηκε αύξηση στη συγκέντρωση ορισμένων αντιβιοτικών στην έξοδο της μονάδας.



Εικόνα 15: Συγκριτική απεικόνιση της απόδοσης του υδροβιότοπου ως προς την απομάκρυνση της CIP, σε λειτουργία με διαφορετικό υδραυλικό χρόνο παραμονής. Οι συγκεντρώσεις στην έξοδο και για τα δύο πειράματα, αντιστοιχούν στις διορθωμένες τιμές λόγω εξατμισοδιαπνοής.

Το φαινόμενο αυτό αποδόθηκε σε δύο λόγους: α) στην αποσύζευξη (deconjugation) των συζευγμένων μεταβολιτών (conjugated metabolites) κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας και β) στην υποεκτίμηση της πραγματικής συγκέντρωσης λόγω αιωρούμενων σωματιδίων πάνω στα οποία είναι προσροφημένα τα αντιβιοτικά, τα οποία τελευταία απομακρύνονται από το φίλτρο κατά τη διαδικασία διήθησης του δείγματος. Σε άλλη μελέτη (DanA et al., 2013), δημοσιεύονται επίσης αποτελέσματα στα οποία σουλφοναμίδες και συγκεκριμένα η SMX, βρέθηκε να εμφανίζουν αρνητικό ποσοστό απομάκρυνσης της συγκέντρωσής τους. Επιπροσθέτως, στην βιβλιογραφία αναφέρονται αναλυτικά οι λόγοι στους οποίους αποδίδεται η αρνητική απομάκρυνση της συγκέντρωσης της SMX (Verlicchi and Zambello, 2014).

Το φαινόμενο εξηγήθηκε εκτός των άλλων, στο γεγονός ότι η SMX και κατ' επέκταση ολόκληρη η κατηγορία των αντιβιοτικών αυτών, υπόκειται εύκολα σε αναστρέψιμο εσωτερικό μετασχηματισμό με τους αντίστοιχους μεταβολίτες, ο οποίος είναι δυνατόν να οδηγήσει σε φαινομενικά αρνητική απομάκρυνση. Η τιμή του m_p στην περίπτωση του HRT 2 d υπολογίστηκε 3.1%, σε αντίθεση με, την πρώτη περίπτωση όπου είναι αμελητέα.

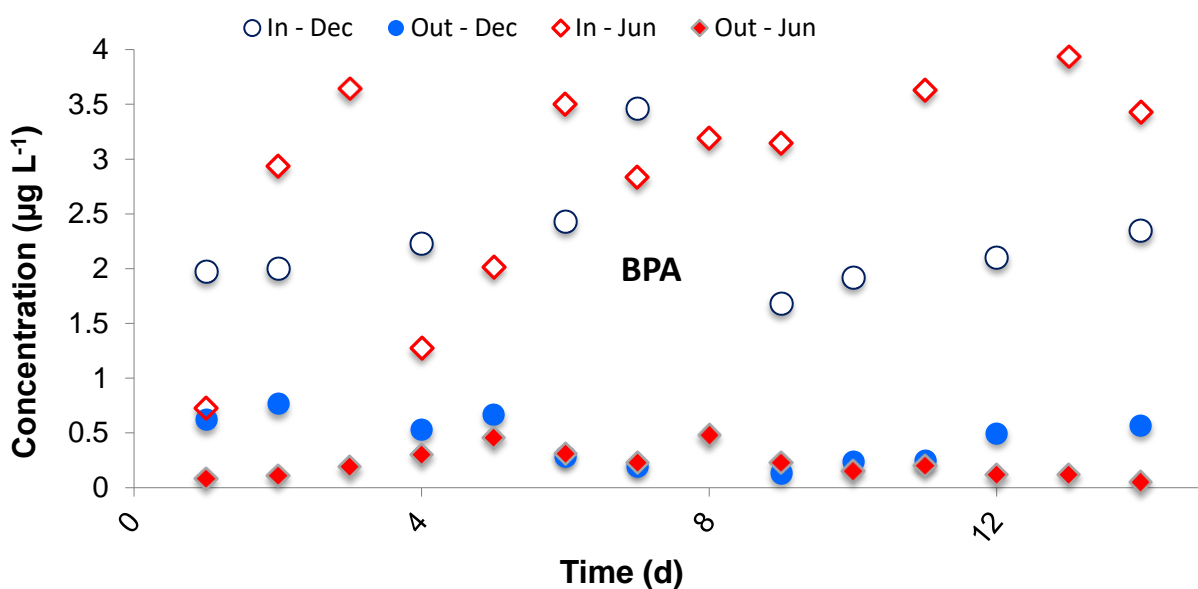


Εικόνα 16: Συγκριτική απεικόνιση της απόδοσης του υδροβιότοπου ως προς την απομάκρυνση της SMX, σε λειτουργία με διαφορετικό υδραυλικό χρόνο παραμονής. Οι συγκεντρώσεις στην έξοδο και για τα δύο πειράματα, αντιστοιχούν στις διορθωμένες τιμές λόγω εξατμισοδιαπνοής.

4.4.2 Επίδραση εποχικότητας στην απομάκρυνση της BPA

Η επίδραση της εποχικότητας στην απομάκρυνση των EOCs αποτελεί ερευνητικό πεδίο το οποίο όπως αναφέρεται σε έγκριτα επιστημονικά περιοδικά (Matamoros et al., 2016), χρήζει περεταίρω έρευνας. Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η επίδραση της εποχικότητας στην απομάκρυνση της BPA με τη συγκριτική αξιολόγηση δύο πειραμάτων τα οποία έλαβαν χώρα κατά την καλοκαιρινή και χειμερινή περίοδο (πειράματα HR2 και OB), υπό τις ίδιες κατά τα άλλα πειραματικές συνθήκες (HRT, συγκέντρωση εισόδου). Τα αποτελέσματα των αναλύσεων όπως παρουσιάζονται διαγραμματικά στην Εικόνα 17, βρέθηκαν σε συμφωνία με τα αναμενόμενα, ήτοι, κατά την καλοκαιρινή περίοδο η απομάκρυνση ήταν μεγαλύτερη από ότι την χειμερινή, και συγκεκριμένα κατά 10 ποσοστιαίες μονάδες (Πίνακας 12). Ο ρυθμός απομάκρυνσης μάζας BPA βρέθηκε 5.4 μg

h^{-1} κατά την χειμερινή περίοδο και $9.4 \mu\text{g h}^{-1}$ την καλοκαιρινή. Επιπροσθέτως, η τιμή του m_p κατά την καλοκαιρινή περίοδο, υπολογίστηκε κατά 12% περίπου υψηλότερη. Αξίζει επίσης να σημειωθεί ότι η αισθητή ανάπτυξη των φυτών του υδροβιότοπου μεταξύ Ιουνίου και Δεκεμβρίου, δεν έχει συμπεριληφθεί στην συγκριτική αυτή αξιολόγηση και έχει ως αποτέλεσμα την υποεκτίμηση της επίδρασης της εποχικότητας στην απομάκρυνση της οργανικής ένωσης.



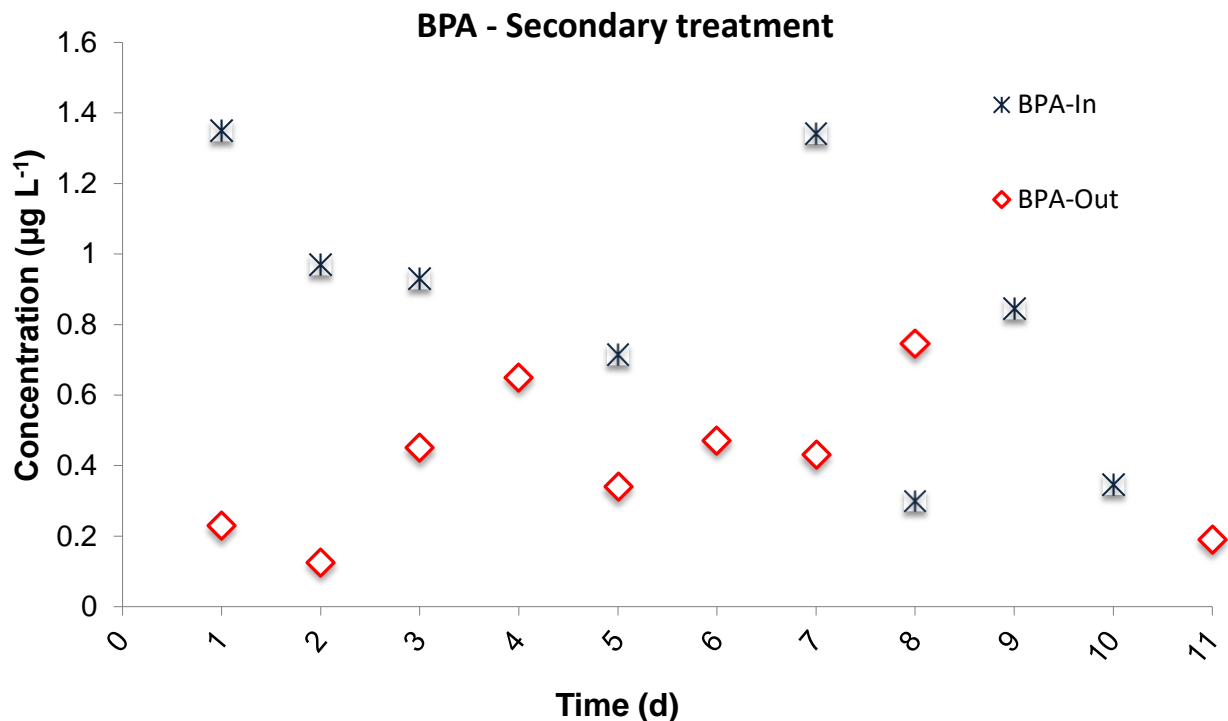
Εικόνα 17: Συγκέντρωση της BPA ως προς τον χρόνο, για τη μελέτη της επίδρασης της εποχικότητας στην απομάκρυνση της BPA (πειράματα HR2 και OB).

Η εποχικότητα είναι παράγοντας που μπορεί να επηρεάσει τους μηχανισμούς απομάκρυνσης των οργανικών ενώσεων σε ΤΥ και όπως δημοσιεύεται, ο ρυθμός απομάκρυνσης εξαρτάται σημαντικά από τις διαφορές της θερμοκρασίας ανά εποχή (Zhang et al., 2014). Οι Matamoros et al. (Matamoros et al., 2016) παρουσιάζουν αποτελέσματα για την επίδραση της εποχικότητας στην απόδοσή διαφορετικών τύπων συστήματα επεξεργασίας, ως προς την απομάκρυνση ενός ευρέως φάσματος EOCs. Σύμφωνα με τη δημοσίευση, η BPA είχε ιδιαίτερα αυξημένα επίπεδα απομάκρυνσης σε όλους τους τύπους των συστημάτων, ενώ στους ΤΥ αυτή ήταν μικρότερη και με μεγάλο τυπικό σφάλμα.

4.4.3 Λειτουργία του υγροβιότοπου ως δευτεροβάθμια επεξεργασία

Η λειτουργία των ΤΥ ως εναλλακτική τεχνολογία δευτεροβάθμιας επεξεργασίας για την απομάκρυνση EOCs από λύματα, προκαλεί το ολοένα και αυξανόμενο ενδιαφέρον αρκετών χωρών όπως της Ιταλίας, Πορτογαλίας, Ισπανίας, Δανίας, Κίνας, του Καναδά και των ΗΠΑ (Li et al., 2014). Στην παρούσα μελέτη, επιχειρήθηκε μια πρώτη προσέγγιση της απόδοσης του υγροβιότοπου με τροφοδοσία πρωτοβάθμια επεξεργασμένου λύματος χωρίς πρόσθετη επιμόλυνση με οργανικές ενώσεις. Τα αποτελέσματα των αναλύσεων με τη μέθοδο της προσθήκης γνωστής ποσότητας για την BPA έδειξαν ότι η μέση συγκέντρωση των $0.9 \mu\text{g L}^{-1}$ στην είσοδο μειώθηκε στα $0.7 \mu\text{g L}^{-1}$, το οποίο αντιστοιχεί σε πραγματική απομάκρυνση του 50%. Ο ρυθμός απομάκρυνσης μάζας βρέθηκε ο χαμηλότερος από κάθε άλλο πείραμα, ίσος με $1.5 \mu\text{g h}^{-1}$. Το ποσοστό απομάκρυνσης της μάζας της BPA στο PR υπολογίστηκε 54%. Επίσης παρατηρήθηκε απομάκρυνση των αιωρούμενων στερεών από 71 mg L^{-1} στην είσοδο, κατά 80% (Πίνακας 8). Από τα παραπάνω συμπεραίνεται ότι αν και η απόδοση του υγροβιότοπου παρουσιάζεται μειωμένη σε σχέση με την περίπτωση εισόδου λύματος δευτεροβάθμια επεξεργασμένου, το σύστημα μπόρεσε να ανταπεξέλθει σχετικά ικανοποιητικά.

Όσον αφορά τις συγκεντρώσεις των δύο αντιβιοτικών, χρησιμοποιώντας τη μέθοδο προσθήκης γνωστής ποσότητας, αυτές βρέθηκαν κάτω από τα όρια ανίχνευσης. Η επίδραση της μήτρας ωστόσο κατά την αναλυτική μέθοδο διαχωρισμού των ενώσεων, ήταν εμφανής. Για την αντιμετώπιση του φαινομένου αυτού, προτείνεται η εφαρμογή προεπεξεργασίας των δειγμάτων με μεθόδους όπως η εκχύλιση στερεάς φάσης (solid phase extraction, SPE), για την απομάκρυνση ενώσεων οι οποίες δρουν παρεμποδιστικά στον διαχωρισμό τους.



Εικόνα 18: Συγκέντρωση της BPA ως προς τον χρόνο , για την λειτουργία του υγροβιότοπου με *Juncus acutus* ως δευτεροβάθμια επεξεργασία.

Σημαντική επίσης διαπίστωση, είναι ότι τα φυτά δεν παρουσίασαν εμφανή συμπτώματα καταπόνησης για την περίοδο που διήρκεσε το πείραμα, αλλά και μετά το πέρας αυτής. Το φαινόμενο της έμφραξη των πόρων του πορώδους μέσου (clogging) αποτελεί σημαντικό θέμα στους ΤΥ υποεπιφανειακής ροής. Η είσοδος λύματος από πρωτοβάθμια επεξεργασία συντείνει στη δημιουργία ευνοϊκών συνθηκών έμφραξης, κάτι το οποίο δεν παρατηρήθηκε. Παρόλα αυτά, η μικρή διάρκεια του πειράματος δεν δίνει το περιθώριο για διεξαγωγή ασφαλούς συμπεράσματος, αλλά μιας αρχικής εκτίμησης. Ας σημειωθεί, ότι έμφραξη παρατηρήθηκε αρκετά αργότερα από τη λήξη του πειράματος αυτού, αίτιο της οποίας ήταν η εισαγωγή ριζών στο σημείο εξόδου του υγροβιότοπου.

Πίνακας 12: Συγκριτική παρουσίαση αποτελεσμάτων των πειραμάτων HR1, HR2, PR, OB τα οποία έλαβαν χώρα στον υγροβιότοπο *J. acutus*. C_{in} , C_{out} είναι οι μετρηθείσες συγκεντρώσεις στην είσοδο και την έξοδο του υγροβιότοπου. Η σημείωση ET υποδεικνύει τη συμμετοχή της εξατμισοδιαπνοής για τον υπολογισμό της αναφερόμενης τιμής.

Χημική ένωση	Πείραμα	HRT (ημέρες)	C_{in} BPA ($\mu\text{g L}^{-1}$) CIP, SMX (mg L^{-1})	C_{out} BPA ($\mu\text{g L}^{-1}$) CIP, SMX (mg L^{-1})	Μετρηθείσα απομάκρυνση συγκέντρωσης (%)	Απομάκρυνση συγκέντρωσης βάσει ET. (%)	Ρυθμός απομάκρυνσης μάζας βάσει, ET BPA ($\mu\text{g h}^{-1}$) CIP, SMX (mg h^{-1})	Αποδομήσιμη μάζα / Μάζα που εισάγεται, m_p (%)
BPA	LC	1	4.1	2.5	38.5	48.3	12.8	48.3
	HR2	2	3.1	0.4	86.9	92.2	9.4	92.3
	BR2	2	0.9	0.7	24.7	52.6	1.5	53.5
	OB2	2	2.2	0.6	71.7	80.8	5.4	80.8
CIP	LC	1	0.30	0.1	72.4	76.8	1.5	76.9
	HR2	2	0.25	0.1	77.5	86.7	0.7	86.7
	BR2	2	n.d.	n.d.	-	-	-	-
	OB2	2	-	-	-	-	-	-
SMX	LC	1	0.47	0.55	-15.3	3.2	-0.3	3.1
	HR2	2	0.54	0.32	6.5	44.8	0.5	65.6
	BR2	2	n.d.	n.d.	-	-	-	-
	OB2	2	-	-	-	-	-	-

4.5 Συμπεράσματα & Προτάσεις

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η χρήση ενός υδροβιότοπου οριζόντιας υποεπιφανειακής ροής, ο οποίος ήταν φυτεμένος με ελόφυτα του είδους *Juncus acutus*, για την απομάκρυνση τριών οργανικών ενώσεων, της δισφαινόλης Α, της σιπροφλοξασίνης και της σουλφαμεθοξαζόλης.

Τα αποτελέσματα των αναλύσεων κατέδειξαν την ουσιώδη συμβολή των φυτών στην απομάκρυνση της BPA. Το ποσοστό απομάκρυνσης μάζας της ένωσης, προς αυτή που εισάγεται στον φυτεμένο υδροβιότοπο υπολογίστηκε άνω του 70%, σε σχέση με 27% όταν απουσίαζε η βλάστηση. Η συγκέντρωση της CIP έδειξε να απομακρύνεται σε σημαντικό ποσοστό στο σύστημα ελέγχου, υποδηλώνοντας τη συμμετοχή φυσικής αποδόμησης απουσία φυτών. Παρόλα αυτά, η συνεισφορά των φυτών διαπιστώθηκε με το κατά 30% αυξημένο ποσοστό απομάκρυνσης της μάζας του αντιβιοτικού, στον υδροβιότοπο που περιείχε τα *J. acutus*. Η απόδοση ως προς την απομάκρυνση ήταν σημαντικά μικρότερη, κάτι όμως το οποίο βρίσκεται σε συμφωνία με αρκετές δημοσιεύσεις.

Σχετικά με την επίδραση του υδραυλικού χρόνου παραμονής, στην παρούσα μελέτη επιβεβαιώθηκε η υψηλή ευαισθησία της απόδοσης του συστήματος στις μεταβολές του, ως προς την απομάκρυνση της BPA. Αντίστοιχο συμπέρασμα είχε διεξαχθεί σε παρόμοιες μελέτες πιλοτικής κλίμακας. Η υπεροχή του συστήματος με λειτουργία σε HRT 2d, αποτυπώνεται με το πολύ υψηλό ποσοστό απομάκρυνσης μάζας της BPA σε σχέση με τη λειτουργία σε HRT 1d (92% έναντι 48%). Η επίδραση του HRT στην περίπτωση της CIP ήταν μικρότερη, ενώ η απομάκρυνση της SMX, έδειξε να επηρεάζεται αλλά κυμάνθηκε σε μη ικανοποιητικά επίπεδα, ειδικά όταν ο υδροβιότοπος λειτουργούσε με μικρό χρόνο παραμονής του λύματος σε αυτόν.

Η επίδραση της εποχικότητας στην απομάκρυνση της BPA ήταν σημαντική, με την απομάκρυνση μάζας να είναι μεγαλύτερη το καλοκαίρι κατά 10 ποσοστιαίες μονάδες, παρά το γεγονός ότι τα φυτά κατά τη διεξαγωγή του χειμερινού πειράματος ήταν περισσότερο ανεπτυγμένα. Η λειτουργία του υδροβιότοπου ως δευτεροβάθμια επεξεργασία, έδειξε γενικά θετικά αποτελέσματα ως προς την ανταπόκριση του υδροβιότοπου στις νέες συνθήκες. Η απόδοσή του ως προς την απομάκρυνση της BPA παρ' όλα αυτά ήταν μειωμένη σε σύγκριση με το πλήθος των υπόλοιπων πειραμάτων. Δεν παρουσιάστηκε το φαινόμενο της έμφραξης του πορώδους μέσου, ωστόσο η

μικρή διάρκεια διεξαγωγής δε μπορεί να μας οδηγήσει σε ασφαλές συμπέρασμα, ενώ η επιβάρυνση στο σημείο εισόδου του πρωτοβάθμιου λύματος ήταν έντονα αισθητή.

Ως γενικό συμπέρασμα θεωρούμε ότι το *J. acutus* είναι σημαντικός υποψήφιος για εφαρμογή σε τεχνητούς υδροβιότοπους για επεξεργασία λυμάτων από αναδυόμενους οργανικούς ρύπους. Τα μηδενικά ορατά συμπτώματα καταπόνησης, ο χαρακτηριστικά υψηλός ρυθμός ανάπτυξης υπέργειου και υπόγειου τμήματος, καθώς και η σημαντική συνεισφορά του στην απομάκρυνση κάποιων από τις υπό εξέταση οργανικές ενώσεις, υπό συγκεκριμένες συνθήκες λειτουργίας, συντείνουν στο παραπάνω συμπέρασμα.

Ως προτάσεις για μελλοντική έρευνα, προτείνεται αρχικά η μελέτη της απομάκρυνσης των επιμέρους μηχανισμών απομάκρυνσης των εν λόγω ενώσεων, με σκοπό μια πιο στοχευμένη στρατηγική βελτίωσης των φυσικών αυτών συστημάτων επεξεργασίας και αύξησης της απόδοσής τους. Επίσης αναγκαία είναι περαιτέρω έρευνα πάνω στα προϊόντα αποδόμησης των ενώσεων αυτών, καθώς και τις πιθανές επιπτώσεις τους στο περιβάλλον και την ανθρώπινη υγεία.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Διεθνής βιβλιογραφία

- Ahmed, M. B., Zhou, J. L., Ngo, H. H., Guo, W., Thomaidis, N. S., and Xu, J. (2016). Progress in the biological and chemical treatment technologies for emerging contaminant removal from wastewater: A critical review. *J. Hazard. Mater.* doi:10.1016/j.jhazmat.2016.04.045.
- Amorim, C. L., Moreira, I. S., Maia, A. S., Tiritan, M. E., and Castro, P. M. L. (2014). Biodegradation of ofloxacin, norfloxacin, and ciprofloxacin as single and mixed substrates by *Labrys portucalensis* F11. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 98, 3181–3190. doi:10.1007/s00253-013-5333-8.
- Ávila, C., Matamoros, V., Reyes-Contreras, C., Piña, B., Casado, M., Mita, L., et al. (2014). Attenuation of emerging organic contaminants in a hybrid constructed wetland system under different hydraulic loading rates and their associated toxicological effects in wastewater. *Sci. Total Environ.* 470–471, 1272–1280. doi:10.1016/j.scitotenv.2013.10.065.
- Ávila, C., Pedescoll, A., Matamoros, V., Bayona, J. M., and García, J. (2010). Capacity of a horizontal subsurface flow constructed wetland system for the removal of emerging pollutants: An injection experiment. *Chemosphere* 81, 1137–1142. doi:10.1016/j.chemosphere.2010.08.006.
- Avila, C., Reyes, C., Bayona, J. M., and García, J. (2013). Emerging organic contaminant removal depending on primary treatment and operational strategy in horizontal subsurface flow constructed wetlands: Influence of redox. *Water Res.* 47, 315–325. doi:10.1016/j.watres.2012.10.005.
- Avisar, D., Lester, Y., and Ronen, D. (2009). Sulfamethoxazole contamination of a deep phreatic aquifer. *Sci. Total Environ.* 407, 4278–4282. doi:10.1016/j.scitotenv.2009.03.032.
- Baluka, S. A., and Rumbelha, W. K. (2016). Bisphenol A and food safety: Lessons from developed to developing countries. *Food Chem. Toxicol.* 92, 58–63. doi:10.1016/j.fct.2016.03.025.

- Bolong, N., Ismail, A. F., Salim, M. R., and Matsuura, T. (2009). A review of the effects of emerging contaminants in wastewater and options for their removal. *Desalination* 238, 229–246. doi:10.1016/j.desal.2008.03.020.
- Brisson, J., and Chazarenc, F. (2009). Maximizing pollutant removal in constructed wetlands: Should we pay more attention to macrophyte species selection? *Sci. Total Environ.* 407, 3923–3930. doi:10.1016/j.scitotenv.2008.05.047.
- Christofilopoulos, S., Syranidou, E., Gkavrou, G., Manousaki, E., and Kalogerakis, N. (2016). The role of halophyte *Juncus acutus* L. in the remediation of mixed contamination in a hydroponic greenhouse experiment. *J. Chem. Technol. Biotechnol. στο.* doi:10.1002/jctb.4939.
- Colomer-Lluch, M., Jofre, J., and Muniesa, M. (2014). Quinolone resistance genes (qnrA and qnrS) in bacteriophage particles from wastewater samples and the effect of inducing agents on packaged antibiotic resistance genes. *J. Antimicrob. Chemother.* 69, 1265–1274. doi:10.1093/jac/dkt528.
- DanA, Yang, Y., Dai, Y., Chen, C., Wang, S., and Tao, R. (2013). Removal and factors influencing removal of sulfonamides and trimethoprim from domestic sewage in constructed wetlands. *Bioresour. Technol.* 146, 363–370. doi:10.1016/j.biortech.2013.07.050.
- Deblonde, T., Cossu-Leguille, C., and Hartemann, P. (2011). Emerging pollutants in wastewater: A review of the literature. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 214, 442–448. doi:10.1016/j.ijheh.2011.08.002.
- Dordio, A. V., and Carvalho, A. J. P. (2013). Organic xenobiotics removal in constructed wetlands, with emphasis on the importance of the support matrix. *J. Hazard. Mater.* 252–253, 272–292. doi:10.1016/j.jhazmat.2013.03.008.
- García-Rodríguez, A., Matamoros, V., Fontàs, C., and Salvadó, V. (2014). The ability of biologically based wastewater treatment systems to remove emerging organic contaminants—a review. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 21, 11708–11728. doi:10.1007/s11356-013-2448-5.

- Gavrilescu, M., Demnerová, K., Aamand, J., Agathos, S., and Fava, F. (2015). Emerging pollutants in the environment: Present and future challenges in biomonitoring, ecological risks and bioremediation. *N. Biotechnol.* 32, 147–156. doi:10.1016/j.nbt.2014.01.001.
- Girardi, C., Greve, J., Lamshöft, M., Fetzer, I., Miltner, A., Schäffer, A., et al. (2011). Biodegradation of ciprofloxacin in water and soil and its effects on the microbial communities. *J. Hazard. Mater.* 198, 22–30. doi:10.1016/j.jhazmat.2011.10.004.
- Giulivo, M., Lopez de Alda, M., Capri, E., and Barcel, D. (2016). Human exposure to endocrine disrupting compounds: Their role in reproductive systems, metabolic syndrome and breast cancer. A review. *Environ. Res.* 151, 251–264. doi:10.1016/j.envres.2016.07.011.
- Gothwal, R., and Shashidhar, T. (2015). Antibiotic Pollution in the Environment: A Review. *Clean - Soil, Air, Water* 43, 479–489. doi:10.1002/clen.201300989.
- Guitttonny-Philippe, A., Petit, M. E., Masotti, V., Monnier, Y., Malleret, L., Coulomb, B., et al. (2015). Selection of wild macrophytes for use in constructed wetlands for phytoremediation of contaminant mixtures. *J. Environ. Manage.* 147, 108–123. doi:10.1016/j.jenvman.2014.09.009.
- Gulkowska, A., Leung, H. W., So, M. K., Taniyasu, S., Yamashita, N., Yeung, L., et al. (2008). Removal of antibiotics from wastewater by sewage treatment facilities in Hong Kong and Shenzhen, China. *Water Research* 42, 395–403. doi:10.1016/j.watres.2007.07.031.
- Jiang, Y., Li, M., Guo, C., An, D., Xu, J., Zhang, Y., et al. (2014). Distribution and ecological risk of antibiotics in a typical effluent-receiving river (Wangyang River) in north China. *Chemosphere* 112, 267–274. doi:10.1016/j.chemosphere.2014.04.075.
- Joseph, L., Zaib, Q., Khan, I. A., Berge, N. D., Park, Y. G., Saleh, N. B., et al. (2011). Removal of bisphenol A and 17 α -ethinyl estradiol from landfill leachate using single-walled carbon nanotubes. *Water Res.* 45, 4056–4068. doi:10.1016/j.watres.2011.05.015.
- Kabir, E. R., Rahman, M. S., and Rahman, I. (2015). A review on endocrine disruptors and their possible impacts on human health. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 40, 241–258. doi:10.1016/j.etap.2015.06.009.

- Kalogerakis, N., and Christofilopoulos, S. (2015). "Rhizodegradation in constructed wetlands. Hochstrat R, Wintgens T, Corvini P, editors. Immobilized Biocatalysts for Bioremediation of Groundwater and Wastewater.," in (London: IWA Publishing), 97–105.
- Kapellakis, I. E., Paranychanakis, N. V., Tsagarakis, K. P., and Angelakis, A. N. (2012). Treatment of olive mill wastewater with constructed wetlands. *Water (Switzerland)* 4, 260–271. doi:10.3390/w4010260.
- Kosma, C. I., Lambropoulou, D. A., and Albanis, T. A. (2014). Investigation of PPCPs in wastewater treatment plants in Greece: Occurrence, removal and environmental risk assessment. *Sci. Total Environ.* 466–467, 421–438. doi:10.1016/j.scitotenv.2013.07.044.
- Kümmerer, K. (2009). Antibiotics in the aquatic environment - A review - Part I. *Chemosphere* 75, 417–434. doi:10.1016/j.chemosphere.2008.11.086.
- Kuster, M., López de Alda, M. J., Hernando, M. D., Petrovic, M., Martín-Alonso, J., and Barceló, D. (2008). Analysis and occurrence of pharmaceuticals, estrogens, progestogens and polar pesticides in sewage treatment plant effluents, river water and drinking water in the Llobregat river basin (Barcelona, Spain). *J. Hydrol.* 358, 112–123. doi:10.1016/j.jhydrol.2008.05.030.
- Lapworth, D. J., Baran, N., Stuart, M. E., and Ward, R. S. (2012). Emerging organic contaminants in groundwater: A review of sources, fate and occurrence. *Environ. Pollut.* 163, 287–303. doi:10.1016/j.envpol.2011.12.034.
- Larcher, S., and Yargeau, V. (2012). Biodegradation of sulfamethoxazole: Current knowledge and perspectives. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 96, 309–318. doi:10.1007/s00253-012-4326-3.
- Le-Minh, N., Khan, S. J., Drewes, J. E., and Stuetz, R. M. (2010). Fate of antibiotics during municipal water recycling treatment processes. *Water Res.* 44, 4295–4323. doi:10.1016/j.watres.2010.06.020.
- Li, W., Shi, Y., Gao, L., Liu, J., and Cai, Y. (2012). Occurrence of antibiotics in water, sediments, aquatic plants, and animals from Baiyangdian Lake in North China.

- Chemosphere* 89, 1307–1315. doi:10.1016/j.chemosphere.2012.05.079.
- Li, Y., Zhu, G., Ng, W. J., and Tan, S. K. (2014). A review on removing pharmaceutical contaminants from wastewater by constructed wetlands: Design, performance and mechanism. *Sci. Total Environ.* 468–469, 908–932. doi:10.1016/j.scitotenv.2013.09.018.
- Loos, R., Carvalho, R., António, D. C., Comero, S., Locoro, G., Tavazzi, S., et al. (2013). EU-wide monitoring survey on emerging polar organic contaminants in wastewater treatment plant effluents. *Water Res.* 47, 6475–6487. doi:10.1016/j.watres.2013.08.024.
- Lv, T., Zhang, Y., Zhang, L., Carvalho, P., Arias, C., and Brix, H. (2016). Removal of the pesticides imazalil and tebuconazole in saturated constructed wetland mesocosms. *Water Research* 91, 126–136. doi:10.1016/j.watres.2016.01.007.
- Martínez-Carballo, E., González-Barreiro, C., Scharf, S., and Gans, O. (2007). Environmental monitoring study of selected veterinary antibiotics in animal manure and soils in Austria. *Environ. Pollut.* 148, 570–579. doi:10.1016/j.envpol.2006.11.035.
- Matamoros, V., Rodriguez, Y., and Albaiges, J. (2016). A comparative assessment of intensive and extensive wastewater treatment technologies for removing emerging contaminants in small communities. *Water Res.* 88, 777–785. doi:10.1016/j.watres.2015.10.058.
- Michałowicz, J. (2014). Bisphenol A - Sources, toxicity and biotransformation. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 37, 738–758. doi:10.1016/j.etap.2014.02.003.
- Noguera-Oviedo, K., and Aga, D. S. (2016). Lessons learned from more than two decades of research on emerging contaminants in the environment. *J. Hazard. Mater.* 316, 242–251. doi:10.1016/j.jhazmat.2016.04.058.
- Pal, A., Gin, K. Y. H., Lin, A. Y. C., and Reinhard, M. (2010). Impacts of emerging organic contaminants on freshwater resources: Review of recent occurrences, sources, fate and effects. *Sci. Total Environ.* 408, 6062–6069. doi:10.1016/j.scitotenv.2010.09.026.
- Pal, A., He, Y., Jekel, M., Reinhard, M., and Gin, K. Y. H. (2014). Emerging contaminants of public health significance as water quality indicator compounds in the urban water cycle. *Environ. Int.* 71, 46–62. doi:10.1016/j.envint.2014.05.025.

- Rivera-Utrilla, J., Sánchez-Polo, M., Ferro-García, M. Á., Prados-Joya, G., and Ocampo-Pérez, R. (2013). Pharmaceuticals as emerging contaminants and their removal from water. A review. *Chemosphere* 93, 1268–1287. doi:10.1016/j.chemosphere.2013.07.059.
- Rodríguez-Martínez, J. M., Cano, M. E., Velasco, C., Martínez-Martínez, L., and Pascual, Á. (2011). Plasmid-mediated quinolone resistance: An update. *J. Infect. Chemother.* 17, 149–182. doi:10.1007/s10156-010-0120-2.
- Rodriguez-Mozaz, S., Chamorro, S., Marti, E., Huerta, B., Gros, M., Sánchez-Melsió, A., et al. (2015). Occurrence of antibiotics and antibiotic resistance genes in hospital and urban wastewaters and their impact on the receiving river. *Water Res.* 69, 234–242. doi:10.1016/j.watres.2014.11.021.
- Saiyood, S., Vangnai, A. S., Thiravetyan, P., and Inthorn, D. (2010). Bisphenol A removal by the *Dracaena* plant and the role of plant-associating bacteria. *J. Hazard. Mater.* 178, 777–785. doi:10.1016/j.jhazmat.2010.02.008.
- Sharma, J., Mishra, I. M., and Kumar, V. (2016). Mechanistic study of photo-oxidation of Bisphenol-A (BPA) with hydrogen peroxide (H₂O₂) and sodium persulfate (SPS). *J. Environ. Manage.* 166, 12–22. doi:10.1016/j.jenvman.2015.09.043.
- Stottmeister, U., Wießner, A., Kuschik, P., Kappelmeyer, U., Kästner, M., Bederski, O., et al. (2003). Effects of plants and microorganisms in constructed wetlands for wastewater treatment. *Biotechnol. Adv.* 22, 93–117. doi:10.1016/j.biotechadv.2003.08.010.
- Sturini, M., Speltini, A., Maraschi, F., Pretali, L., Profumo, A., Fasani, E., et al. (2012). Photodegradation of fluoroquinolones in surface water and antimicrobial activity of the photoproducts. *Water Res.* 46, 5575–5582. doi:10.1016/j.watres.2012.07.043.
- Sui, Q., Cao, X., Lu, S., Zhao, W., Qiu, Z., and Yu, G. (2015). Occurrence, sources and fate of pharmaceuticals and personal care products in the groundwater: A review. *Emerg. Contam.* 1, 14–24. doi:10.1016/j.emcon.2015.07.001.
- Syranidou, E. (2016). “Interactions between helophytes and endophytic bacteria: their synergistic effects in bioremediation of contaminants.” PhD thesis, Technical University of Crete.

- Syranidou, E., Christofilopoulos, S., and Kalogerakis, N. (2016). *Juncus* spp. – the helophyte for all (phyto)remediation purposes? *N. Biotechnol. (In Press)*.
doi:10.1029/2005JE002426doi:10.1029/2005JE002426.
- Talib, A., and Randhir, T. O. (2016). Managing emerging contaminants in watersheds: Need for comprehensive, systems-based strategies. *Sustain. Water Qual. Ecol.*
doi:10.1016/j.swaqe.2016.05.002.
- Töre, G. Y. T., Süreyya, M., Lofrano, G., and Feo, G. De (2012). Removal of Trace Pollutants from Wastewater in Constructed Wetlands. *Emerg. Compd. Remov. from Wastewater*, 15–38. doi:10.1007/978-94-007-3916-1.
- Toro-Velez, A. F., Madera-Parra, C. A., Pea-Varn, M. R., Lee, W. Y., Bezares-Cruz, J. C., Walker, W. S., et al. (2016). BPA and NP removal from municipal wastewater by tropical horizontal subsurface constructed wetlands. *Sci. Total Environ.* 542, 93–101.
doi:10.1016/j.scitotenv.2015.09.154.
- Truu, J., Truu, M., Espenberg, M., Nölvak, H., and Juhanson, J. (2015). Phytoremediation And Plant-Assisted Bioremediation In Soil And Treatment Wetlands: A Review. *Open Biotechnol. J.* 9, 85–92. doi:10.2174/1874070720150430E009.
- Van Doorslaer, X., Dewulf, J., Van Langenhove, H., and Demeestere, K. (2014). Fluoroquinolone antibiotics: An emerging class of environmental micropollutants. *Sci. Total Environ.* 500–501, 250–269. doi:10.1016/j.scitotenv.2014.08.075.
- Varela, A. R., André, S., Nunes, O. C., and Manaia, C. M. (2014). Insights into the relationship between antimicrobial residues and bacterial populations in a hospital-urban wastewater treatment plant system. *Water Res.* 54, 327–336. doi:10.1016/j.watres.2014.02.003.
- Verlicchi, P., and Zambello, E. (2014). How efficient are constructed wetlands in removing pharmaceuticals from untreated and treated urban wastewaters? A review. *Sci. Total Environ.* 470–471, 1281–1306. doi:10.1016/j.scitotenv.2013.10.085.
- Vymazal, J. (2010). Constructed wetlands for wastewater treatment. *Ecol. Eng.* 25, 475–477. doi:10.1016/j.ecoleng.2005.07.002.

- Vymazal, J. (2014). Constructed wetlands for treatment of industrial wastewaters: A review. *Ecol. Eng.* 73, 724–751. doi:10.1016/j.ecoleng.2014.09.034.
- Wang, J., and Chu, L. (2016). Irradiation treatment of pharmaceutical and personal care products (PPCPs) in water and wastewater: An overview. *Radiat. Phys. Chem.* 125, 56–64. doi:10.1016/j.radphyschem.2016.03.012.
- Watkinson, A. J., Murby, E. J., and Costanzo, S. D. (2007). Removal of antibiotics in conventional and advanced wastewater treatment: Implications for environmental discharge and wastewater recycling. *Water Res.* 41, 4164–4176. doi:10.1016/j.watres.2007.04.005.
- Weber, K. P., Mitzel, M. R., Slawson, R. M., and Legge, R. L. (2011). Effect of ciprofloxacin on microbiological development in wetland mesocosms. *Water Res.* 45, 3185–3196. doi:10.1016/j.watres.2011.03.042.
- Weyens, N., van der Lelie, D., Taghavi, S., and Vangronsveld, J. (2009). Phytoremediation: plant-endophyte partnerships take the challenge. *Curr. Opin. Biotechnol.* 20, 248–254. doi:10.1016/j.copbio.2009.02.012.
- Wu, H., Zhang, J., Ngo, H. H., Guo, W., Hu, Z., Liang, S., et al. (2015). A review on the sustainability of constructed wetlands for wastewater treatment: Design and operation. *Bioresour. Technol.* 175, 594–601. doi:10.1016/j.biortech.2014.10.068.
- Yiantzi, E., Psillakis, E., Tyrovola, K., and Kalogerakis, N. (2010). Vortex-assisted liquid-liquid microextraction of octylphenol, nonylphenol and bisphenol-A. Elsevier, διαθέσιμο στο. doi:10.1016/j.talanta.2009.11.005.
- Zhang, D., Gersberg, R. M., Ng, W. J., and Tan, S. K. (2014). Removal of pharmaceuticals and personal care products in aquatic plant-based systems: A review. *Environ. Pollut.* 184, 620–639. doi:10.1016/j.envpol.2013.09.009.
- Zhang, D. Q., Jinadasa, K. B. S. N., Gersberg, R. M., Liu, Y., Tan, S. K., and Ng, W. J. (2015). Application of constructed wetlands for wastewater treatment in tropical and subtropical regions (2000-2013). *J. Environ. Sci. (China)* 30, 30–46. doi:10.1016/j.jes.2014.10.013.

Ελληνική βιβλιογραφία

- Γιαντζή, Ε. (2007). Προσδιορισμός δισφαινόλης Α , οκτυλφαινόλης και νονυλφαινόλης σε υδατικά διαλύματα με χρήση της τεχνικής μικροεκχύλισης με ελεύθερη σταγόνα. Μεταπτυχιακή διατριβή, Πολυτεχνείο Κρήτης, Χανιά.
- Δρίλλια, Π. (2005). Τύχη των φαρμακευτικών ουσιών κατά την επεξεργασία ύγρων αποβλήτων με διεργασία ενεργού ιλύος και κατά την διάθεσή τους σε υδάτινους αποδέκτες και στο έδαφος. Διδακτορική Διατριβή, Πανεπιστήμιο Πατρών, Πάτρα.
- Δρόσου, Α. (2009). Κινητική μελέτη της φωτοκαταλυτικής διάσπασης της φαρμακευτικής ουσίας σουλφαμεθοξαζόλιο σε υδατικές μήτρες. Μεταπτυχιακή διατριβή, Πολυτεχνείο Κρήτης, Χανιά.
- Μανουσάκη, Ε. (2003). Αποδόμηση του δωδεκυλοβενζολοσουλφονικού νατρίου σε νερό με εφαρμογή υπερήχων : Μελέτη επίδραση συνθηκών λειτουργίας και σύζευξη με άλλες εξελιγμένες τεχνικές οξειδωσης και βιοαποδόμηση. Μεταπτυχιακή διατριβή, Πολυτεχνείο Κρήτης, Χανιά.
- Μουσουράκη, Α. (2012). Διερεύνηση παραμέτρων που επηρεάζουν τη μικροεκχύλιση στερεάς φάσης υπό συνθήκες κενού “Vac--HSSPME.” Μεταπτυχιακή διατριβή, Πολυτεχνείο Κρήτης, Χανιά.
- Μπέζα, Π. (2010). Ταυτόχρονος προσδιορισμός και μελέτη της αποδήμησης των αντιβιοτικών οξυτετρακυκλίνη, οξολινικό οξύ, τριμεθοπρίμη και σουλφαδιαζίνη σε επιφανειακά νερα. Διδακτορική Διατριβή, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων
- Φροντιστής, Ζ. (2011). Απομάκρυνση διαταρακτών ενδοκρινικής δράσης από την υδατική φάση με την χρήση προχωρημένων διεργασιών οξειδωσης. Διδακτορική Διατριβή, Πολυτεχνείο Κρήτης, Χανιά.
- Χατζηγιάννου Θ.Π. & Κούππαρης Μ.Α. (1990). Ενόργανη Ανάλυση.

Χριστοφιλόπουλος, Σ. (2012). Κατασκευή Πιλοτικής Μονάδας Για Τη Μελετη
Φυτοαποκαταστασης Εδαφους Και Υπογειου Νερου Ρυπασμενο Με Δισφαινολη.
Μεταπτυχιακή διατριβή, Πολυτεχνείο Κρήτης, Χανιά.