



ΣΧΟΛΗ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

**<<ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ ΥΠΕΡΘΕΙΙΚΟΥ ΑΛΑΤΟΣ ΜΕ ΙΟΝΤΑ ΣΙΔΗΡΟΥ ΓΙΑ ΤΗΝ
ΑΔΡΑΝΟΠΟΙΗΣΗ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ ΣΤΟ ΝΕΡΟ >>**

Διπλωματική Εργασία

Παναγιωτοπούλου Μαρία

A.M.2013050101

ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

ΒΕΝΙΕΡΗ ΔΑΝΑΗ (ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ)

ΠΑΝΑΓΙΩΤΟΠΟΥΛΟΥ ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ

ΞΕΚΟΥΚΟΥΛΩΤΑΚΗΣ ΝΙΚΟΛΑΟΣ

Χανιά 2019

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

Ευχαριστίες

Η παρούσα διπλωματική εργασία πραγματοποιήθηκε στα πλαίσια του προγράμματος προπτυχιακών σπουδών της Σ Μηχανικών Περιβάλλοντος του Πολυτεχνείου Κρήτης και τα πειράματα έλαβαν χώρα στο Εργαστήριο Περιβαλλοντικής Μικροβιολογίας.

Πρωταρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την Επιβλέπουσα της διπλωματικής μου εργασίας κα. Βενιέρη Δανάη, για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε αναθέτοντας μου ένα ιδιαίτερα ενδιαφέρον θέμα, την άψογη συνεργασία μας και την πολύτιμη καθοδήγηση της καθ' όλη την διάρκεια της εκπόνησης της εργασίας. Ακόμη, ένα πολύ μεγάλο ευχαριστώ οφείλω στην κα. Γουνάκη Ιωσηφίνα, η οποία υπήρξε πολύτιμος αρωγός δείχνοντας ανεξάντλητη υπομονή και επιμονή καθ' όλη την συνεργασία μας.

Επίσης, ευχαριστώ πολύ τα μέλη της τριμελούς επιτροπής, τον κ. Ξεκουκουλωτάκη Νικόλα και την κα. Παναγιωτοπούλου Παρασκευή για την παρουσία τους και για το χρόνο που διέθεσαν στην αξιολόγηση της εργασίας.

Το μεγαλύτερο ευχαριστώ το οφείλω στους γονείς μου Αντώνη και Κατερίνα που μου συμπαραστάθηκαν σε όλες τις επιλογές μου, με στήριξαν με όλη τη σημασία της λέξης σε όλα τα φοιτητικά μου χρόνια και που έχουν θεμελιώσει τις ηθικές αξίες μου ως άνθρωπο. Ένα ακόμα ευχαριστώ στον αδερφό μου Άγγελο που με πληθώρα αγάπη βρίσκεται πάντα κοντά μου.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω την φίλη μου Ραφαέλα για όλο το όμορφο ταξίδι των φοιτητικών χρόνων και την εξέλιξη σε πολυπλεύρους τομείς που καταφέραμε να χτίσουμε.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η προστασία του περιβάλλοντος και της δημόσιας υγείας απαιτεί την ολοκληρωμένη και αποτελεσματική επεξεργασία των υδάτων, όπως ήδη επιβάλλεται από την ευρωπαϊκή νομοθεσία. Στο πλαίσιο αυτό, η συνεχώς αυξανόμενη ζήτηση για υψηλά πρότυπα υγιεινής έχει οδηγήσει στην έρευνα και την ανάπτυξη αποτελεσματικών τεχνικών απολύμανσης.

Οι υδατογενείς ασθένειες που τεκμηριώνονται παγκοσμίως και η ακαταλόγιστη ταχύτητα μετάδοσή τους μέσω της κατανάλωσης μολυσμένου νερού, καταδεικνύουν τη σημασία της αποτελεσματικής απενεργοποίησης παθογόνων μικροοργανισμών. Συνήθως, η απολύμανση του νερού επιτυγχάνεται με χλώριο και τις ενώσεις του, οι οποίες θεωρούνται ισχυροί οξειδωτικοί παράγοντες και είναι ικανοί να αδρανοποιούν μια αρκετά μεγάλη ποικιλία μικροοργανισμών. Παρά την αποτελεσματικότητα αυτών των χημικών, συνδέονται με αυτούς σημαντικοί κίνδυνοι για την υγεία και καταστροφικές ιδιότητες. Έτσι έχουν αναζητηθεί νέες μέθοδοι απολύμανσης όπως αυτή της προηγμένη διαδικασίας οξείδωσης που έχει χαρακτηριστεί ως αναδυόμενη ομάδα τεχνικών με υψηλό δυναμικό οξείδωσης και μικροβιοκτόνο δράση σε διάφορους μικροοργανισμούς στα ύδατα.

Το υπερθειικό άλας (sodium persulfate, SPS) παρουσιάζει ενδιαφέρον ως μια πολλά υποσχόμενη πηγή δραστικών θειικών ριζών, λόγω του μετρίου κόστους του και του υψηλού δυναμικού οξειδοαναγωγής των θειικών ριζών (2.6V). Ο σχηματισμός πολύ δραστικών θειικών ριζών μπορεί να επιτευχθεί με ενεργοποίηση υπερθειικού άλατος μέσω θερμότητας, υπερήχων, μεταβατικών μετάλλων, υπεριώδους (UV) φωτός ή άλλων μέσων. Οι ενεργοποιημένες υπερθειικές αντιδράσεις έχουν ευρεία εφαρμογή για την περιβαλλοντική αποκατάσταση, καθώς οι σχηματισμένες ρίζες αντιδρούν με οργανικές χημικές ουσίες που προκαλούν μερική ή πλήρη αποδόμηση.

Σκοπός της παρούσας έρευνας, ήταν η ενεργοποίηση του υπερθειικού άλατος με ιόντα σιδήρου, υπέρηχους αλλά και ο συνδυασμός των δύο αυτών μεθόδων καθώς και η εύρεση των αποτελεσματικότερων συγκεντρώσεων για την αδρανοποίηση της *Escherichia coli* και του *Enterococcus faecalis* στο νερό. Οι συγκεντρώσεις που χρησιμοποιήθηκαν ήταν 100, 200 και 300 mg/L $\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$ και ενεργοποιήθηκε με 10, 20 και 30 mg/L Fe_2SO_4 ως προς σίδηρο ενώ για την ενεργοποίηση με υπέρηχους χρησιμοποιήθηκαν συγκεντρώσεις 100, 200 και 300 mg/L $\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$. Τέλος εξετάστηκε και ένα συνδυαστικό πείραμα με συγκεντρώσεις 200 mg/L $\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$ ενεργοποιημένο με 30 mg/L Fe_2SO_4 ως προς σίδηρο και υπέρηχους.

Η αρχική βακτηριακή συγκέντρωση στο εναιώρημα σε κάθε πείραμα ήταν 10^6 CFU/ mL ενώ πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις βακτηρίων χρησιμοποιώντας το Nutrient Agar (LAB M) ως μέσο καλλιέργειας.

Σύμφωνα με τα πειραματικά αποτελέσματα, η μέθοδος ενεργοποίησης υπερθειικών αλάτων απεδείχθη περισσότερο αποτελεσματική σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις τόσο υπερθειικού όσο και σιδήρου. Ταχύτερη αδρανοποίηση πραγματοποιήθηκε με την ενεργοποίηση του σιδήρου και συγκεκριμένα για τις συγκεντρώσεις 200 ή 300 mg/L $\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$ ενεργοποιημένο με 30 mg/L Fe_2SO_4 ως προς σίδηρο. Η τάξη μείωσης ήταν 6

Log σε περίπου 60 min και για τα δύο βακτήρια. Ωστόσο στην πλειοψηφία της μελέτης τα δύο αυτά βακτήρια παρουσίασαν διαφοροποιήσεις. Η *E. coli* που κατατάσσεται στα κατά Gram αρνητικά βακτήρια αδρανοποιούταν ταχύτερα από τον *E. faecalis* που κατατάσσεται στα Gram θετικά βακτήρια ο οποίος αποτελείται και από ένα παχύ κυτταρικό τοίχωμα και στο γεγονός αυτό τείνει να οφείλεται η διαφορά αυτή. Η ενεργοποίηση και των δύο βακτηριακών ειδών επιβραδύνθηκε όταν διεξήχθη ενεργοποίηση υπερθειικού άλατος με υπέρηχους αν και έπειτα από περίπου 105 min πραγματοποιήθηκε μείωση 6 Log για συγκέντρωση 300 mg/L $\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$. Καταληκτικά, η αδρανοποίηση ήταν πολύ αποτελεσματική και για τα δύο βακτήρια με μείωση 6 Log κοντά στα 40 min με συγκέντρωση υπερθειικού άλατος 200 mg/L $\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$ ενεργοποιημένο με 30 mg/L Fe_2SO_4 ως προς σίδηρο και υπέρηχους.

Με βάση τα αποτελέσματά η εφαρμογή ενεργοποιημένων αλάτων φαίνεται να είναι πέρα από καινοτόμα, αποτελεσματική για την απολύμανση των υδατικών δειγμάτων και την αδρανοποίηση των κοπράνων βακτηριακών δεικτών. Η διερεύνηση των επιδράσεων των μεταβλητών διεργασίας απαιτείται για την ικανοποιητική μείωση των βακτηρίων σε αποδεκτά όρια για την προστασία της δημόσιας υγείας.

Abstract

Protection of the environment and public health requires integrated and efficient water treatment, as it is already required by European legislation. In this context, the ever-increasing demand for high standards of hygiene has led to the exploration and development of effective disinfection techniques.

Waterborne diseases documented worldwide and their uncharted rates of transmission through the consumption of contaminated water demonstrate the importance of effective inactivation of pathogenic microorganisms, including bacteria, viruses and protozoa. Typically, water disinfection is achieved by chlorination and its compounds, which are considered powerful oxidizing agents and are capable of inactivating a wide variety of microorganisms.

Despite the efficacy of these chemicals, they are associated with significant health risks. New methods of disinfection have been discovered such as advanced oxidation process (AOPs), which has been described as an emerging group of techniques with high oxidation potential and biocide effect on various microorganisms in the water.

AOPs based on hydroxyl (HO^\bullet , $E^0 = 1.8\text{--}2.7\text{ V}$) and sulfate radicals ($\text{SO}_4^{\bullet-}$, $E^0 = 2.5\text{--}3.1\text{ V}$) have been widely used as novel oxidants to degrade many pollutants. The formation of highly reactive sulfate radicals can be achieved by activating persulfate salt by heat, ultrasound, transition metals, and ultraviolet (UV) light or other means. Activated persulfate reactions have a wide application for environmental recovery as the formed roots react with organic chemicals that cause partial or complete mineralization.

The purpose of the present study was to activate persulfate salt with iron ions, ultrasound, but also to combine these two methods as well as to find the most effective concentrations for the inactivation of *Escherichia coli* and *Enterococcus faecalis* in water. The concentrations used were 100, 200 and 300 mg/L of $\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$ and was activated with 10, 20 and 30 mg/L Fe_2SO_4 while concentrations of 100, 200 and 300 mg / L $\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$ were used for ultrasonic activation. Finally, a combined experiment with concentrations of 200 mg/L $\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$ activated with 30 mg/L Fe_2SO_4 and ultrasound was also tested.

The initial bacterial concentration in the suspension in each experiment was 10^6 CFU /mL while bacterial counts were performed by using the Nutrient Agar (LAB M) as culture medium.

According to the experimental results, the method of activating persulfate proved to be more effective at higher concentrations of both persulfate and iron ions. Faster inactivation was performed by iron activation, and particular for concentrations of 200 or 300 mg/L $\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$ activated with 30 mg /L Fe_2SO_4 . A 6 Log reduction of bacterial concentration occurred in about 60 min for both bacteria. However, in the majority of the study these two

bacteria showed variations. *Escherichia coli*, Gram (-) bacteria was deactivated faster than *Enterococcus faecalis*, Gram (+) bacteria, which also consists a thick cell wall, and this fact tends to be due to this difference. Inactivation of both bacterial species retarded when activation of persulfate carried out by ultrasound, although after about 105 min a 6 Log reduction was performed to 300 mg/L $\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$ concentration. Ultimately, inactivation was very effective for both bacteria with a 6 Log reduction of approximately 40 minutes with 200 mg/L $\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$ persulfate concentration activated with 30 mg/L Fe_2SO_4 and ultrasound.

Based on the results, the application of activated salts seems to be innovative, and effective for disinfecting aqueous samples and for inactivating fecal bacterial markers. Investigation of the effects of process variables is required to successfully reduce bacteria to acceptable limits for the protection of public health.

Περιεχόμενα

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ.....	2
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	3
ABSTRACT.....	5
ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ	7
ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΠΙΝΑΚΩΝ	9
ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΕΙΚΟΝΩΝ.....	10
ΕΙΣΑΓΩΓΗ	12
1.2 ΑΝΑΓΚΑΙΟΤΗΤΑ ΑΠΟΛΥΜΑΝΣΗΣ.....	13
1.2.1 ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΑΠΟΛΥΜΑΝΣΗΣ	15
1.2.2. ΝΟΜΟΣ ΤΗΣ HARRIETTE CHICK.....	15
1.2.3. ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΗΝ ΑΠΟΛΥΜΑΝΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ	16
1.3 ΠΡΟΗΓΜΕΝΕΣ ΔΙΕΡΓΑΣΙΕΣ ΟΞΕΙΔΩΣΗΣ (ADVANCED OXIDATION PROCESSES)	20
1.3.1 ΠΛΕΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ ΚΑΙ ΜΕΙΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ ΤΩΝ ΠΡΟΗΓΜΕΝΩΝ ΔΙΕΡΓΑΣΙΩΝ ΟΞΕΙΔΩΣΗΣ	23
1.4 ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ ΥΠΕΡΘΕΙΙΚΟΥ ΑΛΑΤΟΣ	23
1.4.1 ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ ΜΕ ΣΙΔΗΡΟ	25
1.4.2 ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ ΜΕ ΥΠΕΡΗΧΟΥΣ (ULTRASOUND)	27
2. ΣΚΟΠΟΣ.....	30
3. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	31
3.1 ΥΛΙΚΑ	31
3.2 ΜΕΘΟΔΟΙ.....	32
3.2.1 ΜΕΘΟΔΟΣ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗΣ ΥΠΕΡΘΕΙΙΚΟΥ ΑΛΑΤΟΣ ΜΕ ΣΙΔΗΡΟ	32
3.2.1.1 ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ	32
3.2.1.2 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ.....	33
3.2.2 ΜΕΘΟΔΟΣ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗΣ ΥΠΕΡΘΕΙΙΚΟΥ ΑΛΑΤΟΣ ΜΕ ΥΠΕΡΗΧΟΥΣ .	34
3.2.2.1 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ.....	34
4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	36
4.1 ΕΞΕΤΑΖΟΜΕΝΑ ΒΑΚΤΗΡΙΑ	36
4.2. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΑΔΡΑΝΟΠΟΙΗΣΗΣ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ ΜΕ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ ΥΠΕΡΘΕΙΙΚΟΥ ΑΛΑΤΟΣ ΜΕ ΣΙΔΗΡΟ.....	37
4.2. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΑΔΡΑΝΟΠΟΙΗΣΗΣ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ ΜΕ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ ΥΠΕΡΘΕΙΙΚΟΥ ΑΛΑΤΟΣ ΜΕ ΥΠΕΡΗΧΟΥΣ (ULTRASONIC BATH).....	49

4.3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΑΔΡΑΝΟΠΟΙΗΣΗΣ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ ΜΕ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ ΥΠΕΡΘΕΙΙΚΟΥ ΑΛΑΤΟΣ ΜΕ ΥΠΕΡΗΧΟΥΣ (ULTRASONIC BATH) ΚΑΙ Fe_2SO_4 ΩΣ ΠΡΟΣ ΣΙΔΗΡΟ (ΣΥΝΔΥΑΣΤΙΚΟ)	53
ΓΕΝΙΚΕΣ ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ.....	54
ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΤΟΥ C*T	58
5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	63
6. ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΕΣ ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ	65
7. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	66

ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1: Μηχανισμοί απολύμανσης με χρήση χλωρίου, όζοντος και UV ακτινοβολία, (Metcalf&Eddy,2007).....	14
Πίνακας 2: Δυναμικό οξειδωσης διαφόρων οξειδωτικών μέσων.....	22
Πίνακας 3: Συγκεντρώσεις που μελετήθηκαν.....	38
Πίνακας 4: Κινητική Σταθερά Αδρανοποίησης Στελεχών όπου το υπερθειικό άλας έχει ενεργοποιηθεί με σίδηρο	55
Πίνακας 5: Κινητική Σταθερά Αδρανοποίησης Στελεχών όπου το υπερθειικό άλας έχει ενεργοποιηθεί με υπέρηχους.....	57
Πίνακας 6: Κινητική Σταθερά Αδρανοποίησης Στελεχών όπου το υπερθειικό άλας έχει ενεργοποιηθεί με ιόντα σιδήρου και υπέρηχους.....	58
Πίνακας 7: Τιμές C^*t για 99% μείωση πληθυσμού των βακτηρίων που υποβλήθηκαν σε ενεργοποίηση $Na_2O_8S_2$ με Fe_2SO_4 ως προς σίδηρο 10 mg/L, pH=6,5 και T=25, χρόνος t (min).....	59
Πίνακας 8: Τιμές C^*t για 99% μείωση πληθυσμού των βακτηρίων που υποβλήθηκαν σε ενεργοποίηση $Na_2O_8S_2$ με Fe_2SO_4 ως προς σίδηρο 20 mg/ L, pH=6,5 και T=25°C, χρόνος t (min).....	60
Πίνακας 9: Τιμές C^*t για 99% μείωση πληθυσμού των βακτηρίων που υποβλήθηκαν σε ενεργοποίηση $Na_2O_8S_2$ με Fe_2SO_4 ως προς σίδηρο 30 mg/ L, pH=6,5 και T=25°C, χρόνος t (min).....	61
Πίνακας 10: Τιμές C^*t για 99% μείωση πληθυσμού των βακτηρίων που υποβλήθηκαν σε ενεργοποίηση $Na_2O_8S_2$ με υπέρηχους pH=6,5 και T=25°C, χρόνος t (min).....	62
Πίνακας 11: Τιμές C^*t για 99% μείωση πληθυσμού των βακτηρίων που υποβλήθηκαν σε ενεργοποίηση $Na_2O_8S_2$ με υπέρηχους και με Fe_2SO_4 ως προς σίδηρο 30 mg/L, pH=6,5 και T=25°C, χρόνος t (min).....	63

ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1: Ένωση υπερθειικού άλατος (https://www.sigmaaldrich.com/cataLog/product/mm/814906?lang=en&region=GR).....	24
Εικόνα 2: Τρόποι ενεργοποίησης υπερθειικού άλατος (Υ. Zhou et al 2018).....	26
Εικόνα 3: Ενεργοποίηση υπερθειικού άλατος με ιόντα σιδήρου (Υ. Zhou et al 2018).....	28
Εικόνα 4: Κίνηση φυσαλίδας κατά την σπηλαίωση.....	29
Εικόνα 5: ultrasonic bath (Julabo Labortechnik GMBH, Seelbach, Germany).....	36
Εικόνα 6: Αδρανοποίηση Βακτηριακών Στελεχών <i>E. coli</i> και <i>E. faecalis</i> με δόση $\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$ 100 mg/L ενεργοποιημένο με Fe_2SO_4 ως προς σίδηρο 10 mg/L.....	40
Εικόνα 7: Αδρανοποίηση Βακτηριακών Στελεχών <i>E. coli</i> και <i>E. faecalis</i> με δόση $\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$ 200 mg/L ενεργοποιημένο με Fe_2SO_4 ως προς σίδηρο 10mg/L.....	41
Εικόνα 8: Αδρανοποίηση Βακτηριακών Στελεχών <i>E. coli</i> και <i>E. faecalis</i> με δόση $\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$ 300 mg/L ενεργοποιημένο με Fe_2SO_4 ως προς σίδηρο 10mg/L.....	42
Εικόνα 9: Αδρανοποίηση Βακτηριακών Στελεχών <i>E. coli</i> και <i>E. faecalis</i> με δόση $\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$ 100 mg/L ενεργοποιημένο με Fe_2SO_4 ως προς σίδηρο 20mg/L.....	43
Εικόνα 10: Αδρανοποίηση Βακτηριακών Στελεχών <i>E. coli</i> και <i>E. faecalis</i> με δόση $\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$ 200 mg/L ενεργοποιημένο με Fe_2SO_4 ως προς σίδηρο 20mg/L.....	44
Εικόνα 10: Αδρανοποίηση Βακτηριακών Στελεχών <i>E. coli</i> και <i>E. faecalis</i> με δόση $\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$ 300 mg/L ενεργοποιημένο με Fe_2SO_4 ως προς σίδηρο 20mg/L.....	45
Εικόνα 11: Αδρανοποίηση Βακτηριακών Στελεχών <i>E. coli</i> και <i>E. faecalis</i> με δόση $\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$ 100 mg/L ενεργοποιημένο με Fe_2SO_4 ως προς σίδηρο 30mg/L.....	46

Εικόνα 12: Αδρανοποίηση Βακτηριακών Στελεχών *E. coli* και *E. faecalis* με δόση $\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$ 200 mg/L ενεργοποιημένο με Fe_2SO_4 ως προς σίδηρο 30mg/L.....47

Εικόνα 13: Αδρανοποίηση Βακτηριακών Στελεχών *E. coli* και *E. faecalis* με δόση $\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$ 300 mg/L ενεργοποιημένο με Fe_2SO_4 ως προς σίδηρο 30mg/L.....48

Εικόνα 14: Αδρανοποίηση Βακτηριακών Στελεχών *E. coli* και *E. faecalis* με δόση $\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$ 100mg/L ενεργοποιημένο με υπέρηχους.....51

Εικόνα 16: Αδρανοποίηση Βακτηριακών Στελεχών *E. coli* και *E. faecalis* με δόση $\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$ 200mg/L ενεργοποιημένο με υπέρηχους.....52

Εικόνα 17: Αδρανοποίηση Βακτηριακών Στελεχών *E. coli* και *E. faecalis* με δόση $\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$ 300mg/L ενεργοποιημένο με υπέρηχους.....53

Εικόνα 18: Αδρανοποίηση Βακτηριακών Στελεχών *E. coli* και *E. faecalis* με δόση $\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$ 300 mg/L ενεργοποιημένο με 30 mg/L Fe_2SO_4 ως προς σίδηρο και υπέρηχους.....54

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Η σημασία του νερού

Το νερό είναι ένας φυσικός πόρος που έχει μεγάλη σημασία γιατί αποτελεί ένα από τους βασικούς παράγοντες για τη ζωή και την ανάπτυξη. Τα τελευταία χρόνια το αγαθό αυτό βρίσκεται σε ανεπάρκεια, παρ' ότι ένας παρατηρητής που θα ατένιζε τη Γη από το διάστημα θα τη χαρακτήριζε ως «γαλάζιο πλανήτη» λόγω του άφθονου νερού που την καλύπτει. Είναι ένας πόρος που όχι μόνο καλύπτει βασικές ανάγκες για τον ανθρώπινο πληθυσμό αλλά αποτελεί ακρογωνιαίο λίθο για την ανάπτυξη, της γεωργίας, της επαγγελματικής αλιείας, της παραγωγής ενέργειας, της βιομηχανίας, των μεταφορών και του τουρισμού, αλλά είναι ζωτικός για όλα τα παγκόσμια οικοσυστήματα. Ωστόσο, τα γεγονότα δείχνουν ότι αντιμετωπίζουμε παγκόσμια κρίση νερού.

Γεγονότα σχετικά με την κατάσταση του νερού Παγκοσμίως έχουν σημειωθεί πολλά. Πάνω από 6.000 παιδιά πεθαίνουν καθημερινά από ασθένειες που σχετίζονται με την έλλειψη ή την κακή ποιότητα του νερού καθώς και 1,2 δισεκατομμύρια άνθρωποι, δηλαδή σχεδόν ο ένας στους πέντε κατοίκους, δεν έχουν καθαρό νερό να πίνουν. Επιπρόσθετα, κάθε στιγμή τα μισά κρεβάτια των νοσοκομείων καταλαμβάνονται από ασθενείς, που υποφέρουν από ασθένειες που σχετίζονται με το νερό. Στην Κίνα, Ινδία και Ινδονησία, εξαιτίας των ασθενειών διάρροιας πεθαίνει διπλάσιος αριθμός ανθρώπων σε σχέση με αυτούς από AIDS. Με τη συνέχιση των σημερινών τάσεων, μέσα στα επόμενα είκοσι χρόνια αναμένεται ότι οι μισοί περίπου άνθρωποι (3,5 δισεκατομμύρια) θα ζουν σε χώρες, που αντιμετωπίζουν προβλήματα με το νερό. Τέλος, πολλοί άνθρωποι, κυρίως γυναίκες, στην Αφρική και αλλού πρέπει να περπατάνε πολλές ώρες κάθε μέρα για να κουβαλήσουν το νερό που πίνουν.

Δεδομένου των πολυάριθμων και αυξανόμενων πιέσεων στους υδάτινους πόρους μας, έχει ζωτική σημασία να υπάρξουν νέες μέθοδοι επεξεργασίας του νερού ή βελτιστοποίηση των ήδη υπάρχουσών για να βοηθήσουν στην εξασφάλιση αυτών των πόρων για τις επόμενες γενιές.

1.2 Αναγκαιότητα Απολύμανσης

Απολύμανση είναι ο καθαρισμός του νερού (ή λυμάτων) από παθογόνους μικροοργανισμούς. Έχει σκοπό την αδρανοποίηση των μικροοργανισμών, δηλαδή την παρεμπόδιση της ανάπτυξης κι αναπαραγωγής τους. Ωστόσο η έννοια της απολύμανσης δεν θα πρέπει να συγχέεται με αυτήν της αποστείρωσης, η οποία προβλέπει την θανάτωση των μικροβίων (Κ. Χρυσικόπουλος, 2013).

Η προστασία του περιβάλλοντος και της δημόσιας υγείας απαιτεί την πλήρη και αποτελεσματική επεξεργασία των υδάτων, όπως ήδη επιβάλλεται από την ευρωπαϊκή νομοθεσία. Στο πλαίσιο αυτό, η συνεχώς αυξανόμενη ζήτηση για υψηλά πρότυπα υγιεινής έχει οδηγήσει στην εξερεύνηση και την ανάπτυξη αποτελεσματικών τεχνικών απολύμανσης. Οι υδατογενείς νόσοι που τεκμηριώνονται παγκοσμίως και η ταχεία μετάδοσή τους μέσω της κατανάλωσης μολυσμένου νερού, καταδεικνύουν τη σημασία της αποτελεσματικής απενεργοποίησης των παθογόνων, συμπεριλαμβανομένων των βακτηρίων, των ιών και των πρωτόζωων (Fisher et al., 2013).

Νερό που προορίζεται για ανθρώπινη κατανάλωση πρέπει να είναι απαλλαγμένο από παθογόνους μικροοργανισμούς. Για το λόγο αυτό είναι απαραίτητη η συνεχής παρακολούθηση των μικροβιολογικών του χαρακτηριστικών. Η απολύμανση του νερού που προορίζεται για πόσιμο δεν έχει σαν στόχο την εξυγίανση του από τυχόν ρύπανση, αλλά αποτελεί ένα μέτρο προφύλαξης του νερού από παθογόνους μικροοργανισμούς. Η απολύμανση του νερού είναι η αφαίρεση, απενεργοποίηση ή θανάτωση παθογόνων μικροοργανισμών στο νερό και μπορεί να συμβεί είτε με χημικά είτε με φυσικά μέσα (Uhuabonah. et. al., 2018). Οι γνωστές μέθοδοι για την αδρανοποίηση και την πρόληψη της ανάπτυξης μικροοργανισμών περιλαμβάνουν τη χρήση χημικών ουσιών, ακτινοβολίας ή ακόμα και διήθησης που απομακρύνει φυσικά τους οργανισμούς με αποκλεισμό μεγέθους (Malato et al., 2009).

Οι τρεις πιο διαδεδομένες μέθοδοι απολύμανσης των υδάτων είναι:

- Χλωρίωση
- Οζόνωση
- Ακτινοβολία UV

Πίνακας 1: Μηχανισμοί απολύμανσης με χρήση χλωρίου, όζοντος και UV ακτινοβολία, (Metcalf&Eddy,2007)

Χλώριο	Όζον	UV
Οξειδωση	Απευθείας οξειδωση/ καταστροφή του κυτταρικού τοιχώματος με διαρροή κυτταρικών συστατικών έξω από το κύτταρο	Φωτοχημική φθορά στο RNA και DNA (π.χ. σχηματισμός διπλών δεσμών) μέσα στα κύτταρα ενός οργανισμού
Αντιδράσεις με διαθέσιμο χλώριο	Αντιδράσεις με ρίζες παραπροϊόντων από την διάσπαση του όζοντος	Τα νουκλεϊκά οξέα στους μικροοργανισμούς είναι από τα πιο σημαντικά μέσα απορρόφησης της ενέργειας του φωτός σε μήκος κύματος που κυμαίνεται από 240 έως 280nm
Κατακρήμνιση πρωτεΐνης	Φθορά στα συστατικά των νουκλεϊκών οξέων (πουρίνες και πυριμιδίνες)	Επειδή το DNA και το RNA φέρουν γενετικές πληροφορίες αναπαραγωγής, η φθορά αυτών των ουσιών μπορεί να επιτύχει την αποδοτική απενεργοποίηση του κυττάρου
Τροποποίηση διαπερατότητας του κυτταρικού τοιχώματος	Διάσπαση των δεσμών άνθρακα- αζώτου που οδηγεί σε απολυμερισμό	
Υδρόλυση και μηχανική διάσπαση/ σχάση		

1.2.1 Μηχανισμοί Απολύμανσης

Πρωταρχικός σκοπός της απολύμανσης είναι η αναστολή του πολλαπλασιασμού και της επιβίωσης κάθε παθογόνου μικροοργανισμού μέσα στο σύστημα ύδρευσης. Οι πέντε βασικοί μηχανισμοί είναι η φθορά του κυτταρικού τοιχώματος, η μεταβολή της κυτταρικής διαπερατότητας, η μεταβολή της κολλοειδούς φύσης του πρωτοπλάσματος, η μεταβολή του DNA ή RNA των οργανισμών και η παρεμπόδιση της ενζυματικής δράσης. Οι βασικοί παράγοντες της απολυμαντικής δράσης (συγκέντρωση απολυμαντικού και χρόνος επαφής) είναι μεταβλητά στοιχεία, διότι η θερμοκρασία, το pH και η θολερότητα του νερού μπορούν να επηρεάσουν την αποτελεσματικότητα της απολύμανσης. Για την απολύμανση του νερού χρησιμοποιούνται συγκεκριμένες χημικές ουσίες οι οποίες επιδρούν στο κύτταρο των μικροοργανισμών με αποτέλεσμα την καταστροφή τους. Ο τρόπος επίδρασης τους στο κυτταρικό τοίχωμα δεν έχει διασαφηνιστεί πλήρως.

1.2.2. Νόμος της Harriette Chick

Η Harriette Chick εργαζόμενος στην Αγγλία του 1900 παρατήρησε ότι για μία συγκεκριμένη συγκέντρωση απολυμαντικού, όσο μεγαλύτερος είναι ο χρόνος επαφής, τόσο μεγαλύτερη είναι η θανάτωση των μικροοργανισμών. Ο Νόμος της Chick περιγράφει την απολυμαντική δράση ενός απολυμαντικού μέσου και δίνεται από την εξής σχέση (Metcalf & Eddy, 2007):

$$\left(\frac{dN_t}{dt}\right) = -kNt$$

Όπου:

$\left(\frac{dN_t}{dt}\right)$: Ο ρυθμός μεταβολής της συγκέντρωσης των μικροοργανισμών με το χρόνο

k : Σταθερά ρυθμού απενεργοποίησης

N_t : Αριθμός μικροοργανισμών σε χρόνο t

t : Χρόνος

Αν N_0 είναι ο αριθμός των οργανισμών όταν t ισούται με το μηδέν, η παραπάνω εξίσωση μπορεί να ολοκληρωθεί σε :

$$\frac{N_t}{N_0} = e^{-kt}$$

ή

$$\ln \frac{N_t}{N_0} = -kt$$

N_0 = ο αρχικός αριθμός μικροοργανισμών στο σύστημα

N = ο αριθμός των μικροοργανισμών μετά από χρόνο t της απολύμανσης

1.2.3. Παράγοντες που επηρεάζουν την Απολυμαντική Δράση

Η αποτελεσματικότητα της απολύμανσης μετράται ευρέως με το λογαριθμικό δείκτη απομάκρυνσης των παθογόνων μικροοργανισμών LVR που δίνεται από τη σχέση $LRV = \log_{10} (C_{in} / C_{out})$,

όπου:

C_{in} : η συγκέντρωση του παθογόνου στο αρχικό εναιώρημα

C_{out} : η συγκέντρωση του παθογόνου στο εναιώρημα μετά την επεξεργασία

Συνεπώς, για συγκεκριμένο παθογόνο τιμή LRV ίση με 2 αντιστοιχεί σε 99% απολύμανση ενώ LRV=4 αντιστοιχεί σε 99,99% απολύμανση. Η ικανότητα των απολυμαντικών μέσων να επιδρούν στο κυτταρικό υλικό και να παρεμποδίζουν τους μηχανισμούς λειτουργίας του κυττάρου, εξαρτάται κυρίως από το είδος του απολυμαντικού, το είδος και την κατάσταση του μικροοργανισμού, τη συγκέντρωση του απολυμαντικού, το χρόνο επαφής, το pH, τη θερμοκρασία, τη θολερότητα, το διαλυτό οργανικό υλικό και την ύπαρξη βιολογικού υμενίου (βιοφίλμ) (Βενιέρη, 2017).

- Χρόνος επαφής

Ο χρόνος επαφής ίσως να αποτελεί μια από τις σημαντικότερες μεταβλητές στη διεργασία της απολύμανσης. Όπως προαναφέρθηκε, αυτή είναι μία σχέση που αναπτύχθηκε από την Chick στις αρχές του 1900 (Metcalf & Eddy, 2007) :

$$\left(\frac{dN_t}{dt}\right) = -kNt$$

- Συγκέντρωση και είδος του απολυμαντικού

Ο Herbert Watson εργαζόμενος στην Αγγλία στις αρχές του 1900 ανέφερε ότι η σταθερά του ρυθμού απενεργοποίησης σχετίζεται με τη συγκέντρωση ως ακολούθως (Metcalf & Eddy, 2007) :

$$k = k' C n$$

Όπου :

k = σταθερά ρυθμού απενεργοποίησης

k' = σταθερά θανάτωσης

C = συγκέντρωση του απολυμαντικού

n = συντελεστής διάλυσης

- Ισχύς και φύση των φυσικών μέσων απολύμανσης

Η θερμότητα και το φως είναι φυσικά μέσα απολύμανσης που έχουν χρησιμοποιηθεί κατά καιρούς για την απολύμανση των υγρών αποβλήτων. Παρατηρήθηκε ότι η απόδοση τους εξαρτάται από την ισχύ τους (Metcalf & Eddy, 2007) .

- Θερμοκρασία

Η επίδραση της θερμοκρασίας στο ρυθμό θανάτωσης με χημικά απολυμαντικά μπορεί να προσδιοριστεί από μια μορφή εξίσωσης van't Hoff-Arrhenius. Η αύξηση της θερμοκρασίας , έχει ως αποτέλεσμα μια πιο γρήγορη θανάτωση. Η σχέση για τον απαιτούμενο χρόνο t ώστε να πραγματοποιηθεί συγκεκριμένο ποσοστό θανάτωσης είναι (Metcalf & Eddy, 2007) :

$$\ln \frac{t_1}{t_2} = \frac{E(T_2 - T_1)}{RT_1 T_2}$$

Όπου :

t_1, t_2 = χρόνος για δεδομένο ποσοστό θανάτωσης σε θερμοκρασίες T_1 και T_2 , αντίστοιχα

E = ενέργεια ενεργοποίησης J/mol (cal/mol)

R = σταθερά των αερίων, 8.3144 J/mol·K = (1.99 cal/mol·K)

- Είδος και κατάσταση μικροοργανισμού

Η αποτελεσματικότητα της απολύμανσης επηρεάζεται από τη φύση και την κατάσταση των μικροοργανισμών. Γενικά είναι πιο δύσκολο να καταπολεμηθούν, λόγω της κυτταρικής τους δομής, τα πρωτόζωα και ακολουθούν οι ιοί και τα βακτήρια. Αυξημένη αντίσταση στην απολύμανση παρουσιάζουν οι μικροοργανισμοί που εμφανίζουν ανθεκτικές μορφές όπως κύστες και σπόρια. Επίσης, είναι σαφές ότι μικροοργανισμοί που για κάποιο λόγο έχουν καταστεί λιγότερο ακμαίοι, είναι πιο ευαίσθητοι στα διάφορα απολυμαντικά (Φραγγεδάκη, 2014).

- Βιοφίλμ

Η ύπαρξη συσσωματωμάτων μικροοργανισμών που έχουν προσκολληθεί στις διάφορες επιφάνειες (π.χ. δίκτυο ύδρευσης, αντιδραστήρες) φαίνεται ότι δυσχεραίνει τη διαδικασία της απολύμανσης. Οι ποικίλοι μικροοργανισμοί, που δημιουργούν το βιοφίλμ εκκρίνοντας πολυσακχαρίτες, προστατεύονται ως ένα βαθμό από τη δράση των απολυμαντικών μέσων καθώς τα τελευταία δυσκολεύονται να διεισδύσουν στο εσωτερικό του υμενίου (Φραγγεδάκη, 2014).

- Θολερότητα

Έχει αποδειχθεί ότι επιδρά αρνητικά στη διαδικασία απολύμανσης, καθώς τα αιωρούμενα σωματίδια μπορεί να περιβάλλουν τους παθογόνους μικροοργανισμούς προστατεύοντάς τους από τη δράση του απολυμαντικού. Επιπρόσθετα, αυξάνεται η απαιτούμενη δόση απολυμαντικού καθώς το υλικό από το οποίο αποτελούνται τα σωματίδια αυτά χρήζει κάποιας ποσότητας απολυμαντικού (Βενιέρη, 2016).

- pH

Η επίδραση του pH στην απολύμανση, μπορεί ανάλογα με το απολυμαντικό μέσο να είναι διαφορετική. Για παράδειγμα, αυξημένες τιμές pH ενισχύουν την απολυμαντική δράση ενώσεων του αμμωνίου ενώ μειώνουν εκείνη των υποχλωριωδών, των φαινολών και του ιωδίου (Βενιέρη, 2018).

- Διαλυτό οργανικό υλικό

Το διαλυτό οργανικό υλικό που περιέχεται στο υπό επεξεργασία υγρό είναι δυνατόν να καταναλώσει απολυμαντικό και να οδηγήσει στη δημιουργία ενώσεων με μικρή ή καθόλου απολυμαντική ικανότητα αλλά και στη δημιουργία ανεπιθύμητων παραπροϊόντων (Βενιέρη, 2018).

1.3 Προηγμένες διεργασίες οξείδωσης (Advanced oxidation processes)

Οι πλέον διαδεδομένες τεχνικές απολύμανσης παρά την αποτελεσματικότητά τους σε πολλές περιπτώσεις και τα υπόλοιπα θετικά τους χαρακτηριστικά που τις καθιστούν τις πιο δημοφιλείς, παρουσιάζουν ιδιότητες που δημιουργούν έντονο προβληματισμό. Ένα αξιόλογο παράδειγμα μπορούν να θεωρηθούν, ορισμένα από τα δημιουργούμενα παραπροϊόντα της πλέον διαδεδομένης απολυμαντικής μεθόδου, της χλωρίωσης, που ενοχοποιούνται ως μεταλλαξιγόνα και σε κάποιες περιπτώσεις ως καρκινογόνα (Yang and Cheng, 2007; Lu et al., 2009; Coleman et al., 2005) έχοντας οδηγήσει στην ανάγκη εύρεσης και υιοθέτησης νέων τεχνολογιών απολύμανσης χωρίς επιβάρυνση για την ανθρώπινη υγεία.

Στο πλαίσιο αναζήτησης εναλλακτικών μεθόδων απολύμανσης, φιλικών προς το περιβάλλον (καθαρές τεχνολογίες), μπορεί να ενταχθεί και το αυξανόμενο ενδιαφέρον για την χρησιμοποίηση των προηγμένων οξειδωτικών μεθόδων απολύμανσης (ΠΟΜΑ).

Οι Προηγμένες Διεργασίες Οξείδωσης (Advanced Oxidation Processes, AOPs) αποτελούν ένα σύνολο μεθόδων οξείδωσης στην υδατική φάση, οι οποίες στηρίζονται στην χρήση διαφόρων ισχυρών οξειδωτικών μέσων, όπως για παράδειγμα είναι οι ρίζες υδροξυλίου. Αποτελούν καινοτόμες τεχνολογίες επεξεργασίας του νερού που βασίζονται στην επί τόπου δημιουργία ενδιάμεσων υψηλής δραστηριότητας όπως H_2O_2 , OH^\cdot , O_2^\cdot , O_3 για την ανοργανοποίηση ανθεκτικών οργανικών ενώσεων και την αδρανοποίηση παθογόνων μικροοργανισμών και παραπροϊόντων απολύμανσης (Pera-Titus et al., 2004; Esplugas et al., 2002). Οι τεχνολογίες αυτές, στηρίζονται στη χρήση μεθόδων όπως ο οζονισμός (O_3 , O_3/UV , $\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2$), η ετερογενής φωτοκατάλυση (TiO_2/UV), το αντιδραστήριο Fenton ($\text{Fe}_2^+/\text{H}_2\text{O}_2$) και φωτο-Fenton ($\text{UV}/\text{Fe}_2^+/\text{H}_2\text{O}_2$), η ηλεκτροχημική οξείδωση, η οξείδωση σε υψηλές πιέσεις και θερμοκρασίες (καταλυτική ή μη), η χρήση υπερήχων καθώς και άλλες (Φραγγεδάκη, 2014).

Μια προηγμένη διαδικασία οξείδωσης μπορεί να χωριστεί σε τρία βασικά βήματα: Αρχικά τη δημιουργούνται ή προσθήκη ριζών υδροξυλίου ($\cdot\text{OH}$) στο σύστημα. Έπειτα οι αρχικές αντιδράσεις μεταξύ ριζών υδροξυλίου και μορίων στόχου διασπούν μόρια στόχο σε μικρότερα θραύσματα, και τέλος οι αντιδράσεις μεταξύ ριζών υδροξυλίου και αρκετά μικρών θραυσμάτων έχουν ως αποτέλεσμα την ανοργανοποίηση του μολυσματικού παράγοντα.

Η απολυμαντική δράση των εν λόγω διεργασιών έγκειται στην πρόκληση καταστροφών στα κυτταρικά συστατικά των μικροοργανισμών από τις δραστηκές οξειδωτικές ελεύθερες ρίζες που δημιουργούνται και συνήθως είναι ρίζες υδροξυλίου (OH^\cdot), τα πιο ισχυρά οξειδωτικά μέσα μετά το φθόριο (Carp et al., 2004). Οι διεργασίες προχωρημένης οξείδωσης αφορούν το σχηματισμό και τη χρήση της ελεύθερης ρίζας υδροξυλίου (HO^\cdot) ως ένα ισχυρό αντιοξειδωτικό μέσο για την καταστροφή των ενώσεων οι οποίες δεν μπορούν να οξειδωθούν με τη χρήση συμβατικών οξειδωτικών μέσων, όπως το οξυγόνο, το όζον και το χλώριο. Η ρίζα υδροξυλίου αντιδρά με τα διαλυτά συστατικά εκκινώντας μια σειρά αντιδράσεων οξείδωσης. Πρόκειται για ιδιαίτερα ισχυρά οξειδωτικά σώματα, τα οποία, αντιδρούν με οργανικές ενώσεις αποσπώντας H^\cdot και δημιουργώντας υπεροξειδικές ρίζες. Αυτές με τη σειρά τους προκαλούν οξειδωτικές θερμικές αντιδράσεις, οι οποίες τελικά οδηγούν στην πλήρη μετατροπή των οργανικών ενώσεων σε CO_2 και H_2O καθώς

και ανόργανα άλατα. Μάλιστα, λόγω του υψηλού δυναμικού αναγωγής των ριζών αυτών (2.8 V), είναι δυνατή η προσβολή πρακτικά όλων των οργανικών ρύπων των αποβλήτων (Carp et al., 2004). Στον παρακάτω πίνακα, παρουσιάζονται διάφορα οξειδωτικά μέσα με το δυναμικό οξείδωσης τους.

Πίνακας 2: Δυναμικό οξείδωσης διαφόρων οξειδωτικών μέσων

Οξειδωτικό Μέσο	Δυναμικό Οξείδωσης (Volt)
Φθόριο, F_2	3,053
Ρίζες υδροξυλίου, HO^\bullet	2,80
Όζον, O_3	2,076
Υπεροξειδίο του υδρογόνου, H_2O_2	1,776
Ρίζες υπεροξειδίου, HO_2^\bullet	1,70
Υπερμαγγανικά ιόντα, MnO_4^-	1,507
Υποχλωριώδες οξύ, $HClO$	1,482
Χλώριο, Cl_2	1,36
Οξυγόνο, O_2	1,229

Οι ρίζες υδροξυλίου δεν είναι επιλεκτικές, μπορούν να δράσουν σε κανονική θερμοκρασία και πίεση και είναι ικανές να οξειδώσουν σχεδόν όλες τις υπάρχουσες ανηγμένες ενώσεις χωρίς κάποιο περιορισμό στην κλάση ή την ομάδα των ενώσεων σε αντίθεση με άλλα οξειδωτικά (Δρόσου, 2007).

Οι Προηγμένες Διεργασίες Οξείδωσης κερδίζουν όλο και μεγαλύτερο έδαφος για έρευνα σήμερα αφού όχι μόνο συμβάλλουν στην αποτελεσματική απολύμανση του νερού αλλά και καταστρέφουν πολλές τοξικές μη βιοαποδομήσιμες ουσίες χωρίς τη δημιουργία επικίνδυνων για την υγεία και το περιβάλλον παραπροϊόντων

1.3.1 Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα των προηγμένων διεργασιών οξείδωσης

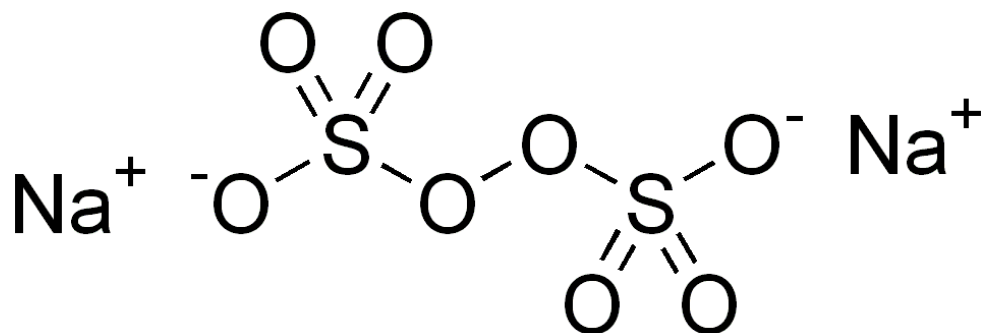
Τα πλεονεκτήματα της εφαρμογής των προηγμένων διεργασιών οξείδωσης είναι ότι συντελούν στην διάσπαση των οργανικών ρύπων και όχι στην μεταφορά τους από τη μία φάση στην άλλη .Οι διάφοροι οργανικοί ρύποι από τις ρίζες υδροξυλίου έχουν μη επιλεκτική προσβολή, επιτρέποντας την εφαρμογή των AOPs σε όλα σχεδόν τα είδη αποβλήτων που περιέχουν οργανικούς ρύπους . Ακόμη η προ-επεξεργασία των λυμάτων με κάποιες από τις προηγμένες τεχνολογίες οξείδωσης διευκολύνει την βιολογική επεξεργασία που ακολουθεί, λόγω της δημιουργίας βιο-αποδομήσιμων προϊόντων, αλλά και εξαιτίας της μείωσης σε πολλές περιπτώσεις της τοξικότητας των λυμάτων (Φραγγεδάκη 2014).

Η προ-επεξεργασία των λυμάτων, καθιστά μεθόδους όπως η αντίστροφη ώσμωση και ιοντοανταλλαγή κατά πολύ οικονομικότερες, λόγω της αποτροπής δημιουργίας συσσωματωμάτων οργανικής ύλης . Επιπρόσθετα οι προηγμένες διεργασίες οξείδωσης, χρησιμοποιούν αντιδραστήρια φιλικότερα προς το περιβάλλον και έχουν δυνατότητα χρήσης της ηλιακής ακτινοβολίας (Φραγγεδάκη, 2014).

Από την άλλη πλευρά, τα μειονεκτήματα των AOPs είναι ότι η σε κάποιες περιπτώσεις χρειάζονται σχετικά ακριβά αντιδραστήρια και παρουσιάζουν υψηλό κόστος λόγω της χρήσης πηγών φωτός για παραγωγή υπεριώδους ακτινοβολίας. Επιπρόσθετα, παρατηρείται σχηματισμός άγνωστων ενδιάμεσων τα οποία σε ορισμένες περιπτώσεις μπορεί να είναι πιο τοξικά από τις αρχικές ενώσεις .Καταληκτικά, οι ρίζες υδροξυλίου μπορεί να καταναλωθούν από εκτός στόχου ουσίες (scavenger) ενώ δεν είναι κατάλληλες για ορισμένες κατηγορίες τοξικών ενώσεων οι οποίες αντιστέκονται στη δράση των ριζών υδροξυλίου (Φραγγεδάκη, 2014).

1.4 Ενεργοποίηση υπερθειικού άλατος

Το υπερθειικό άλας είναι η ανόργανη ένωση με τύπο $\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$. Είναι το άλας του υπεροξυδισουλφονικού οξέος, $\text{H}_2\text{S}_2\text{O}_8$. Είναι ένα λευκό στερεό που διαλύεται στο νερό και έχει καλή διάρκεια ζωής.

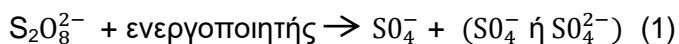


Εικόνα 1: Ένωση υπερθειικού

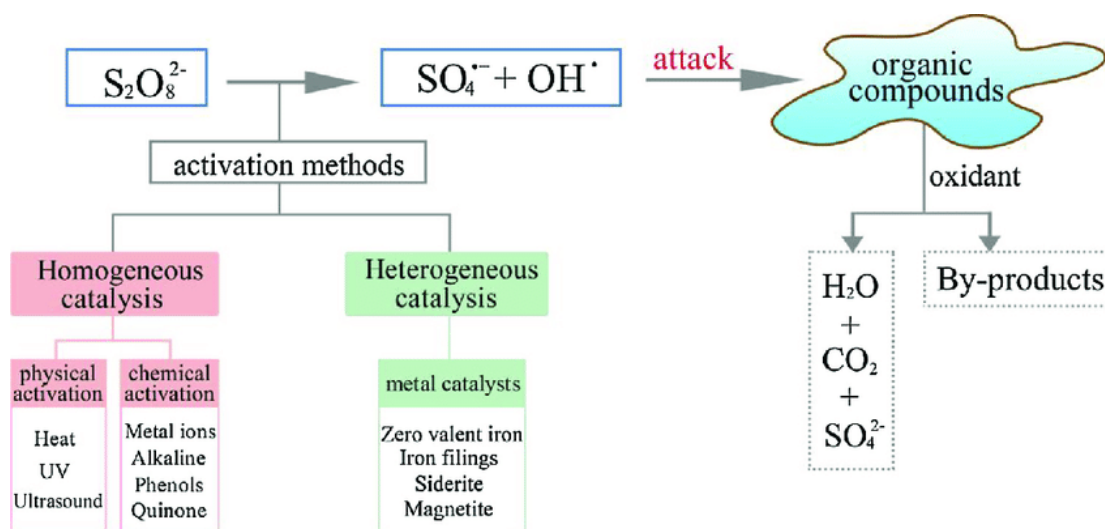
άλατος (<https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/mm/814906?lang=en®ion=GR>)

Το υπερθειικό άλας (sodium persulfate, SPS) παρουσιάζει ενδιαφέρον ως μια πολλά υποσχόμενη πηγή δραστικών θειικών ριζών, λόγω του μετρίου κόστους του και του υψηλού δυναμικού οξειδοαναγωγής των θειικών ριζών (2.6V που είναι συγκρίσιμη τιμή με αυτή των ριζών υδροξυλίου). Οι ενεργοποιημένες υπερθειικές αντιδράσεις έχουν εκτεταμένη εφαρμογή για την αποκατάσταση υποβάθμισης των υπογείων υδάτων και του περιβάλλοντος, καθώς πολλές από αυτές τις αντιδράσεις περιλαμβάνουν την καταστροφή των περιβαλλοντικών ρύπων. Εντός της τελευταίας πενταετίας, η γνώση των ενεργών αντιδράσεων αποδόμησης υπερθειικών αλάτων έχει αυξηθεί για να συμπεριλάβει νέα μέσα για τη ενεργοποίηση του υπερθειικού άλατος για αυξημένη απομάκρυνση των οργανικών ρύπων.

Το υπερθειικό άλας, σε σταθερή θερμοκρασία δωματίου, μπορεί να ενεργοποιηθεί μέσω θερμότητας, παρουσίας κάποιων μετάλλων, εφαρμογής υπερειώδους ακτινοβολίας (UVA) και άλλων μέσων, για να σχηματίσει τις εξαιρετικά δραστικές θειικές ρίζες σύμφωνα με την χημική εξίσωση (1) (Zhao et al., 2014, Darsinou et al., 2015; Matzek and Carter 2016, Potakis et al., 2017).



Η θειική ρίζα έχει υψηλό δυναμικό οξειδωσης $E^{\circ}=2,6V$ και είναι μη επιλεκτική (Eberson, 1982; Neta et al., 1988; Frontistis et al., 2017). Οι σχηματισμένες ρίζες, από την ενεργοποίηση του υπερθειικού άλατος, αντιδρούν με οργανικά συστατικά που προκαλούν μερική ή πλήρη αποδόμηση. Το ενεργοποιημένο υπερθειικό άλας έχει ευρεία εφαρμογή για την αποκατάσταση του περιβάλλοντος (Chen et al., 2014; Wang et al., 2014; Zhao et al., 2014) καθώς σχηματίζονται ρίζες που αντιδρούν με οργανικές χημικές ουσίες και προκαλούν είτε μερική είτε πλήρη αποδόμηση (Paul et al., 2014; Wang and Liang, 2014; Zhang et al., 2015).



Εικόνα 2: τρόποι ενεργοποίησης υπερθειικού άλατος (Y. Zhou et al 2018)

1.4.1 Ενεργοποίηση με σίδηρο

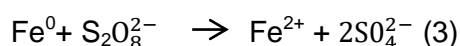
Η χρήση μεταλλικών ιόντων μπορεί να είναι η πιο γνωστή μέθοδος ενεργοποίησης που αναφέρθηκε στη βιβλιογραφία. Παρέχει μια εικόνα που μας βοηθά να επιμείνουμε σε αυτή

τη μέθοδο. Η ενεργοποίηση υπερθειικών μετάλλων παρέχει το πλεονέκτημα της επιτάχυνσης των χημικών αντιδράσεων υπερφωσφορικού σε θερμοκρασίες δωματίου μέσω της χρήσης ειδικών συμπλοκών μετάλλου και χηλικών ενώσεων καθώς και σε περιοχές περιβάλλοντος pH. Επιπλέον, ιόντα μεταβατικών μετάλλων τα οποία έχουν σαφώς σημειωθεί ότι ενεργοποιούν το υπερθειικό άλας περιλαμβάνουν το Fe^{2+} , Fe^{3+} , Ag^+ , και Cu^{2+} (Anipsitakis and Dionysiou 2004). Εντούτοις, η πιθανή τοξικότητα, η δαπάνη και η περιβαλλοντική σπανιότητα του χαλκού και του αργύρου δεν είναι κατάλληλοι ενεργοποιητές για την προηγμένη οξείδωση που βασίζεται σε υπερθειικά άλατα. Ως εκ τούτου, τα Fe^{2+} και Fe^{3+} είναι οι δύο πιο γνωστοί ενεργοποιητές μεταβατικών μεταλλικών ιόντων που εφαρμόζονται στην προηγμένη οξείδωση με βάση το υπερθειικό άλας (Tan et al. 2012).

Το υπερθειικό άλας μπορεί να ενεργοποιηθεί μέσω μίας μεταφοράς ηλεκτρονίων χρησιμοποιώντας μέταλλα όπως αργύρου, χαλκού, σιδήρου, ψευδαργύρου, κοβαλτίου και μαγγανίου σχηματίζοντας τη θειική ρίζα σύμφωνα με την χημική εξίσωση 2 (House 1962, Buxton 1997, Anipsitakis και Dionysiou 2004, Zhang 2015).



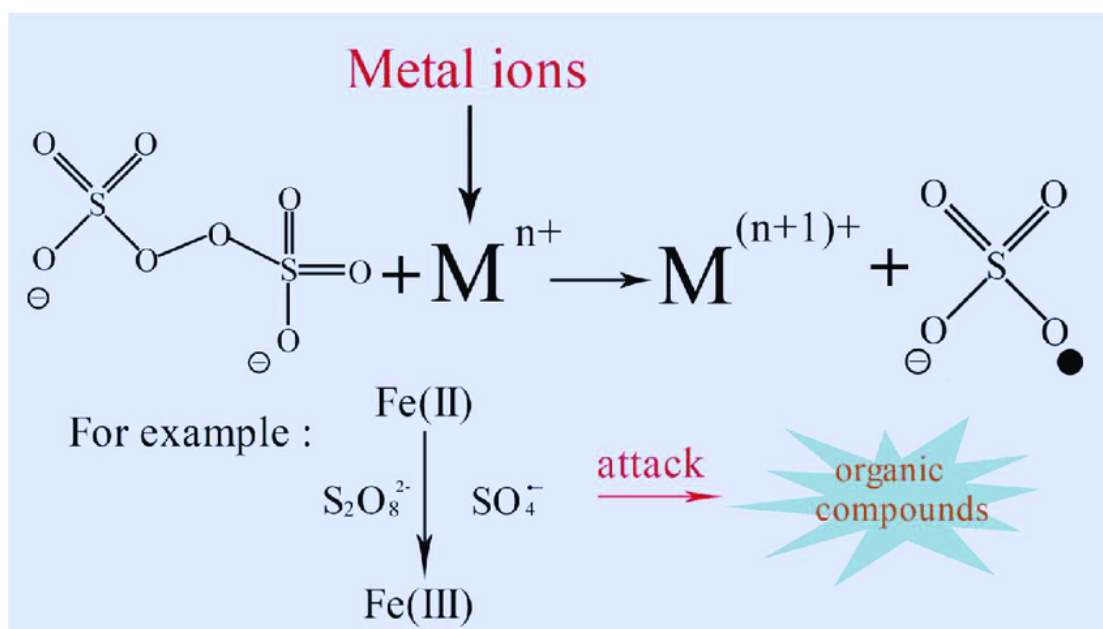
Ο σίδηρος, το πιο διαδεδομένο μέταλλο, είναι ένας αποτελεσματικός ενεργοποιητής, σχετικά μη τοξικός, φιλικός προς το περιβάλλον και πιο αποτελεσματικός από άλλα μεταβατικά μέταλλα (Rastogi et al., 2009). Το υδροξείδιο του Σιδήρου II (Fe^{2+}), αντιδρά με το υπερθειικό άλας για να σχηματίσει τη θειική ρίζα με ενέργεια ενεργοποίησης $50,23 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ (Fordham and Williams, 1951). Η σταθερά ρυθμού δεύτερης τάξης του σχηματισμού θειικών ριζών από σιδηρούχο σίδηρο αναφέρεται ως $2 \times 10^1 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{sec}^{-1}$ στους 22°C (Liang., 2008). Έμμεση ενεργοποίηση του υπερθειικού άλατος με Fe^0 προχωρά μέσω της οδού της εξίσωσης (3).



Το σχηματιζόμενο Fe^{2+} ενεργοποιεί το υπερθειικό άλας μέσω της χημικής εξίσωσης (4).



Η ανεπαρκής συγκέντρωση σιδήρου προκαλεί αναποτελεσματική χρήση υπερθειικών αλάτων, ενώ η υπερβολική ποσότητα Fe^{2+} έχει ως αποτέλεσμα τη περισυλλογή του σιδήρου με τη ρίζα θειικού άλατος μειώνοντας την αποτελεσματικότητά για απολύμανση (Lee et al., 2009; Vicente et al., 2011). Λόγος 1:1 υπερθειικών προς σιδήρου είναι συνήθως απαραίτητος για να επιτευχθεί στο μέγιστο η αφαίρεση αναλύτη (Al-Shamsi and Thomson, 2013; Zhang et al., 2015).



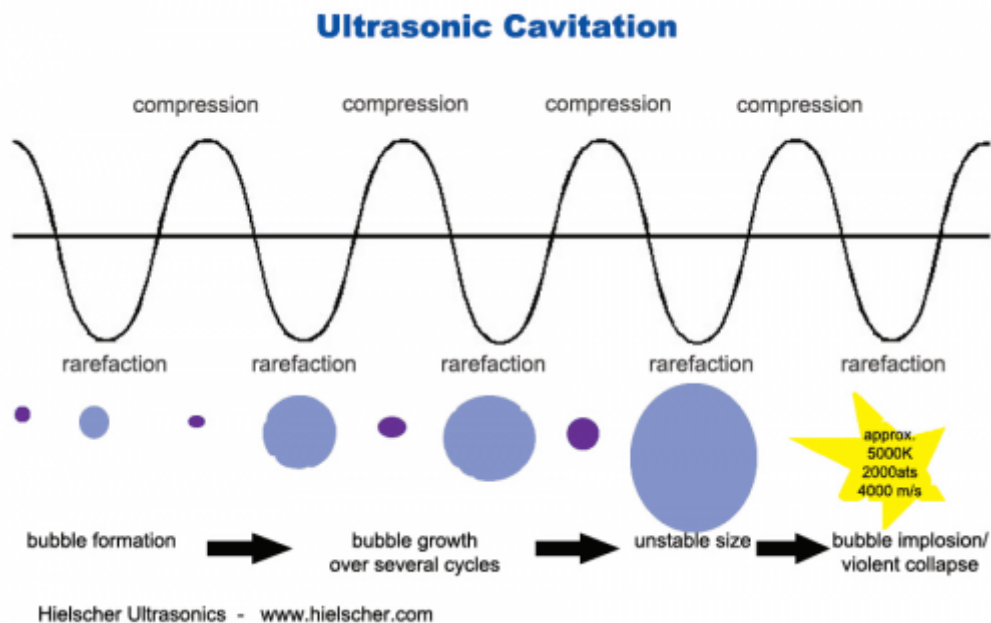
Εικόνα 3: Ενεργοποίηση υπερθειικού άλατος με ιόντα σιδήρου (Y. Zhou et al 2018)

1.4.2 Ενεργοποίηση με υπέρηχους (ultrasound)

Οι υπέρηχοι είναι ηχητικά κύματα με συχνότητες υψηλότερες από το ανώτερο ακουστικό όριο της ανθρώπινης ακοής (δηλαδή πάνω από 16 kHz). Οι υπέρηχοι δεν διαφέρουν από τον "κανονικό" (ακουστικό) ήχο στις φυσικές του ιδιότητες, εκτός από το ότι οι άνθρωποι

δεν τον ακούν. Ο Φράνσις Γκάλτον το 1893 εφευρέθηκε το σφύριγμα Galton, ένα ρυθμιζόμενο σφύριγμα που παρήγαγε υπερηχογράφημα, το οποίο χρησιμοποίησε για να μετρήσει την ακουστική κλίμακα ανθρώπων και άλλων ζώων, αποδεικνύοντας ότι πολλά ζώα μπορούσαν να ακούσουν ήχους πάνω από την ακουστική κλίμακα των ανθρώπων. Η πρώτη τεχνολογική εφαρμογή του υπερήχου ήταν μια προσπάθεια ανίχνευσης υποβρυχίων από τον Paul Langevin το 1917. Το πιεζοηλεκτρικό φαινόμενο, που ανακαλύφθηκε από τον Jacques και τον Pierre Curie το 1880, ήταν χρήσιμο στους μετατροπείς να παράγουν και να ανιχνεύουν υπερηχητικά κύματα στον αέρα και το νερό.

Στην πράξη, διακρίνουμε τους υπερήχους σε τρεις διαφορετικές κατηγορίες ανάλογα με τη χρήση τους (Mason and Cordemans, 1996). Υψηλής συχνότητας ή διαγνωστικοί υπέρηχοι (2-10 kHz), χαμηλής συχνότητας ή υπέρηχοι συμβατικής ισχύος (20-100 kHz), και μέσης συχνότητας ή υπέρηχοι «χημικών φαινομένων» (300-1000 kHz). Όταν ένα υγρό εκτίθεται σε ένα ακουστικό πεδίο, τα κύματα πίεσης των ακουστικών δονήσεων δημιουργούν ακουστική πίεση που εξαρτάται από τη συχνότητα. Η πίεση αυτή εκδηλώνεται με εναλλαγή κύκλων συμπίεσης και εκτόνωσης (Manson, 1990). Αν η εφαρμοζόμενη πίεση είναι ίση με την αρνητική πίεση που αναπτύσσεται στον κύκλο της εκτόνωσης του ακουστικού κύματος, έτσι ώστε η απόσταση μεταξύ των μορίων του υγρού να είναι μεγαλύτερη από την κρίσιμη μοριακή απόσταση, το υγρό «σπάει» και σχηματίζονται κοιλότητες (cavities) που αποτελούνται από μικροφουσαλίδες γεμάτες με ατμό και αέρα (Manson, 1990, Dahlem et al., 1998). Το φαινόμενο, που ονομάζεται ακουστική σπηλαίωση (acoustic cavitation) συντελείται σε τρία τουλάχιστον διαδοχικά στάδια. Το πρώτο στάδιο περιλαμβάνει τη δημιουργία του πυρήνα της φουσαλίδας (nucleation), το δεύτερο την ανάπτυξη και επέκταση της φουσαλίδας ενώ το τελευταίο την έκρηξη της φουσαλίδας (implosive collapse) (Suslick, 1990).



Εικόνα 4: Κίνηση φυσαλίδας κατά την σπηλαίωση

Η χρήση υπερήχων (US) έχει μελετηθεί για την απομάκρυνση μη βιοαποικοδομήσιμων ρύπων λόγω της μη παραγωγής τοξικών παραπροϊόντων και της απλότητας του συστήματος. Στις περισσότερες περιπτώσεις όμως, η απόδοση απομάκρυνσης περιορίζεται σε χαμηλό επίπεδο. Ωστόσο, ορισμένοι ερευνητές χρησιμοποίησαν υπερθειικό άλας ενεργοποιημένο με υπερήχους για την αποικοδόμηση οργανικών ενώσεων και έχουν καταλήξει ότι διεργασία αυτή είναι μια ελπιδοφόρα μέθοδος για τις οργανικές ενώσεις στο νερό (Neppolian et al., 2010).

Τα τελευταία χρόνια, οι υπέρηχοι χρησιμοποιήθηκαν για να ενεργοποιήσουν το υπερθειικό άλας διότι η συσσώρευση φυσαλίδων προκαλεί εντοπισμένες υψηλές θερμοκρασίες και πιέσεις κατά τη διάρκεια της υπερηχογραφίας (Houetal.,2012). Οι τοπικές υψηλές θερμοκρασίες και οι πιέσεις από τη σπηλαίωση που παράγεται με υπερήχους οδηγούν σε ομοιοπολικό δεσμό O-O, παράγοντας δύο θειικές ρίζες στον ίδιο μηχανισμό που προκαλείται από την ενέργεια, όπως η παραγωγή ριζών από θερμότητα και υπεριώδη ακτινοβολία (Zhang et al., 2015)

2.ΣΚΟΠΟΣ

Ο σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι η διερεύνηση χρήσης ενεργοποιημένου υπερθειικού άλατος ως μέσου απολύμανσης νερού για την αδρανοποίηση των δεικτών κοπρανώδους μόλυνσης.

Χρησιμοποιήθηκαν δύο μέθοδοι ενεργοποίησης υπερθειικού άλατος, αυτός του μεταβατικού μετάλλου και συγκεκριμένα σιδήρου και η χρήση υπέρηχων.

Οι στόχοι της συγκεκριμένης εργασίας είναι:

- Εύρεση των βέλτιστων συνδυαστικών συγκεντρώσεων υπερθειικού άλατος που ενεργοποιείται με ιόντα σιδήρου για την αδρανοποίηση των βακτηρίων. Καταγραφή της μείωσης του πληθυσμού των βακτηριακών αποικιών συναρτήσει του χρόνου ώστε να επιτευχθεί η μελέτη της κινητική της απολύμανσης.
- Έλεγχος αδρανοποίησης των βακτηρίων με την ενεργοποίηση υπερθειικού άλατος με την χρήση υπέρηχων ως μέθοδο απολύμανσης καθώς και εύρεση της αποτελεσματικότερης συγκέντρωσης υπερθειικού άλατος. Καταγραφή της μείωσης του πληθυσμού των βακτηριακών αποικιών συναρτήσει του χρόνου ώστε να επιτευχθεί η μελέτη της κινητική της απολύμανσης.
- Σύγκριση αποτελεσματικότητας αδρανοποίησης μεταξύ των βακτηρίων *E. coli* και *E. faecalis*

3. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

3.1 ΥΛΙΚΑ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΑ ΥΛΙΚΑ

- Αποστειρωμένα τρυβλία Petri διαμέτρου 9cm
- Αποστειρωμένο νερό
- Ependdrofs (χωρητικότητας 1,5 mL)

ΧΗΜΙΚΑ

- Άλας Σιδήρου ($\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$) (Sigma Aldrich)

ΔΙΑΛΥΜΑΤΑ ΠΟΥ ΠΑΡΑΣΚΕΥΑΣΤΗΚΑΝ

- Διάλυμα $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ συγκέντρωσης 50mg/L (ως προς Fe)

ΘΡΕΠΤΙΚΑ ΥΛΙΚΑ

- Nutrient Agar (Lab M)

ΣΥΣΚΕΥΕΣ ΚΑΙ ΟΡΓΑΝΑ

- Θάλαμος επώασης (Thermo Scientific Heraeus)
- Κλίβανος υγρής αποστείρωσης (TRADE Raypa)
- Κλίβανος ξηρής αποστείρωσης (Elvem K103)
- Φασματοφωτόμετρο (Shimadzu UV 1240)
- Ζυγαριά ακριβείας (Adventurer OHAUS Balance)
- Ζυγαριά (KERN 440-21A)

- Μετρητής αποικιών (Stuart)
- Υδατόλουτρο (GFL)
- Λύχνος Bunsen
- Ποτήρι ζέσεως 900 mL
- Υπέρηχοι (Julabo ultrasonic bath)

3.2 ΜΕΘΟΔΟΙ

3.2.1 Μέθοδος ενεργοποίησης υπερθειικού άλατος με σίδηρο

Πραγματοποιήθηκε απολύμανση σε δύο βακτήρια, συγκεκριμένα στην *E. coli* και τον *E. faecalis*. Για την ενεργοποίηση του υπερθειικού άλατος, χρησιμοποιήθηκε διάλυμα $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \times \text{H}_2\text{O}$ συγκέντρωσης 50mg/L ως προς σίδηρο το οποίο παρασκευάστηκε. Για την αδρανοποίηση των βακτηρίων επιλέχτηκαν τρεις συγκεντρώσεις υπερθειικού άλατος 100 mg/L, 200mg/L και 300 mg/L ενεργοποιημένο με τρεις συγκεντρώσεις θειικού σιδήρου 10 mg/L, 20mg/L και 30mg/L.

3.2.1.1 Προετοιμασία

- 1) Το διάλυμα $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \times \text{H}_2\text{O}$ συγκέντρωσης 50mg/L (ως προς Fe) , παρασκευασμένο σε αποστειρωμένο νερό (πυκνό διάλυμα).
- 2) Παρασκευή Θρεπτικού Υλικού Nutrient Agar για την ανάπτυξη των μικροοργανισμών και επίστρωση του στα τρυβλία ώστε να στερεοποιηθεί.
- 3) Οι συγκεντρώσεις θειικού σιδήρου 10 mg/L, 20mg/L και 30mg/L παρασκευάστηκαν με αραιώση του πυκνού διαλύματος, καθώς ο συνολικός όγκος κατά την πειραματική διαδικασία ήταν 300mL.

Σύμφωνα με το νόμο της αραίωσης:

$$n_1 C_1 = n_2 C_2$$

όπου: $n_1 = x$

$$C_1 = 50 \text{ mg/L}$$

$$n_2 = 300 \text{ mL}$$

$$C_2 = 10, 20 \text{ και } 30 \text{ mg/L.}$$

Επομένως για τα 10 mg/L χρησιμοποιήθηκαν 60 mL πυκνού , για τα 20 mg/L , 120 mL πυκνού , ενώ για τα 30 mg/L, 180 mL πυκνού διαλύματος.

- 4) Η τελική συγκέντρωση του βακτηρίου στο διάλυμα θα πρέπει να είναι ίση με 10^6 CFUs/mL. Αρχικά παρασκευάστηκε εναιώρημα αποτελούμενο από αποστειρωμένο νερό και τις αποικίες του βακτηρίου. Έπειτα φωτομετρήθηκε στα 600nm δίνοντας απορρόφηση ίση με $A=0,1$. Η τιμή της απορρόφησης αυτής βάσει της κλίμακας McFarland αντιστοιχεί σε συγκέντρωση αποικιών ίση με 10^8 CFUs/mL. Με διαδοχικές αραιώσεις επιτυγχάνεται η επιθυμητή τελική συγκέντρωση διαλύματος.
- 5) Σε σωλήνες errendorf (χωρητικότητας 1,5mL) τοποθετείται αποστειρωμένο νερό ίσο με 900μL, με σκοπό την πραγματοποίησαν αραιώσεων έπειτα της δειγματοληψία

3.2.1.2 Πειραματική Διαδικασία

Το πείραμα πραγματοποιήθηκε σε ένα δοχείο ζέσεως χωρητικότητας 900mL, ενώ ο συνολικός όγκος κατά την πειραματική διαδικασία ήταν 300mL. Αρχικά ζυγίζαμε το υπερθειικό άλας ανάλογα με τη συγκέντρωση που θέλαμε να εξετάσουμε. Για συγκέντρωση 100, 200 και 300mg/L προσθέταμε 30,60 και 90mg αντίστοιχα.

Βήμα 1ο : Το πυκνό διάλυμα $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \times \text{H}_2\text{O}$ συγκέντρωσης 50mg/L (ως προς Fe) τοποθετείται σε σύστημα ανάδευσης ώστε να διαλύεται με επιτυχία ο σίδηρος.

Βήμα 2ο : Τοποθετείται στο δοχείο ζέσεως η κατάλληλη ποσότητα αποστειρωμένου νερού όπως αναφέρθηκε παραπάνω μαζί με το ζυγισμένο υπερθειικό άλας και τα αναδεύονται σε ειδικό αναδευτήρα με τη χρήση μαγνήτη για περίπου 20 min.

Βήμα 3ο : Προστίθενται 3mL εναιωρήματος μικροοργανισμών και αμέσως με χρήση πιπέτας απομονώνεται δείγμα ποσότητας 1 mL και τοποθετείται σε σωλήνα erpendorf. Αυτός τίθεται και ως χρόνος 0' της πειραματικής διαδικασίας (πριν την έναρξη του χρονομέτρου).

Βήμα 4ο : Αφού προστεθεί η απαραίτητη ποσότητα πυκνού διαλύματος θειικού σιδήρου στο δοχείο με τη χρήση γυάλινης πιπέτας ενεργοποιείται το χρονόμετρο. Για κάθε χρονική στιγμή $t=60\text{min}$ λαμβάνεται και τοποθετείται σε erpendorf ποσότητα ίση με 1 mL.

Βήμα 5ο : Η δειγματοληψία πραγματοποιείται μέχρι και την ολοκλήρωση του χρόνου $t = 180\text{min}$.

Βήμα 6ο : Γεμίζουμε τα erpendorfs με 900μL νερό για τους χρόνους όπου θα πραγματοποιηθεί αραίωση του δείγματος (χρόνος 0 και 30 min) Για κάθε χρονική στιγμή προετοιμάζονται τριβλία με στερεό θρεπτικό υλικό nutrient agar. Αφού αναδευθεί καλά το περιεχόμενο των erpendorf, επιστρώνεται στο κάθε τριβλίο ποσότητα ίση με 200 μL.

Βήμα 7ο : Μετά την επίστρωση τα τριβλία αφήνονται για 20 min περίπου προκειμένου να ενσωματωθεί στο θρεπτικό υλικό το δείγμα. Στη συνέχεια τοποθετούνται ανεστραμμένα στο θάλαμο επώασης για 24 h και σε θερμοκρασία 37 °C.

3.2.2 Μέθοδος ενεργοποίησης υπερθειικού άλατος με υπέρηχους

3.2.2.1 Πειραματική Διαδικασία

Στα πειράματα απολύμανσης για την ενεργοποίηση υπερθειικού άλατος με χρήση υπερήχων χρησιμοποιήθηκε το Ultrasonic bath που λειτουργούσε σε καθορισμένη συχνότητα 35kHz και παρείχε ηλεκτρική ισχύ των 300W (Julabo Labortechnik GMBH,

Seelbach, Germany) .Το πείραμα πραγματοποιήθηκε σε κωνικές φιάλες χωρητικότητας 900mL, ενώ ο συνολικός όγκος κατά την πειραματική διαδικασία ήταν 300mL. Με αντίστοιχο τρόπο όπως και στο προηγούμενο πείραμα ζυγίζαμε το υπερθειικό άλας ανάλογα με τη συγκέντρωση που θέλαμε να εξετάσουμε. Για συγκέντρωση 100, 200 και 300mg/L προσθέταμε 30,60 και 90 mg αντίστοιχα.

Τοποθετούμε την κατάλληλη ποσότητα του υπερθειικού άλατος και αφού αναδευτεί ώσπου να διαλυθεί τοποθετείται μέσα στο ultrasonic bath γεμισμένο με απειονισμένο νερό. Κατά αντίστοιχο τρόπο με την διαδικασία ενεργοποίησης υπερθειικού σιδήρου, ακολουθούμε τα βήματα 2, 3, 5, 6 και 7.



*Εικόνα 5: ultrasonic bath
(Julabo Labortechnik GMBH, Seelbach, Germany)*

4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ

4.1 Εξεταζόμενα βακτήρια

Γενικά τα βακτήρια που εξετάστηκαν ήταν η *Escherichia coli* και ο *Enterococcus faecalis*,

Escherichia coli

Η *Escherichia coli* , είναι ένα Gram αρνητικό βακτήριο και ταξινομείται στην οικογένεια των Enterobacteriaceae, εντός της τάξης Gammaproteobacteria . Συνήθως βρίσκεται στο έντερο ενδόθερμων ζώων. Συχνά τα στελέχη αποτελούν μέρος της φυσικής χλωρίδας του εντέρου όντας αβλαβή και μπορούν να ωφελήσουν τους ξενιστές τους παράγοντας βιταμίνη K2, και εμποδίζοντας την εγκατάσταση άλλων παθογόνων βακτηρίων μέσα στο έντερο

Το βακτήριο, περιλαμβάνει παθογόνα στελέχη, τα οποία είναι υπεύθυνα για την εμφάνιση ανθρώπινων ασθενειών, προκαλώντας περισσότερους από δύο εκατομμύρια θανάτους ετησίως. Η παρουσία της στο νερό ή στα τρόφιμα θεωρείται ότι δείχνει την άμεση ή έμμεση κοπρανώδη μόλυνση από λύματα και την πιθανή παρουσία άλλων παθογόνων. Επειδή η μολυσματική δόση του κολοβακτηριδίου είναι μεγάλη, η μετάδοση από άτομο σε άτομο δεν είναι συχνή, ενώ θεωρείται σημαντική η μετάδοση διά των τροφών. Η *E. coli* είναι από τους οργανισμούς που έχουν ενοχοποιηθεί για πρόκληση υδατογενών λοιμώξεων. Γενικά, η συσχέτιση της παρουσίας στο νερό παθογόνων βακτηρίων του γαστρεντερικού συστήματος με τους δείκτες κοπρανώδους μόλυνσης του νερού είναι πολύ καλή (Βενιέρη 2017).

Το βακτήριο δεν αντέχει σε υψηλές θερμοκρασίες και πεθαίνει όταν ζεσταίνεται στους 70 °C για αρκετό χρονικό διάστημα, ενώ μπορεί να επιβιώσει στο ψυγείο για αρκετές μέρες υπό κάποιες συνθήκες. Αυτή η ομάδα δεικτών χρησιμοποιείται για την αξιολόγηση της ποιότητας των λυμάτων, των ποταμών, των θαλάσσιων υδάτων, του πόσιμου νερού που χρησιμοποιείται για την άρδευση, των τόπων υδατοκαλλιέργειας και των υδάτων αναψυχής (Osuolale et al., 2017).

Enterococcus faecalis

Ο *Enterococcus faecalis*, ταξινομείται ως μέρος του συστήματος Streptococcus ομάδας D. Είναι ένα θετικό κατά Gram βακτηρίδιο που κατοικεί στις γαστρεντερικές οδούς ανθρώπων και άλλων θηλαστικών. Όπως και άλλα είδη στο γένος *Enterococcus*, ο *E. faecalis* βρίσκεται σε υγιείς ανθρώπους, αλλά μπορεί να προκαλέσει απειλητικές για τη ζωή λοιμώξεις, ειδικά στο νοσοκομειακό περιβάλλον, όπου τα φυσικά υψηλά επίπεδα

αντοχής στα αντιβιοτικά που απαντώνται στο *E. faecalis* συμβάλλουν στην παθογένεια. Η ύπαρξή τους στο νερό σημαίνει την ρύπανσή του από κόπρανα των θερμόαιμων ζώων. Οι εντερόκοκκοι αποτελούν σημαντικό βακτηριακό δείκτη για τον έλεγχο της κοπρανώδους μόλυνσης των επιφανειακών νερών (Βενιέρη 2017). Μπορούν να αναπτυχθούν στην περιοχή από 10 έως 45 ° C και να επιβιώσουν σε θερμοκρασίες 60 ° C για 30 λεπτά.

4.2. Αποτελέσματα αδρανοποίησης βακτηρίων με ενεργοποίηση υπερθειικού άλατος με σίδηρο

Η πιο εκτεταμένη χρήση του ενεργοποιημένου υπερθειικού άλατος περιλαμβάνει επί τόπου (in situ) αποκατάσταση μολυσμένων υπογείων υδάτων. (Petri et al., 2011). Οι υποεπιφανειακές ιδιότητες επηρεάζουν την αντιδραστικότητα και η διατήρηση των επιπέδων υπερθειικού / ενεργοποιητή στην υπόγεια επιφάνεια είναι κρίσιμες για την επιτυχή εκτέλεση (Boni and Sbaffoni, 2012; Ahmad et al., 2013; Sra et al., 2014).

Ιδιότητες των βιολογικών ειδών και των υπόγειων περιοχών μπορούν επηρεάζουν την υποβάθμιση των προσμείξεων. Για παράδειγμα, αν και οι καταλυόμενοι πολλαπλασιασμοί υπεροξειδίου του υδρογόνου μπορούν να ενισχύσουν την απομάκρυνση των υδρόφοβων ενώσεων που έχουν απορροφηθεί στο έδαφος και στα υπόγεια στερεά, το ίδιο αποτέλεσμα δεν επιτεύχθηκε χρησιμοποιώντας ενεργοποιημένο υπερθειικό άλας. (Teel et al., 2009).

Η αδρανοποίηση των βακτηριακών στελεχών κατά την ενεργοποίηση του υπερθειικού άλατος με σίδηρο παρουσιάζεται στις παρακάτω εικόνες και η κινητική της χαρακτηρίζεται ως ψευδοπρώτης τάξης. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ανά συνδυαστική συγκέντρωση υπερθειικού άλατος και σιδήρου. Ακολουθεί πίνακας με τις συνδυαστικές συγκεντρώσεις που μελετήθηκαν.

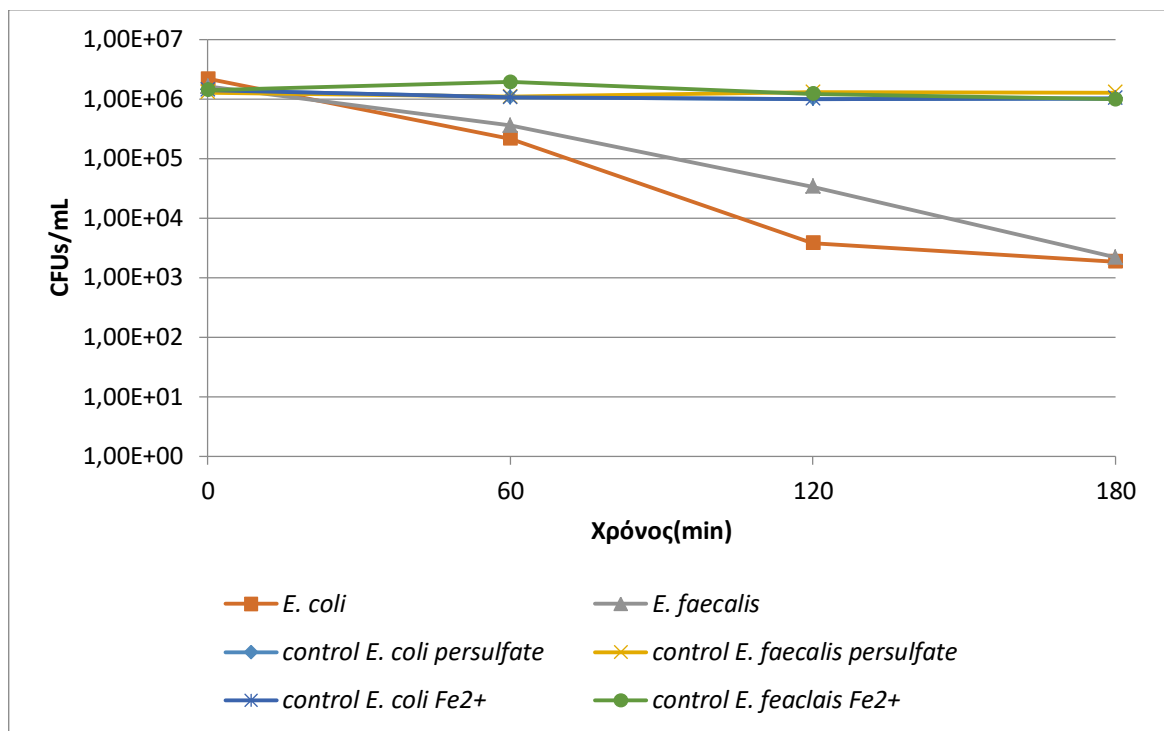
Πίνακας 3: Συγκεντρώσεις χημικών αντιδραστηρίων που μελετήθηκαν

Συγκέντρωση Υπερθειικού άλατος	Συγκέντρωση Fe_2SO_4 ως προς σίδηρο
100 mg/L	10 mg/L
200 mg/L	10 mg/L
300 mg/L	10 mg/L

100 mg/L	20 mg/L
200 mg/L	20 mg/L
300 mg/L	20 mg/L
100 mg/L	30 mg/L
200 mg/L	30 mg/L
300 mg/L	30 mg/L

Μελέτες έχουν αποδείξει την αποτελεσματικότητά ενεργοποιημένου υπερθειικού άλατος για την απολύμανση του νερού στο περιβάλλον σε διάφορα μικρόβια, συμπεριλαμβανομένου του φυτοπλαγκτόν, (Samyoung,Peterson, Righter, Miles, & Tratnyek, 2013), της *Microcystis aeruginosa* (Wang,Chen,Xie,Shang,&Ma,2016), και του βακτηρίου *Escherichia coli* (Garkushevaetal.,2017). Πρόσφατες μελέτες κατέδειξαν επίσης ότι το υπερθειικό άλας ενεργοποιημένο με ιόντα σιδήρου μπορεί να αδρανοποιήσει αποτελεσματικά την *E. coli* σε περιβαλλοντικά δείγματα νερού (Sun,Corey,&Huang,2016; Wordofa,Walker,&Liu,20). Ωστόσο, όλες οι μελέτες αφορούσαν την απολύμανση περιβαλλοντικών δειγμάτων με μια σχετικά μεγάλη διάρκεια θεραπείας (ώρες και ημέρες κατεργασίας), η οποία δεν είναι πρακτική μέθοδος απολύμανσης.

Στη παρούσα μελέτη κρίθηκε σκόπιμο -καθώς δεν έχουν γίνει αρκετές μελέτες ακόμη στην ενεργοποίηση υπερθειικού άλατος με ιόντα σιδήρου για την απολύμανση βακτηρίων- να μελετηθεί η *E. coli* και ο *E. faecalis* σε διάφορες συνδυαστικές συγκεντρώσεις. Τα δύο αυτά βακτήρια, όπως προαναφέρθηκε, παρουσιάζουν διαφορές ως προς την χρώση κατά Gram, γεγονός που κάνει την μελέτη μας ακόμη πιο ενδιαφέρουσα ώστε να παρατηρηθεί αν υπήρξε ή όχι διαφορά μεταξύ των δύο αυτών βακτηρίων. Ο χρόνος που επιλέχθηκε για τα πειράματα ήταν τα 180 min και σε αρκετές περιπτώσεις η αδρανοποίηση των βακτηριακών στελεχών παρατηρούταν σε διάστημα 60 έως 120 min .

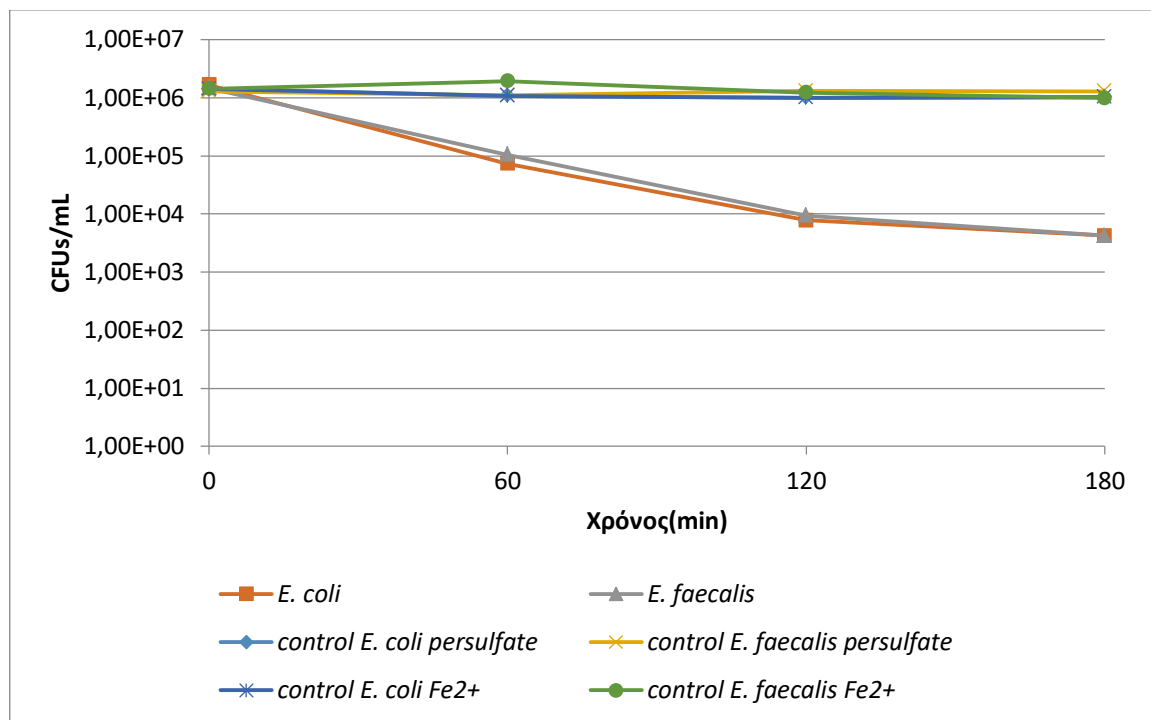


Εικόνα 5 : Αδρανοποίηση Βακτηριακών Στελεχών *E. coli* και *E. faecalis* με δόση $\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$ 100 mg/L ενεργοποιημένο με Fe_2SO_4 ως προς σίδηρο 10 mg/L

Η συγκέντρωση που χρησιμοποιήθηκε ήταν και για τα δύο εξεταζόμενα βακτήρια αντίστοιχα είναι 100 mg/L $\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$ κα 10mg/L Fe_2SO_4 ως προς σίδηρο.

Παρατηρώντας το παραπάνω διάγραμμα, μπορούμε να εξάγουμε το συμπέρασμα ότι μετά από 60 min η τάξη μειώσεις των βακτηριακών στελεχών είναι πολύ μικρή δηλαδή 1 Log. Στα 120 min η τάξη μείωσης αυξάνεται ιδιαίτερα για την *E. coli* φτάνει τα 3 Log όπου και παραμένει σταθερή έως τα 180 min, ενώ για ο *E. faecalis* φτάνει τα 3 Log μείωση. Επιπρόσθετα, αξίζει να σχολιαστεί ότι σύμφωνα με τα control πειράματα και για τα δύο βακτήρια δεν παρατηρείται κάποια μεταβάλλει στη τάξη μεγέθους, γεγονός που μας οδηγεί στο συμπέρασμα ότι το υπερθειικό άλας ενεργοποιείται παρουσία των ιόντων σιδήρου. Η συμπεριφορά των στελεχών είναι αναμενόμενο να διαφέρει και η *E. coli* να μειώνεται σε μικρότερο χρονικό διάστημα καθώς ο *E. faecalis* διαθέτει ένα παχύ κυτταρικό τοίχωμα.

Συμπερασματικά η συγκέντρωση 100 mg/L $\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$ κα 10 mg/L Fe_2SO_4 ως προς σίδηρο θεωρείται σχετικά μικρή. Οπότε, συνολικά σαν πληθυσμοί και οι δύο θα μπορούσαμε να αναφέρουμε ότι μειώθηκαν σε μικρό ποσοστό και η απολύμανση δεν επετεύχθη σε μεγάλο βαθμό.

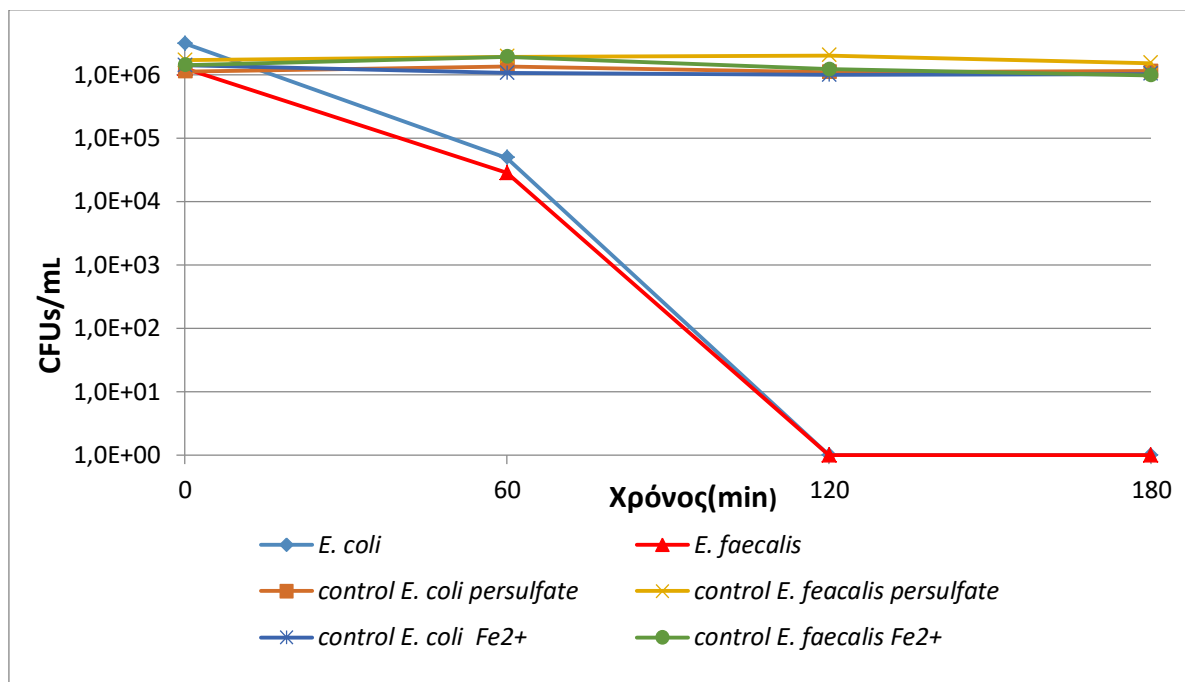


Εικόνα 6 : Αδρανοποίηση Βακτηριακών Στελεχών *E. coli* και *E. faecalis* με δόση $\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$ 200 mg/L ενεργοποιημένο με Fe_2SO_4 ως προς σίδηρο 10mg/L

Η συγκέντρωση που χρησιμοποιήθηκε ήταν και για τα δύο εξεταζόμενα βακτήρια αντίστοιχα είναι 200 mg/L $\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$ και 10 mg/L Fe_2SO_4 ως προς σίδηρο.

Παρατηρούμε ότι και τα δύο βακτήρια ακολουθούν παρόμοια πορεία με μικρή διαφορά από τις προηγούμενες συγκεντρώσεις. Στα 180 min έχουμε μείωση και στα δύο βακτήρια 3 Log.

Συμπερασματικά η συγκέντρωση 200 mg/L $\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$ και 10 mg/L Fe_2SO_4 ως προς σίδηρο θεωρείται επίσης σχετικά μικρή. Αν και αυξήθηκε το υπερθειικό άλας κατά 100 mg/L, δεν παρατηρούμε ιδιαίτερα μεγάλη διαφορά με τα προηγούμενα αποτελέσματα. Οπότε, συνολικά σαν πληθυσμοί και οι δύο θα μπορούσαμε να αναφέρουμε ότι μειώθηκαν σε μικρό ποσοστό έπειτα από χρόνο 180 min.

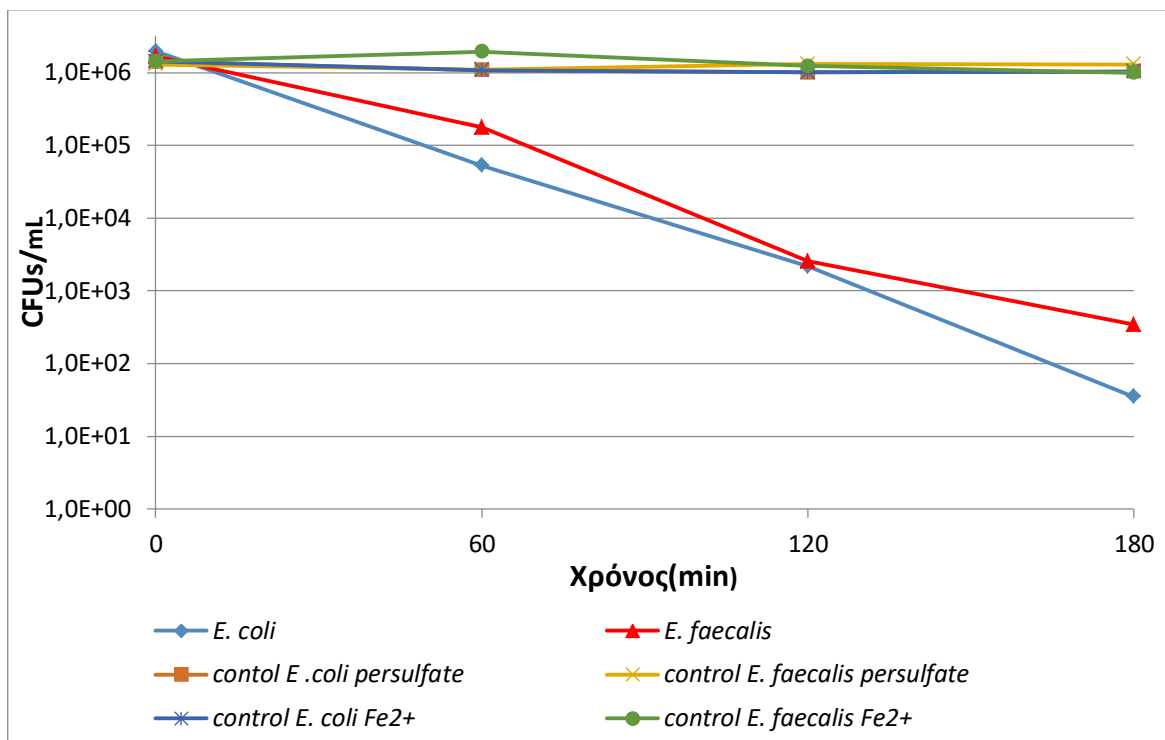


Εικόνα 7: Αδρανοποίηση Βακτηριακών Στελεχών *E. coli* και *E. faecalis* με δόση $\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$ 300 mg/L ενεργοποιημένο με Fe_2SO_4 ως προς σίδηρο 10 mg/L

Η συγκέντρωση που χρησιμοποιήθηκε ήταν και για τα δύο εξεταζόμενα βακτήρια αντίστοιχα είναι 300 mg/L $\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$ κα 10 mg/L Fe_2SO_4 ως προς σίδηρο.

Σύμφωνα με το παραπάνω διάγραμμα έχουμε πολύ καλύτερη επίτευξη της αδρανοποίησης και των δύο εξεταζόμενων βακτηρίων. Μετά από πάροδο 60 min η μείωση είναι της τάξης του 2 Log. Έπειτα όμως παρατηρούμε τη απότομη και πλήρη αδρανοποίηση και της *E. coli* και του *E. faecalis* έπειτα από 120 min (6 Log).

Συμπερασματικά η συγκέντρωση 300 mg/L $\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$ κα 10 mg/L Fe_2SO_4 ως προς σίδηρο θεωρείται αρκετά αποτελεσματική μέθοδος απολύμανσης και σε αντίθεση με τις προηγούμενες επετεύχθη η θανάτωση και των δύο βακτηρίων.

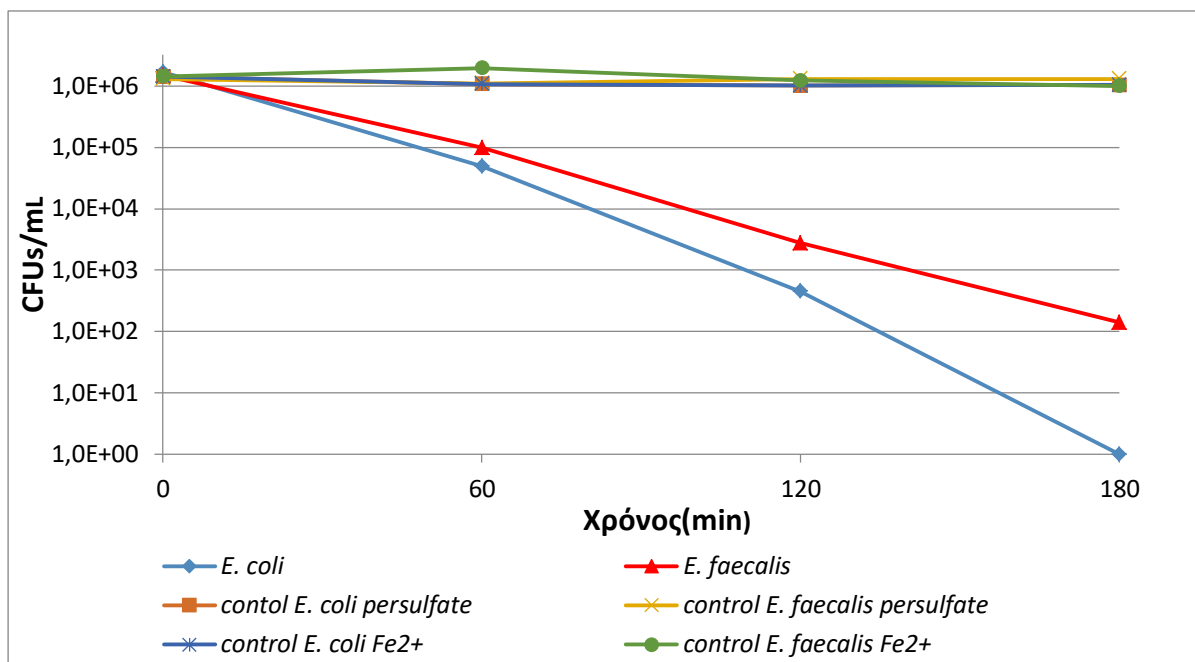


Εικόνα 8 : Αδρανοποίηση Βακτηριακών Στελεχών *E. coli* και *E. faecalis* με δόση $\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$ 100 mg/L ενεργοποιημένο με Fe_2SO_4 ως προς σίδηρο 20 mg/L

Η συγκέντρωση που χρησιμοποιήθηκε ήταν και για τα δύο εξεταζόμενα βακτήρια αντίστοιχα είναι 100 mg/L $\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$ κα 20 mg/L Fe_2SO_4 ως προς σίδηρο.

Σύμφωνα με το παραπάνω διάγραμμα όπως και στις προηγούμενες περιπτώσεις, στα 60 min έχουμε μείωση της τάξης του 1 Log. Στα 120 min έχουμε μείωση και στα δύο βακτήρια 3 Log , ενώ ενδιαφέρον παρουσιάζει η μείωση στα 180 min ιδιαίτερα για την *E. coli* που είναι λιγότερο ανθεκτικό βακτήριο με μείωση 5 Log. Για τον *E. faecalis*, η μείωση φτάνει τα 4 Log.

Μπορούμε να πούμε ότι η συγκεντρώσεις 100 mg/L $\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$ κα 20 mg/L Fe_2SO_4 ως προς σίδηρο είχαν αρκετά καλά αποτελέσματα στην απολυμαντική ικανότητα. Η ενεργοποίηση του υπερθειικού άλατος επιτεύχθηκε σε καλύτερο βαθμό με αύξηση της συγκέντρωσης του Fe_2SO_4 ως προς σίδηρο συγκριτικά με τις συγκεντρώσεις 200 mg/L $\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$ κα 10 mg/L Fe_2SO_4 ως προς σίδηρο.

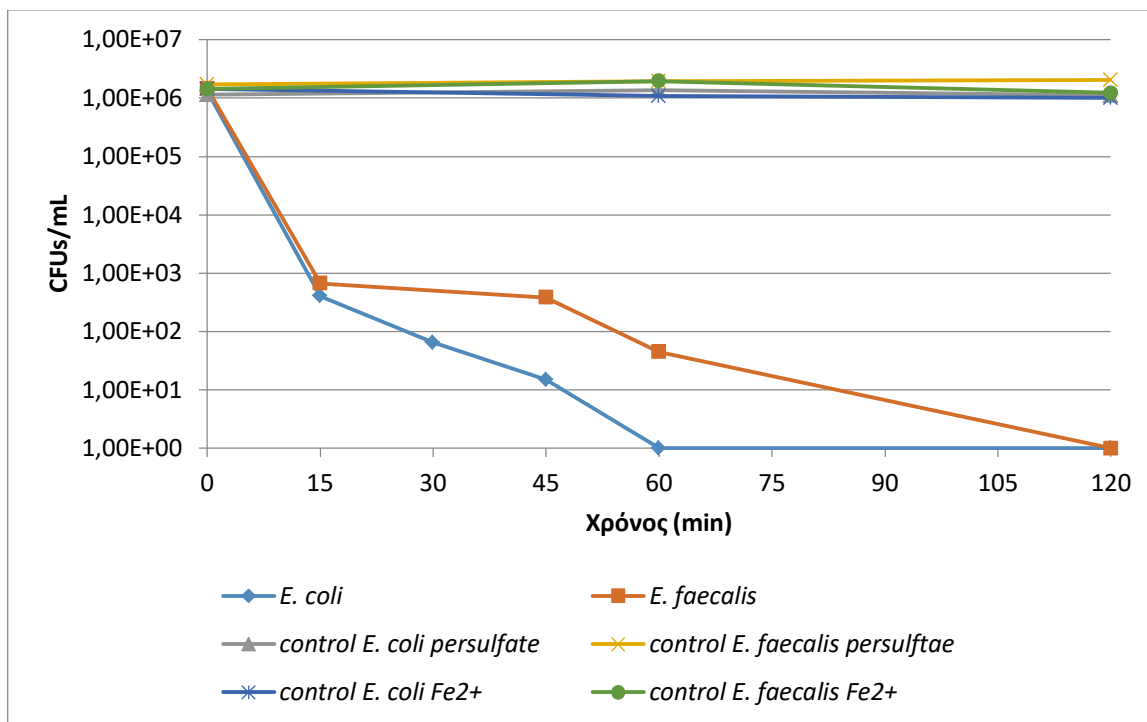


Εικόνα 9 : Αδρανοποίηση Βακτηριακών Στελεχών *E. coli* και *E. faecalis* με δόση $\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$ 200 mg/L ενεργοποιημένο με Fe_2SO_4 ως προς σίδηρο 20 mg/L

Σε αυτή την περίπτωση, η δόση που χρησιμοποιήθηκε και για τα δύο εξεταζόμενα βακτήρια αντίστοιχα είναι 200 mg/L $\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$ κα 20 mg/L Fe_2SO_4 ως προς σίδηρο.

Παρατηρώντας το παραπάνω διάγραμμα, βλέπουμε ότι η *E. coli*, παρουσιάζει σε όλους τους χρόνους μείωση μεγαλύτερη από τον *E. faecalis*. Στα 60 min όπως και στις προηγούμενες περιπτώσεις, η μείωση είναι 1 Log, στα 120 min η μείωση είναι 4 Log ενώ στα 180 min αδρανοποιείται πλήρως. Αντίθετα, ο *E. faecalis*, φτάνει μείωση 4 Log στα 180 min.

Οι συγκεντρώσεις 100 mg/L $\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$ κα 20mg/L Fe_2SO_4 ως προς σίδηρο φαίνεται να είναι αρκετά αποτελεσματικές για την απολύμανση των δύο αυτών βακτηρίων και ιδιαίτερα για την *E. coli* που παρουσιάζει πιο λεπτό κυτταρικό τοίχωμα από τον *E. faecalis*.

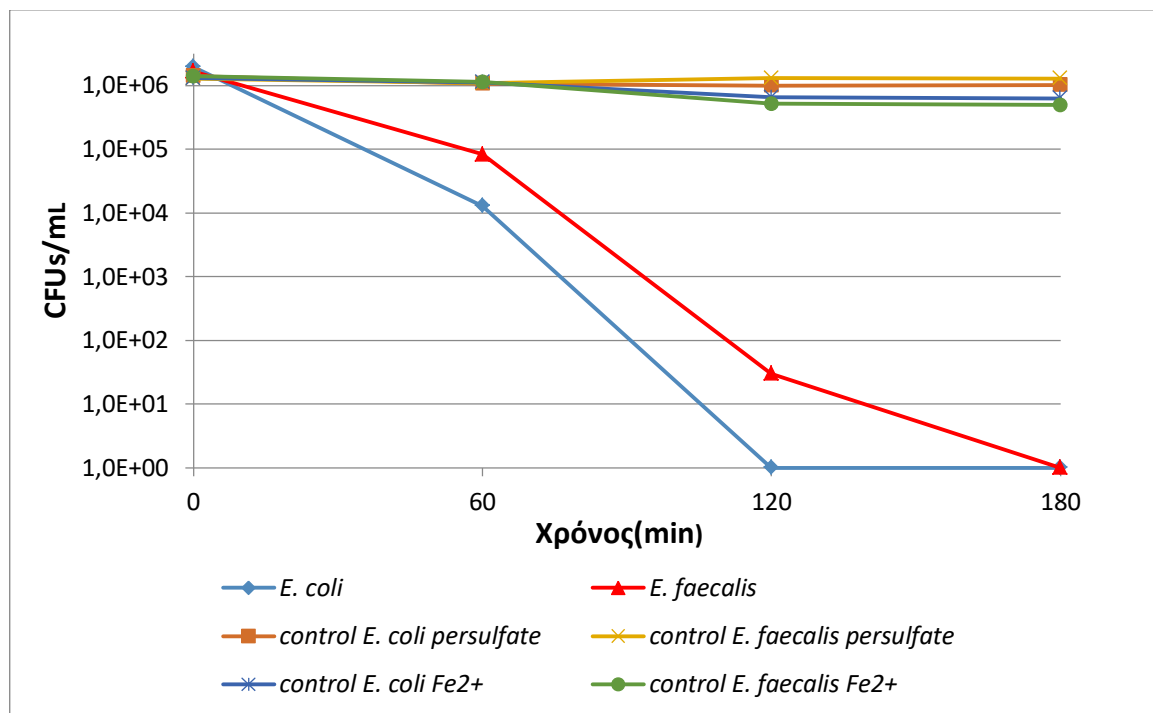


Εικόνα 10: Αδρανοποίηση Βακτηριακών Στελεχών *E. coli* και *E. faecalis* με δόση $\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$ 300 mg/L ενεργοποιημένο με Fe_2SO_4 ως προς σίδηρο 20 mg/L

Σε αυτή την περίπτωση, η συγκέντρωση που χρησιμοποιήθηκε και για τα δύο εξεταζόμενα βακτήρια αντίστοιχα είναι 300 mg/L $\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$ και 20 mg/L Fe_2SO_4 ως προς σίδηρο.

Από το παραπάνω διάγραμμα παρατηρούμε ότι σε αντίθεση με τις προηγούμενες περιπτώσεις που στα 60 min η ελάττωση των βακτηριακών αποικιών ήταν μικρή, εδώ, από τα πρώτα 15 min ξεκινάει σημαντική ελάττωση και για τα δύο βακτήρια, της τάξης του 4 Log. Ο *E. faecalis* δείχνει να παραμένει σταθερός ώσπου φτάνει τα 5 Log μείωση στα 60 min και αδρανοποιείται πλήρως στα 120 min. Από την άλλη πλευρά η *E. coli* μειώνεται στα πρώτα 15 min 4 Log, καταβαίνει σχεδόν 1 Log έπειτα ανά 15 min και αδρανοποιείται πλήρως στα 60 min.

Συμπεραίνουμε ότι η ενεργοποίηση υπερθειικού άλατος με δόση 300 mg/L $\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$ και 20 mg/L Fe_2SO_4 ως προς σίδηρο έχει πολύ καλά αποτελέσματα σε μικρότερο χρονικό διάστημα από τις προηγούμενες δόσεις που χρησιμοποιήθηκαν.

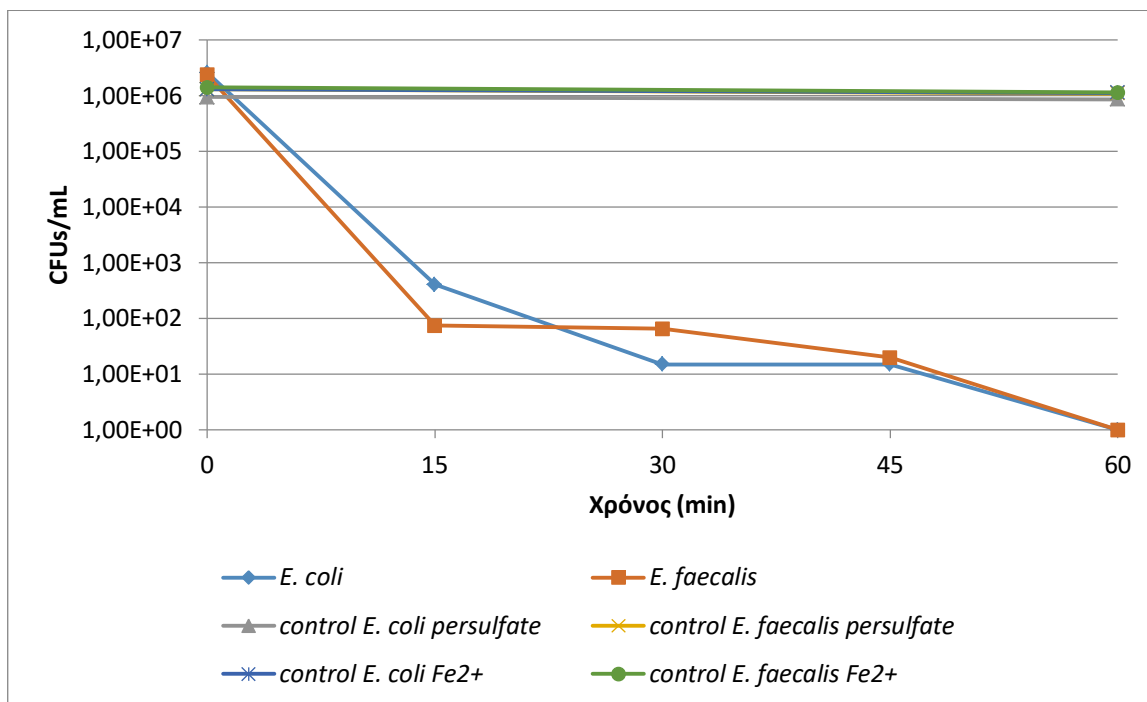


Εικόνα 11 : Αδρανοποίηση Βακτηριακών Στελεχών *E. coli* και *E. faecalis* με δόση $\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$ 100 mg/L ενεργοποιημένο με Fe_2SO_4 ως προς σίδηρο 30 mg/L

Στην παραπάνω περίπτωση, η συγκέντρωση που χρησιμοποιήθηκε και για τα δύο εξεταζόμενα βακτήρια αντίστοιχα είναι 100 mg/L $\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$ κα 30 mg/L Fe_2SO_4 ως προς σίδηρο.

Σύμφωνα με τα δικά μας αποτελέσματα, παρατηρώντας το διάγραμμα, βλέπουμε ότι η *E. coli* αδρανοποιείται ταχύτερα από τον *E. faecalis*. Συγκεκριμένα, στα 60 min, μειώνεται κατά 2 Log ενώ στα 120 min έχουμε πλήρη αδρανοποίηση των βακτηριακών αποικιών. Αντίθετα, ο *E. faecalis* στα 60 min μειώνεται μόλις 1 Log και επέρχεται σε απότομη μείωση στα 120 min, στα 5 Log και αδρανοποιείται πλήρως στα 180 min.

Σε άλλη μελέτη που πραγματοποιήθηκε, (Qi, et al., 2018), συγκέντρωση του αρχικού θειικού άλατος ρυθμίστηκε στα 10 έως 80 mmol / L με τη γραμμομοριακή αναλογία υπερθειικού προς ιόντα σιδήρου σταθερή σε 3:1 επειδή αυτή η αναλογία μπορεί να μεγιστοποιήσει την αποτελεσματικότητα της απενεργοποίησης του παθογόνου (Qi et al., 2018). Στην παραπάνω περίπτωση έχουμε αναλογία 1:0,3. Για παράδειγμα, αυξάνοντας την συγκέντρωση του υπερθειικού άλατος από 10 σε 60 mmol / L, η μείωση μετά από 60 s αυξήθηκε από 4.18 σε 7.42 Log. Περαιτέρω αύξηση του αρχικού υπερθειικού άλατος από 60 σε 70 και 80 mmol / L οδηγεί σε 8,41 Log μείωση για την *E. coli* O157:H (Qi, et al., 2019). Αναφορικά 10 έως 80 mmol/L αντιστοιχούν σε 16,6 έως 133,3 mg/L. Ωστόσο, η περαιτέρω αύξηση της αναλογίας υπερθειικού σιδήρου σε 1:1 οδήγησε σε σημαντικά χαμηλότερη μείωση της *E. coli* O157: H7 (5,18 Log). Η αύξηση του προσφερόμενου λόγου σε 1:2 οδηγεί επίσης σε σημαντικά χαμηλότερες μειώσεις της *E. Coli* O157: H7 (2,31 CFU / mL) ενώ η περαιτέρω αύξηση της αναλογίας σιδήρου σε 1:3 ή 1:4 αύξησε τις μειώσεις σε περίπου 4,00 Log (Qi, et al., 2018).

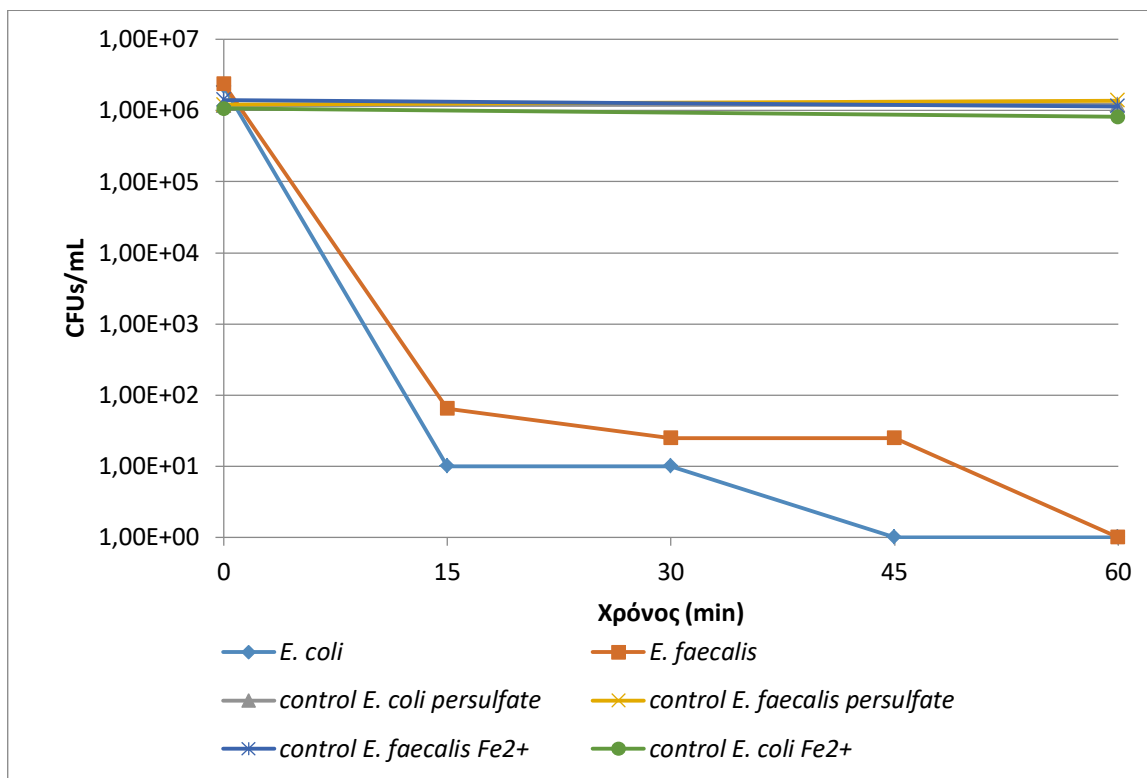


Εικόνα 12: Αδρανοποίηση Βακτηριακών Στελεχών *E. coli* και *E. faecalis* με δόση $\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$ 200 mg/L ενεργοποιημένο με Fe_2SO_4 ως προς σίδηρο 30 mg/L

Στην περίπτωση αυτή, η συγκέντρωση που χρησιμοποιήθηκε και για τα δύο εξεταζόμενα βακτήρια αντίστοιχα είναι 200 mg/L $\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$ κα 30 mg/L Fe_2SO_4 ως προς σίδηρο.

Από το διάγραμμα (εικόνα 10), συμπεράνουμε ότι μόλις σε 15 min ξεκινάει απότομη μείωση των αποικιών και για τα δύο βακτήρια. Για την *E. coli* η μείωση είναι 4 Log, στα 30 min, 5 Log όπου και μένει σταθερό μέχρι και τα 45 min, με πλήρη αδρανοποίηση στα 60 min. Για τον *E. faecalis* στα 15 min μειώνεται 4 Log όπου και μένει σταθερός μέχρι τα 30 min, πέφτει κατά 1 Log ακόμα και αδρανοποιείται πλήρως στα 60 min.

Μπορούμε να συμπεράνουμε ότι η ενεργοποίηση του υπερθειικού άλατος 200 mg/L συγκέντρωσης με 30 mg/L Fe_2SO_4 ως προς σίδηρο και για τα δύο εξεταζόμενα βακτήρια αντίστοιχα έχει πάρα πολύ καλά αποτελέσματα και σε μικρότερο χρονικό διάστημα σε σχέση με πολλές από τις προηγούμενες συνδυαστικές συγκεντρώσεις. Παρατηρούμε ότι αυξάνοντας τη συγκέντρωση του σιδήρου έχουμε καλύτερα αποτελέσματα από το να αυξήσουμε μόνο τη συγκέντρωση του υπερθειικού άλατος.



Εικόνα 13: Αδρανοποίηση Βακτηριακών Στελεχών *E. coli* και *E. faecalis* με δόση $\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$ 300 mg/L ενεργοποιημένο με Fe_2SO_4 ως προς σίδηρο 30 mg/L

Στην περίπτωση αυτή, η συγκέντρωση που χρησιμοποιήθηκε και για τα δύο εξεταζόμενα βακτήρια αντίστοιχα είναι 300 mg/L $\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$ κα 30 mg/L Fe_2SO_4 ως προς σίδηρο.

Στο διάγραμμα αυτό, παρατηρούμε μείωση των βακτηριακών αποικιών της τάξης του 5 Log για την *E. coli* στα 15 min όπου και μένει σταθερή μέχρι τα 30 min, και έχουμε αδρανοποίηση του βακτηρίου στα 45 min. Ο *E. faecalis*, παρουσιάζει για άλλη μια φορά μεγαλύτερη ανοχή, καθώς στα 15 min έχει μείωση 4 Log, στα 30 min 5 Log όπου και μένει σταθερός για ακόμα 15 min και αδρανοποιείται πλήρως στα 60 min.

Μπορούμε να συμπεράνουμε ότι η ενεργοποίηση του υπερθειικού άλατος 300 mg/L συγκέντρωσης με 30 mg/L Fe_2SO_4 ως προς σίδηρο και για τα δύο εξεταζόμενα βακτήρια αντίστοιχα έχει τα πιο καλά αποτελέσματα απολύμανσης με ενεργοποίηση του σιδήρου και σε πολύ μικρότερο χρονικό διάστημα σε σχέση με πολλές από τις προηγούμενες συνδυαστικές συγκεντρώσεις. Ωστόσο, το γεγονός αυτό είναι σχετικά αναμενόμενο καθώς αναφερόμαστε στις μέγιστες χρησιμοποιούμενες συγκεντρώσεις και για τα δύο συστατικά.

Όπως αναφέρεται στη βιβλιογραφία, απαιτείται η προσφορά κατάλληλων ποσοτήτων για τη μεγιστοποίηση της διαδικασίας ενεργοποίησης υπερθειικών αλάτων (Matzek and Carter, 2016). Ανεπαρκής συγκέντρωση σιδήρου, θα οδηγήσει σε αναποτελεσματική χρήση του υπερθειικού και μπορεί να παραχθεί λιγότερη θειική ρίζα. Η περίσσεια σιδήρου δεν είναι επίσης κατάλληλη επειδή ο σίδηρος μπορεί να δεσμεύσει τη θειική ρίζα και να μειώσει την συνολική διαθεσιμότητα θειικών ριζών. Αυτό εξηγεί γιατί η περαιτέρω αύξηση ή μείωση της αναλογίας σιδήρου από τη βέλτιστη, (περίπου 1:0,33), οδήγησε σε μειωμένη αποτελεσματικότητα απενεργοποίησης (Liang et al. (2004b).

Στη δικιά μας μελέτη, αναλογία υπερθειικού προς σίδηρο 1:0,1 κρίθηκε ως βέλτιστη, ενώ επίσης αναλογία 1:0,15 είχε εξίσου πολύ καλά αποτελέσματα απολύμανσης και για τα δύο εξεταζόμενα βακτήρια. Ωστόσο, οι ακριβείς λόγοι ποικίλλουν ανάλογα με τις μορφές ή καταστάσεις του σιδήρου, τις μεθόδους προσθήκης και τους στόχους αναλύσεων (Al-Shamsi and Thomson, 2013; Zhang et al., 2015).

Παρατηρήθηκε επίσης ότι σε όλες τις περιπτώσεις η *E. coli* ήταν περισσότερο ευαίσθητη και αδρανοποιούνταν ταχύτερα σε σχέση με τον *E. faecalis*. Αντίστοιχες μελέτες αναφέρουν, ότι η *L. monocytogenes* ήταν λιγότερο ευαίσθητη στην απολύμανση με υπερθειικό ενεργοποιημένο με ιόντα σιδήρου σε σύγκριση με την *E. coli* O157: H7. Αυτό μπορεί να οφείλεται στις διαφορές στο κυτταρικό τοίχωμα και στις κυτταρικές μεμβράνες μεταξύ Gram αρνητικών και θετικών κατά Gram βακτηρίων (Qi et al., 2018). Οι προτεινόμενες διαφορές οφείλονται στις διαφορές δομής του κυτταρικού τοιχώματος, καθώς το παχύτερο τοίχωμα των θετικών κατά Gram βακτηρίων που αποτελείται από πεπτιδογλυκάνη και τεχονικά οξέα μπορεί να λειτουργήσει ως φυσικό φράγμα και να περιορίσει την απολυμαντική ουσία. Το κυτταρικό τοίχωμα Gram αρνητικών βακτηρίων, από την άλλη πλευρά, είναι λεπτότερο και επομένως είναι πιο ευαίσθητο ακόμη και με την παρουσία μιας εξωτερικής μεμβράνης (Zhang et al., 2018).

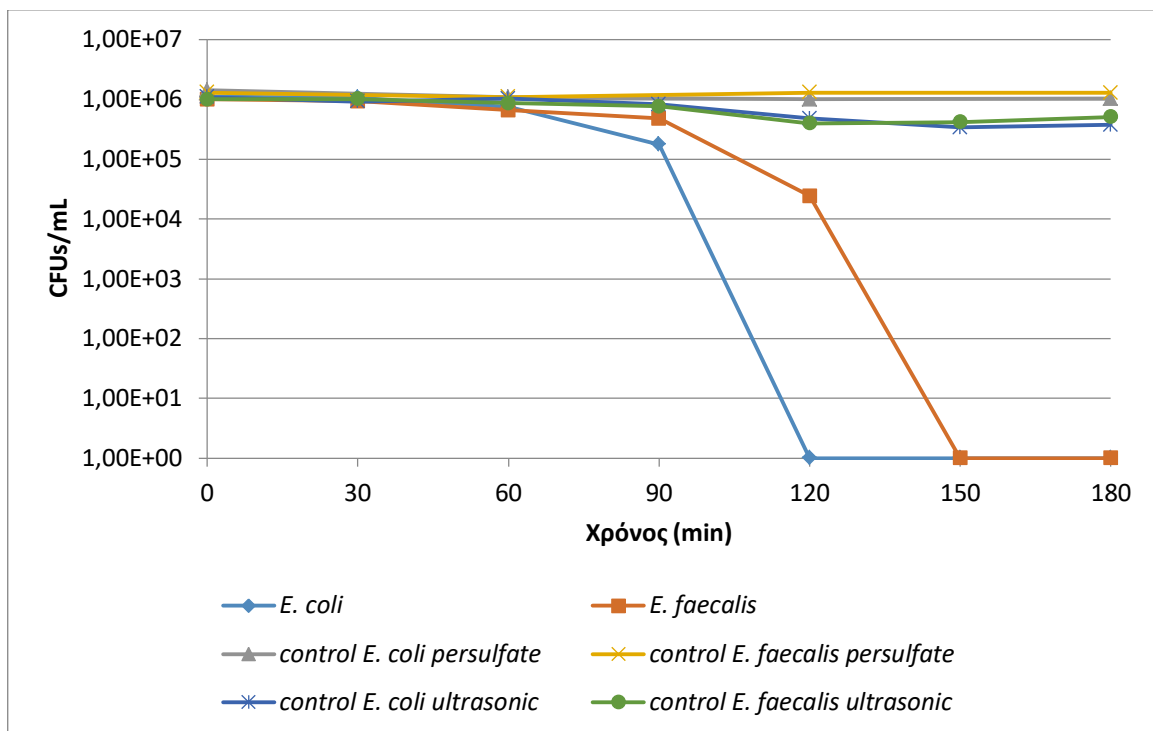
Τέλος, αξίζει να αναφέρουμε ότι, ο Fe_{2+} εξακολουθεί να είναι ο πιο συχνά χρησιμοποιούμενος μεταξύ όλων των μεταβατικών μετάλλων για την ενεργοποίηση του υπερθειικού λόγω του χαμηλού κόστους του σε σύγκριση με άλλα μέταλλα (Qi et al. 2018).

4.2. Αποτελέσματα αδρανοποίησης βακτηρίων με ενεργοποίηση υπερθειικού άλατος με υπέρηχους (ultrasonic bath)

Η επεξεργασία λυμάτων με υψηλή περιεκτικότητα σε αλατούχο διάλυμα είναι πολύπλοκη και δύσκολη λόγω βιολογικής επεξεργασίας δεν θα μπορούσε να τα διαχειριστεί. Επιπλέον, ο ρυθμός αποσύνθεσης των ανθεκτικών οργανικών ρύπων με μια συμβατική χημική διαδικασία είναι χαμηλός, ιδιαίτερα στην πρακτική επεξεργασία των λυμάτων. Οι μέθοδοι ενεργοποίησης όπως οι υπέρηχοι θα μπορούσαν να προωθήσουν την ταχύτητα σχηματισμού ριζών και την κατάρρευση φυσαλίδων σπηλαίωσης και στη συνέχεια την αύξηση της τοπικής θερμοκρασίας και πίεσης που θα επιταχύνουν την αποδόμηση των οργανικών παραγώγων (Kusic et al., 2011; Cai et al., 2014; He et al., 2014; Ji et al., 2014).

Ειδικές εφαρμογές επεξεργασίας λυμάτων, συμπεριλαμβανομένης της βιομηχανικής απόρριψης και της διήθησης των αποβλήτων, έχουν διερευνηθεί. Το ενεργοποιημένο υπερθειικό άλας μπορεί να έχει ευρύτερες εφαρμογές για την επεξεργασία συμπυκνωμένων αποβλήτων που περιέχουν μία ποικιλία μολυσματικών ουσιών και φαρμακευτικών ουσιών, συμπεριλαμβανομένων των φθοροκινολονών, των πενικιλίνων και των πιπερακιλλινών, καθώς και της βαφής των υφασμάτων (Kusic et al., 2011; Cai et al., 2014; He et al., 2014; Ji et al., 2014).

Η αδρανοποίηση των βακτηριακών στελεχών κατά την ενεργοποίηση του υπερθειικού άλατος με υπέρηχους παρουσιάζεται στις παρακάτω εικόνες και η κινητική της χαρακτηρίζεται ως ψευδοπρώτης τάξης. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ανά συνδυαστική συγκέντρωση υπερθειικού άλατος και υπέρηχου με τα control πειράματα (μόνο υπερθειικό άλας και βακτήριο, μόνο υπέρηχος και βακτήριο).

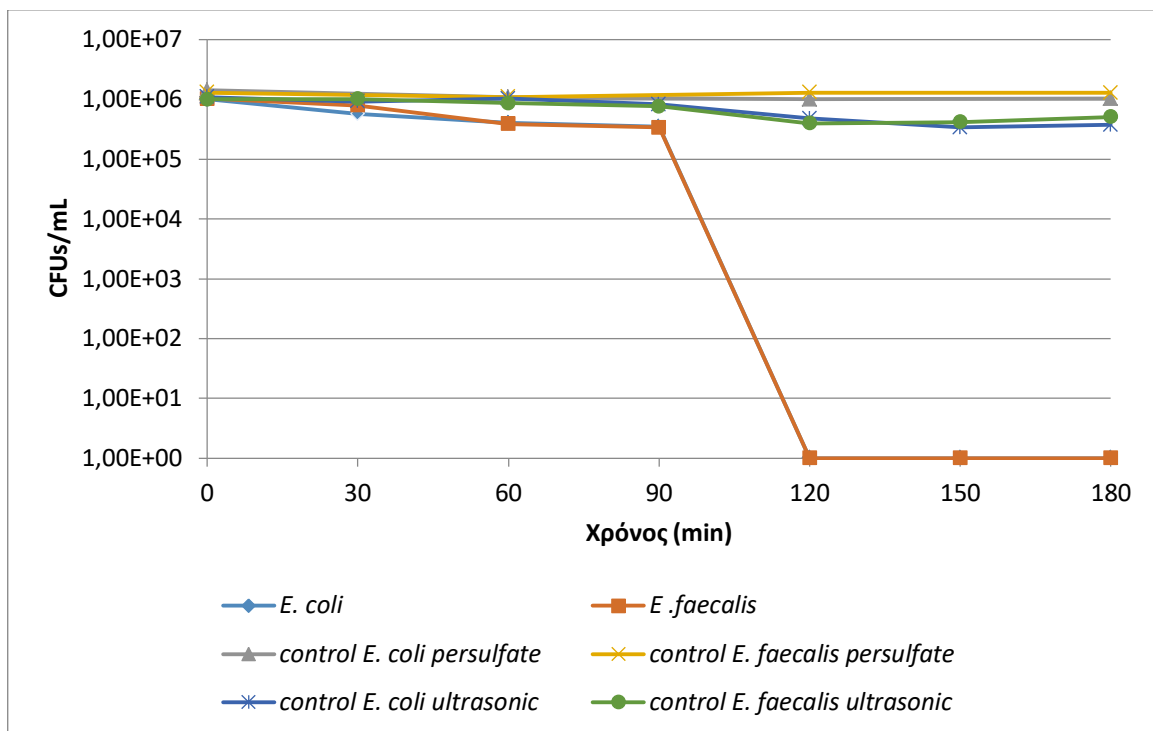


Εικόνα 14: Αδρανοποίηση Βακτηριακών Στελεχών *E. coli* και *E. faecalis* με δόση $\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$ 100 mg/L ενεργοποιημένο με υπέρηχους

Στην περίπτωση αυτή, η συγκέντρωση που χρησιμοποιήθηκε και για τα δύο εξεταζόμενα βακτήρια αντίστοιχα είναι 100 mg/L $\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$ και υπέρηχοι.

Βάση του διαγράμματος (εικόνα 12), συμπεραίνουμε ότι από τα 90 min ξεκινάει μία πολύ μικρή μείωση των βακτηριακών αποικιών και για τα δύο βακτήρια που όμως είναι πολύ απότομη στην συνέχεια στα 120 min και συγκεκριμένα η *E. coli* αδρανοποιείται πλήρως ενώ ο *E. faecalis* μειώνεται κατά 2 Log και αδρανοποιείται πλήρως στα 150 min.

Συμπερασματικά, παρατηρώντας και τις καμπύλες control για το ultrasonic με το κάθε βακτήριο δεν έχουμε κάποια μείωση στη τάξη μεγέθους οπότε η αδρανοποίηση των βακτηριακών στελεχών λειτουργεί σε συνδυασμό με το υπερθειικό άλας που ενοποιείται. Η συγκέντρωση 100 mg/L $\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$ και υπέρηχοι φαίνεται να παρουσιάζει καλά αποτελέσματα μετά τα 90 min.

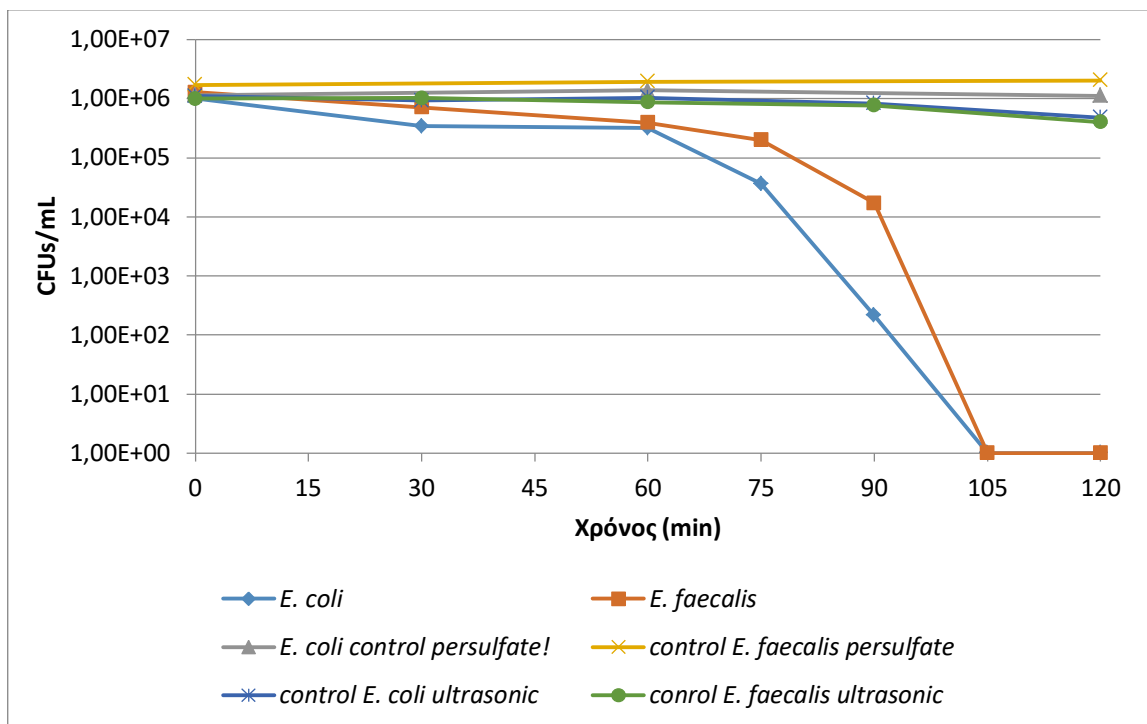


Εικόνα 15: Αδρανοποίηση Βακτηριακών Στελεχών *E. coli* και *E. faecalis* με δόση $\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$ 200 mg/L ενεργοποιημένο με υπέρηχους

Στην περίπτωση αυτή, η συγκέντρωση που χρησιμοποιήθηκε και για τα δύο εξεταζόμενα βακτήρια αντίστοιχα είναι 200 mg/L $\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$ και υπέρηχοι.

Παρατηρώντας το διάγραμμα δεν βλέπουμε κάποια μεγάλη διαφορά με τα προηγούμενα αποτελέσματα, συγκέντρωσης 100 mg/L $\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$ και υπέρηχοι. Στα 60 και 90 min έχουμε μείωση 1 Log και έπειτα παρουσιάζεται απότομη μείωση και αδρανοποίηση των βακτηριακών πληθυσμών στα 120 min. Η *E. coli* και ο *E. faecalis* ακολουθούν σχεδόν ίδια πορεία σε όλους τους χρόνους.

Η ενεργοποίηση υπερθειικού άλατος 200 mg/L $\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$ με υπέρηχους, έχει ικανοποιητικά αποτελέσματα απολύμανσης αλλά όχι σε μικρό χρονικό διάστημα. Ουσιαστικά δεν παρατηρήθηκε κάποια μεγάλη διαφορά από τα αποτελέσματα της εικόνας 12.



Εικόνα 16: Αδρανοποίηση Βακτηριακών Στελεχών *E. coli* και *E. faecalis* με δόση $\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$ 300 mg/L ενεργοποιημένο με υπέρηχους

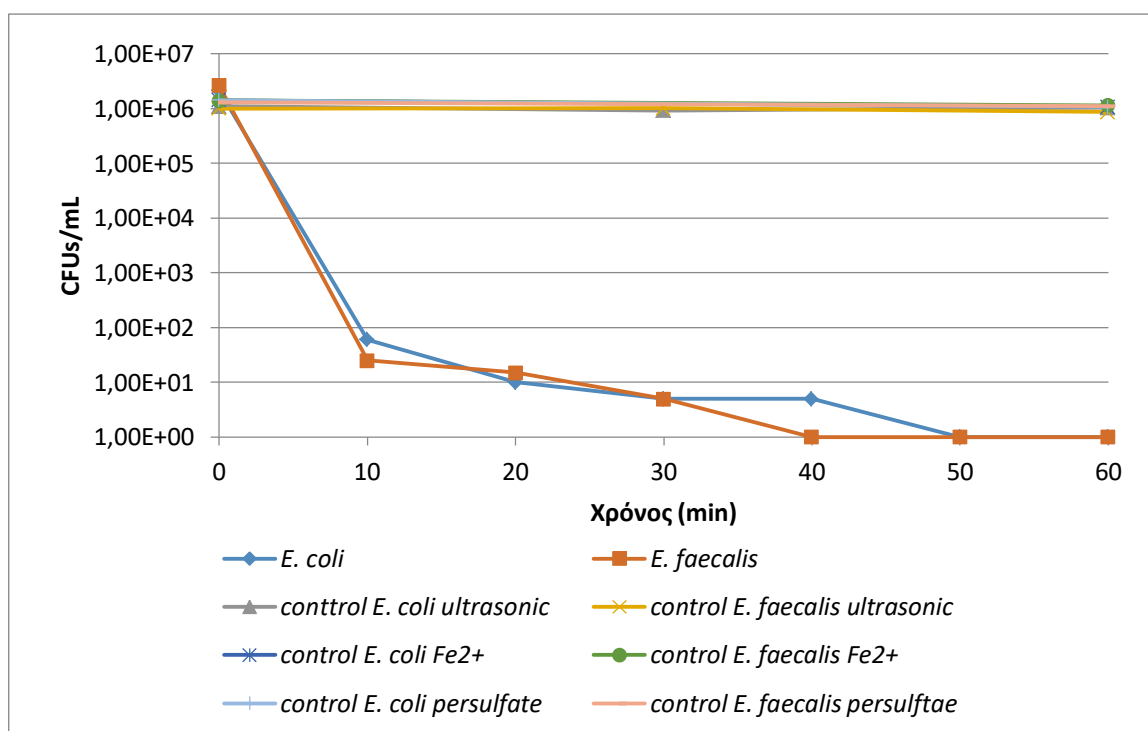
Στην περίπτωση αυτή, η συγκέντρωση που χρησιμοποιήθηκε και για τα δύο εξεταζόμενα βακτήρια αντίστοιχα είναι 300 mg/L $\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$ και υπέρηχοι.

Από το παραπάνω διάγραμμα, παρατηρούμε ότι μέχρι τα 60 min δεν έχουμε κάποια ουσιαστική μείωση καθώς και τα δύο βακτήρια μειώνονται κατά 1 Log. Η *E. coli* για ακόμη μία φορά παρουσιάζει μεγαλύτερη ταχύτητα μείωσης και στα 75 min μειώνεται 2 Log, στα 90 min μειώνεται 4 Log και στα 105 min αδρανοποιείται πλήρως. Αντίθετα ο *E. faecalis* στα 75 min παραμένει στο 1 Log μείωση, στα 90 min μειώνεται λίγο ακόμα κατά 2 Log ενώ στα 105 min έχουμε πλήρη θανάτωση των βακτηρίων όπως και για την *E. coli*.

Συμπερασματικά, χρησιμοποιώντας την μεγαλύτερη συγκέντρωση $\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$ στα 300 mg/L όπου ενεργοποιήθηκε με χρήση υπέρηχων και οι δύο πληθυσμοί αδρανοποιούνται στα 105 min ενώ πριν από το χρόνο αυτό παρουσιάζουν λίγο μεγαλύτερη μείωση από τις προηγούμενες συγκεντρώσεις υπερθειικού άλατος και αυτό συμβαίνει κυρίως από την *E. coli* που έχει ένα λεπτό κυτταρικό τοίχωμα. Το κυτταρικό τοίχωμα του *E. faecalis* είναι παχύ, περίπου 40 nm, το οποίο επιτρέπει στα βακτήρια να επιβιώσουν και να ευδοκιμήσουν σε χώρους υγειονομικής περιθάλψης. Το κύριο συστατικό του κυτταρικού τοιχώματος είναι η πεπτιδογλυκάνη (PG), ένα βιοπολυμερές κατασκευασμένο από επαναλαμβανόμενες μονάδες (James D. Chang et al. 2018)

4.3. Αποτελέσματα αδρανοποίησης βακτηρίων με ενεργοποίηση υπερθειικού αλάτος με υπέρηχους (ultrasonic bath) και Fe_2SO_4 ως προς σίδηρο (συνδυαστικό)

Μελετήθηκε και η ενεργοποίηση υπερθειικού σιδήρου με υπέρηχους σε συνδυασμό με τα ιόντα σιδήρου. Η επιλογή των συγκεντρώσεων ήταν 200 mg/L $\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$ κα 30 mg/L Fe_2SO_4 ως προς σίδηρο, δόσεις που απέφεραν από τα καλύτερα αποτελέσματα απολύμανσης.



Εικόνα 17: Αδρανοποίηση Βακτηριακών Στελεχών *E. coli* και *E. faecalis* με δόση $\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$ 200 mg/L, ενεργοποιημένο με 30 mg/L Fe_2SO_4 ως προς σίδηρο και υπέρηχους

Παρατηρώντας το παραπάνω διάγραμμα, διαπιστώνουμε ότι και τα δύο βακτήρια μειώθηκαν σε πολύ μεγάλο βαθμό από τα πρώτα μόλις 10 min φτάνοντας τα 5 Log με σταθερή σχεδόν πορεία για τα επόμενα 10 min και φτάνοντας τα στα 30 min τάξη μείωσης 6 Log. Η *E. coli* αδρανοποιείται στα 50 min ενώ ο *E. faecalis* στα 40 min, διαφορά που είναι αρκετά μικρή.

Συμπεραίνουμε ότι το συνδυαστικό αυτό πείραμα μας έδωσα τα καλύτερα αποτελέσματα σε πολύ μικρό χρονικό διάστημα, σε αντίθεση με τα περισσότερα πειράματα που μέχρι τα 60 min δεν είχαμε κάποια μεγάλη μείωση. Η απολύμανση επετεύχθη σε πάρα πολύ μεγάλο βαθμό.

Γενικές Παρατηρήσεις

Το γενικότερο συμπέρασμα που μπορούμε να εξάγουμε από τα παραπάνω γραφήματα, είναι ότι τα βακτήρια εμφάνισαν διαφορετικά επίπεδα ανθεκτικότητας στην επιλεγμένη τεχνική απολύμανσης, τα οποία σχετίζονται άμεσα με τις διαφορετικές χρησιμοποιούμενες συγκεντρώσεις, τόσο του υπερθειικού άλατος όσο και του σιδήρου. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, υπήρχαν συνδυαστικές συγκεντρώσεις που επέφεραν καλύτερα αποτελέσματα απολύμανσης και στα δύο εξεταζόμενα βακτήρια και σε μικρότερο χρονικό διάστημα.

Στους παρακάτω συγκεντρωτικούς πίνακες, παρουσιάζονται αναλυτικά οι συγκεντρώσεις που χρησιμοποιήθηκαν και ξεχωριστά για καθεμία από αυτές και για κάθε βακτήριο η κινητική σταθερά αδρανοποίησης (min^{-1})

Πίνακας 4: Κινητική Σταθερά Αδρανοποίησης Στελεχών όπου το υπερθειικό άλας έχει ενεργοποιηθεί με σίδηρο

Συγκεντρώσεις ($\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$ και Fe_2SO_4 ως προς σίδηρο) mg/ L	Βακτήριο	$C_{\text{αρχ}}$ (CFU _s / mL)	$C_{\text{τελ}}$ (CFU _s / mL)	Μείωση Πληθυσμού (%)	k (Κινητική σταθερά αδρανοποίησης, min^{-1})	R^2 (Συντελεστής γραμμικής συσχέτισης)
100 & 10	<i>Escherichia coli</i>	2×10^6	2×10^3	99,91	0,042	0,94
100 & 10	<i>Enterococcus faecalis</i>	2×10^6	2×10^3	99,91	0,037	0,98
200 & 10	<i>Escherichia coli</i>	2×10^6	3×10^3	99,76	0,034	0,93
200 & 10	<i>Enterococcus faecalis</i>	2×10^6	4×10^3	99,70	0,033	0,95
300 & 10	<i>Escherichia coli</i>	3×10^6	0	100	0,07	1

300 & 10	<i>Enterococcus faecalis</i>	10 ⁶	0	100	0,063	1
100 & 20	<i>Escherichia coli</i>	2x10 ⁶	3x10	99,99	0,06	0,99
100 & 20	<i>Enterococcus faecalis</i>	10 ⁶	3x10 ²	99,98	0,049	0,98
200 & 20	<i>Escherichia coli</i>	10 ⁶	0	100	0,069	0,99
200 & 20	<i>Enterococcus faecalis</i>	10 ⁶	0	100	0,052	0,99
300 & 20	<i>Escherichia coli</i>	10 ⁶	0	100	0,24	0,83
300 & 20	<i>Enterococcus faecalis</i>	10 ⁶	0	100	0,14	0,74
100 & 30	<i>Escherichia coli</i>	2x10 ⁶	0	100	0,084	1
100 & 30	<i>Enterococcus faecalis</i>	10 ⁶	0	100	0,091	0,93
200 & 30	<i>Escherichia coli</i>	2x10 ⁶	0	100	0,26	0,80
200 & 30	<i>Enterococcus faecalis</i>	2x10 ⁶	0	100	0,23	0,69
300 & 30	<i>Escherichia coli</i>	2x10 ⁶	0	100	0,41	0,75
300 & 30	<i>Enterococcus faecalis</i>	2x10 ⁶	0	100	0,23	0,66

Πίνακας 5: Κινητική Σταθερά Αδρανοποίησης Στελεχών όπου το υπερθειικό άλας έχει ενεργοποιηθεί με υπέρηχους

Συγκεντρώσεις (Na ₂ O ₈ S ₂ mg/L και υπέρηχοι)	Βακτήριο	C _{αρχ} (CFU _s / mL)	C _{τελ} (CFU _s / mL)	Μείωση Πληθυσμού (%)	k (Κινητική σταθερά αδρανοποίησης, min ⁻¹)	R ² (Συντελεστής γραμμικής συσχέτισης)
100 & υπέρηχοι	<i>Escherichia coli</i>	10 ⁶	0	100	0,020	0,77
100 & υπέρηχοι	<i>Enterococcus faecalis</i>	10 ⁶	0	100	0,026	0,66
200 & υπέρηχοι	<i>Escherichia coli</i>	10 ⁶	0	100	0,012	0,93
200 & υπέρηχοι	<i>Enterococcus faecalis</i>	10 ⁶	0	100	0,013	0,94
300 & υπέρηχοι	<i>Escherichia coli</i>	10 ⁶	0	100	0,076	0,66
300 & υπέρηχοι	<i>Enterococcus faecalis</i>	10 ⁶	0	100	0,040	0,76

Πίνακας 6: Κινητική Σταθερά Αδρανοποίησης Στελεχών όπου το υπερθειικό άλας έχει ενεργοποιηθεί με ιόντα σιδήρου και υπέρηχους

Συγκεντρώσεις ($\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$ και Fe_2SO_4 ως προς σίδηρο mg/L και υπέρηχοι)	Βακτήριο	$C_{\text{αρχ}}$ (CFU _s /mL)	$C_{\text{τελ}}$ (CFU _s /mL)	Μείωση Πληθυσμού (%)	k (Κινητική σταθερά αδρανοποίησης, min ⁻¹)	R ² (Συντελεστής γραμμικής συσχέτισης)
200 & 30 & υπέρηχοι	<i>Escherichia coli</i>	2x10 ⁶	0	100	0,28	0,65
200 & 30 & υπέρηχοι	<i>Enterococcus faecalis</i>	2x10 ⁶	0	100	0,40	0,70

Αναφορικά με τους πίνακες, ορίζουμε τον συντελεστή k που αντιπροσωπεύει την Κινητική Σταθερά Αδρανοποίησης (min⁻¹). Αυτός ο συντελεστής εκφράζει την ταχύτητα της απολύμανσης. Πιο συγκεκριμένα, όσο μεγαλύτερη είναι η Κινητική Σταθερά, τόσο ταχύτερη είναι η απολύμανση. Για να κρίνουμε ποιες συγκεντρώσεις ήταν πιο αποτελεσματικές, χρησιμοποιούμε την Κινητική Σταθεράς k. Αν παρατηρηθεί το ποσοστό μείωσης του πληθυσμού (%), του παραπάνω πίνακα, συγκριτικά με τον συντελεστή k είναι εμφανείς οι διακυμάνσεις του ανάλογα τη μείωση του πληθυσμού του εκάστοτε βακτηρίου.

Από τα αποτελέσματα του πίνακα 2 αποφαίνεται πως η διαδικασία της απολύμανσης επιτεύχθηκε με μεγαλύτερη επιτυχία για συγκεντρώσεις $\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$ και Fe_2SO_4 ως προς σίδηρο 300 mg/L και 30 mg/L αντίστοιχα και συγκεκριμένα στο βακτήριο *Escherichia coli*. Ο συντελεστής k της κινητικής των συγκεκριμένων συγκεντρώσεων επιβεβαιώνει την υψηλή αποτελεσματικότητα της μεθόδου, αφού παρουσιάζει μια σχετικά υψηλή τιμή (0,41), ενώ το ποσοστό μείωσης πληθυσμού είναι 100%. Από τον πίνακα 2, φαίνεται ότι η ενεργοποίηση του υπερθειικού άλατος με υπέρηχους παρουσιάζει μικρότερες κινητικές σταθερές οπότε η αποτελεσματικότητα της μεθόδου αυτής είναι μικρότερη. Τα καλύτερα αποτελέσματα παρουσιάζει η συγκέντρωση 300 mg/L υπερθειικού άλατος με υπέρηχους για το βακτήριο *Escherichia coli* με κινητική σταθερά 0,076. Τέλος το συνδυαστικό πείραμα και των δύο παραπάνω μεθόδων που φαίνεται στο πίνακα 4 παρουσιάζει πολύ καλά αποτελέσματα και για τα δύο βακτήρια με κινητικές σταθερές για την *Escherichia coli* 0,28 και για τον *Enterococcus faecalis* 0,40.

Παρόμοια ευρήματα αναφέρονται και στη βιβλιογραφία. Οι Samyoung et al., (2013) εξέτασαν την αποτελεσματικότητα του ενεργοποιημένου υπερθειικού άλατος με ιόντα

σιδήρου στην απολύμανση του νερού και έδειξαν ότι με την αύξηση του αρχικού επιπέδου των υπερθειικών αλάτων αυξήθηκε δραματικά η κινητική απενεργοποίησης τόσο της *Dunaliella tertiolecta* (κυανοφύκη) όσο και της *Pseudonitzschia delicatissima* (θαλάσσιο διάτομα). Επιπρόσθετα έχει αποδειχτεί ότι ο ρυθμός απενεργοποίησης της *E. coli* O157:H7 μπορεί να αυξηθεί σημαντικά αυξάνοντας την αρχική συγκέντρωση υπερθειικού άλατος όταν χρησιμοποιήθηκε σίδηρος ως ενεργοποιητής (Wordofa et al., 2017).

Υπολογισμός του C*t

Με την σχέση C^*t υπολογίζεται η αποτελεσματικότητα του απολυμαντικού μέσου. Όπου C αντικαθίσταται η συγκέντρωση του απολυμαντικού μέσου σε g/L και t (min) αντιστοιχεί στον χρόνο που χρειάστηκε ώστε να επέλθει 99% αδρανοποίηση του πληθυσμού των βακτηρίων ο οποίος υποβλήθηκε σε απολύμανση. Όσο χαμηλότερο είναι το αποτέλεσμα C^*t , τόσο αποτελεσματικότερο είναι το απολυμαντικό μέσο για τον συγκεκριμένο μικροοργανισμό. Ακόμη, αυτή η σχέση επιτρέπει την σύγκριση διαφόρων απολυμαντικών μέσων ως προς την αποτελεσματικότητά τους έναντι διαφορετικών ειδών μικροοργανισμών.

Πίνακας 7: Τιμές C^*t για 99% μείωση πληθυσμού των βακτηρίων που υποβλήθηκαν σε ενεργοποίηση $\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$ με Fe_2SO_4 ως προς σίδηρο 10 mg/L, pH=6,5 και $T=25^\circ\text{C}$, χρόνος t (min)

Συγκεντρώσεις ($\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$ g/L)	Βακτήριο	C^*t
0,1	<i>Escherichia coli</i>	4
0,1	<i>Enterococcus faecalis</i>	5

0,2	<i>Escherichia coli</i>	3
0,2	<i>Enterococcus faecalis</i>	3
0,3	<i>Escherichia coli</i>	2
0,3	<i>Enterococcus faecalis</i>	2

Πίνακας 8: Τιμές C*t για 99% μείωση πληθυσμού των βακτηρίων που υποβλήθηκαν σε ενεργοποίηση $\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$ με Fe_2SO_4 ως προς σίδηρο 20 mg/L, pH=6,5 και T=25°C, χρόνος t (min)

Συγκεντρώσεις $\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$ (g/L)	Βακτήριο	C*t
0,1	<i>Escherichia coli</i>	3
0,1	<i>Enterococcus faecalis</i>	3
0,2	<i>Escherichia coli</i>	4

0,2	<i>Enterococcus faecalis</i>	4
0,3	<i>Escherichia coli</i>	3
0,3	<i>Enterococcus faecalis</i>	3

Πίνακας 9: Τιμές C*t για 99% μείωση πληθυσμού των βακτηρίων που υποβλήθηκαν σε ενεργοποίηση $\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$ με Fe_2SO_4 ως προς σίδηρο 30 mg/ L, pH=6,5 και T=25°C, χρόνος t (min)

Συγκεντρώσεις $\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$ (g/L)	Βακτήριο	C*t
0,1	<i>Escherichia coli</i>	1
0,1	<i>Enterococcus faecalis</i>	1
0,2	<i>Escherichia coli</i>	1
0,2	<i>Enterococcus faecalis</i>	1,2

0,3	<i>Escherichia coli</i>	0,6
0,3	<i>Enterococcus faecalis</i>	0,9

Πίνακας 10: Τιμές C*t για 99% μείωση πληθυσμού των βακτηρίων που υποβλήθηκαν σε ενεργοποίηση $\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$ με υπέρηχους pH=6,5 και T=25°C, χρόνος t (min)

Συγκεντρώσεις $\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$ (g/L)	Βακτήριο	C*t
0,1	<i>Escherichia coli</i>	9
0,1	<i>Enterococcus faecalis</i>	12
0,2	<i>Escherichia coli</i>	12
0,2	<i>Enterococcus faecalis</i>	12
0,3	<i>Escherichia coli</i>	9
0,3	<i>Enterococcus faecalis</i>	12

Πίνακας 11: Τιμές C*t για 99% μείωση πληθυσμού των βακτηρίων που υποβλήθηκαν σε ενεργοποίηση $\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$ με υπέρηχους και με Fe_2SO_4 ως προς σίδηρο 30 mg/L, pH=6,5 και T=25°C, χρόνος t (min)

Συγκεντρώσεις $\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$ (g/L)	Βακτήριο	C*t
0,2	<i>Escherichia coli</i>	0,6
0,2	<i>Enterococcus faecalis</i>	0,6

Όσο μικρότερη είναι η σχέση C*t καταλαβαίνουμε πως τόσο πιο αποτελεσματικό υπήρξε το απολυμαντικό μέσο στην αδρανοποίηση του βακτηριακού πληθυσμού. Συγκεκριμένα, χρειάστηκε λιγότερος χρόνος ή/και μικρότερη δόση υπερθειικού άλατος όπου ενεργοποιείται είτε με υπέρηχους είτε με ιόντα σιδήρου για να ελαττωθεί ο βακτηριακός πληθυσμός.

Συμφώνα με τους παραπάνω πίνακες τα πιο καλά αποτελέσματα επήλθαν με τις συγκεντρώσεις 0,3 g/L $\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$ ενεργοποιημένα με 30 mg/L Fe_2SO_4 ως προς σίδηρο για την *E. Coli* με τιμή 0,6 όπως και με τη συγκέντρωση 0,2 g/L $\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$ ενεργοποιημένα με υπέρηχους και με Fe_2SO_4 ως προς σίδηρο 30 mg/L και για τα δύο βακτήρια με τιμή 0,6.

5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Εκτενής ανασκόπηση των πρόσφατα αποτελεσμάτων επιβεβαιώνει ότι το ενεργοποιημένο υπερθειικό είναι μια βιώσιμη μέθοδος για την αποκατάσταση των εδαφών και των υπογείων υδάτων. (Matzek and Carter, 2016). Η μεγάλη συμμετοχή του σιδήρου είναι επωφελής για την ενεργοποίηση των υπερθειικών αλάτων καθώς τα ιόντα σιδήρου είναι φιλικά προς το περιβάλλον, αφού οι ειδικές σιδηρομαγνητικές ιδιότητες τους μπορούν να διευκολύνουν τον διαχωρισμό και την ανακύκλωση μετά από τη χρήση (Xia et al., 2015a).

Ο στόχος της παρούσας μελέτης περιλαμβάνει (i) την ενεργοποίηση του υπερθειικού άλατος με ιόντα σιδήρου για την αδρανοποίηση βακτηριακών στελεχών (ii) την ενεργοποίηση του υπερθειικού άλατος με υπέρηχους για την αδρανοποίηση βακτηριακών στελεχών (iii) την ενεργοποίηση του υπερθειικού άλατος με ιόντα σιδήρου και με υπέρηχους για την αδρανοποίηση βακτηριακών στελεχών.

Ενεργοποίηση με σίδηρο

Τα αποτελέσματα της ενεργοποίησης του υπερθειικού άλατος με ιόντα σιδήρου ποίκιλαν ανάλογα με τις συγκεντρώσεις που χρησιμοποιήθηκαν τόσο του υπερθειικού άλατος, όσο και του σιδήρου αλλά και του βακτηρίου που εξεταζόταν. Γενικά μεγαλύτερες συγκεντρώσεις υπερθειικού άλατος και σιδήρου επέφεραν ταχύτερα και καλύτερα αποτελέσματα και στα δύο βακτήρια. Τα υψηλότερα αρχικά επίπεδα υπερθειικών αλάτων μπορεί να παράγουν περισσότερες ελεύθερες ρίζες και να επιτύχουν υψηλότερες μειώσεις των παθογόνων. Η αποτελεσματικότητα του υπερθειικού ενεργοποιημένου σιδήρου μπορεί επίσης να επηρεαστεί από τη διαθεσιμότητα ιόντων σιδήρου (Qi. et al., 2019).

Η *Escherichia coli*, ήταν λιγότερο ανθεκτική από τον *Enterococcus faecalis* καθώς αδρανοποιούνταν σε μικρότερο χρονικό διάστημα σχεδόν σε όλες τις συγκεντρώσεις. Αυτό μπορεί να οφείλεται στο παχύτερο κυτταρικό τοίχωμα των Gram θετικών βακτηρίων που είναι λιγότερο ευαίσθητα σε προηγμένη διαδικασία οξειδωσης όπως έχει αποδειχθεί από πολλές μελέτες (Barnes, Molina, Xu, Thompson, & Dobson, 2013; Kim et al., 2013; Zhang et al., 2018).

Συγκεντρώσεις, υπερθειικού άλατος και σιδήρου πιο αποτελεσματικές υπήρξαν τα 300 mg/L & 20 mg/L, 200 mg/L & 30 mg/L και 300 mg/L & 30 mg/L αντίστοιχα όπου τα βακτήρια αδρανοποιούνταν κοντά στα 60 min.

Σε κάθε περίπτωση, η προηγμένη αυτή μέθοδος απολύμανσης μέσω ενεργοποίησης υπερθειικού άλατος με σίδηρο φαίνεται ως μία καινοτόμα και ελπιδοφόρα μέθοδος αδρανοποίησης βακτηρίων, και έτσι θεωρείται γενικά σαν διαδικασία επιτυχής.

Ενεργοποίηση με υπέρηχους

Αντίστοιχα τα αποτελέσματα ενεργοποίησης υπερθειικού άλατος με υπέρηχους, φαίνεται να είναι καλύτερα με τη μεγαλύτερη χρησιμοποιούμενη συγκέντρωση υπερθειικού (300 mg/L). Αντίθετα με τη προηγούμενη μέθοδο ο χρόνος αδρανοποίησης ήταν μεγαλύτερος καθώς χρειάστηκαν 105 min και για τα δύο βακτήρια. Παρατηρώντας και την κινητική σταθερά αδρανοποίησης είναι αρκετά μικρή σε όλες τις συγκεντρώσεις. Παρατηρήθηκε μικρή διαφορά μεταξύ το δύο βακτηρίων αλλά για ακόμη μία φορά η *Escherichia coli* παρουσίασε ταχύτερα αποτελέσματα αδρανοποίησης.

Γενικά συμπεραίνεται ότι η ενεργοποίηση υπερθειικού άλατος με υπέρηχους αποτελεί μια αποτελεσματική μέθοδο απολύμανσης βακτηρίων αν και όχι την αποτελεσματικότερη καθώς απαιτείται παραπάνω χρόνος συγκριτικά με την ενεργοποίηση υπερθειικού άλατος με σίδηρο ώσπου να αδρανοποιηθούν τα βακτήρια.

Ενεργοποίηση με σίδηρο και υπέρηχους

Ένα αξιόλογο ερώτημα γεννιέται για την αποτελεσματικότητα της μεθόδου με την χρήση και των δύο παραπάνω παραμέτρων. Χρησιμοποιώντας μία από τις αποτελεσματικότερες συγκεντρώσεις υπερθειικού και σιδήρου αυτή των 200 και 30 mg/L μαζί με υπέρηχους. Πράγματι η ενεργοποίηση του υπερθειικού πραγματοποιήθηκε πιο άμεσα από κάθε άλλη μέθοδο. Πράγματι κοντά στα 40 min παρατηρήθηκε θανάτωση των βακτηριακών αποικιών

Αδιαμφισβήτητα η ενεργοποίηση υπερθειικού άλατος αποτελεί μία αξιόλογη και επιτυχή μέθοδο απολύμανση τόσο με σίδηρο όσο και με υπέρηχους. Τα ιόντα σιδήρου σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις μαζί με το υπερθειικό άλας προτίθενται ως μία σχετικά άμεση μέθοδος απολύμανση και σε συνδυασμό με τους υπέρηχους δύναται να οδηγηθούμε στα μεγαλύτερα δυνατά αποτελέσματα. Για τη ενεργοποίηση υπερθειικού με σίδηρο , η ανεπαρκής ή η υπερβολική ποσότητα θειικού σιδήρου θα οδηγήσει σε μειωμένες ικανότητες απενεργοποίησης παθογόνου (Qi et al, 2018)

Καταληκτικά, αξίζει να αναφερθεί ότι υπερθειικό άλας είναι ένα πολλά υποσχόμενο οξειδωτικό που χρησιμοποιείται όλο και περισσότερο για προχωρημένη οξείδωση για την αποκατάσταση των υπογείων υδάτων και του εδάφους που έχουν μολυνθεί με οργανικές ενώσεις(Zhou et al, 2018).

6. Μελλοντικές Προτάσεις

Για μια ολοκληρωμένη εικόνα θα ήταν προτιμότερο να εξεταστούν περαιτέρω τα παρακάτω :

- ✓ Επανάληψη πειράματος με δοκιμή και άλλων συγκεντρώσεων.
- ✓ Ενεργοποίηση υπερθεικού άλατος με άλλες μεθόδους (π.χ. ακτινοβολία UV & θερμοκρασία, χρήση βάσης).
- ✓ Έλεγχος ενεργοποίησης υπερθεικού άλατος σε άλλα βακτήρια, μικροοργανισμούς και ιούς
- ✓ Συνδυασμός της ενεργοποίησης υπερθεικού άλατος με παραπάνω από μία μεθόδους (π.χ. θερμοκρασία με ιόντα σιδήρου).

7. Βιβλιογραφία

Bekris L., Frontistis Z., Trakakis G., Sygellou L., Galiotis C., Mantzavinos D., (2017), Graphene: A new activator of sodium persulfate for the advanced oxidation of parabens in water, *Water Research*, 126, pp. 111-121

Chang J-D., Wallace A., Foster E., Kim S-J., (2018), Peptidoglycan compositional analysis of *Enterococcus faecalis* biofilm by stable isotope labeling by amino acids in bacterial culture, *Biochemistry*, 57(7), pp. 1274–1283

Chena Y., Xiea P., Wanga Z., Shanga R., Wan S., (2017), UV/persulfate preoxidation to improve coagulation efficiency of *Microcystis aeruginosa*, *Journal of Hazardous Materials*, 322, pp. 508–515

Costanza, J., Otano, G., Callaghan, J., Pennell, K.D., (2010), PCE oxidation by sodium persulfate in the presence of solids, *Environmental Science Technology*, 44, pp. 9445-9450.

Fang, G.D., Gao, J., Dionysiou, D.D., Liu, C., Zhou, D.M., 2013b. Activation of persulfate by quinones: free radical reactions and implication for the degradation of PCBs. *Environmental Science TechnoLogy* 47, pp. 4605-4611.

Gao Y-Q. , Gao N-Y., Deng Y. , Yang Y-Q., Ma Y., (2012), Ultraviolet (UV) light-activated persulfate oxidation of sulfamethazine in water, *Chemical Engineering Journal*, 195–196, pp. 248–253

Garkusheva, N., Matafonova, G., Tsenter, I., Beck, S., Batoev, V., & Linden, K. (2017), Simultaneous atrazine degradation and *E. coli* inactivation by simulated solar photoFenton-like process using persulfate, *Journal of Environmental Science and Health Part A-Toxic/Hazardous Substances & Environmental Engineering*, 52, pp. 849–855.

Ghodbane, H., & Hamdaoui, O. (2009), Degradation of acid blue 25 in aqueous media using 1700kHz ultrasonic irradiation: Ultrasound/Fe(II) and ultrasound/H₂O₂ combinations, *Ultrasonics Sonochemistry*, 16(5), pp. 593–598

Gil, M. I., Gomez-Lopez, V. M., Hung, Y.-C., & Allende, A., (2015), Potential of electrolyzed water as an alternative disinfectant agent in the fresh-cut industry, *Food and Bioprocess Technology*, 8(6), pp. 1336–1448

Hernandez, R., Zappi, M., Colucci, J., & Jones, R., (2002), Comparing the performance of various advanced oxidation processes for treatment of acetone contaminated water. *Journal of Hazardous Materials*, 92(1), pp. 33–50

Joshi, K., Mahendran, R., Alagusundaram, K., Norton, T., & Tiwari, B. K., (2013), Review: Novel disinfectants for fresh produce, *Trends in Food Science & Technology*, 34, pp. 54–61

Khadre, M. A., Yousef, A. E., & Kim, J. G., (2001), Microbiological aspects of ozone applications in food: A review, *Journal of Food Science*, 66(9), pp. 1242–1252

Khandarkhaeva M., Batoeva A., Aseev D., Sizykh M., Tsydenov O., March 2017, Oxidation of atrazine in aqueous media by solar- enhanced Fenton-like process involving persulfate and ferrous ion, *EcotoxicoLogy and Environmental Safety*, Volume 137, pp. 35-41, <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.11.013>

Kim, S., Ghafoor, K., Lee, J., Feng, M., Hong, J., Lee, D.-U., & Park, J., (2013), Bacterial inactivation in water, DNA strand breaking, and membrane damage induced by ultraviolet-assisted titanium dioxide photocatalysis, *Water Research*, 47, pp 4403–4411

Laura W. Matzek, Kimberly E. Carter, (2016), Activated persulfate for organic chemical degradation: A review, *Chemosphere*, 151, pp. 178-188

Li, R.C., Jin, X.Y., Megharaj, M., Naidu, R., Chen, Z.L., (2015), Heterogeneous Fenton oxidation of 2,4-dichlorophenol using iron-based nanoparticles and persulfate system, *Chemical Engineering Journal*, 264, pp. 587-594

Liang, C., Lee, I.L., Hsu, I.Y., Liang, C.P., Lin, Y.L., (2008), Persulfate oxidation of trichloroethylene with and without iron activation in porous media, *Chemosphere*, 70, pp. 426-435.

Liang, C.J., Bruell, C.J., Marley, M.C., Sperry, K.L., (2004), Persulfate oxidation for in situ remediation of TCE. II. Activated by chelated ferrous ion, *Chemosphere*, 55, pp. 1225-1233.

N.Yousefi, S.Pourfadakari, S.Esmaeili, et al., Mineralization of high saline petrochemical wastewater using Sonoelectro-activated persulfate: Degradation mechanism and reaction kinetics, *Microchemical Journal*, <https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.04.020>

Neppolian B., Doronila A., Muthupandian Ashokkumar M., I, (2010), Sonochemical Oxidation of arsenic(III) to arsenic(V) using potassium peroxydisulfate as an oxidizing agent, *Water research*, 44, pp.3687-3695

Neta, P., Madhavan, V., Zemel, H., Fessenden, R.W., (1977), Rate constants and mechanism of reaction of $\text{SO}_4^{\cdot-}$ with aromatic-compounds., *J. Am. Chem. Soc.* 99, pp. 163-164.

Oh, S.Y., Kang, S.G., Chiu, P.C., (2010), Degradation of 2,4-dinitrotoluene by persulfate activated with zero-valent iron, *Science of the Total Environment*, 408, pp. 3464-3468.

Oh, S.Y., Kim, H.W., Park, J.M., Park, H.S., Yoon, C., (2009), Oxidation of polyvinyl alcohol by persulfate activated with heat, Fe^{2+} , and zero-valent iron, *Journal of Hazardous Materials*, 168, pp. 346-351.

Qia H., Huangb Q., Hung Y., (2019), Efficacy of activated persulfate in pathogen inactivation: A further exploration, *Food Research International*, 120, 425-431

Qia H., Huangb Q., Hung Y., (2018), Efficacy of activated persulfate in inactivating *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes*, *International Journal of Food Microbiology*, 284, pp. 40–47

Tan C., Gao N., Deng Y., An N., Deng J., (2012), Heat-activated persulfate oxidation of diuron in water, *Chemical Engineering Journal*, 203, pp. 294–300

Tana C., Gaoa N., Chua W., Lib C., Templeton M-R., (2012), Degradation of diuron by persulfate activated with ferrous ion, *Separation and Purification Technology*, 95, pp. 44–48

Teel, A.L., Ahmad, M., Watts, R.J., (2011), Persulfate activation by naturally occurring trace minerals, *Journal Hazard Materials*, 196, pp. 153-159.

Teel, A.L., Cutler, L.M., Watts, R.J., 2009. Effect of sorption on contaminant oxidation in activated persulfate systems. *J. Environ. Sci. Heal A*, 44, pp. 1098-1103.

Tsitonaki a. , Petri B. , Crimi M. , Mosbæk H., Robert I. , Siegrist & Poul I. Bjerg, (2010), In situ chemical oxidation of contaminated soil and groundwater using persulfate: a review, pp. 55-91, <https://doi.org/10.1080/10643380802039303>

Vicente, F., Santos, A., Romero, A., Rodriguez, S., (2011), Kinetic study of diuron oxidation and mineralization by persulfate: effects of temperature, oxidant concentration and iron dosage method, *Chemical Engineering Journal*, 170, 127-135.

Waldemer, R.H., Tratnyek, P.G., Johnson, R.L., Nurmi, J.T., 2007. Oxidation of chlorinated ethenes by heat-activated persulfate: kinetics and products, *Environmental Science Technology* 41, pp. 1010-1015.

Wu, J., Zhang, H., Qiu, J.J., 2012, Degradation of acid orange 7 in aqueous solution by a novel electro/ Fe^{2+} /peroxydisulfate process, *Journal of Hazardous Materials*, 215, pp. 138-145.

Wu, X., Gu, X., Lu, S., Xu, M., Zang, X., Miao, Z., Sui, Q. (2014). Degradation of trichloroethylene in aqueous solution by persulfate activated with citric acid chelated ferrous ion, *Chemical Engineering Journal*, 255, pp. 585–592.

Xiong Q., Zhoua M., Liua M., Jianga S., Hou H., (2018), The transformation behaviors of heavy metals and dewater ability of sewage sludge during the dual conditioning with Fe^{2+} -sodium persulfate oxidation and rice husk, *Chemosphere*, 208, pp. 93-100

Yan, N., Liu, F., Huang, W.Y., (2013), Interaction of oxidants in siderite catalyzed hydrogen peroxide and persulfate system using trichloroethylene as a target contaminant. *Chemical Engineering Journal* 219, pp. 149-54

Yang, S.W., Cheng, J.H., Sun, J., Hu, Y.Y., Liang, X.Y., (2013), Defluorination of Aqueous Perfluorooctanesulfonate by Activated Persulfate Oxidation, *Plos One* 8.

Yang, S.Y., Xiao, T., Zhang, J., Chen, Y.Y., Li, L., (2015), Activated carbon fiber as heterogeneous catalyst of peroxymonosulfate activation for efficient degradation of Acid orange 7 in aqueous solution, *Separation and Purification Technology*, 143, pp. 19-26.

Yang, S.Y., Yang, X., Shao, X.T., Niu, R., Wang, L.L., (2011) Activated carbon catalyzed persulfate oxidation of Azo dye acid orange 7 at ambient temperature, *Journal of Hazardous Materials*, 186, pp. 659-666.

Yanga Q., Zhonga Y., Zhonga H., Lia X., Dua W., Lia X, Chena R., Zeng G., (2015), A novel pretreatment process of mature landfill leachate with ultrasonic activated persulfate: Optimization using integrated Taguchi method and response surface methodology, *Process Safety and Environmental Protection*, 98, pp. 268–275

Yemmireddy, K. V., & Hung, Y.-C., (2015), Effect of food processing organic matter on photocatalytic bactericidal activity of titanium dioxide (TiO₂), *International Journal of Food Microbiology*, 204, pp. 75–80

Zhang, B., Zou, S., Cai, R., Li, M., & He, Z. (2018). Highly-efficient photocatalytic disinfection of Escherichia coli under visible light using carbon supported Vanadium Tetrasulfide nanocomposites, *Applied Catalysis B: Environmental*, 224, pp. 383–393.

Zhang, Y.Q., Xie, X.F., Huang, W.L., Huang, S.B., (2013), Degradation of aniline by Fe²⁺ activated persulfate oxidation at ambient temperature, *Journal of Central South University*, 20, pp. 1010-1014.

Zhao, J.Y., Zhang, Y.B., Quan, X., Chen, S., (2010), Enhanced oxidation of 4-chlorophenol using sulfate radicals generated from zero-valent iron and peroxydisulfate at ambient temperature, *Separation and Purification Technology*, 71, pp. 302-307.

Zhao, Y.S., Sun, C., Sun, J.Q., Zhou, R., (2015), Kinetic modeling and efficiency of sulfate radical-based oxidation to remove p-nitroaniline from wastewater by persulfate/Fe₃O₄ nanoparticles process, *Separation and Purification Technology*, 142, pp. 182-188.

Zhou, D.M., (2013), Superoxide radical driving the activation of persulfate by magnetite nanoparticles: Implications for the degradation of PCBs, *Applied Catalysis B: Environmental*, 129, pp. 325-332.

Zhou, Z., Jiang, J.Q., (2015), Reaction kinetics and oxidation products formation in the degradation of ciprofloxacin and ibuprofen by ferrate (VI), *Chemosphere*, 119, pp. 95-100.

Zhoua Y., Xiang Y., Hea Y., Yanga Y., Zhanga J., Luo L., Penga H., Daia C., Zhub F., Tang L., (2018), Applications and factors influencing of the persulfate-based advanced oxidation processes for the remediation of groundwater and soil contaminated with organic compounds, *Journal of Hazardous Materials*, 359, pp. 396-407

Zou, X.L., Zhou, T., Mao, J., Wu, X.H., (2014), Synergistic degradation of antibiotic sulfadiazine in a heterogeneous ultrasound-enhanced Fe-0/persulfate Fenton like system, *Chemical Engineering Journal*, 257, pp. 36-44

Γαβαλά Κ., (2017), Απομόνωση Βακτηρίων Ανθεκτικών σε Αντιβιοτικά από Επιφανειακά Ύδατα και Έλεγχος Αδρανοποίησης τους, Διπλωματική εργασία, Πολυτεχνείο Κρήτης, Χανιά

Δρόσου Α., (2007), Φωτοκαταλυτική απολύμανση νερού παρουσία διοξειδίου του τιτανίου και υπεροξικού οξέος, Διπλωματική εργασία, Πολυτεχνείο Κρήτης, Χανιά

Καλέμη Ε., (2015), Αποτελεσματικότητα μεθόδων απολύμανσης όσον αφορά στην αδρανοποίηση βακτηρίων του υδάτινου περιβάλλοντος. Διπλωματική εργασία, Πολυτεχνείο Κρήτης, Χανιά

Μακρογιαννάκη Ε., (2012), Αδρανοποίηση του βάκιλλου του άνθρακα ακτινοβολία με UVA, UVC και υπέρηχους, Μεταπτυχιακή Διατριβή, Πολυτεχνείο Κρήτης, Χανιά

Παλαιολόγου Α., (2008), Εφαρμογές των Εξελεγμένων Διεργασιών Οξειδωσης στην Απολύμανση του νερού, Διπλωματική εργασία, Πολυτεχνείο Κρήτης, Χανιά

Σεγκελίδη, Φ., (2017), Επίδραση της απολύμανσης στην ανθεκτικότητα βακτηρίων σε ποικιλία αντιβιοτικών, Διπλωματική Εργασία, Σχολή Μηχανικών Περιβάλλοντος, Πολυτεχνείο Κρήτης, Χανιά

Φράγκου Α., (2017), Αδρανοποίηση βακτηρίων ανθεκτικών στα αντιβιοτικά με μεθόδους απολύμανσης, Διπλωματική εργασία, Πολυτεχνείο Κρήτης, Χανιά

Φραγγεδάκη Α., (2014), Απολύμανση νερού με τη χρήση φωτοκατάλυσης: Αδρανοποίηση της *Klebsiella pneumoniae* και επίδραση στο γενετικό υλικό της, Μεταπτυχιακή Διατριβή, Πολυτεχνείο Κρήτης, Χανιά

BIBΛΙΑ

Metcalf & Eddy, 2007, Μηχανική Υγρών Αποβλήτων: Επεξεργασία και Επαναχρησιμοποίηση, Αθήνα, Εκδόσεις Τζιόλα.

Εισαγωγή στις διεργασίες καθαρισμού νερού και λυμάτων, Κωνσταντίνος Β. Χρυσικόπουλος

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΕΣ ΣΗΜΕΙΩΣΕΙΣ

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

Διαμαντόπουλος Ε., (2008), Πανεπιστημιακές σημειώσεις μαθήματος «Χημικές διεργασίες στην επεξεργασία νερού & υγρών αποβλήτων», Σχολή Μηχανικών Περιβάλλοντος, Πολυτεχνείο Κρήτης, Χανιά

ΙΣΤΟΣΕΛΙΔΕΣ

<https://www.watersave.gr/files/PDF/07ekp.pdf>

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