



ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ ΚΡΗΤΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ



«Χρήση υπερθειικού άλατος ως μέσο απολύμανσης νερού»

Διπλωματική Εργασία

Από την προπτυχιακή φοιτήτρια,

ΚΑΡΑΠΑ ΑΛΕΞΑΝΔΡΑ

ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

ΒΕΝΙΕΡΗ ΔΑΝΑΗ(ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ)

ΞΕΚΟΥΚΟΥΛΩΤΑΚΗΣ ΝΙΚΟΛΑΟΣ

ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΠΑΝΑΓΙΩΤΟΠΟΥΛΟΥ

ΧΑΝΙΑ, ΙΟΥΛΙΟΣ 2019

Στην οικογένεια μου

«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 αναγράφεται η πηγή προέλευσης. Ερωτήματα που αφορούν τη χρήση εργασίας για άλλη χρήση θα πρέπει να απευθύνονται προς τον συγγραφέα. Οι απόψεις και τα συμπεράσματα που περιέχονται σε αυτό το έγγραφο εκφράζουν τον συγγραφέα και δεν πρέπει να ερμηνευθεί ότι αντιπροσωπεύουν τις επίσημες θέσεις του Πολυτεχνείου Κρήτης.»

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα διπλωματική εργασία πραγματοποιήθηκε στα πλαίσια του προγράμματος προπτυχιακών σπουδών της Σχολής Μηχανικών Περιβάλλοντος του Πολυτεχνείου Κρήτης και τα πειράματα έλαβαν χώρα στο Εργαστήριο Περιβαλλοντικής Μικροβιολογίας κατά το ακαδημαϊκό έτος 2018-2019 με επιβλέπουσα την Καθηγήτρια κα. Βενιέρη Δανάη.

Σε αυτό το σημείο θα ήθελα να ευχαριστήσω κυρίως την Επιβλέπουσα της διπλωματικής εργασίας μου κα. Βενιέρη Δανάη, για την ανάθεση του θέματος αυτού, για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε από την πρώτη στιγμή καθώς και για την καθοδήγηση και την κατανόηση καθ' όλη την διάρκεια της εκπόνησής της.

Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω θερμά την κα. Γουνάκη Ιωσηφίνα (Ε.Τ.Ε.Π) η οποία βρισκόταν δίπλα μου σε ότι χρειαζόμουν με υπομονή, επιμονή και όρεξη.

Ακόμα, ευχαριστώ τον κ. Διαμαντόπουλο Ευάγγελο και τον κ. Ξεκουκουλωτάκη Νικόλαο για τον πολύτιμο χρόνο που διέθεσαν για την αξιολόγηση της εργασίας μου και για την παρουσία τους.

Το μεγαλύτερο ευχαριστώ το οφείλω στους γονείς μου Παναγιώτης και Παναγιώτα, τον αδερφό μου Δημήτρη και την θεία μου Νένα, οι οποίοι με βοήθησαν τόσο οικονομικά όσο και ψυχολογικά όλα αυτά τα χρόνια καθώς και για τις αρχές που μου δίδαξαν για να είμαι αυτός ο άνθρωπος σήμερα.

Την μεταπτυχιακή φοιτήτρια Μαρικίτα, που μου αφιέρωσε χρόνο και μου έδινε συμβουλές από την πρώτη στιγμή ως και την ολοκλήρωση της εργασίας μου.

Τέλος δεν θα μπορούσα να μην ευχαριστήσω τις φίλες μου Έλσα και Ναταλί, τον Βαρδή και τις συμφοιτήτριες και φίλες μου Φρόσω και Έλενα που μέσα από κόπο αλλά και όμορφες στιγμές ολοκληρώνουμε μαζί αυτό το πρώτο μικρό ταξίδι της ζωής.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το νερό είναι μια βασική μονάδα για την διατήρηση ζωής στον πλανήτη μας. Τόσο το υπόγειο όσο και το επιφανειακό νερό (λίμνες, ποτάμια) χρησιμοποιείται για κατανάλωση, από τον άνθρωπο. Το νερό που καταναλώνει ο άνθρωπος πρέπει να είναι αβλαβές για την υγεία του, οργανοληπτικά άμεμπτο και απόλυτα καθαρό, απαλλαγμένο από παθογόνους μικροοργανισμούς και συγκεντρώσεις που μπορεί να προκαλέσουν κίνδυνο στην υγεία του ανθρώπου. Ένα από τα σημαντικότερα προβλήματα της εποχής αποτελεί η μείωση της ποσότητας και η υποβάθμιση της ποιότητας διαφόρων περιβαλλοντικών πόρων. Οι υδάτινοι επιφανειακοί ή υπόγειοι πόροι εκτίθενται καθημερινά σε διάφορους τύπους ρύπων (οργανικές, ανόργανες ουσίες και μικροοργανισμούς). Για το λόγο αυτό σύμφωνα με τις προηγμένες οξειδωτικές μεθόδους (AOPs)[1], μια μέθοδος βασισμένη στις ελεύθερες ρίζες, θέλαμε να καταφέρουμε την αδρανοποίηση μικροοργανισμών μέσω της ενεργοποίησης του υπερθειικού νατρίου ($\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$) προς παραγωγή οξειδωτικών ριζών.

Λαμβάνοντας υπόψη τις περιβαλλοντικές ανάγκες στα πλαίσια της διπλωματικής εργασίας αυτής, οι στόχοι περιλαμβάνουν αρχικά τον έλεγχο αποτελεσματικότητας απολύμανσης ενεργοποιημένου υπερθειικού άλατος για την αδρανοποίηση των βακτηριακών δεικτών κοπρανώδους μόλυνσης στο νερό καθώς και στην διερεύνηση των επιδράσεων των μεταβλητών διεργασίας των μέσων ενεργοποίησης υπερθειικών αλάτων, όπως η θερμότητα, η ακτινοβολία UVA , ο σίδηρος, οι υπέρηχοι κ.α. Η αποτελεσματικότητα αυτή εξετάστηκε στα βακτήρια *Escherichia coli* και *Enterococcus faecalis*. Στην παρούσα διπλωματική εργασία πραγματοποιήθηκαν τρεις κύκλοι πειραμάτων. Αρχικά έγινε ο έλεγχος αδρανοποίησης μικροοργανισμών με την χρήση UVA/PS, έπειτα με την χρήση θερμότητα/PS και τέλος με την χρήση UVA/PS/θερμότητα. Είναι σημαντικό να τονιστεί πως οι συνθήκες διεξαγωγής των πειραμάτων σε κάθε περίπτωση διατηρούνταν ίδιες ώστε τα αποτελέσματα να μπορούν να είναι συγκρίσιμα.

Βάσει των αποτελεσμάτων, παρατηρήθηκε ότι η επιρροή που είχε η κάθε παράμετρος που ενεργοποιεί το $\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$ δεν ήταν ίδια για τα βακτήρια. Όσον αφορά την παράμετρο UVA/υπερθειικό νάτριο με ισχύ 15 W δεν ήταν ιδιαίτερα αποτελεσματική, υπήρχε ελάχιστη μείωση της συγκέντρωσης της τάξης 1 Log, ενώ με διπλάσια ισχύ (2 λάμπες, 30 W) υπήρξε μείωση στις 3 h της τάξης 6 Log και στα δυο βακτήρια. Στην περίπτωση θερμότητα/υπερθειικό νάτριο υπήρξε σημαντική μείωση στη μισή h της τάξης 6 Log και στα δυο βακτήρια παρόλο που ο *Enterococcus faecalis* υπήρξε λίγο πιο ανθεκτικός στην πάροδο του χρόνου και σε υψηλότερες θερμοκρασίες απ'ότι η *Escherichia coli* . Στον τελευταίο κύκλο, που ήταν ο συνδυασμός των προηγούμενων δυο παρατηρήσαμε μείωση της τάξης 6 Log. Ακόμα παρατηρήθηκε χρονικά πως ξεκίνησε πιο γρήγορα η μείωση της συγκέντρωσης των βακτηρίων σε σχέση με τις μεμονωμένες περιπτώσεις. Σε όλες τις περιπτώσεις παρατηρήθηκε πως υψηλότερη συγκέντρωση υπερθειικού άλατος φέρει περισσότερες μειώσεις των παθογόνων. Συγκρίνοντας όλες τις παραμέτρους ο συνδυασμός και των τριών παραμέτρων αποδείχθηκε ο πιο γρήγορος και αποτελεσματικός για την αδρανοποίηση των βακτηρίων μέσω των οξειδωτικών ριζών. Παρόλα αυτά με βάση το χρόνο επαφής ως βέλτιστη λύση και για τα δυο βακτήρια θεωρούμε την περίπτωση όπου τα δεδομένα ήταν 50 °C και η δόση του υπερθειικού νατρίου ήταν 200mg/L. Συγκρίνοντας τα δυο βακτηριακά είδη μπορεί να παρατηρηθεί ότι το

Gram(-) *E.coli* αποδείχθηκε πιο ευαίσθητο από το Gram(+) *E. faecalis*, το οποίο διαθέτει πιο παχύ κυτταρικό τοίχωμα.

Λέξεις κλειδιά: ενεργοποίηση υπερθειικού, αδρανοποίηση βακτηρίων, προηγμένες μέθοδοι αντιρύπανσης, απολύμανση υδάτων

ABSTRACT

Water is substantial for the preservation of life on our planet. Both ground and surface water (lakes, rivers) are used for consumption by humans. This water needs to pose no threat to human health, to be organoleptically impeccable and completely clean, free of pathogenic microorganisms and pollutants that may impact human wellbeing. One of the most significant issues of our times is the decrease in quantity and the quality degradation of various environmental resources. Nowadays, the ground and surface water resources are being exposed to various types of pollutants (organic, inorganic substances) and microorganisms.

Advanced oxidation processes (AOPs) have been recognized as an emerging group of techniques with high oxidation potential and biocidal effect on various microorganisms in aqueous samples. AOPs based on hydroxyl (HO^\bullet , $E^0=1.8\text{-}2.7\text{ V}$) and sulfate radicals (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 may be achieved by peroxydisulfate or persulfate (PS) activation via heat, ultrasound, transition metals, ultraviolet (UV) light, or other means. Enhancing the effectiveness of activated persulfate includes manipulation of traditional methods and development of novel techniques. These processes, being members of the broad category of AOPs, seem to be highly promising as disinfection techniques for the inactivation of various pathogens contained in water.

Based on the above, the objectives of this study comprise the following: a) assessment of disinfection efficiency of activated persulfate for the inactivation of fecal bacterial indicators in water and b) investigation of process variables effects and the means of persulfate activation (i.e. UVA irradiation and heat). Experiments were performed using *Escherichia coli* and *Enterococcus faecalis* bacteria. This thesis presents experiments carried out in three phases: the microorganisms' inactivation rates were evaluated using a) UVA/PS, b) heat/PS and c) UVA/PS/heat. What is important to underline is that the experiments were conducted under similar conditions so as to obtain comparable data.

Disinfection with UVA/sodium persulfate (15 W) was not particularly effective; there was a 1 Log decrease in bacterial concentration, while when two lamps were used (30 W) there was a 6 Log decrease after 3 h of both bacterial species. When persulfate activation was performed through heat there was a substantial 6 Log decrease after 0.5 h in both bacteria species. Interestingly, *Enterococcus faecalis* appeared to be more persistent over time and under higher temperatures than *Escherichia coli*. During the last phase of the experiments, where we applied a combination of the activating parameters mentioned above, a 6 Log decrease of bacterial population was

observed .In all cases presented above, it was found that the higher the concentration of sodium persulfate the higher the bacterial decrease. Having compared all the parameters, we can conclude that a combination of the three methods can be named as the fastest and most effective one in activating bacteria with the aid of oxidizing radicals. However, based on contact time, the most effective conditions were temperature of 50 °C with sodium persulfate at a concentration of 200mg/L .To sum up, having studied these two bacterial species under the specified disinfection conditions , we can conclude that Gram(-) *E. coli* proved to be more vulnerable than Gram(+) *E. faecalis* which possess a thick cell wall.

Key words:

Activated persulfate, bacterial inactivation, advanced oxidation processes, water decontamination

Πίνακας περιεχομένων

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ.....	4
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	5
ABSTRACT	6
1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	11
1.1.Απολύμανση	12
1.1.1.Τα χαρακτηριστικά του ιδανικού απολυμαντικού	13
1.1.2.Κινητική της απολύμανσης.....	13
1.2.Βακτήρια.....	14
1.2.1. Μικροβιολογική ποιότητα υδάτων	14
1.2.2. <i>Escherichia coli</i>	15
1.2.3. <i>Enterococcus faecalis</i>	16
1.3. Προηγμένες μέθοδοι αντιρύπανσης (Advanced oxidation processes-AOPs).....	18
1.4.Sodium Persulfate ($\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$)	22
1.4.1Φυσικές και χημικές ιδιότητες	22
1.5.Sodisum Persulfate ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8$)-Νέο οξειδωτικό σε προηγμένες μεθόδους οξείδωσης (AOPs).....	24
1.5.1Ενεργοποίηση Sodium Persulfate ($\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$)	25
2.ΣΚΟΠΟΣ	27
3.ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	28
4.ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ:.....	32
5.ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	63
6.ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΕΣ ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ	64
7.ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ:	65
Ιστοσελίδες:.....	70

Παράρτημα εικόνων και πινάκων:

ΕΙΚΟΝΑ 1 ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΟΥ <i>E. COLI</i> [8].	16
ΕΙΚΟΝΑ 2 ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΟΥ <i>E. FAECALIS</i> [11].	17
ΕΙΚΟΝΑ 3 ΝΟΜΟΘΕΣΙΑ ΠΕΡΙ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΗΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΠΟΣΙΜΟΥ ΝΕΡΟΥ ΚΑΙ ΕΜΦΙΑΛΩΜΕΝΟΥ ΝΕΡΟΥ[5]	17
ΕΙΚΟΝΑ 4 ΠΡΟΗΓΜΕΝΕΣ ΔΙΕΡΓΑΣΙΑΣ ΑΝΤΙΡΥΠΑΝΣΗΣ, ΤΥΠΟΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΩΝ. [18]	19
ΕΙΚΟΝΑ 5 ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΤΩΝ ΜΕΘΟΔΩΝ ΑΟΡS	20
ΕΙΚΟΝΑ 6 ΠΡΟΗΓΜΕΝΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ ΑΝΤΙΡΥΠΑΝΣΗΣ (ΑΟΡS) ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΑ ΜΕ ΤΙΣ ΚΛΑΣΣΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΥΣ ΑΠΟΛΥΜΑΝΣΗΣ [21]	21
ΕΙΚΟΝΑ 7 ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΤΩΝ ΑΟΡS ΚΑΙ ΤΗΣ ΟΖΟΝΩΣΗΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΠΟΛΥΜΑΝΣΗ ΥΔΑΤΩΝ ΚΑΙ ΠΟΣΙΜΟΥ ΝΕΡΟΥ.[1].	22
ΕΙΚΟΝΑ 8 ΧΗΜΙΚΗ ΈΝΩΣΗ ΤΟΥ ΥΠΕΡΘΕΙΙΚΟΥ ΝΑΤΡΙΟΥ [23].	23
ΕΙΚΟΝΑ 9 UVA(1)/ΥΠΕΡΘΕΙΙΚΟ ΝΑΤΡΙΟ (100MG/L)	32
ΕΙΚΟΝΑ 10 UVA(1)/ΥΠΕΡΘΕΙΙΚΟ ΝΑΤΡΙΟ (200MG/L)	33
ΕΙΚΟΝΑ 11 UVA(1)/ΥΠΕΡΘΕΙΙΚΟ ΝΑΤΡΙΟ (300MG/L)	34
ΕΙΚΟΝΑ 12 UVA(2)/ΥΠΕΡΘΕΙΙΚΟ ΝΑΤΡΙΟ (200MG/L)	35
ΕΙΚΟΝΑ 13 UVA(2)/ΥΠΕΡΘΕΙΙΚΟ ΝΑΤΡΙΟ (300MG/L)	36
ΕΙΚΟΝΑ 14 UVA(1)/ΥΠΕΡΘΕΙΙΚΟ ΝΑΤΡΙΟ (100MG/L)	37
ΕΙΚΟΝΑ 15 UVA(1)/ΥΠΕΡΘΕΙΙΚΟ ΝΑΤΡΙΟ (200MG/L)	38
ΕΙΚΟΝΑ 16 UVA(1)/ΥΠΕΡΘΕΙΙΚΟ ΝΑΤΡΙΟ (300MG/L)	39
ΕΙΚΟΝΑ 17 UVA(2)/ΥΠΕΡΘΕΙΙΚΟ ΝΑΤΡΙΟ (200MG/L)	40
ΕΙΚΟΝΑ 18 UVA(2)/ΥΠΕΡΘΕΙΙΚΟ ΝΑΤΡΙΟ (300MG/L)	41
ΕΙΚΟΝΑ 19 ΘΕΡΜΟΤΗΤΑ (40 °C)/ΥΠΕΡΘΕΙΙΚΟ ΝΑΤΡΙΟ (100MG/L)	42
ΕΙΚΟΝΑ 20 ΘΕΡΜΟΤΗΤΑ (40 °C)/ΥΠΕΡΘΕΙΙΚΟ ΝΑΤΡΙΟ (200MG/L)	43
ΕΙΚΟΝΑ 21 ΘΕΡΜΟΤΗΤΑ (50 °C)/ΥΠΕΡΘΕΙΙΚΟ ΝΑΤΡΙΟ (100MG/L)	44
ΕΙΚΟΝΑ 22 ΘΕΡΜΟΤΗΤΑ (50 °C)/ΥΠΕΡΘΕΙΙΚΟ ΝΑΤΡΙΟ (200MG/L)	45
ΕΙΚΟΝΑ 23 ΘΕΡΜΟΤΗΤΑ (60 °C)/ΥΠΕΡΘΕΙΙΚΟ ΝΑΤΡΙΟ (100MG/L)	46
ΕΙΚΟΝΑ 24 ΘΕΡΜΟΤΗΤΑ (40 °C)/ΥΠΕΡΘΕΙΙΚΟ ΝΑΤΡΙΟ (100MG/L)	47
ΕΙΚΟΝΑ 25 ΘΕΡΜΟΤΗΤΑ (40 °C)/ΥΠΕΡΘΕΙΙΚΟ ΝΑΤΡΙΟ (200MG/L)	48
ΕΙΚΟΝΑ 26 ΘΕΡΜΟΤΗΤΑ (50 °C)/ΥΠΕΡΘΕΙΙΚΟ ΝΑΤΡΙΟ (100MG/L)	49
ΕΙΚΟΝΑ 27 ΘΕΡΜΟΤΗΤΑ (50 °C)/ΥΠΕΡΘΕΙΙΚΟ ΝΑΤΡΙΟ (200MG/L)	50
ΕΙΚΟΝΑ 28 ΘΕΡΜΟΤΗΤΑ (60 °C)/ΥΠΕΡΘΕΙΙΚΟ ΝΑΤΡΙΟ (100MG/L)	51
ΕΙΚΟΝΑ 29 UVA/ΘΕΡΜΟΤΗΤΑ (40 °C)/ΥΠΕΡΘΕΙΙΚΟ ΝΑΤΡΙΟ (100MG/L)	52
ΕΙΚΟΝΑ 30 UVA/ΘΕΡΜΟΤΗΤΑ (40 °C)/ΥΠΕΡΘΕΙΙΚΟ ΝΑΤΡΙΟ (200MG/L)	53
ΕΙΚΟΝΑ 31 UVA/ΘΕΡΜΟΤΗΤΑ (50 °C)/ΥΠΕΡΘΕΙΙΚΟ ΝΑΤΡΙΟ (100MG/L)	54
ΕΙΚΟΝΑ 32 UVA/ΘΕΡΜΟΤΗΤΑ (50 °C)/ΥΠΕΡΘΕΙΙΚΟ ΝΑΤΡΙΟ (200MG/L)	55
ΕΙΚΟΝΑ 33 UVA/ΘΕΡΜΟΤΗΤΑ (40 °C)/ΥΠΕΡΘΕΙΙΚΟ ΝΑΤΡΙΟ (100MG/L)	56
ΕΙΚΟΝΑ 34 UVA/ΘΕΡΜΟΤΗΤΑ (40 °C)/ΥΠΕΡΘΕΙΙΚΟ ΝΑΤΡΙΟ (200MG/L)	57
ΕΙΚΟΝΑ 35 UVA/ΘΕΡΜΟΤΗΤΑ (50 °C)/ΥΠΕΡΘΕΙΙΚΟ ΝΑΤΡΙΟ (100MG/L)	58
ΕΙΚΟΝΑ 36 UVA/ΘΕΡΜΟΤΗΤΑ (50 °C)/ΥΠΕΡΘΕΙΙΚΟ ΝΑΤΡΙΟ (200MG/L)	59
ΕΙΚΟΝΑ 37 ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΗ ΜΕΘΟΔΩΝ ΣΕ ΣΧΕΣΗ ΜΕ ΤΗΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΟΥΣ ΣΤΗΝ ΑΔΡΑΝΟΠΟΙΗΣΗ ΤΩΝ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ.	61
ΕΙΚΟΝΑ 38 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑ ΑΔΡΑΝΟΠΟΙΗΣΗΣ ΜΕΤΑΪ ΤΩΝ ΔΥΟ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ.	62

ΠΙΝΑΚΑΣ 1 ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΑΠΟΛΥΜΑΝΣΗΣ ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΧΛΩΡΙΟΥ, ΟΖΟΝΤΟΣ ΚΑΙ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑ UV. [3]	12
ΠΙΝΑΚΑΣ 2 ΦΥΣΙΚΕΣ ΚΑΙ ΧΗΜΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ.	23
ΠΙΝΑΚΑΣ 3 ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΤΙΚΟΣ ΠΙΝΑΚΑΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΔΡΑΝΟΠΟΙΗΣΗ ΤΩΝ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ	60

1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Στις μέρες μας η χημική ρύπανση και η μόλυνση των υδάτινων πόρων έχουν γίνει ένα παγκόσμιο πρόβλημα όσον αφορά το περιβάλλον. Η συνεχής εκροή οργανικών ρύπων και παθογόνων μικροοργανισμών στο νερό και στα λύματα έχει σταθεί σημαντική πρόκληση για τις εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων και αποχέτευσης. Στο πλαίσιο αυτό, η συνεχώς αυξανόμενη ζήτηση για υψηλά πρότυπα υγιεινής έχει οδηγήσει στην εξερεύνηση και την ανάπτυξη αποτελεσματικών τεχνικών απολύμανσης. Γενικά, η απολύμανση του ύδατος επιτυγχάνεται συνήθως με χλωρίωση και τα προϊόντα της, οι οποίες θεωρούνται ισχυροί οξειδωτικοί παράγοντες για την αδρανοποίηση διαφόρων μικροοργανισμών. Οι προηγμένες τεχνολογίες, οι οποίες βασίζονται σε προηγμένες διεργασίες οξείδωσης (AOPs)[1], έχουν αναγνωριστεί ως ανερχόμενη ομάδα τεχνικών με υψηλό δυναμικό οξείδωσης και με βιοκτόνο δράση σε διάφορους μικροοργανισμούς σε υδατικά δείγματα. Οι AOPs οι οποίες βασίζονται σε παραγωγή ριζών υδροξυλίου ($\text{HO} \cdot$ $E_0=1.8\text{-}2.7\text{ V}$) και στις θειικές ρίζες ($\text{SO}_4^{\cdot -}$, $E_0=2.5\text{-}3.1\text{ V}$) έχουν χρησιμοποιηθεί ως νέα οξειδωτικά για την αποδόμηση πολλών οργανικών ρύπων μέσω του σχηματισμού των θειικών ριζών που επιτυγχάνεται από την ενεργοποίηση υπερθειικού αλάτος μέσω θερμότητας, υπερήχων, μετάλλων, υπεριώδους ακτινοβολίας ή άλλων μέσων[2]. Παράλληλα, αποδείχθηκαν αποτελεσματικές για την αδρανοποίηση των μικροοργανισμών σε υδατικά μέσα, μέσω παραγωγής οξειδωτικών ριζών οι οποίες παράγονται μέσα από την ενεργοποίηση υπερθειικών αλάτων. Αυτή η διαδικασία, θα ήταν πολύ χρήσιμη τόσο για την μείωση των ενεργειακών απαιτήσεων όσο και για τη μείωση του κόστους που θα χρειαζόταν μια άλλη διεργασία απολύμανσης, μιας και οι οξειδωτικές ρίζες καταστρέφουν τα μόρια των ρύπων αλλά και τα μικροβιακά κύτταρα. Πολλές μελέτες έχουν στηριχτεί στην ενεργοποίηση των υπερθειικών αλάτων με διάφορους παράγοντες, όπως θερμότητα, UV, pH κλπ, για την αποδόμηση οργανικών ρύπων [2], ενώ όχι τόσο στην μικροβιακή αδρανοποίηση. Αυτή η μελέτη βασίστηκε στην αδρανοποίηση των παθογόνων μικροβιακών οργανισμών, μέσω της ενεργοποίησης του υπερθειικού νατρίου με θερμότητα και ακτινοβολία UVA. Πιο συγκεκριμένα έγινε έλεγχος αδρανοποίησης των βακτηρίων *Escherichia coli* και *Enterococcus faecalis* στο νερό.

1.1.Απολύμανση

Απολύμανση καλείται η διαδικασία κατά την οποία επιτυγχάνεται η εξάλειψη των παθογόνων μικροοργανισμών στα ύδατα. Σκοπός της είναι η αδρανοποίηση αλλά και η παρεμπόδιση της ανάπτυξής τους. Το μεγαλύτερο μέρος των παθογόνων μικροοργανισμών αδρανοποιείται με τις κλασσικές μεθόδους απολύμανσης. Παρόλα αυτά η απολύμανση των υδάτων είναι ακόμα κάτι το σημαντικό για το πόσιμο νερό ώστε να μην αποτελεί επικίνδυνο για την δημόσια υγεία. Οι παθογόνοι μικροοργανισμοί που βρίσκονται στα ύδατα έχουν ορισμένες ειδικές ιδιότητες που τις διακρίνουν από τις χημικές προσμίξεις. Είναι ζωντανοί οργανισμοί, δεν μπορούν να διαλυθούν στο νερό αλλά μπορούν να προσκολληθούν σε κολλοειδή και στερεά στο νερό. Κάποια είδη παθογόνων μικροοργανισμών είναι τα βακτήρια, οι ιοί και τα παρασιτικά πρωτόζωα. Τα βακτήρια και οι ιοί μπορούν να υπάρχουν τόσο στα επιφανειακά όσο και στα υπόγεια ύδατα, ενώ τα παρασιτικά πρωτόζωα βρίσκονται κυρίως στα επιφανειακά ύδατα.

Οι τρεις πιο διαδεδομένες μέθοδοι απολύμανσης των υδάτων είναι:

- Χλωρίωση
- Οζόνωση
- Ακτινοβολία UV

Πίνακας 1 Μηχανισμοί απολύμανσης με χρήση χλωρίου, όζοντος και ακτινοβολία UV. [3]

Χλώριο	Όζον	Ακτινοβολία UV
Οξείωση	Απευθείας οξειδωση/ καταστροφή του κυτταρικού τοιχώματος με διαρροή κυτταρικών συστατικών έξω από το κύτταρο	Φωτοχημική φθορά στο RNA και DNA (πχ σχηματισμός διπλών δεσμών) μέσα στα κύτταρα ενός οργανισμού
Αντιδράσεις με διαθέσιμο χλώριο	Αντιδράσεις με ρίζες παραπροϊόντων από τη διάσπαση του όζοντος	Τα νουκλειικά 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 νουκλειικών οξέων (πουρίνες και πυριμιδίνες)	Επειδή το DNA και το RNA φέρουν γενετικές πληροφορίες αναπαραγωγής,

Τροποποίηση διαπερατότητας του κυτταρικού τοιχώματος	Διάσπαση των δεσμών άνθρακα-άζωτου που οδηγεί σε απολυμερισμό	η φθορά αυτών των ουσιών μπορεί να επιτύχει την αποδοτική απενεργοποίηση του κυττάρου
Υδρόλυση και μηχανική διάσπαση/σχάση		

1.1.1.Τα χαρακτηριστικά του ιδανικού απολυμαντικού

Οι ιδιότητες που χρειάζεται ένα απολυμαντικό είναι[4]:

- υψηλός ρυθμός εξουδετέρωσης παθογόνων μικροοργανισμών
- χαμηλή δραστικότητα με ουσίες που περιέχονται στο νερό και χαμηλή παραγωγή επικινδύνων παραπροϊόντων
- χαμηλή τοξικότητα στους υδρόβιους οργανισμούς
- μηδενικός κίνδυνος κατά τη χρήση του
- χαμηλό κόστος λειτουργίας και συντήρησης
- εύκολη και αξιόπιστη ανιχνευσιμότητα στο νερό
- εύκολη και ασφαλής αποθήκευση και μεταφορά
- υψηλή διαθεσιμότητα στην αγορά
- αποδοτικότητα στις θερμοκρασίες περιβάλλοντος
- υψηλή σταθερότητα, να μπορεί να διατηρεί την απολυμαντική του ικανότητα για μεγάλο χρονικό διάστημα
- μη διαβρωτικό για τις διάφορες επιφάνειες με τις οποίες έρχεται σε επαφή
- ομοιογένεια

1.1.2.Κινητική της απολύμανσης

1.1.2.1 Χρόνος επαφής

Ο χρόνος επαφής αποτελεί μια από τους πιο σημαντικούς παράγοντες στη διεργασία απολύμανσης. Στις αρχές του 1990, η Βρετανίδα Harriet Chick, παρατήρησε πως για κάποια συγκεκριμένη δόση απολυμαντικού, όσο μεγαλύτερος είναι ο χρόνος επαφής, τόσο μεγαλύτερη είναι η θανάτωση. Κατά τη διαφορεική μορφή ο νόμος της Chick είναι [3]:

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

όπου:

$\frac{dN_t}{dt}$ =ο ρυθμός μεταβολής της συγκέντρωσης των οργανισμών σε σχέση με το χρόνο

k=σταθερά ρυθμού απενεργοποίησης,

N_t =αριθμός των οργανισμών σε χρόνο

t=ο χρόνος

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

$$\ln\left(\frac{N_t}{N_0}\right) = -kt$$

Η τιμή της σταθεράς του ρυθμού απενεργοποίησης k της εξίσωσης μπορεί να ληφθεί από το διάγραμμα του $-\ln\left(\frac{N_t}{N_0}\right)$ ως προς το χρόνο επαφής t.

1.2.Βακτήρια

1.2.1. Μικροβιολογική ποιότητα υδάτων

Η μικροβιολογική ποιότητα των υδάτων είναι ένα πολύ σημαντικό ζήτημα δεδομένων των κινδύνων που επηρεάζουν την δημόσια υγεία. Τα υδάτινα συστήματα (πόσιμο νερό, νερά αναψυχής), πρέπει να διακρίνονται από συγκεκριμένες ιδιότητες σε σχέση με την επίδραση που έχουν στην ανθρώπινη υγεία. Η μικροβιολογική ποιότητα των υδάτων αξιολογείται με την ανίχνευση της κοπρανώδους μόλυνσης, με τον έλεγχο της παρουσίας και συγκέντρωσης συγκεκριμένων μικροοργανισμών-δεικτών. Τέτοιοι μικροοργανισμοί-δείκτες είναι τα κοπρανώδη κολοβακτηριοειδή, η *Escherichia coli*, και οι κοπρανώδεις στρεπτόκοκκοι (Εντερόκοκκοι). Μπορεί να σχετίζεται η παρουσία τους, άμεσα με κοπρανώδες υλικό, το οποίο μπορεί να προκαλέσει προβλήματα στην υγεία του ανθρώπου αλλά και στο περιβάλλον, μιας και είναι πιθανό να περιέχει βακτήρια, ιούς και πρωτόζωα. Η μικροβιολογική ποιότητα υποβαθμίζεται από την κοπρανώδη μόλυνση και είναι κάτι που χρειάζεται άμεση και απαραίτητη λήψη μέτρων για την εξυγίανση και αντιμετώπιση του κάθε προβλήματος[5].

Οι μικροοργανισμοί-δείκτες χρειάζεται να πληρούν ορισμένους όρους:

- Ο μικροοργανισμός θα πρέπει να είναι κατάλληλος για όλους τους τύπους υδάτων
- Ο μικροοργανισμός θα πρέπει να είναι παρών όποτε υπάρχουν εντερικά παθογόνα

- Ο μικροοργανισμός θα πρέπει να έχει μεγαλύτερο χρόνο επιβίωσης από το πιο ανθεκτικό εντερικό παθογόνο
- Ο μικροοργανισμός δεν θα πρέπει να αναπτύσσεται στο νερό
- Η μέθοδος ανάλυσης θα πρέπει να είναι απλή στην εφαρμογή της
- Η πυκνότητα του μικροοργανισμού-δείκτη θα πρέπει να σχετίζεται άμεσα με το βαθμό της κοπρανώδους μόλυνσης
- Ο μικροοργανισμός θα πρέπει να είναι μέλος της εντερικής χλωρίδας θερμόαιμων ζώων.

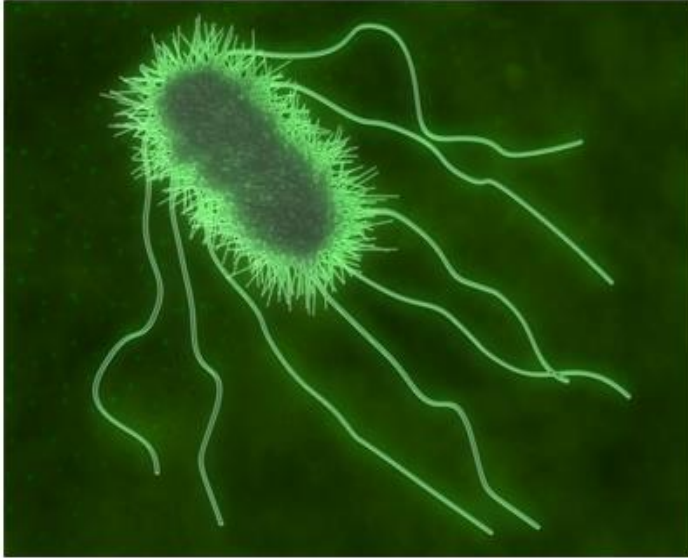
Οι βακτηριακοί δείκτες που χρησιμοποιούνται για την εκτίμηση της μικροβιολογικής ποιότητας των νερών είναι:

- 1) Κοπρανώδη κολοβακτηριοειδή
- 2) Κοπρανώδεις στρεπτόκοκκοι.

Τα βακτήρια είναι μονοκύτταροι οργανισμοί, έχουν σχήμα σφαίρας ή σπείρας. Ορισμένοι τύποι βακτηρίων μπορούν να σχηματίσουν «σπόρια», τα οποία περιέχουν ένα προστατευτικό στρώμα που μπορεί να θεωρηθεί ανθεκτικό στη θερμότητα και μπορεί να προστατεύσει τα βακτήρια από την έλλειψη υγρών και τροφίμων. Τα βακτήρια πολλές φορές χρησιμοποιούνται ως δείκτες για την δημιουργία υδατικών ποιοτικών προτύπων. Σε κάθε χώρα υπάρχει νομοθεσία που ορίζει τα όρια των συγκεντρώσεων για κάθε μικροοργανισμό, ανάλογα με την χρήση του νερού (πχ πόσιμο, νερό ύδρευσης, νερό άρδευσης κλπ). Στην παρούσα διπλωματική ελέγχτηκε η αδρανοποίηση δυο βακτηρίων, των *E.coli* και του *E. faecalis*.

1.2.2. *Escherichia coli*

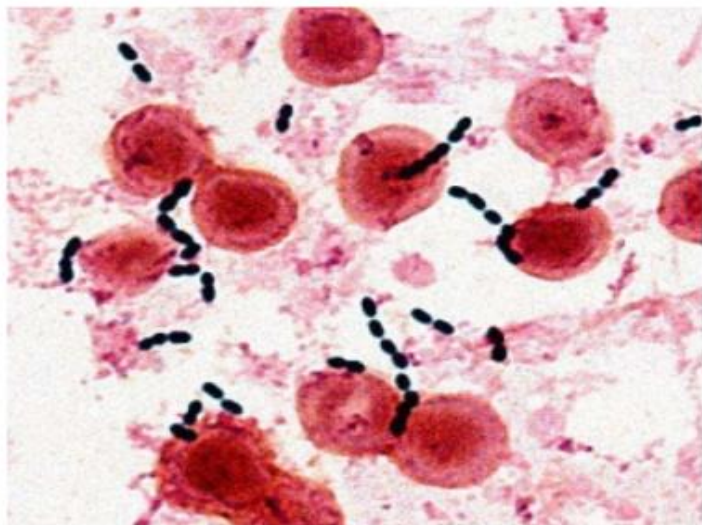
Η *Escherichia coli* είναι ένα Gram-αρνητικό βακτήριο το οποίο ανήκει στην οικογένεια *Enterobacteriaceae*, με ραβδοειδές σχήμα το οποίο βρίσκεται στο έντερο των θερμόαιμων ζώων (άνθρωποι και ζώα). Συνήθως αποτελούν μέρος της φυσικής χλωρίδας του εντέρου και μπορούν να φανούν ωφέλιμα προς τους ξενιστές καθώς παράγουν βιταμίνη K2 και αποτρέπουν την εγκατάσταση εκεί άλλων βακτηρίων. Παράλληλα μπορούν να παράγουν διάφορες τοξίνες όπως η επικίνδυνη τοξίνη shiga που οφείλονται για την καταστροφή του εντέρου και επίσης όταν βρίσκεται σε διπλανά όργανα όπως την ουροδόχο κύστη μπορεί να προκαλέσει ουρολοίμωξη. Το βακτήριο δεν είναι ανθεκτικό σε υψηλές θερμοκρασίες και πεθαίνει όταν θερμαίνεται στους 70 °C για αρκετό χρονικό διάστημα, ενώ μπορεί να επιβιώσει στους 4 °C για αρκετές μέρες υπό ορισμένες συνθήκες.[6], [7]



Εικόνα 1 Μορφολογικά χαρακτηριστικά του *E. coli*[8].

1.2.3. *Enterococcus faecalis*

Το βακτήριο ανήκει στην οικογένεια των *Enterococcaceae*. Αποτελεί και αυτό μέρος της εντερικής χλωρίδας ζώων, ασπόνδηλων, θηλαστικών πτηνών καθώς και των ανθρώπων. Ο *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) λόγω του ότι αποικίζει στη γαστρεντερική οδό ανθρώπων και ζώων συχνά συναντάται στο έδαφος, σε τρόφιμα, στα φυτά, τα αστικά λύματα. Το συγκεκριμένο βακτήριο είναι σταθερό και ανθεκτικό, χαρακτηριστικό που δείχνει την επιβίωσή του ακόμα και σε δυσμενείς συνθήκες. Πιο συγκεκριμένα, το βακτήριο μπορεί να προσαρμόζεται και να επιβιώνει σε μεγάλο εύρος θερμοκρασιών (10-45 °C) και pH(4,5-10). Ταυτόχρονα, υψηλά επίπεδα αλατότητας και η παρουσία άλλων μικροοργανισμών δεν επηρεάζουν την ανάπτυξή του και τον πολλαπλασιασμό του.[9] Όσον αφορά την μορφολογία τους, τα περισσότερα από αυτά είναι ωοειδή με μέση διάμετρο 0,5-1μm. Είναι διατεταγμένα σε ζεύγη ή σε μικρές αλυσίδες με αποικίες οι οποίες μπορούν να είναι λείες, μη διαφανείς, σφαιρικές, λευκές ή κρεμώδεις πάνω σε τρυβλία petri οι οποίες περιέχουν κατάλληλο θρεπτικό υλικό.[10]



Εικόνα 2 Μορφολογικά χαρακτηριστικά του *E. faecalis* [11]

ΟΔΗΓΙΑ 98/83/ΕΚ ΤΟΥ ΣΥΜΒΟΥΛΙΟΥ
της 3ης Νοεμβρίου 1998
σχετικά με την ποιότητα του νερού ανθρώπινης κατανάλωσης

ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΚΑΙ ΠΑΡΑΜΕΤΡΙΚΕΣ ΤΙΜΕΣ	
ΜΕΡΟΣ Α	
Μικροβιολογικές παράμετροι	
Παράμετρος	Παραμετρική τιμή (αριθμός/100 ml)
Escherichia coli (E. coli)	0
Εντερόκοκκοι	0

Για το νερό που πωλείται σε φιάλες ή δοχεία, ισχύουν τα ακόλουθα:

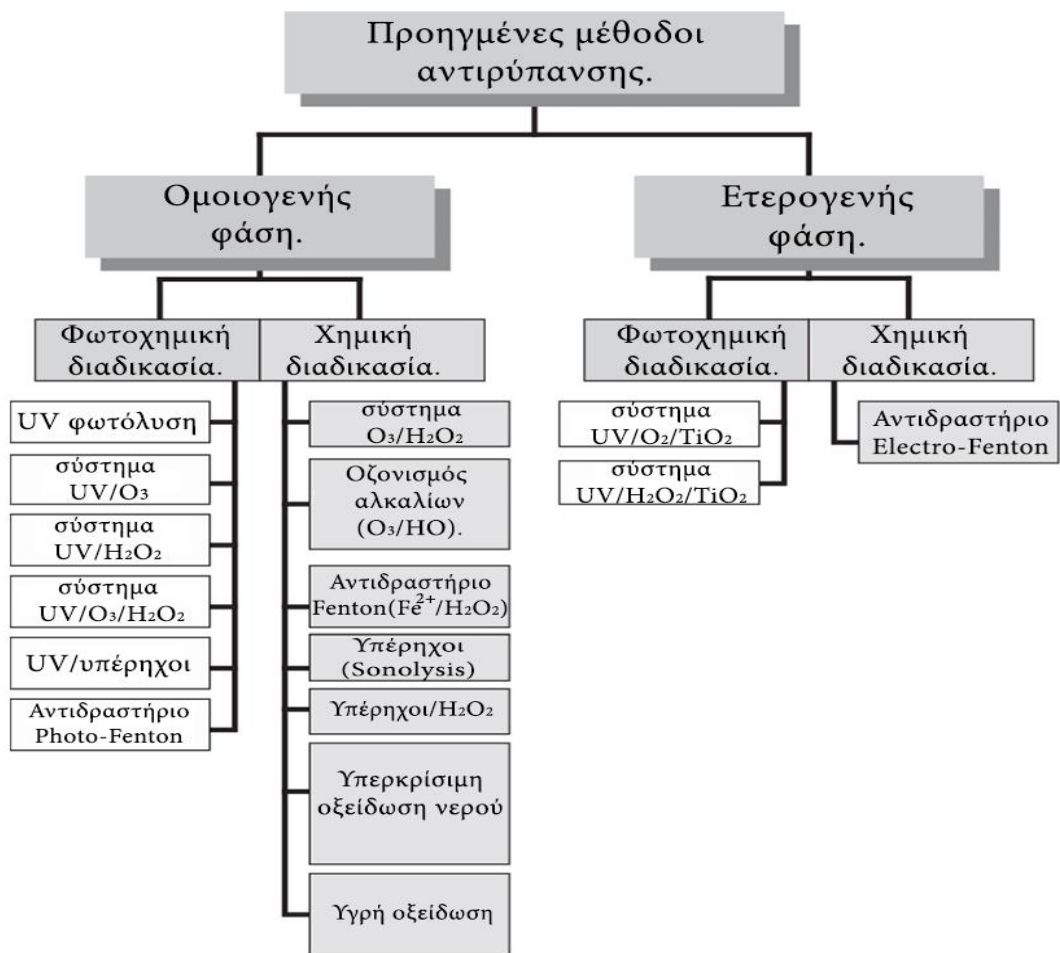
Παράμετρος	Παραμετρική τιμή
Escherichia coli (E. coli)	0/250 ml
Εντερόκοκκοι	0/250 ml
Pseudomonas aeruginosa	0/250 ml
Αριθμός αποικιών σε 22 °C	100/ml
Αριθμός αποικιών 37 °C	20/ml

Εικόνα 3 Νομοθεσία περί μικροβιολογικής ποιότητας πόσιμου νερού και εμφιαλωμένου νερού[5]

1.3. Προηγμένες μέθοδοι αντιρύπανσης (Advanced oxidation processes-AOPs)

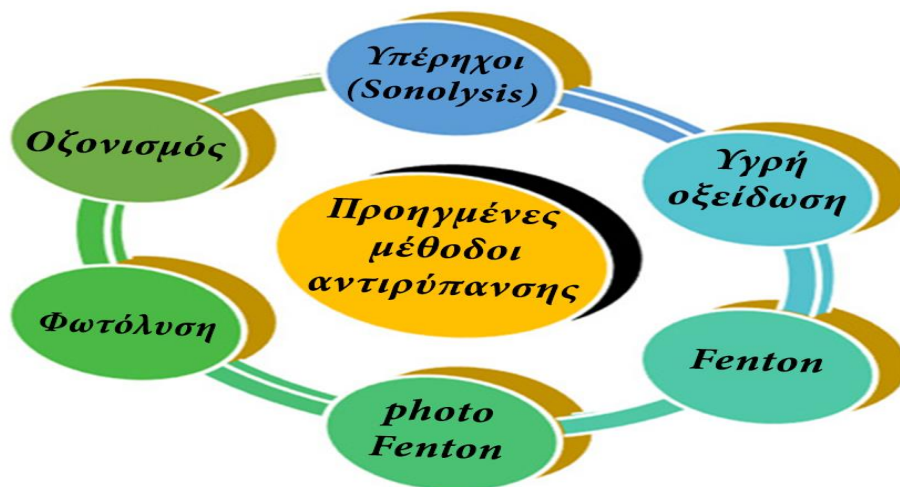
Οι κλασσικές μέθοδοι απολύμανσης παρότι είναι αποτελεσματικές και έχουν πολλά θετικά χαρακτηριστικά έχουν παράλληλα και αρκετές ιδιότητες που δημιουργούν προβλήματα. Κάποια σημαντικά ζητήματα είναι το οικονομικό φορτίο που φέρουν. Ένα παράδειγμα στην πλέον διαδεδομένη μέθοδο της χλωρίωσης είναι κάποια παραπροϊόντα που δημιουργούνται και θεωρούνται μεταλλαξιγόνα και κατά συνέπεια καρκινογόνα που επηρεάζουν την ανθρώπινη υγεία[12]. Για αυτό το σκοπό έχουν γίνει μελέτες για την εύρεση διαφορετικών τεχνολογιών απολύμανσης, οι οποίες δεν επιφέρουν προβλήματα στην ανθρώπινη υγεία.

Οι προηγμένες μέθοδοι οξειδωσης (Advanced Oxidation Processes-AOPs) προτάθηκαν για πρώτη φορά στην δεκαετία του 1980 [13] για την επεξεργασία πόσιμου νερού και αργότερα μελετήθηκαν ευρέως για την επεξεργασία διαφορετικών λυμάτων. Αντιπροσωπεύουν μια ομάδα χημικών διεργασιών που αποσκοπούν στην απομάκρυνση διαφόρων οργανικών και ανόργανων ρύπων οι οποίοι δεν απομακρύνονται με τις συμβατικές μεθόδους επεξεργασίας νερού και αποβλήτων. Αυτές οι τεχνολογίες βασίζονται στην επί τόπου (*insitu*) δημιουργία ενδιάμεσων οξειδωτικών χημικών ειδών με υψηλή δράση, όπως H_2O_2 , OH^\cdot , O_2^\cdot , O_3 για την αποδόμηση οργανικών ενώσεων και παραπροϊόντων απολύμανσης και αδρανοποίηση παθογόνων μικροοργανισμών. Τέτοια είδη είναι η φωτόλυση (UV-B,C), ο οζονισμός (O_3 , $\text{O}_3/\text{UV-B}$, $\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2$), η ετερογενής φωτοκατάλυση ($\text{TiO}_2/\text{UV-A}$), το αντιδραστήριο Fenton και Photo-Fenton (ομοιογενής φωτοκατάλυση), η υγρή οξείδωση, η ηλεκτροχημική οξείδωση, η (καταλυτική ή μη) οξείδωση σε υψηλές πιέσεις και θερμοκρασίες[14],[15],[16],[12],[17]. Παρακάτω στην Εικόνα 4. αναγράφονται συνοπτικά οι τύποι τεχνολογιών των προηγμένων μεθόδων αντιρύπανσης.



Εικόνα 4 Προηγμένες διεργασίες αντιρύπανσης, τύποι τεχνολογιών. [18]

Παρακάτω στην Εικόνα 5 φαίνεται ο κύκλος των προηγμένων τεχνολογιών. Πιο συγκεκριμένα παρουσιάζονται οι γενικοί τύποι που περιλαμβάνονται σε αυτές.

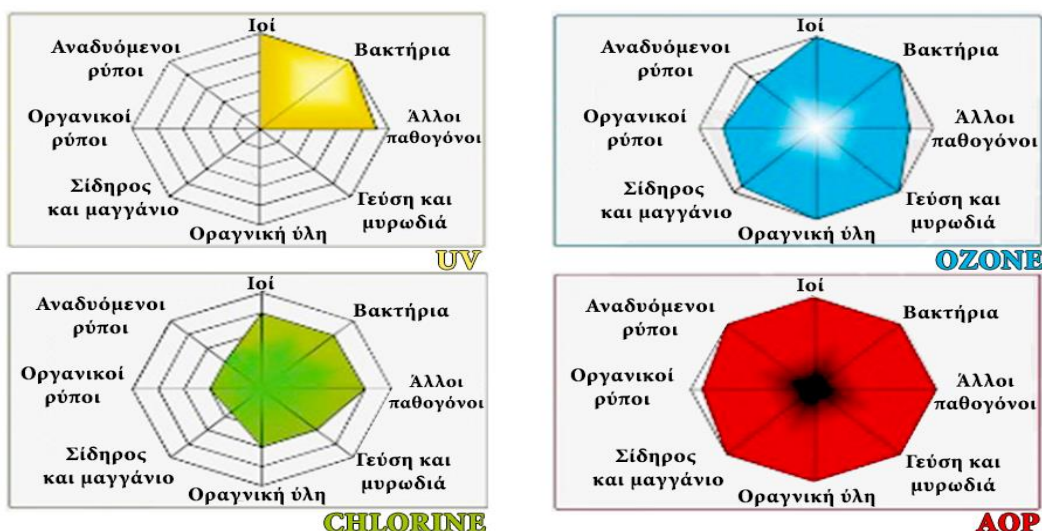


Εικόνα 5 Ταξινόμηση των μεθόδων AOPs

Ο βασικός σκοπός της προηγμένης επεξεργασίας με τις παραπάνω διεργασίες είναι η απομάκρυνση διάφορων διαλυμένων οργανικών ρύπων οι οποίοι δεν αποακρύνονται με τις κλασσικές μεθόδους επεξεργασίας νερών και υγρών αποβλήτων, ενώ οι περισσότερες AOPs συμβάλλουν και στην απολύμανση του νερού και των αποβλήτων [14],[15],[19]. Παράλληλα, στόχος των παραπάνω διεργασιών είναι η καταστροφή των κυτταρικών συστατικών των μικροοργανισμών από ελεύθερες οξειδωτικές ρίζες. Κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας (AOPs) δημιουργούνται ρίζες υδροξυλίου (HO^\bullet) κάτω από σχετικά ήπιες θερμοκρασίες και πίεσης [14],[15] σε επαρκή ποσότητα για την αφαίρεση μολυσματικών ουσιών από το νερό. Οι ρίζες υδροξυλίου αντιδρούν με οργανικές ενώσεις και είτε δημιουργούν είτε αποσπούν υπεροξειδικές ρίζες και έτσι πραγματοποιούνται οξειδωτικές αντιδράσεις. Όπως έχει αναφερθεί, οι ελεύθερες ρίζες υδροξυλίου (HO^\bullet), θεωρούνται ένα από τα δραστικότερα οξειδωτικά χημικά μέσα με δυναμικό οξείδωσης 2,8 V (pH=0) και 1,95V (pH=14). Η οξειδωτική διάσπαση των οργανικών ρύπων πραγματοποιείται σε τρεις βασικές κατηγορίες αντιδράσεων:

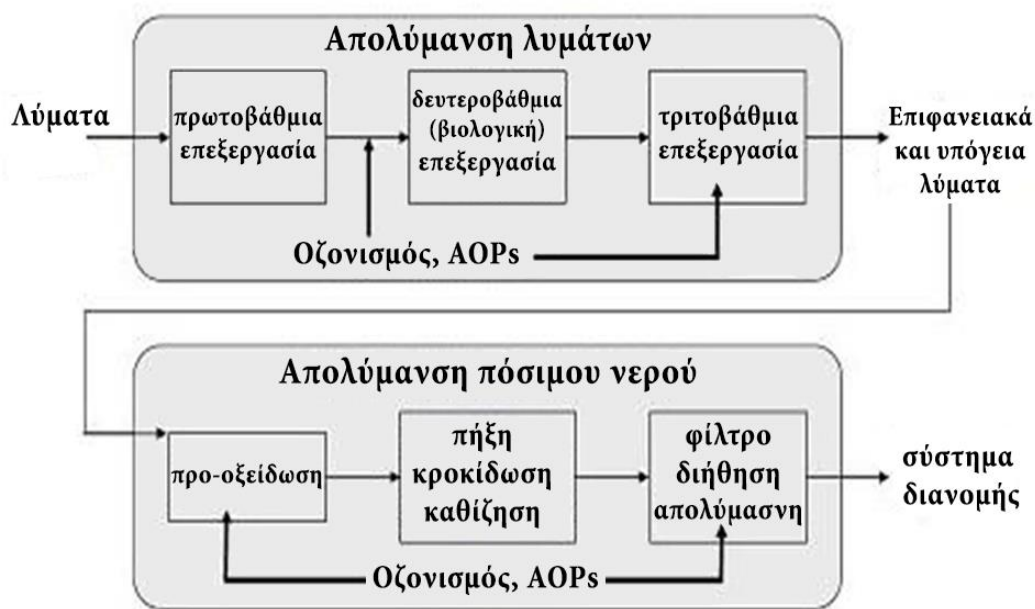
- αντιδράσεις προσθήκης ελεύθερων ριζών
- αντιδράσεις απόσπασης υδρογόνου
- αντιδράσεις μεταφοράς ηλεκτρονίων

Είναι σημαντικό να τονιστεί πως κατά την αντίδραση των ριζών υδροξυλίου με τους οργανικούς ρύπους παράγονται ρίζες άνθρακα (R^\bullet ή RO^\bullet) όπου σε συνδυασμό με το διαλυμένο οξυγόνο μετασχηματίζονται σε υπεροξειδικές οργανικές ρίζες (ROO^\bullet) που κατά συνέπεια διασπώνται σε απλούστερες ενώσεις. Οι ρίζες υδροξυλίου έχουν μικρή διάρκεια ζωής και παράγονται *insitu* με αντιδραστήρια παρουσία οξειδωτικών, ακτινοβολίας ή και καταλυτών (πχ Fe^{2+}) [14],[20].



Εικόνα 6 Προηγμένες μέθοδοι αντιρύπανσης (AOPS) συγκριτικά με τις κλασσικές μεθόδους απολύμανσης [21]

Στην παραπάνω εικόνα απεικονίζονται οι κλασσικές μέθοδοι απολύμανσης και οι προηγμένες διεργασίες αντιρύπανσης καθώς και το εύρος που καλύπτουν όπως η απολύμανση ιών, βακτηρίων, παθογόνων, οργανικών ρύπων, άλλων αναδεδόμενων ρύπων, εξάλειψη οσμής και γεύσης κα. Είναι διακριτό πως την καλύτερη απόδοση έχουν η οζόνωση και οι προηγμένες μέθοδοι αντιρύπανσης. Ωστόσο, είναι πολύ σημαντικό που οι προηγμένες μέθοδοι που καλύπτουν ένα τόσο μεγάλο εύρος καθώς θεωρούνται οικονομικές και φιλικές με το περιβάλλον σε σχέση με την οζόνωση όπου είναι οικονομικά αφορητή και φέρουν υπολείμματα τα οποία προκαλούν συνέπειες στο περιβάλλον και στην ανθρώπινη υγεία.



Εικόνα 7 Εφαρμογές των AOPs και της οξόνωσης για την απολύμανση υδάτων και πόσιμου νερού.[1]

Οι AOPs μπορούν να εφαρμοστούν σε στάδια προεπεξεργασίας ώστε να ενισχυθεί η βιοαποδομησιμότητα και να μειωθεί η τοξικότητα που ακολουθείται από την βιολογική επεξεργασία. Αυτή η προσέγγιση βασίζεται στο γεγονός ότι η βιολογική επεξεργασία είναι λιγότερο δαπανηρή αλλά και περισσότερο φιλική προς το περιβάλλον από άλλες μεθόδους. Οι προηγμένες τεχνολογίες μπορούν να εγκατασταθούν σε διαφορετικά στάδια επεξεργασίας αποβλήτων (και πόσιμων υδάτων), ανάλογα με την σύνθεση και την επιθυμητή ποιότητα εκροής. Πιο συγκεκριμένα μπορούν να εγκατασταθούν είτε ως τριτοβάθμια επεξεργασία μετά τη βιολογική (δευτεροβάθμια) επεξεργασία λυμάτων είτε ως στάδια προεπεξεργασίας ώστε να ενισχυθεί η αποδόμηση των οργανικών μολυσματικών ουσιών[22].

1.4.Sodium Persulfate ($\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$)

1.4.1Φυσικές και χημικές ιδιότητες

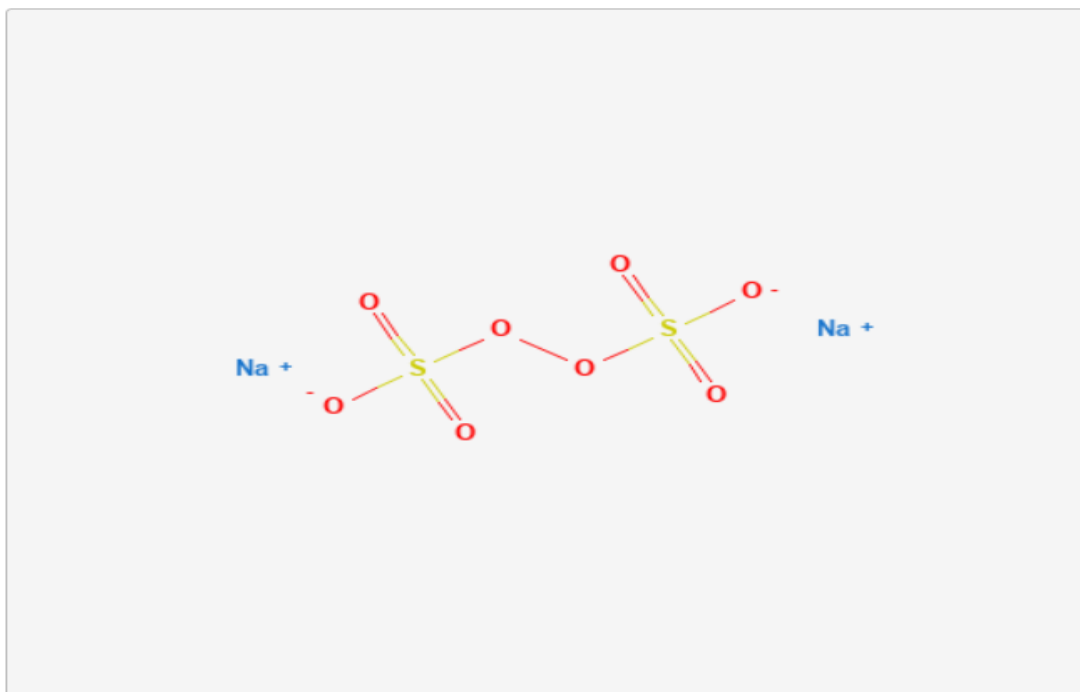
Το υπερθειικό άλας είναι μια ανόργανη ένωση που περιλαμβάνει ιόντα $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$. Οι πιο γνωστές ενώσεις είναι το υπερθειικό κάλιο, το υπερθειικό αμμώνιο και το υπερθειικό νάτριο ($\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$) με το οποίο και ασχοληθήκαμε. Είναι ανόργανες, στερεές ουσίες με ισχυρές οξειδωτικές ιδιότητες. Το υπερθειικό κάλιο και αμμώνιο χρησιμοποιούνται λιγότερο παρόλα αυτά έχουν συγκρίσιμα στοιχεία. Παράλληλα, το υπερθειικό νάτριο διαλύεται στο νερό και διασπάται σε υπερθειικά ανιόντα και σε κατιόντα νατρίου. Σε θερμοκρασίες των 100°C και άνω το άλας αποσυντίθεται. Παρόλα αυτά, αν βρίσκεται σε θερμοκρασία δωματίου και το pH είναι ουδέτερο τότε οι ιδιότητες του παραμένουν σταθερές.

Πίνακας 2 Φυσικές και χημικές ιδιότητες.

(https://en.wikipedia.org/wiki/Sodium_persulfate):

Χημική ονομασία	Υπερθειικό νάτριο
Φυσική μορφή	Κρυσταλλική (μονοκλινική)
Σημείο τήξης	Αποσυντίθεται σε περίπου >180 °C
Σημείο βρασμού	Δεν εφαρμόζεται
Τύπος	Na ₂ O ₈ S ₂
Μοριακό βάρος g/mol	238.1
Πυκνότητα κρυστάλλων σε 20 °C (g/cc)	2.59
Χρώμα	Άσπρο
Οσμή	Καμία
Ειδική πυκνότητα (g/cc)	1.12
Διαλυτότητα (g/100g από H ₂ O) at 25 °C σε νερό	73
Διαλυτότητα (g/100g από H ₂ O) at 50 °C σε νερό	86

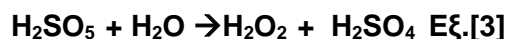
Sodium persulfate



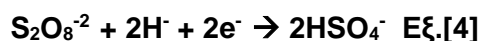
Εικόνα 8 Χημική ένωση του υπερθειικού νατρίου [23]

1.5.Sodisum Persulfate ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8$)-Νέο οξειδωτικό σε προηγμένες μεθόδους οξείδωσης (AOPs).

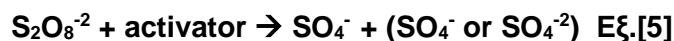
Οι AOPs επεκτάθηκαν στις οξειδωτικές διεργασίες με θειικές ρίζες (SO_4^\cdot). Διαφορετικά από τα κοινά οξειδωτικά όπως το χλώριο και το όζον που έχουν διπλό ρόλο απολύμανσης οι AOPs εφαρμόζονται κυρίως για την καταστροφή οργανικών ή ανόργανων μολυσματικών ουσιών στο νερό και στα λύματα. Αν και μελετήθηκε η αδρανοποίηση παθογόνων [24],[25] ένα βασικό μειονέκτημα των AOPs είναι το γεγονός ότι οι οξειδωτικές ρίζες έχουν μικρό χρόνο ημιζωής[14],[15]. Οι προηγμένες οξειδωτικές μέθοδοι χρησιμοποιούν σίδηρο, ηλεκτρόδια, οξειδία μετάλλων και ακτινοβολία (υπεριώδης ακτινοβολία, ηλιακό φως, υπερήχους) ξεχωριστά ή σε συνδυασμό υπό ήπιες συνθήκες. Γενικά μπορούμε να παρατηρήσουμε πως για κάθε οξειδωτικό υπάρχει μια βέλτιστη δόση. Η διαδικασία απολύμανσης νερού διασφαλίζει το πόσιμο νερό απενεργοποιώντας τους παθογόνους μικροοργανισμούς. Ενώ τα παραδοσιακά απολυμαντικά μέσα πχ χλώριο, όζον και υπεριώδης ακτινοβολία μπορούν να έχουν επιθυμητή αποτελεσματικότητα, συνήθως προκύπτουν ζητήματα σχετικά με το κόστος και τη μεταφορά τους. Αυτή η μελέτη επιδιώκει να αναπτύξει μια εναλλακτική τεχνική απολύμανσης που να είναι οικονομική και αποδοτική. Είναι γνωστό ότι το υπερθειικό άλας είναι ένα ισχυρό οξειδωτικό. Τα υπερθειικά άλατα όταν βρίσκονται σε υδατικά διαλύματα διαχωρίζονται για να σχηματίσουν το υπερθειικό ανιόν ($\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$). Η αποσύνθεση του υπερθειικού ανιόντος σε υδατικά διαλύματα περιλαμβάνει τις ακόλουθες αντιδράσεις [26]:



Το υπερθειικό αποσυντίθεται σε αραιό οξύ, ουδέτερα και αλκαλικά διαλύματα σύμφωνα με την παραπάνω εξίσωση Εξ[1]. Με τις εξισώσεις Εξ[2], Εξ[3] αντιδρούν σε ισχυρά όξινα διαλύματα [26]. Το υπερθειικό ανιόν είναι ένα ισχυρό οξειδωτικό με δυναμικό οξείδωσης 2.12 V[27]:



Συνεπώς, μπορεί να αποσυνθέσει πολλούς περιβαλλοντικούς ρύπους. Το υπερθειικό ανιόν, γενικά, έχει αργή κινητική οξείδωση σε τυπικές θερμοκρασίες για τα περισσότερα μολυσματικά είδη και μπορεί να εφαρμοστεί σε έναν περιορισμένο αριθμό μολυσματικών παραγόντων. Κάτω από αυτές τις συνθήκες ουσιαστικά το υπερθειικό ενεργοποιείται για την οξείδωση των ρύπων. Με την παρουσία διαφόρων ενεργοποιητών μπορεί να σχηματιστεί πιο ισχυρό οξειδωτικό της ελεύθερης θειικής ρίζας (SO_4^\cdot) με δυναμικό οξείδωσης 2.5-3.1 V [28],[2]



Η εφαρμογή γίνεται στην ενεργοποιημένη ρίζα του υπερθειικού $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$ η οποία πραγματοποιείται μέσω της χρήσης αυξημένων θερμοκρασιών (35-40 °C), με ιόντα σιδήρου, με ακτινοβολία, με αυξημένο pH ή με υπεροξείδιο του υδρογόνου.

Παράλληλα, οι ενεργοποιημένες υπερθειικές αντιδράσεις έχουν ευρεία εφαρμογή για περιβαλλοντική αποκατάσταση, μιας και οι σχηματισμένες ρίζες αντιδρούν με οργανικές χημικές ουσίες που προκαλούν μερική ή πλήρη απολύμανση. Επιπλέον η *in situ* αποκατάσταση της ενεργοποιημένης υπερθειικής οξειδωσης είναι πιθανό να προτιμάται σε σχέση με τις διεργασίες οξειδωσης υδροξυλικών ριζών, καθώς το υπερθειικό ανιόν είναι πιο σταθερό. Για την ενίσχυση της αποτελεσματικότητας του ενεργοποιημένου υπερθειικού άλατος χρησιμοποιούνται παραδοσιακές μεθόδους και αναπτύσσουν νέες τεχνικές. Αυτές οι τεχνικές που περιλαμβάνονται στην κατηγορία των AOPs, δείχνουν αρκετά σημαντικές ως προς τις τεχνικές απολύμανσης για αδρανοποίηση διαφόρων παθογόνων που βρίσκονται στο νερό[29].

1.5.1 Ενεργοποίηση Sodium Persulfate ($\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$)

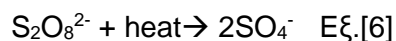
Παρόλο που το $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8$ είναι ένα ισχυρό οξειδωτικό μπορεί να αντιδράσει πιο ισχυρά με την παρουσία διάφορων παραγόντων όπως θερμότητα, ακτινοβολία UVA, υπέρηχους, ανιόντα σιδήρου κ.α, καθώς και συνδυασμοί των παραπάνω. Στη παρούσα διπλωματική ασχοληθήκαμε με την ενεργοποίηση υπερθειικού άλατος αρχικά με ακτινοβολία UVA, με θερμότητα και τέλος με τον συνδυασμό και των τριών. Χωρίς ενεργοποίηση, το υπερθειικό ανιόν αντιδρά λιγότερο προς την αδρανοποίηση των βακτηρίων συγκριτικά με την ενεργοποίησή του, λόγω της χαμηλότερου δυναμικού οξειδωσης ($E^\circ=2.01\text{V}$) [30]. Η θερμότητα και το υπεριώδες φως δίνουν ενέργεια στο υπερθειικό ανιόν, το οποίο έχει ως αποτέλεσμα τη διάσπαση του δεσμού του υπεροξειδίου και τη διαμόρφωση δυο θειικών ριζών[26].

1.5.1.1 Ενεργοποίηση με θερμότητα

Μεταξύ των διαφόρων μεθόδων ενεργοποίησης, η ενεργοποίηση με θερμότητα παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον. Σε ενεργοποίηση υπερθειικού με θερμότητα το υπερθειικό χρησιμοποιείται συνήθως ως πρόδρομος του σχηματισμού του SO_4^- και η συμμετρική διάσπαση του υπεροξειδικού δεσμού έχει ως αποτέλεσμα τον σχηματισμό του SO_4^- , που μετέπειτα οξειδώνει τους ρύπους[28]. Πολλές πρόσφατες μελέτες κατέγραψαν την αποτελεσματικότητα αυτής της μεθόδου σε αποδόμηση ζιζανιοκτόνων [31],[32], των βιομηχανικών χημικών[33],[34] και των φαρμακευτικών ουσιών[35]. Η ενεργοποίηση με θερμότητα έχει αρκετά πλεονεκτήματα σε σύγκριση με άλλες προσεγγίσεις ενεργοποίησης. Για παράδειγμα, η ενεργοποίηση με θερμότητα δεν απαιτεί πρόσθετα χημικά, τα οποία ελαχιστοποιούν την κατανάλωση του υπερθειικού κατά τη διάρκεια του πρώιμου σταδίου ανάμιξης με τους ενεργοποιητές[28]. Διαθέτει υψηλή χημική σταθερότητα και μπορεί να εισβάλλει σε μεγάλη απόσταση από τη ζώνη ρύπανσης στους υδροφορείς πριν την ενεργοποίηση. Παράλληλα, η ενεργοποίηση με θερμότητα χρησιμοποιήθηκε συχνά για να διερευνηθούν οι μηχανισμοί αντίδρασης μεταξύ SO_4^- και διαφόρων ρύπων λόγω της απλότητας και της μεγαλύτερης αποδοτικότητάς του. Παρόλα

αυτά, ο εντοπισμός για τις πιο λειτουργικές παραμέτρους είναι πολύ σημαντικό για την επιτυχή ενεργοποίηση και διαδικασίας οξειδωσης. Η αύξηση της θερμοκρασίας βοηθάει στην διάσπαση του υπερθειικού και στην οξειδωση των μολυσματικών ουσιών με αποτέλεσμα να μειώνεται ο χρόνος αποκατάστασης[28]. Ωστόσο, η υψηλότερη θερμοκρασία αυξάνει το λειτουργικό κόστος και μπορεί επίσης να ευνοεί την δράση ριζών προς ριζικά αντί ριζών προς ρυπαντικές ουσίες και έτσι να μειώνεται η αποτελεσματικότητα της θεραπείας[28]. Τέλος, οι επιδράσεις διαφόρων φυσικών συστατικών του νερού που αναμένεται να συναντηθούν κατά τη θεραπεία, δεν είναι καλά τεκμηριωμένες και δικαιολογούν περαιτέρω μελέτη στη μέθοδο ενεργοποίησης υπερθειικού άλατος με θερμότητα.

Το υπερθειικό σχηματίζει δυο θειικές ρίζες μέσω της θραύσης του δεσμού O-O λόγω της ενέργειας που προσδίδει στο υπερθειικό (Εξ.[6]), [26]. Η ενέργεια ενεργοποίησης της αντίδρασης είναι $119-129 \text{ kJ mol}^{-1}$, $134-139 \text{ kJ mol}^{-1}$ και $100-116 \text{ kJ mol}^{-1}$ κάτω από ουδέτερες, βασικές και όξινες συνθήκες [26]. Σε θερμοκρασία περιβάλλοντος η υπερθειική οξειδωση συνήθως δεν είναι αποτελεσματική. Συνήθως χρησιμοποιείται σε υψηλές θερμοκρασίες ($40-60 \text{ }^{\circ}\text{C}$) για την ενίσχυση των μηχανισμών οξειδωσης. Το θερμικά ενεργοποιημένο υπερθειικό άλας έχει ταχύτερους ρυθμούς αντίδρασης [33],[36]. Επιπλέον, καθώς η θερμοκρασία αυξάνεται ο ρυθμός αντίδρασης για τον σχηματισμό θειικών ριζών να μειώνει τον βαθμό απομάκρυνσης[37],[2].

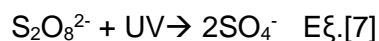


Στην παρούσα μελέτη, για την αδρανοποίηση των βακτηρίων, οι θερμοκρασίες που χρησιμοποιήθηκαν ήταν $40-50-60 \text{ }^{\circ}\text{C}$ με διάφορες συγκεντρώσεις οξειδωτικού.

1.5.1.2 Ενεργοποίηση με UVA

Η ενεργοποίηση του υπερθειικού άλατος προς παραγωγή $\text{SO}_4^{\cdot-}$ μπορεί επίσης να πραγματοποιηθεί μέσω της υπεριώδους ακτινοβολίας, σπάζοντας τον δεσμό O-O με παρόμοιο τρόπο όπως στην ενεργοποίηση υπερθειικού μέσω θερμότητας. Η αποτελεσματικότητα αυτής της φωτόλυσης εξαρτάται έντονα από την απορροφητικότητα του οξειδωτικού. Η υπεριώδης ακτινοβολία (UV) ταξινομείται συνήθως σε τρεις κύριες ομάδες με βάση το μήκος κύματος, UVA(315-400nm), UVB(280-315nm), UVC(100-280nm). Οι περισσότερες μέθοδοι οξειδωσης που ενεργοποιούνται μέσω της υπεριώδους ακτινοβολίας, εκτελούνται με UVC κυρίως στα 254nm. Ωστόσο, σε αυτό το μήκος κύματος, το υπερθειικό εμφανίζει ένα χαμηλό γραμμομοριακό συντελεστή απορρόφησης, πράγμα που σημαίνει ότι απαιτείται υψηλότερη συγκέντρωση υπερθειικού ώστε να δημιουργηθούν αρκετές ρίζες, οι οποίες είναι ικανές να υποβαθμίσουν την διαδικασία της θεραπείας[38],[39]. Παρά το γεγονός ότι έχουν τιμές χαμηλού μοριακού συντελεστή απορρόφησης, σε μήκος κύματος άνω των 280nm, σε σύγκριση με το υπεροξειδίο του υδρογόνου, το υπερθειικό άλας έχει υψηλότερες τιμές απορρόφησης σε μεγαλύτερα μήκη κύματος, επιτρέποντας έτσι την εφαρμογή της UVA ακτινοβολίας προς

ενεργοποίηση του υπερθειικού[39]. Το υπερθειικό μπορεί να ενεργοποιηθεί μέσω της υπεριώδους ακτινοβολίας όπως αναγράφεται στην παρακάτω εξίσωση (Εξ.[7]) [40]. Ακόμα, επειδή η ενέργεια του δεσμού O-O στο μόριο του υπερθειικού είναι μικρότερη από ότι στο H₂O₂, απαιτείται λιγότερη ενέργεια για την παραγωγή SO₄⁻ από το υπερθειικό συγκριτικά με την παραγωγή του OH⁻ από το H₂O₂.



Στην πραγματικότητα, η φωτοχημική συμπεριφορά του υπερθειικού άλατος είναι κάτι καινούριο και έχει προσελκύσει το ενδιαφέρον πολλών ερευνητών. Κάποια παραδείγματα της ενεργοποίησης του υπερθειικού μέσω της υπεριώδους ακτινοβολίας αναγράφονται στη βιβλιογραφία[41]. Από όσο γνωρίζουμε, η βιβλιογραφία σχετικά με αυτόν τον συνδυασμό είναι ακόμα περιορισμένη[42],[43]. Για αυτό το λόγο, η μελέτη μας σκοπεύει να συμβάλει στην γνώση πάνω σε αυτόν τον τομέα[44].

2.ΣΚΟΠΟΣ

Ο σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι ο έλεγχος αποδοτικότητας της χρήσης υπερθειικού άλατος ως μέσου απολύμανσης νερού, ώστε να αναδειχθεί ως μια φιλική προς το περιβάλλον, οικονομική, και κυρίως αποτελεσματική τεχνική για την απολύμανση νερού. Στο πλαίσιο αυτό μελετήθηκε ο βαθμός αδρανοποίησης των βακτηριακών δεικτών κοπρανώδους μόλυνσης και ο έλεγχος λειτουργικών παραμέτρων όσον αφορά στην ενεργοποίηση του υπερθειικού άλατος με UVA και θερμότητα.

Πιο αναλυτικά οι στόχοι της παρούσας εργασίας είναι οι εξής:

- Έλεγχος αδρανοποίησης του Gram(-) βακτηρίου *E. coli* στο νερό με χρήση ενεργοποιημένου υπερθειικού άλατος
- Έλεγχος αδρανοποίησης του Gram(+) βακτηρίου *E. faecalis* στο νερό με χρήση ενεργοποιημένου υπερθειικού άλατος.
- Έλεγχος αποτελεσματικότητας του υπερθειικού άλατος ως μέσο απολύμανσης υδάτων
- Έλεγχος αποδοτικότητας της ενεργοποίησης του υπερθειικού άλατος με θερμότητα
- Έλεγχος αποδοτικότητας της ενεργοποίησης του υπερθειικού άλατος με ακτινοβολία UVA
- Έλεγχος αποτελεσματικότητας της ενεργοποίησης του υπερθειικού άλατος με συνδυασμό θερμότητας και ακτινοβολίας UVA

3.ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

ΥΛΙΚΑ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΑ ΥΛΙΚΑ

- Αποστειρωμένα τρυβλία Petri διαμέτρου 9cm

ΣΥΣΚΕΥΕΣ ΚΑΙ ΟΡΓΑΝΑ

- Θάλαμος επώασης (Thermo Scientific Heraeus)
- Κλίβανος υγρής αποστείρωσης (TRADE Raypa)
- Ζυγός ακριβείας (Adventure OHAUS Balance)
- Φασματοφωτόμετρο (Shimadzu UV 1240)
- Αναδευτήρας (Velp Scietifica)
- Λάμπα UVA (SYLVANIA F15W/T8/BL368)
- Υδατόλουτρο(GFL)

ΘΡΕΠΤΙΚΑ ΥΛΙΚΑ

- Nutrient Agar (Lab M)

ΧΗΜΙΚΟ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΟ

- Υπερθειικό νάτριο ($\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$) (Sigma-Aldrich).

ΒΑΚΤΗΡΙΑ

- *Escherichia coli* (DSM 498)
- *Enterococcus faecalis* (ATCC 14506)

Escherichia coli και *Enterococcus faecalis*

Τα βακτήρια *E. coli* και *E. faecalis* αναπτύχθηκαν σε θρεπτικό υλικό (Nutrient Agar) σε επώαση στους 37 °C ύστερα από τη διατήρησή τους στους -80 °C με προσθήκη γλυκερόλης.

Πειραματική διαδικασία

Η πειραματική διαδικασία έλαβε χώρα το χρονικό διάστημα από τον Οκτώβρη έως τα τέλη Μαρτίου 2019. Είναι σημαντικό να τονιστεί πως όλα τα υλικά, τα διαλύματα και τα σκεύη εργαστηριακού εξοπλισμού που χρησιμοποιήθηκαν σε όλη την διάρκεια των πειραμάτων αποστειρώνονταν σε κλίβανο υγρής αποστείρωσης στους 121 °C/ 1 atm για 30 min.

Για τον έλεγχο απολύμανσης νερού από τα βακτήρια *E. coli* και *E. faecalis* εξετάστηκαν διάφορες παραδοχές για την ενεργοποίηση του υπερθειικού νατρίου. Πιο συγκεκριμένα χρησιμοποιήθηκε ο συνδυασμός UVA/υπερθειικό νάτριο με χρήση διάφορων συγκεντρώσεων υπερθειικού ($\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$) και τάσεων υπεριώδους φωτός, θερμότητα/υπερθειικό νάτριο με χρήση διάφορων συγκεντρώσεων υπερθειικού ($\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$) και σε θερμοκρασία 40/50/60 °C καθώς και ο συνδυασμός των παραπάνω UVA/θερμότητα/υπερθειικό νάτριο. Ακόμα πραγματοποιήθηκαν control πειράματα για τον κάθε παραπάνω παράγοντα ώστε να επιβεβαιώσουμε ότι δεν υπάρχει κάποια αδρανοποίηση στα βακτήρια. Οι παραπάνω συνδυασμοί μελετήθηκαν για 30 min, 1h, 2h, 3h και 24h με διάφορες συχνότητες λήψης δείγματος στη κάθε περίπτωση.

- **Πρώτος κύκλος πειραμάτων UVA/υπερθειικό νάτριο**

Αναλυτική πειραματική διαδικασία

Τα βήματα που ακολουθήθηκαν κατά την διεξαγωγή της πρώτης περίπτωσης (UVA/υπερθειικό νάτριο) ήταν τα εξής:

1. Φωτομέτρηση τυφλού (αποστειρωμένο νερό) στα 600nm για τον μηδενισμό του φωτόμετρου
2. Δημιουργία εναιωρήματος μικροοργανισμού σε αποστειρωμένο νερό, φωτομέτρησή του ώστε η απορρόφηση στα 600nm να είναι 0.1. Αυτή η απορρόφηση αντιστοιχεί σε εναιώρημα βακτηρίων συγκέντρωσης $\sim 10^8 \text{CFU/mL}$.
3. Τοποθετήσαμε στο δοχείο αντίδρασης 297mL αποστειρωμένο νερό, 3mL του παραπάνω εναιωρήματος βακτηρίου και 100/200/300mg/L $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8$ το οποίο βρισκόταν σε συνεχή ανάδευση και σε κλειστό χώρο με τη χρήση λάμπας UVA τοποθετημένο σε ύψος 30cm.
4. Τα πειράματα διεξάγονταν σε 1 h, 2 h και 3 h με συχνότητα λήψης δείγματος 0-15-30-45-60(min), 0-30-60-90-120(min) και 0-60-120-180(min) αντίστοιχα.
5. Τα δείγματα είχαν όγκο $1000 \pm 1 \mu\text{L}$.
6. Πραγματοποίηση δεκαδικών αραιώσεων των δειγμάτων.
7. Επίστρωση $200 \pm 1 \mu\text{L}$ από κάθε αραιώση σε nutrient agar
8. Ακολουθεί επώαση στους 37 °C για 24h

9. Μετά την επώαση μετρούνταν ο αριθμός των αποικιών κάθε τρυβλίου και υπολογιζόταν η βακτηριακή συγκέντρωση (CFU/mL).

- **Δεύτερος κύκλος πειραμάτων θερμότητα/υπερθειικό νάτριο**

Τα βήματα που ακολουθήθηκαν κατά την διεξαγωγή της δεύτερης περίπτωσης (Heat/PS) ήταν τα εξής:

1. Φωτομέτρηση τυφλού (αποστειρωμένο νερό) στα 600nm για τον μηδενισμό του φωτόμετρου
2. Δημιουργία εναιωρήματος μικροοργανισμού σε αποστειρωμένο νερό, φωτομέτρησή του ώστε η απορρόφηση στα 600nm να είναι 0.1. Αυτή η απορρόφηση αντιστοιχεί σε εναιώρημα βακτηρίων συγκέντρωσης $\sim 10^8$ CFU/mL.
3. Τοποθετήσαμε στο δοχείο αντίδρασης 297mL αποστειρωμένο νερό, 3mL του παραπάνω εναιωρήματος βακτηρίου και 100/200mg/L $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8$ το οποίο βρισκόταν σε συνεχή ανάδευση μέσα στο υδατόλουτρο και σε σταθερή θερμοκρασία (40/50/60 °C).
4. Τα πειράματα διεξάγονταν σε μισή h σε 1 h σε 2 h και σε 3 h με συχνότητα λήψης 0-5-10-15-20-25-30(min), 0-10-20-30-40-50-60-(min), 0-30-60-90(min), 0-60-120-180(min).
5. Τα δείγματα είχαν όγκο $1000 \pm 1 \mu\text{L}$.
6. Πραγματοποίηση δεκαδικών αραιώσεων των δειγμάτων.
7. Επίστρωση $200 \pm 1 \mu\text{L}$ από κάθε αραιώση σε nutrient agar
8. Ακολουθεί επώαση στους 37 °C για 24h
9. Μετά την επώαση μετρούνταν ο αριθμός των αποικιών κάθε τρυβλίου και υπολογιζόταν η βακτηριακή συγκέντρωση (CFU/mL).

- **Τρίτος κύκλος πειραμάτων UVA/θερμότητα/υπερθειικό νάτριο**

Τα βήματα που ακολουθήθηκαν κατά την διεξαγωγή της τρίτης περίπτωσης (UVA/PS/Heat) ήταν τα εξής:

1. Φωτομέτρηση τυφλού (αποστειρωμένο νερό) στα 600nm για τον μηδενισμό του φωτόμετρου
2. Δημιουργία εναιωρήματος μικροοργανισμού σε αποστειρωμένο νερό, φωτομέτρησή του ώστε η απορρόφηση στα 600nm να είναι 0.1. Αυτή η απορρόφηση αντιστοιχεί σε εναιώρημα βακτηρίων συγκέντρωσης $\sim 10^8$ CFU/mL.
3. Τοποθετήσαμε στο δοχείο αντίδρασης 297mL αποστειρωμένο νερό, 3mL του παραπάνω εναιωρήματος βακτηρίου και 100/200mg/L $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8$ το οποίο βρισκόταν σε συνεχή ανάδευση μέσα στο υδατόλουτρο και σε σταθερή θερμοκρασία (40/50/60 °C) και σε κλειστό χώρο με τη χρήση λάμπας UVA.
4. Τα πειράματα διεξάγονταν σε μισή h, σε 1 h σε 2 h και σε 3 h με συχνότητα λήψης 0-5-10-15-20-25-30-35-40-50-60(min), 0-30-60(min), 0-30-60-90(min), 0-30-60-90-120-150-180(min).
5. Τα δείγματα είχαν όγκο 1000 ± 1 μL.
6. Πραγματοποίηση δεκαδικών αραιώσεων των δειγμάτων.
7. Επίστρωση 200 ± 1 μL από κάθε αραιώση σε nutrient agar
8. Ακολουθεί επώαση στους 37 °C για 24h
9. Μετά την επώαση μετρούνταν ο αριθμός των αποικιών κάθε τρυβλίου και υπολογιζόταν η βακτηριακή συγκέντρωση (CFU/mL).

4.ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ:

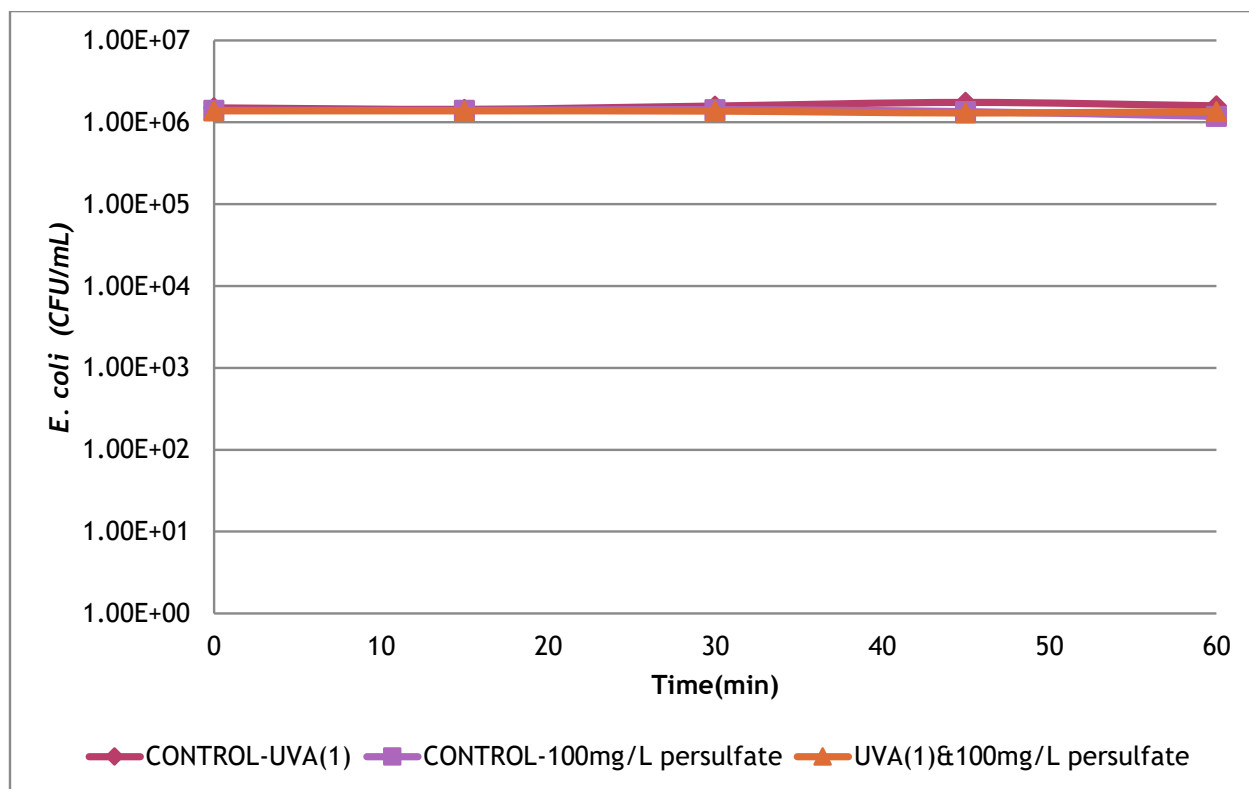
Παρακάτω παρατίθενται τα αποτελέσματα ανά κύκλο πειραμάτων και ανά βακτήριο που εξετάστηκε.

- **Πρώτος κύκλος πειραμάτων UVA/υπερθειικό νάτριο**

Στην ενότητα αυτή παρουσιάζονται τα αποτελέσματα όσον αφορά την ενεργοποίηση υπερθειικού άλατος με την χρήση UVA λάμπας. Πρώτα παρατίθενται τα αποτελέσματα σχετικά με το βακτήριο *E.coli* και μετά για τον *E. faecalis*.

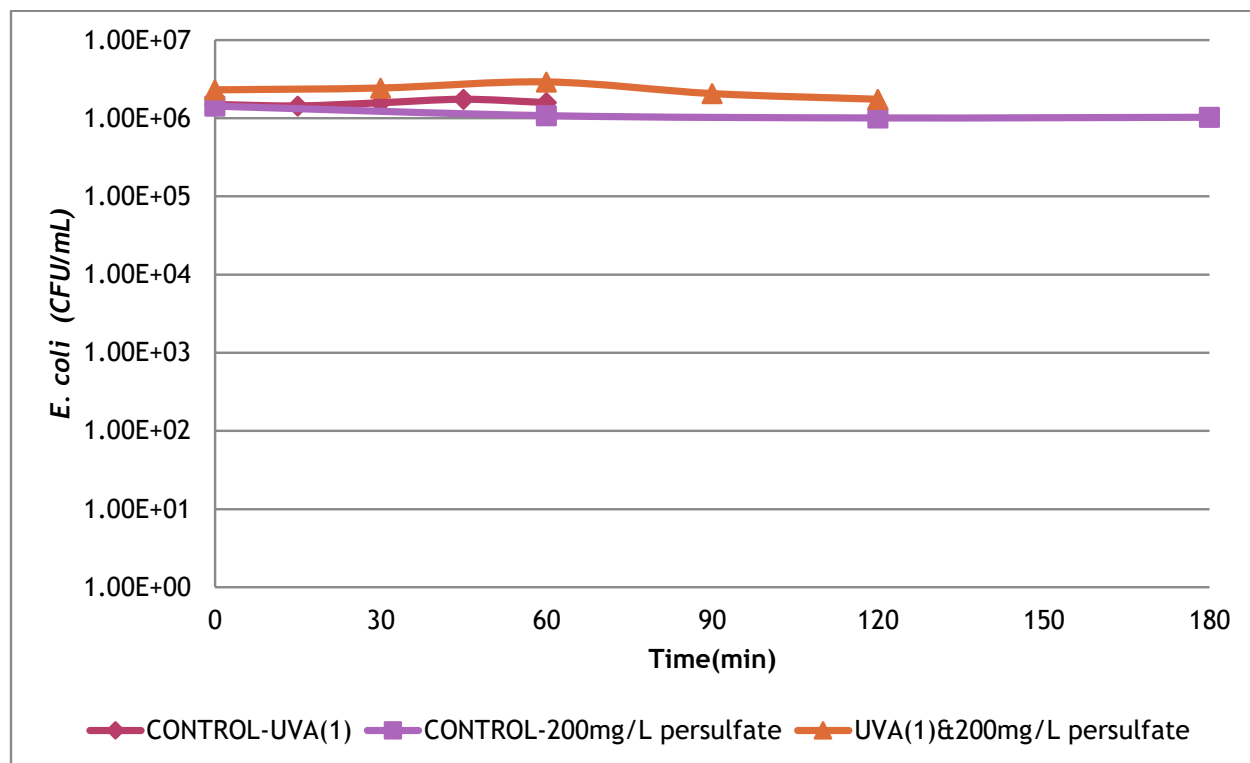
➤ **E.coli**

Στην περίπτωση με την χρήση μιας λάμπας UVA με ισχύ 15 W καθώς και συγκέντρωση υπερθειικού νατρίου να είναι 100mg/L, τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον παρακάτω εικόνα (Εικόνα 9). Μπορούμε να παρατηρήσουμε πως δεν υπάρχει κάποια μείωση στη συγκέντρωση του βακτηρίου στο χρονικό διάστημα 1h. Πιο συγκεκριμένα, η αρχική συγκέντρωση είναι $1.38 \cdot 10^6$ CFU/mL και η τελική συγκέντρωση ύστερα από μια h είναι $1.35 \cdot 10^6$ CFU/mL. Συγκριτικά με μελέτες όπου χρησιμοποιήθηκε τεχνική ενεργοποίησης του υπερθειικού με υπεριώδης ακτινοβολία για την απομάκρυνση του βακτηρίου *Microcystisaeruginosa* (Gram -) με δόση υπερθειικού να κυμαίνεται από 20-60mg/L υπάρχει ένας ικανοποιητικός βαθμός απομάκρυνσης[29] ενώ στην δική μας περίπτωση με μεγαλύτερη δόση υπερθειικού δεν παρατηρήθηκε καμία μείωση της συγκέντρωσης.



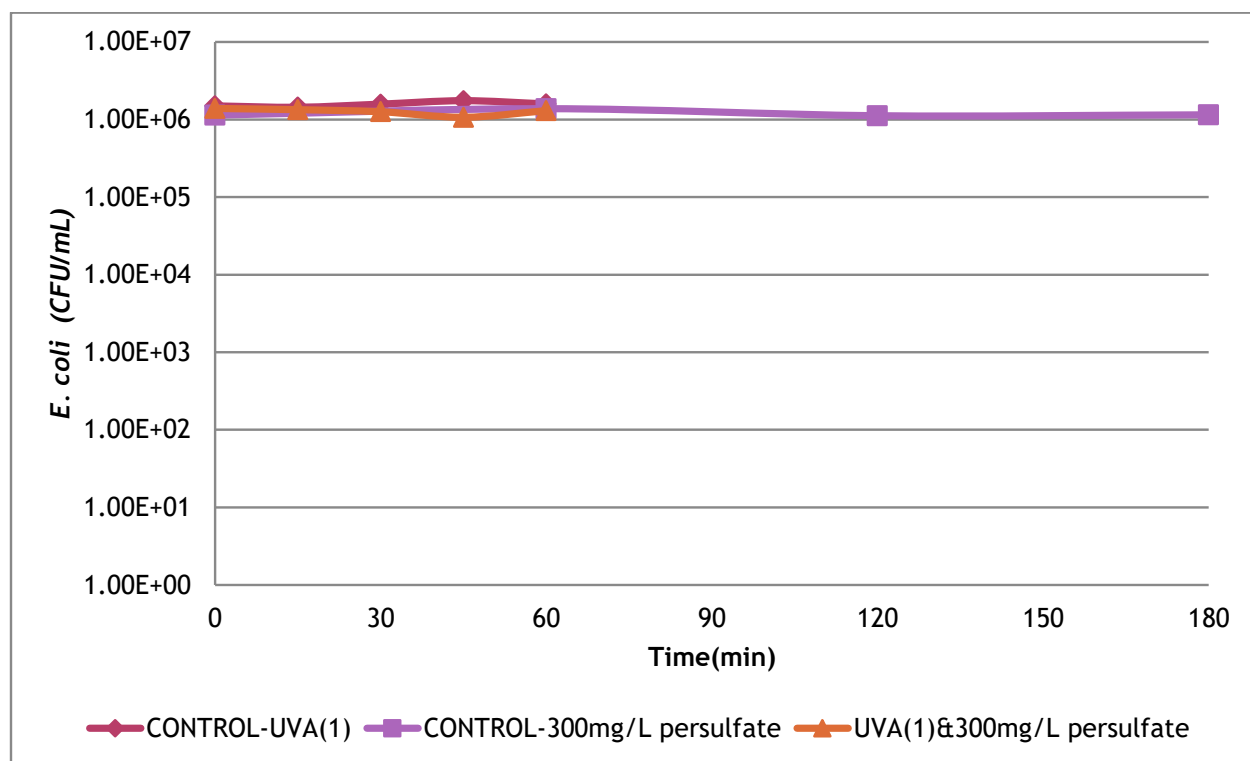
Εικόνα 9 UVA(1)/υπερθειικό νάτριο (100mg/L)

Αντίστοιχα, στην περίπτωση όπου χρησιμοποιήσαμε μια λάμπα UVA και δόση υπερθειικού 200mg/L παρατηρούμε παρακάτω (Εικόνα 10) πως δεν υπάρχει κάποια μείωση της συγκέντρωσης του βακτηρίου σε χρονικό διάστημα 2h. Πιο συγκεκριμένα στον χρόνο 0 η συγκέντρωση ανέρχεται στα $2.31 \cdot 10^6$ CFU/mL ενώ στις 2 h η τιμή της συγκέντρωσης είναι $1.75 \cdot 10^6$ CFU/mL. Και σε αυτή την περίπτωση συγκριτικά με την μελέτη απομάκρυνσης του βακτηρίου *M. aeruginosa* παρόλο που στην αύξηση της δόσης υπερθειικού στα 80mg/L δεν ενισχύεται ο ρυθμός απομάκρυνσης του σε σχέση με λιγότερη δόση υπερθειικού υπάρχει αδρανοποίηση του βακτηρίου[29] ενώ στην δική μας περίπτωση πάλι δεν παρατηρούμε κάποια αλλαγή όσον αφορά την αδρανοποίηση της *E. coli*.



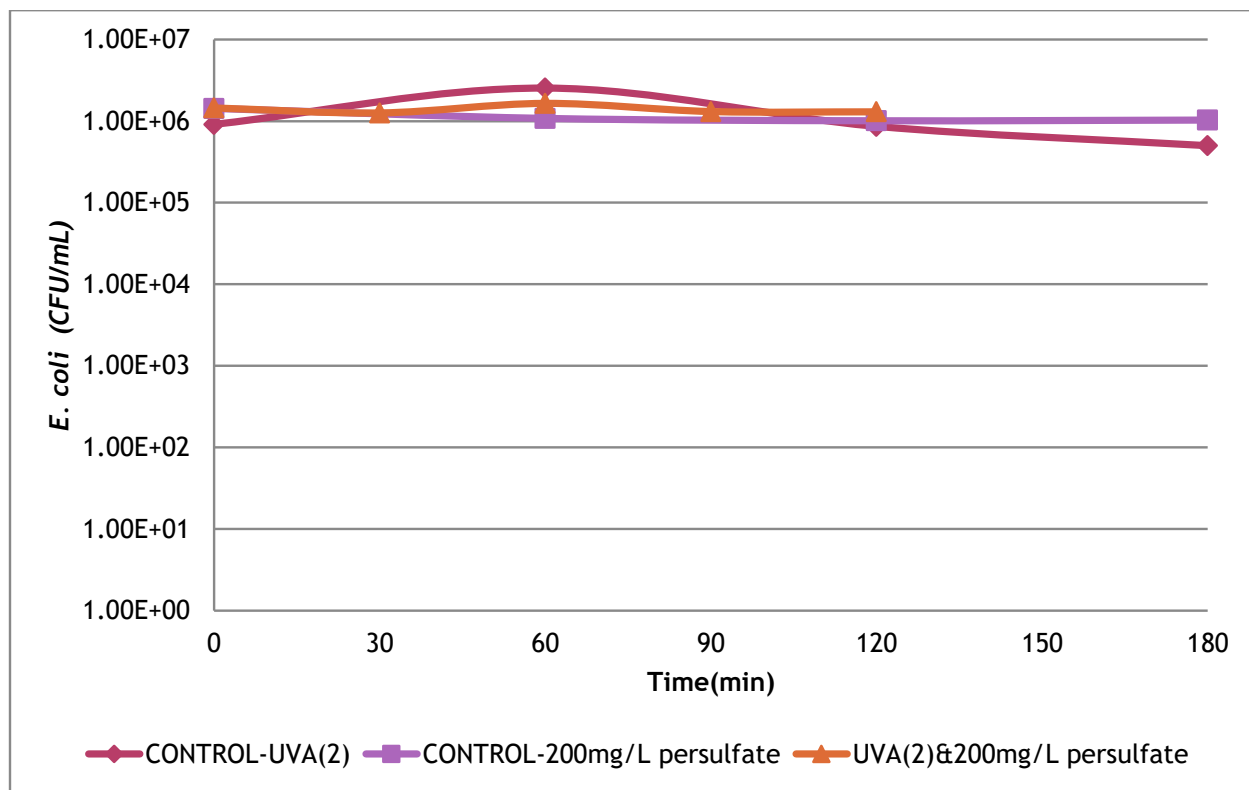
Εικόνα 10 UVA(1)/υπερθειικό νάτριο (200mg/L)

Στην παρακάτω ενότητα (Εικόνα 11) παρουσιάζονται τα αποτελέσματα του πειράματος όπου χρησιμοποιήθηκε μια λάμπα UVA και δόση υπερθειικού (300mg/L). Και σε αυτή την περίπτωση δεν υπήρξε αδρανοποίηση του βακτηρίου στη 1h. Η αρχική συγκέντρωση του βακτηρίου είναι $1.39 \cdot 10^6$ CFU/mL και έπειτα από 1 h η τιμή της είναι $1.30 \cdot 10^6$ CFU/mL. Και σε αυτή την περίπτωση όπως προηγουμένως, συγκριτικά με την μελέτη απομάκρυνσης του βακτηρίου *M. aeruginosa* παρόλο που στην αύξηση της δόσης υπερθειικού στα 80mg/L δεν ενισχύεται ο ρυθμός απομάκρυνσης του σε σχέση με λιγότερη δόση υπερθειικού υπάρχει αδρανοποίηση του βακτηρίου[29], ενώ στην δική μας περίπτωση πάλι δεν παρατηρούμε κάποια αλλαγή όσον αφορά την αδρανοποίηση της *E. coli*.



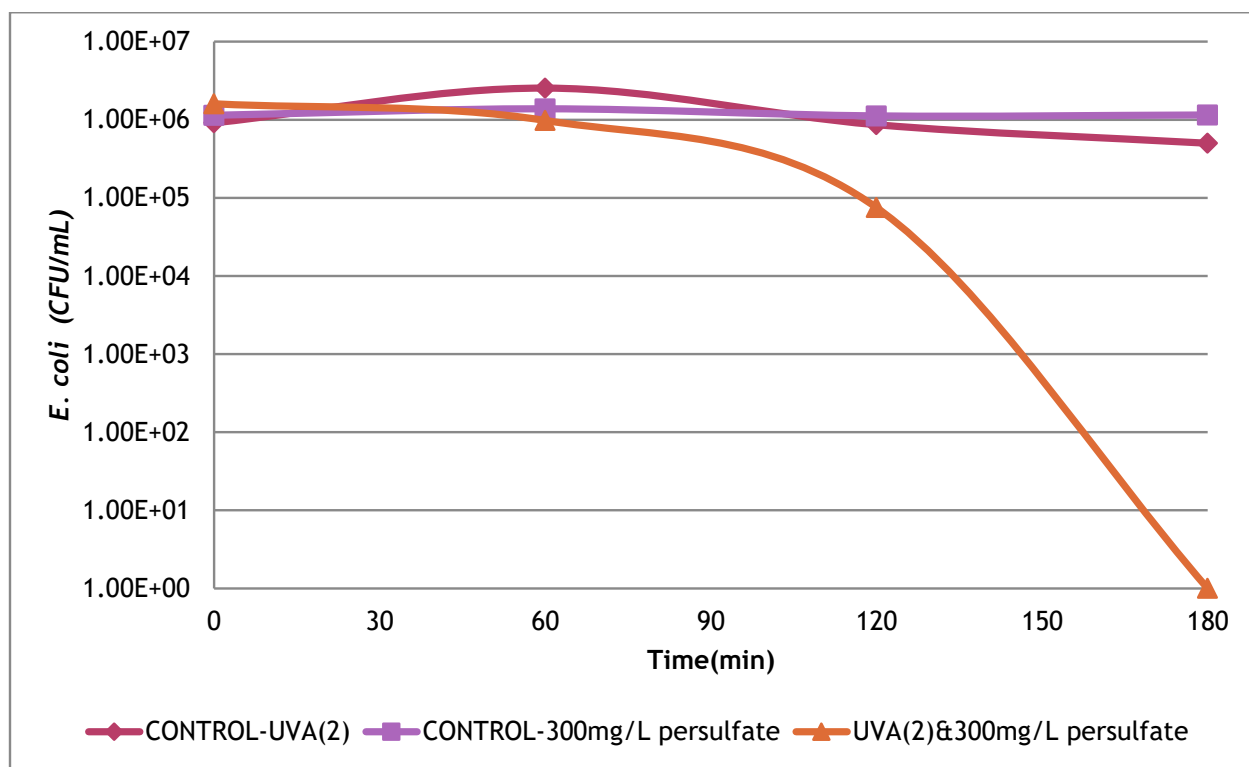
Εικόνα 11 UVA(1)/υπερθειικό νάτριο (300mg/L)

Μια άλλη δοκιμή ήταν η χρήση δεύτερης λάμπας για την αύξηση της δόσης ακτινοβολίας με συγκέντρωση υπερθειικού 200mg/L. Παρακάτω (Εικόνα 12.) παρατηρούμε πως ούτε με την χρήση δεύτερης λάμπας UVA υπάρχει μείωση με την πάροδο του χρόνου των 2h. Στον χρόνο 0 η συγκέντρωση της *E. coli* είναι $1.45 \cdot 10^6$ CFU/mL ενώ στις 2 h η συγκέντρωση φτάνει $1.30 \cdot 10^6$ CFU/mL. Παρόλο που σε μελέτη[45] όταν χρησιμοποιήθηκε αυξημένη ένταση ακτινοβολίας παρατηρήθηκε ταχύτερος ρυθμός απομάκρυνσης στη συγκεκριμένη περίπτωση δεν επέφερε κάποια αλλαγή στη συγκέντρωση το βακτηρίου.



Εικόνα 12 UVA(2)/υπερθειικό νάτριο (200mg/L)

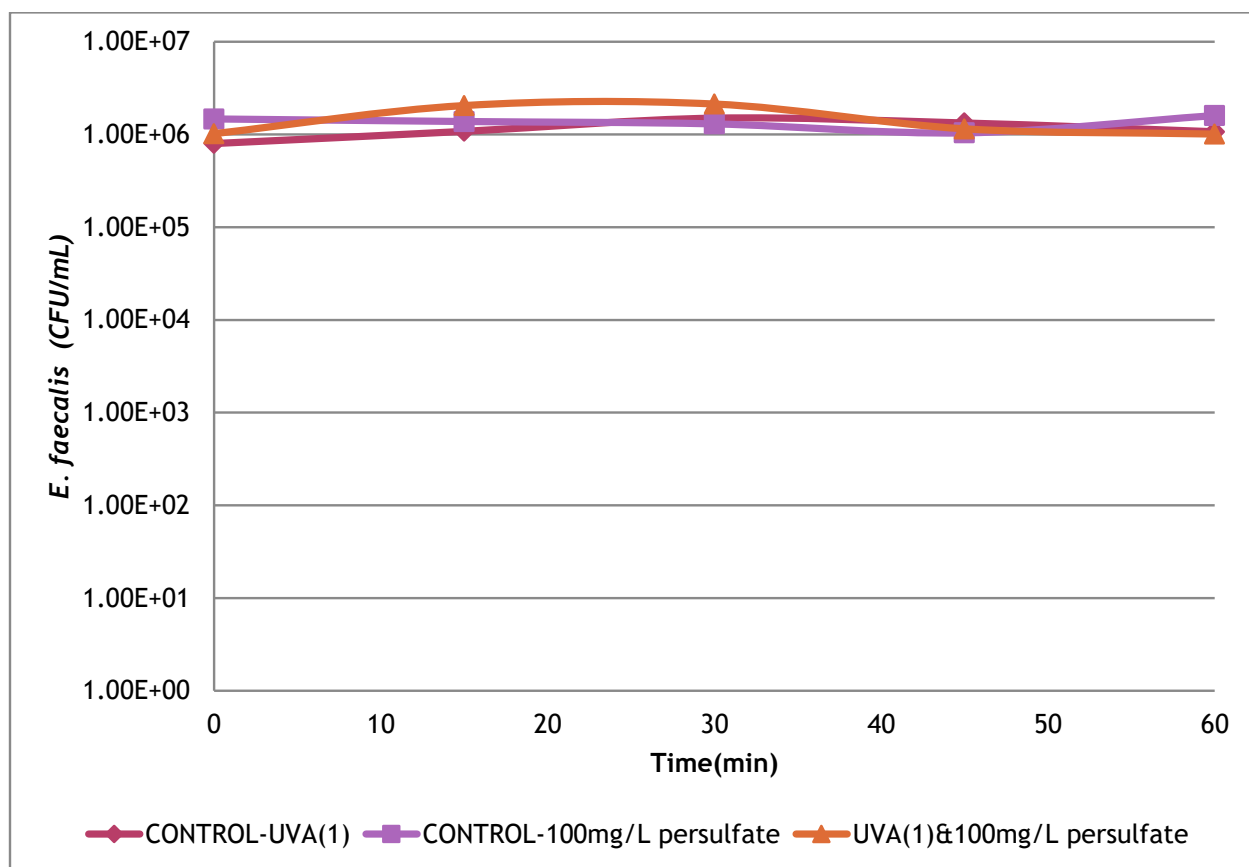
Στην περίπτωση όπου χρησιμοποιήθηκε δόση υπερθειικού νατρίου στα 300mg/L καθώς και με τη χρήση δεύτερης λάμπας UVA παρατηρούμε πως στις 3 h υπάρχει σημαντική μείωση της τάξης 6 Log. Πιο συγκεκριμένα στον χρόνο 0 η αρχική συγκέντρωση είναι $1.60 \cdot 10^6$ και ύστερα από 3 h υπάρχει 100% αδρανοποίηση του βακτηρίου. Στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 3) αν και η μέθοδος ενεργοποίησης με UVA δεν ήταν ιδιαίτερα αποτελεσματική, σύμφωνα με την τιμή του K η καλύτερη περίπτωση για τη μείωση της συγκέντρωσης της *E. coli* θεωρείται με χρήση δεύτερης λάμπας UVA και με αυξημένη δόση υπερθειικού 300mg/L σε χρονικό διάστημα 3 ωρών. Σε αυτή την περίπτωση συγκριτικά με άλλες μελέτες [29],[45] μπορούμε να πούμε πως η αύξηση της ακτινοβολίας αλλά και η αυξημένη δόση υπερθειικού έδρασε αποτελεσματικά στην αδρανοποίηση του βακτηρίου παρόλο που η αυξημένη δόση υπερθειικού δεν δρα ενισχυτικά στην περίπτωση του βακτηρίου *M. aeruginosa*[29].



Εικόνα 13 UVA(2)/υπερθειικό νάτριο (300mg/L)

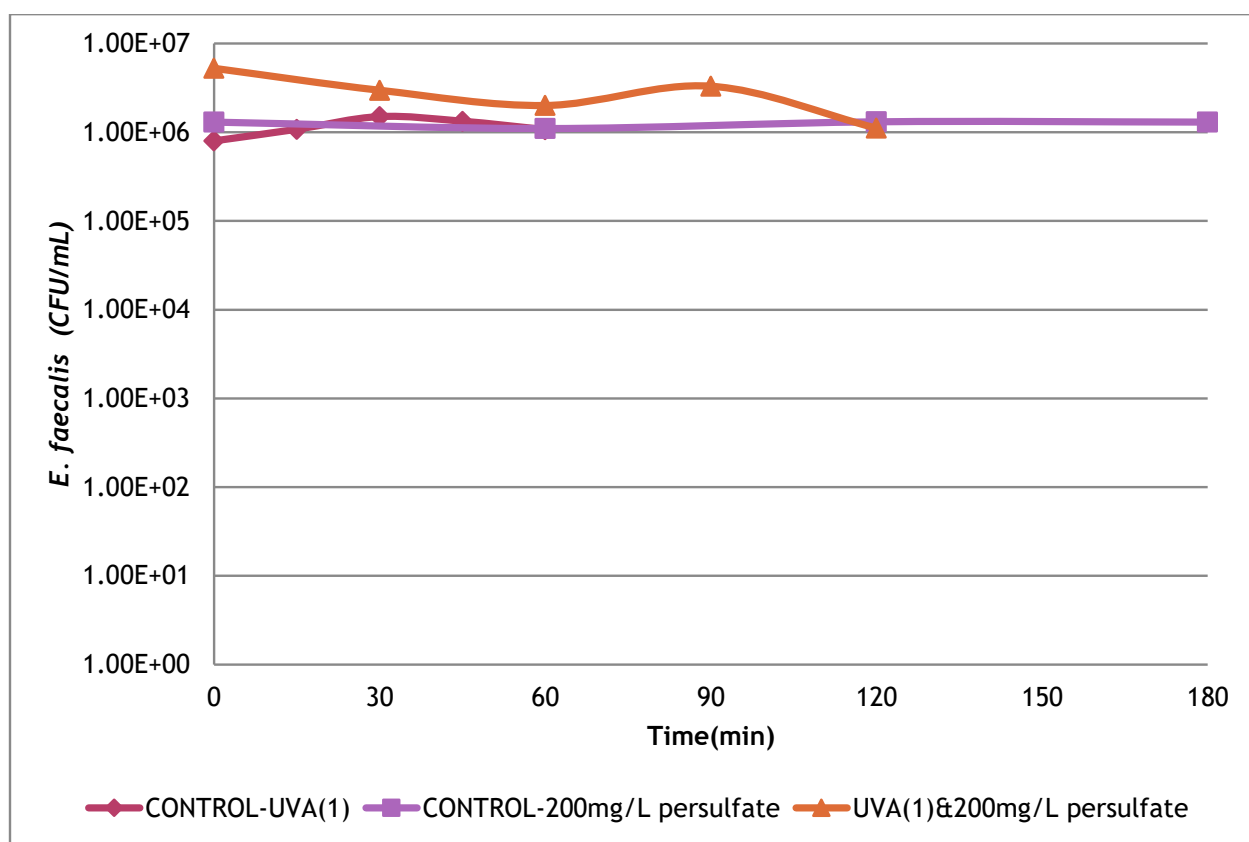
➤ *E. faecalis*

Αντίστοιχα(Εικόνα 14), ο *E. faecalis* όπως και η *E. coli* στην ίδια περίπτωση πειράματος με την χρήση μιας λάμπας UVA και με δόση υπερθειικού 100mg/L παρατηρούμε πως δεν επιφέρει μείωση στη 1 h. Στον χρόνο 0 η συγκέντρωση είναι $1.02 \cdot 10^6$ CFU/mL ενώ στην 1 h φτάνει τα $1.01 \cdot 10^6$ CFU/mL. Συγκριτικά με μελέτες όπου χρησιμοποιήθηκε τεχνική ενεργοποίησης του υπερθειικού με υπεριώδης ακτινοβολία για την απομάκρυνση του βακτηρίου *M. aeruginosa* (Gram -) με δόση υπερθειικού να κυμαίνεται από 20-60mg/L υπάρχει ένας ικανοποιητικός βαθμός απομάκρυνσης[29] ενώ στην δική μας περίπτωση με μεγαλύτερη δόση υπερθειικού δεν παρατηρήθηκε καμία μείωση της συγκέντρωσης



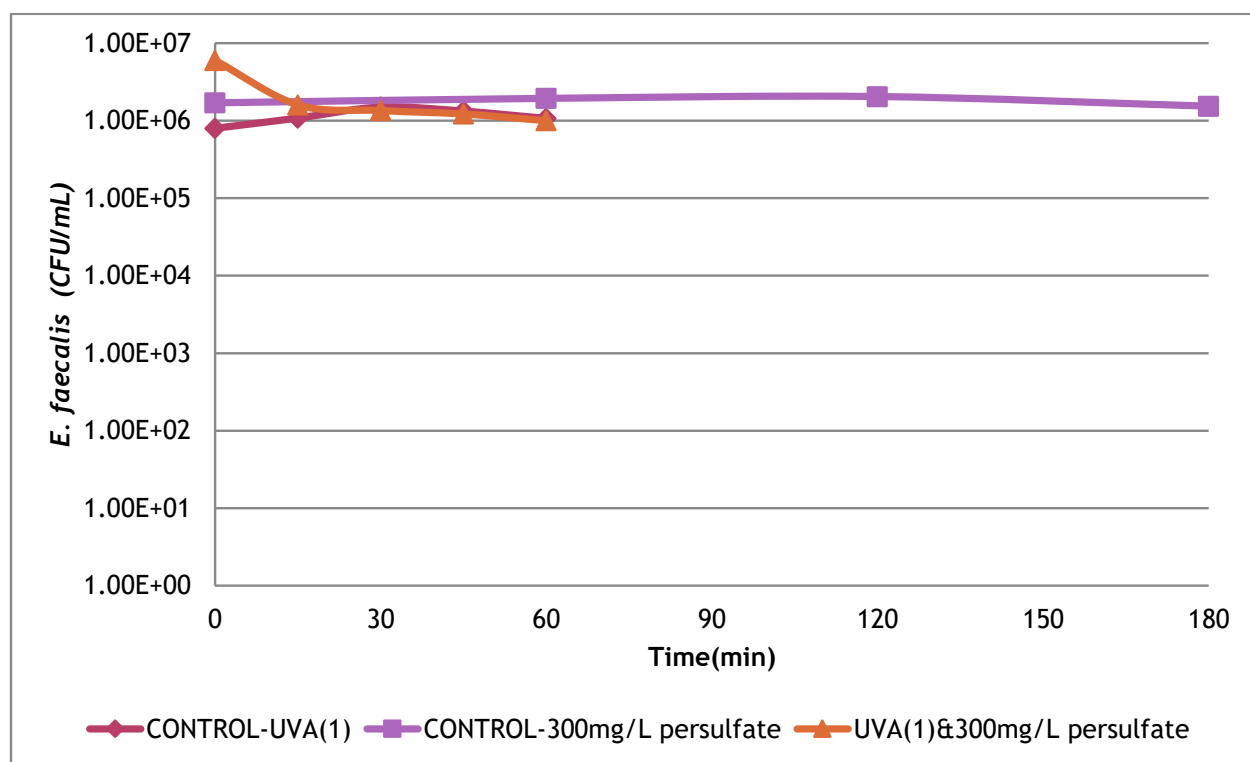
Εικόνα 14 UVA(1)/υπερθειικό νάτριο (100mg/L)

Επίσης, στην Εικόνα 15 συμπεραίνουμε πάλι ότι δεν υπάρχει μείωση στην συγκέντρωση του βακτηρίου. Στον χρόνο μηδέν η συγκέντρωση είναι ίση με 5.25×10^6 CFU/mL και μετά την πάροδο 2 ωρών φτάνει στα 1.11×10^6 CFU/mL. Σύμφωνα με άλλη μελέτη που έχει γίνει σχετικά με την αδρανοποίηση του βακτηρίου *Klebsiella pneumoniae* η οποία είναι ανθεκτική σε αντιβιοτικά carbapenem, χρησιμοποιήθηκε θεραπεία ενεργοποίησης υπερθειικού με ακτινοβολία UV-C, με συγκέντρωση υπερθειικού ~ 240 mg/L το οποίο έδωσε μείωση της συγκέντρωσης του βακτηρίου της τάξης των 6 Log[46]. Είναι σημαντικό όμως να τονιστεί πως η ακτινοβολία UV-C είναι πολύ δραστική από μόνη της όσον αφορά την αδρανοποίηση βακτηρίων. Παρόλα αυτά η ενεργοποίηση υπερθειικού με ακτινοβολία UV-C έδρασε πιο θετικά στην αδρανοποίηση του σε σχέση με τη μεμονωμένη χρήση της θεραπείας από UV-C. Στην παρακάτω περίπτωση με διαφορετικό μήκος κύματος και συγκέντρωση υπερθειικού 200mg/L δεν επέφερε αδρανοποίηση του *E. faecalis*.



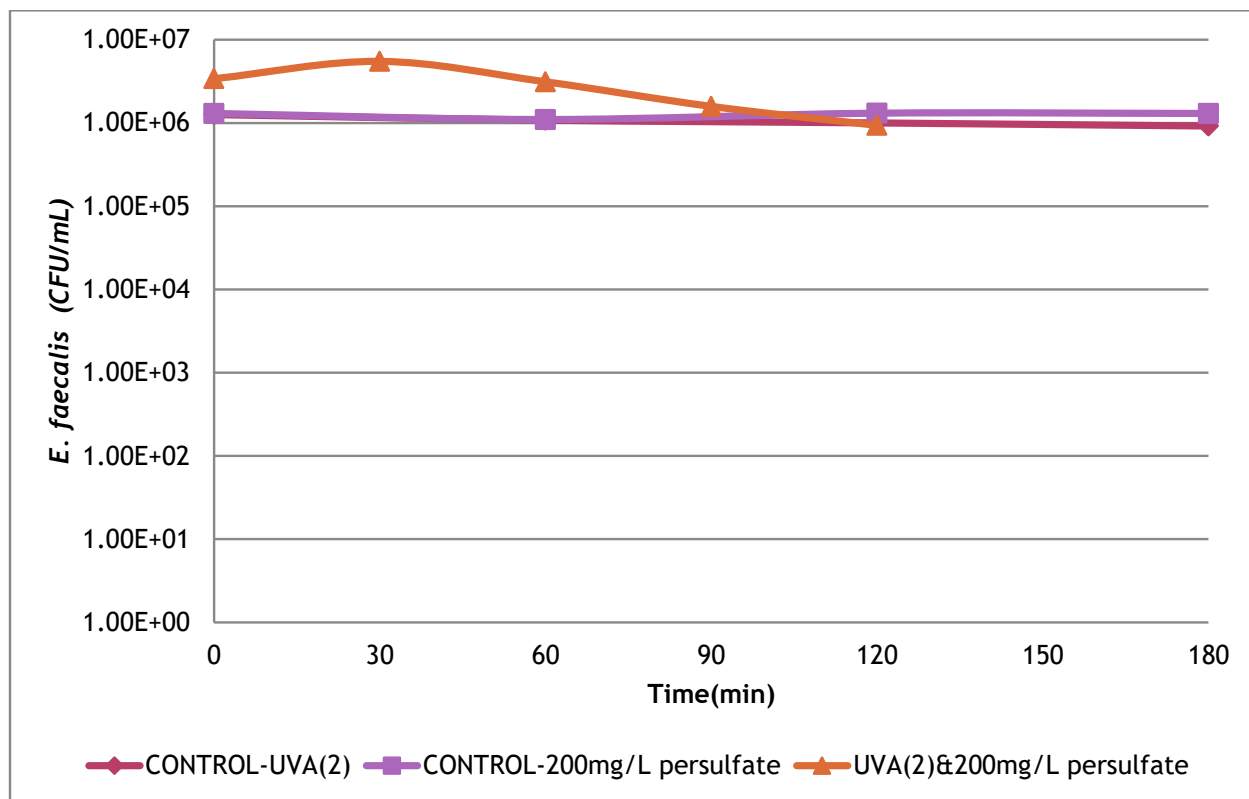
Εικόνα 15 UVA(1)/υπερθειικό νάτριο (200mg/L)

Στο παρακάτω γράφημα (Εικόνα 16) παρατηρούμε πως υπάρχει κάποια ανεπέστατη μείωση με την χρήση μιας λάμπας UVA και με τη δόση υπερθειικού 300mg/L. Στον χρόνο 0 η συγκέντρωση έχει τιμή $6.00 \cdot 10^6$ CFU/mL και στην 1 h ανέρχεται στα $1.00 \cdot 10^6$ CFU/mL. Αυξάνοντας την δόση του υπερθειικού δεν παρατηρείται ούτε σε αυτή την περίπτωση κάποια μείωση της συγκέντρωσης του *E. faecalis*. Συγκριτικά με άλλες τεχνικές για την αδρανοποίηση του Gram + βακτηρίου *E. faecalis* χρησιμοποιείται UV 240-280nm[47]



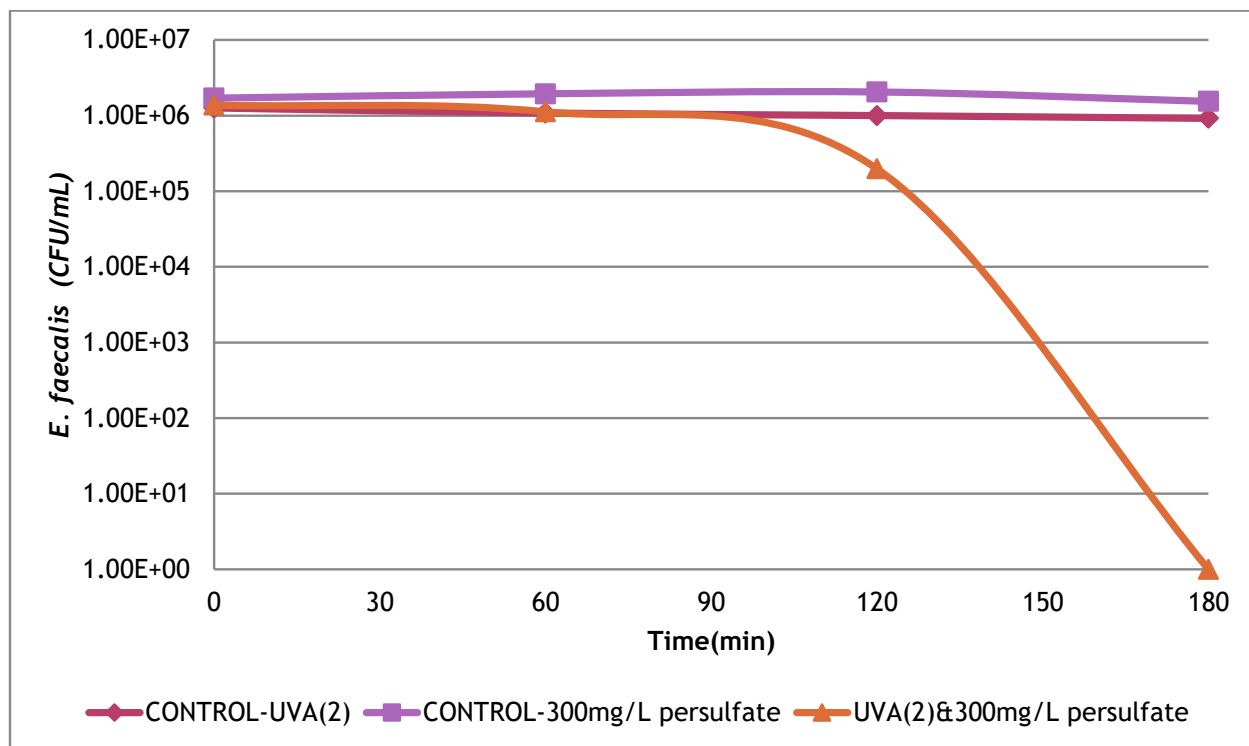
Εικόνα 16 UVA(1)/υπερθειικό νάτριο (300mg/L)

Στην περίπτωση που χρησιμοποιήσαμε και δεύτερη λάμπα UVA και δόση υπερθειικού 200mg/L πάλι δεν υπήρξε κάποια σημαντική αδρανοποίηση του βακτηρίου. Πιο, συγκεκριμένα η αρχική συγκέντρωση είναι $3.40 \cdot 10^6$ CFU/mL και στις 2 h φτάνει τα $9.35 \cdot 10^5$ CFU/mL. Σχετικά με άλλη μελέτη που έχει γίνει για την αδρανοποίηση του βακτηρίου *Klebsiella pneumoniae* ανθεκτική σε αντιβιοτικά carbapenem χρησιμοποιήθηκε ακτινοβολία UV-C/PS με συγκέντρωση υπερθειικού ~240mg/L το οποίο έδωσε μείωση της συγκέντρωσης του βακτηρίου της τάξης των 6 Log[46]. Είναι σημαντικό όμως να τονιστεί πως η ακτινοβολία UV-C είναι πολύ δραστική από μόνη της στην αδρανοποίηση βακτηρίων. Παρόλα αυτά η ενεργοποίηση υπερθειικού με UV-C έδρασε πιο θετικά στην αδρανοποίηση του σε σχέση με τη μεμονωμένη χρήση της θεραπείας από UV-C. Στην παρακάτω περίπτωση χρησιμοποιήθηκε διαφορετικό μήκος κύματος, UV-A και παρόμοια συγκέντρωση υπερθειικού 200mg/L, όμως δεν επέφερε κάποια αδρανοποίηση του *E. faecalis*.



Εικόνα 17 UVA(2)/υπερθειικό νάτριο (200mg/L)

Στην τελευταία περίπτωση, με χρήση δεύτερης λάμπας UVA και αυξημένη συγκέντρωση υπερθειικού 300mg/L, όπως και με την *E. coli*, παρατηρούμε σημαντική μείωση της τάξης των 6Log. Πιο συγκεκριμένα, η αρχική συγκέντρωση στον χρόνο 0 είναι $1.37 \cdot 10^6$ CFU/mL και με την πάροδο του χρόνου στις 3 h υπάρχει 100% αδρανοποίηση του *E. faecalis*. Στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 4) αν και η μέθοδος ενεργοποίησης με UVA δεν ήταν ιδιαίτερα αποτελεσματική, σύμφωνα με την τιμή του K η καλύτερη περίπτωση για τη μείωση της συγκέντρωσης του *E. faecalis* θεωρείται με χρήση δεύτερης λάμπας UVA και με αυξημένη δόση υπερθειικού 300mg/L σε χρονικό διάστημα 3 ωρών. Σε αυτή την περίπτωση συγκριτικά με άλλες μελέτες [29],[45] μπορούμε να πούμε πως η αύξηση της ακτινοβολίας αλλά και η αυξημένη δόση υπερθειικού έδρασε αποτελεσματικά στην αδρανοποίηση του βακτηρίου παρόλο που η αυξημένη δόση υπερθειικού δεν δρα ενισχυτικά στην περίπτωση του βακτηρίου *M. aeruginosa*[29].



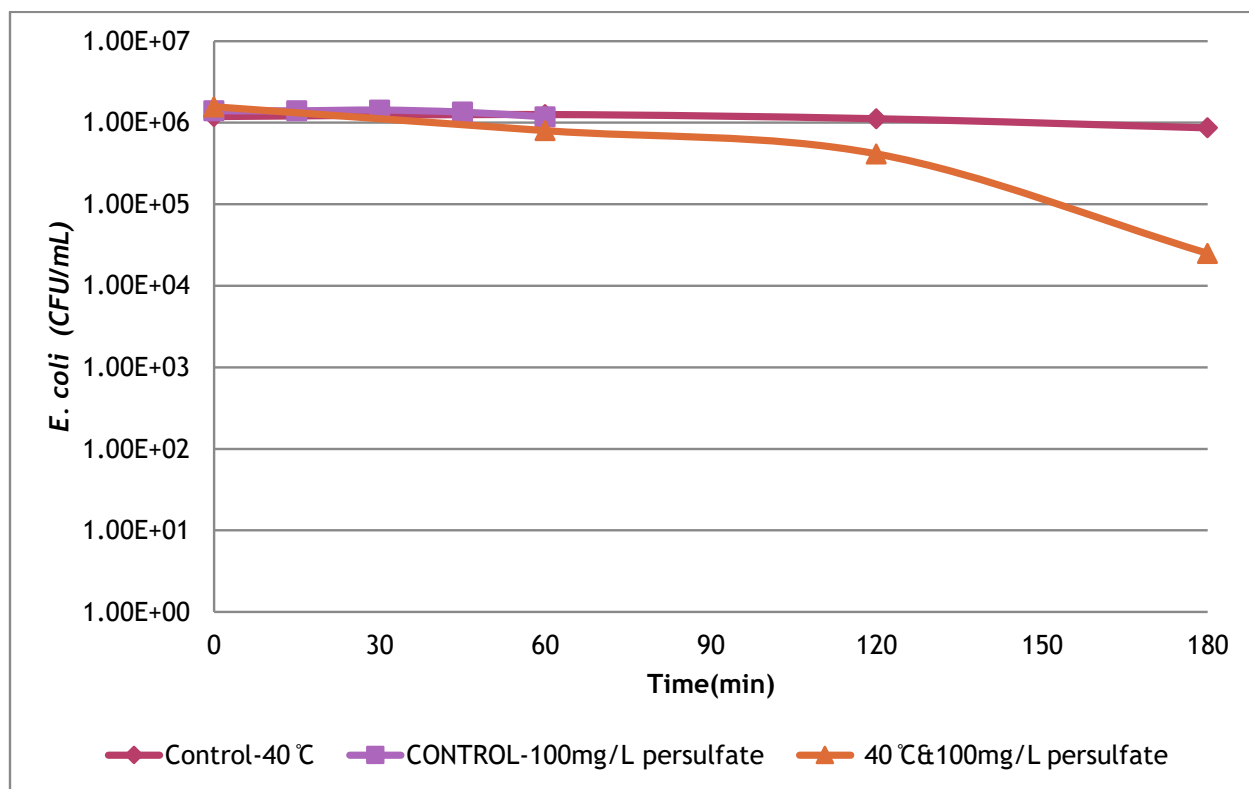
Εικόνα 18 UVA(2)/υπερθειικό νάτριο (300mg/L)

- **Δεύτερος κύκλος πειραμάτων θερμότητα/υπερθειικό νάτριο**

Στην ενότητα αυτή παρουσιάζονται τα αποτελέσματα όσον αφορά την ενεργοποίηση υπερθειικού άλατος με την χρήση θερμότητας. Πρώτα παρατίθενται τα αποτελέσματα σχετικά με το βακτήριο *E.coli* και μετά για τον *E. faecalis*

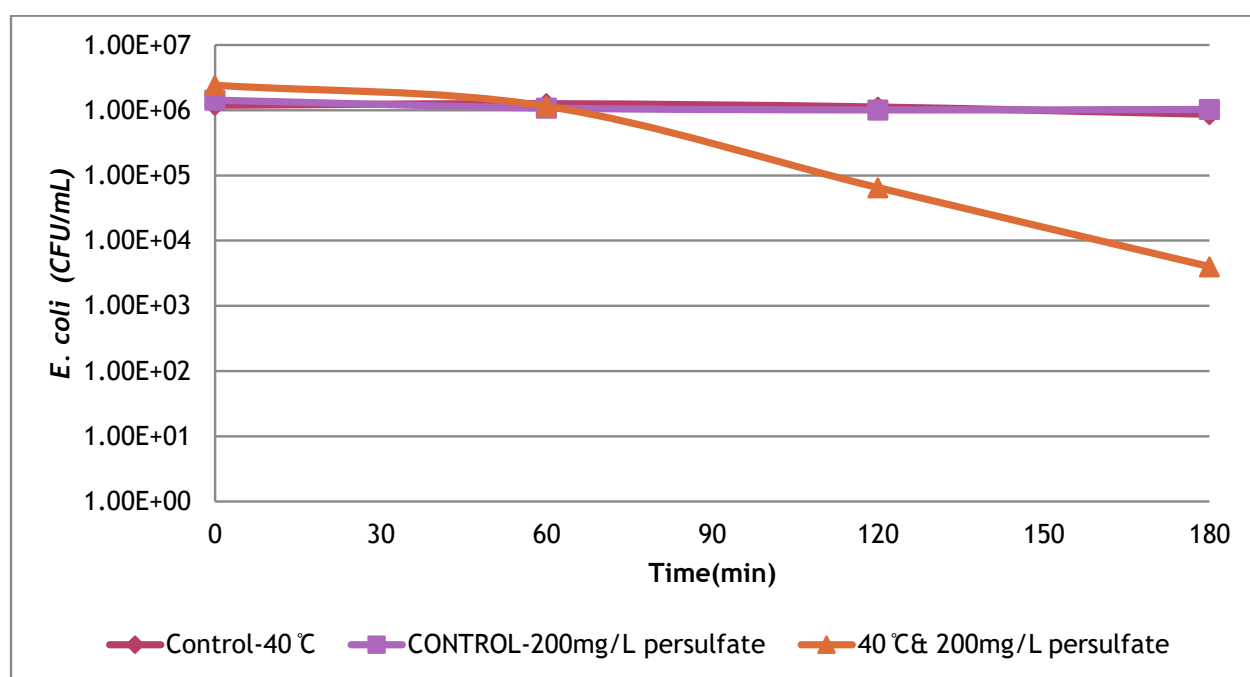
➤ **E.coli**

Γνωρίζουμε πως σε θερμοκρασίες μικρότερες των 45 °C δεν παρατηρούνται σημαντικές επιπτώσεις στην αδρανοποίηση των βακτηρίων[48]. Στην Εικόνα 19 παρατηρούμε μια σημαντική μείωση της τάξης των 2 Log στο πείραμα με την χρήση 40 °C και δόση υπερθειικού 100mg/L. Πιο συγκεκριμένα η αρχική συγκέντρωση της *E.coli* είναι $1.57 \cdot 10^6$ CFU/mL και στις 3 h ανέρχεται σε $2.50 \cdot 10^4$ CFU/mL. Σε σχέση με άλλες μελέτες όπου χρησιμοποιήθηκαν επιτυχώς θερμοκρασίες (20-40 °C) για την ενεργοποίηση του υπερθειικού με στόχο την αδρανοποίηση οργανικών ενώσεων[49],[50] και στη περίπτωση του βακτηρίου *E. coli* παρατηρήθηκε η αδρανοποίησή του.



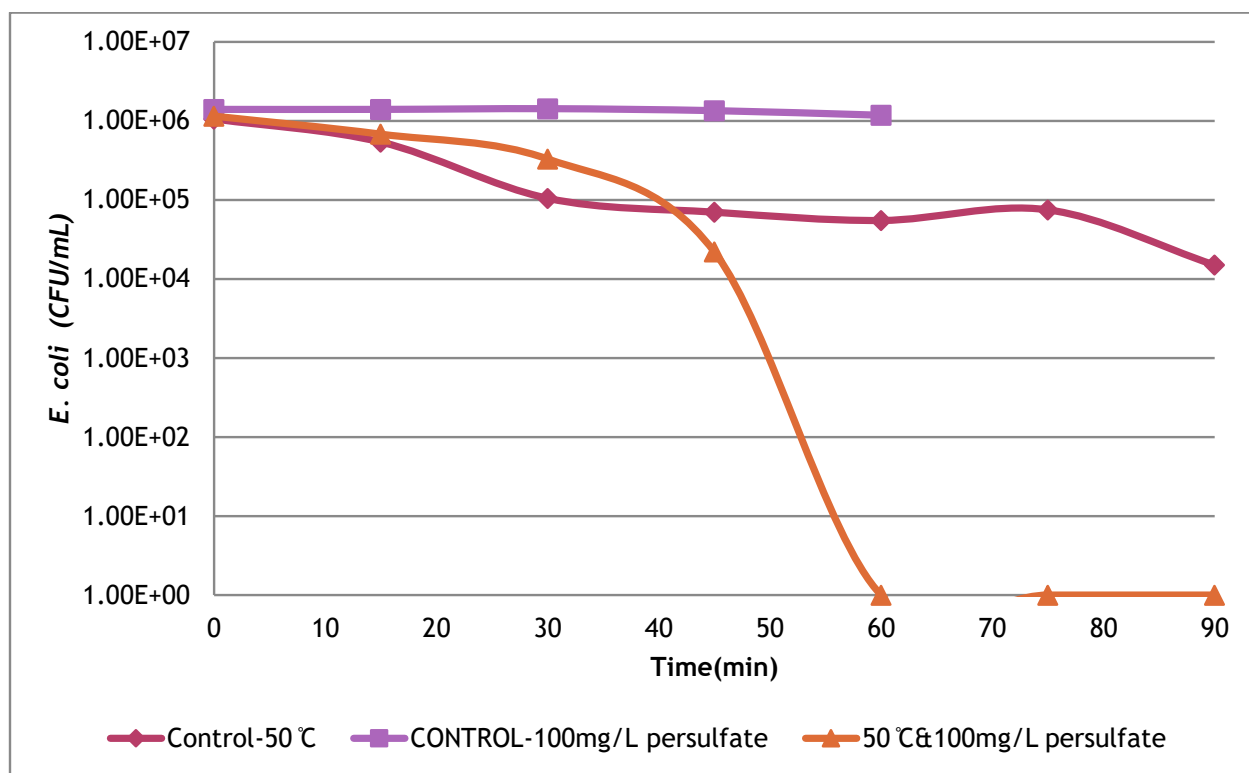
Εικόνα 19 θερμότητα (40 °C)/υπερθειικό νάτριο (100mg/L)

Συγκριτικά με την Εικόνα 19, στην Εικόνα 20 μπορούμε να παρατηρήσουμε πως η αδρανοποίηση του βακτηρίου ξεκινάει στη 1 h ενώ στην προηγούμενη περίπτωση στις 2 h.. Πιο συγκεκριμένα με την χρήση θερμοκρασίας 40 °C και με αυξημένη δόση υπερθειικού στα 200mg/L στον χρόνο 0 έχουμε $2.42 \cdot 10^6$ CFU/mL να ανέρχεται στις 3 h στα $4.00 \cdot 10^3$ CFU/mL. Κατά συνέπεια, χρειάζεται λιγότερο χρόνο για να υπάρξει αισθητή μείωση της συγκέντρωσης του βακτηρίου αλλά και στον ίδιο χρόνο υπάρχει διαφορά στην τελική συγκέντρωση της τάξης του 1 Log. Σε άλλη μελέτη[29] παρατηρείται πως όταν αυξάνεται η δόση του υπερθειικού ο ρυθμός της αντίδρασης μειώνεται, στην αδρανοποίηση του βακτηρίου παρατηρείται πως ενισχύει τον ρυθμό αντίδρασης.



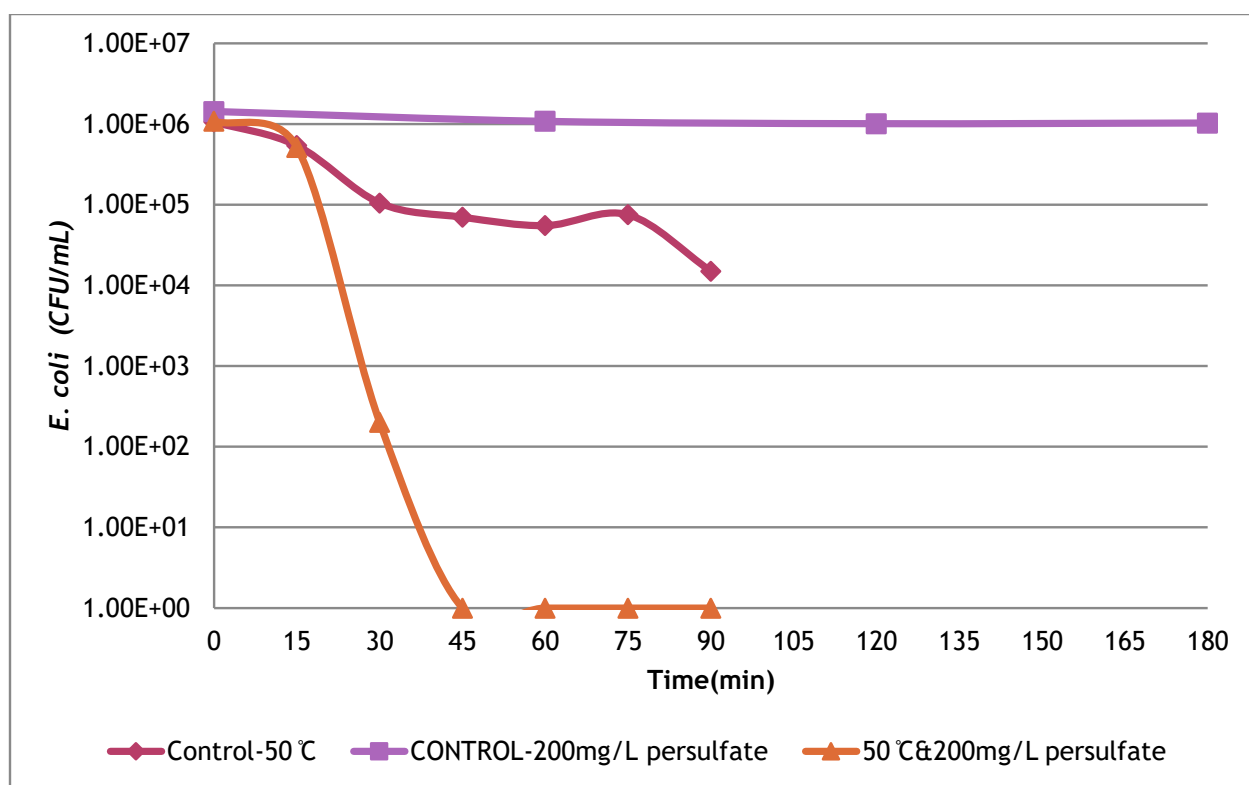
Εικόνα 20 θερμότητα (40 °C)/υπερθειικό νάτριο (200mg/L)

Οι κατάλληλες θειικές ρίζες παράγονται σε υψηλές θερμοκρασίες, για τον λόγο αυτό έγινε η δοκιμή αύξησης θερμοκρασίας από 40 στους 50 °C. Στην περίπτωση όπου χρησιμοποιήθηκε θερμοκρασία 50 °C και δόση υπερθειικού 100mg/L (Εικόνα 21) , αν και υπάρχει μείωση και στο control πείραμα, παρατηρήσαμε ότι στη 1 h υπάρχει πλήρης αδρανοποίηση του βακτηρίου, σε σχέση με την αρχική συγκέντρωση της τάξης των 6 Log. Πιο συγκεκριμένα η αρχική συγκέντρωση είναι $1.15 \cdot 10^6$ CFU/mL και από τα 50min παρατηρούμε ραγδαία μείωση της τάξης των 4 Log.



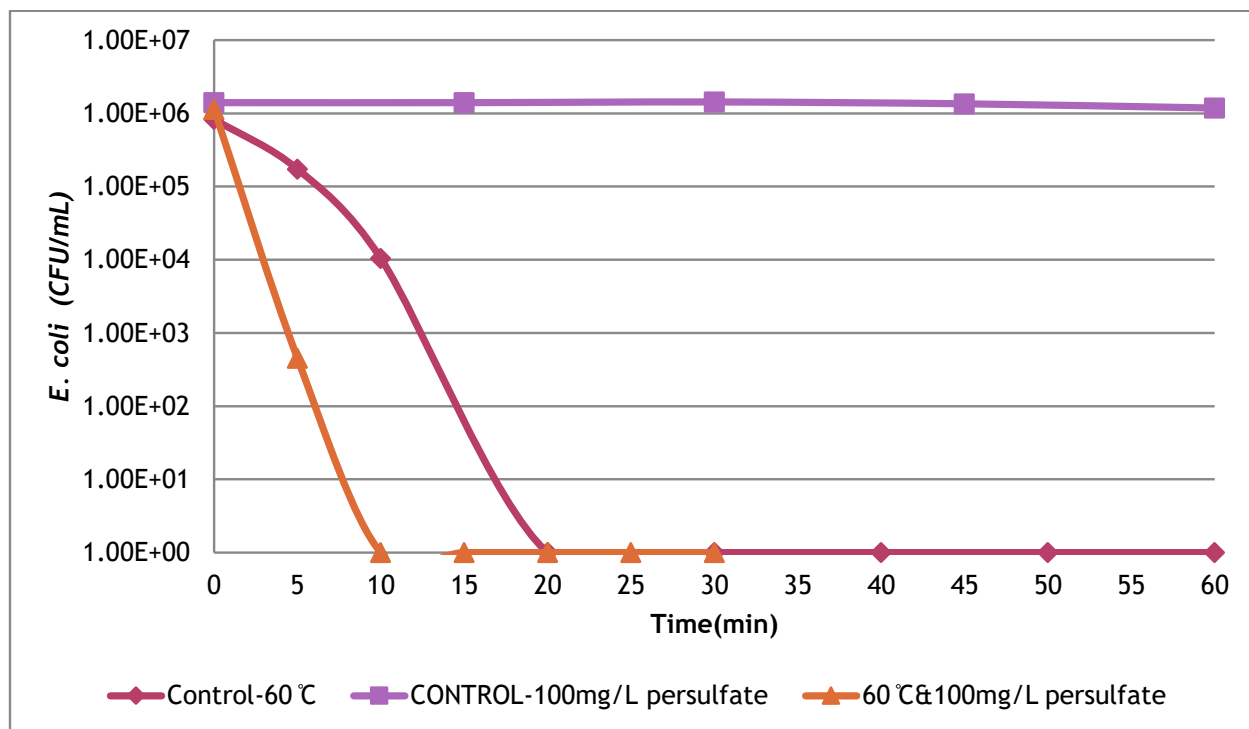
Εικόνα 21 θερμοότητα (50 °C)/υπερθειικό νάτριο (100mg/L)

Συγκριτικά με την Εικόνα 21, στην Εικόνα 22 μπορούμε να παρατηρήσουμε πως η αδρανοποίηση του βακτηρίου ξεκινάει στη μισή h ενώ στην προηγούμενη περίπτωση στη 1 h. Πιο συγκεκριμένα με την χρήση θερμοκρασίας 50 °C και με αυξημένη δόση υπερθειικού στα 200mg/L στον χρόνο 0 έχουμε $2.42 \cdot 10^6$ CFU/mL και στα 45 min έχουμε 100% απομάκρυνση του βακτηρίου. Κατά συνέπεια, χρειάζεται λιγότερο χρόνο για να επιτευχθεί η αδρανοποίηση της *E. coli*. Σε άλλη μελέτη[29] παρατηρείται πως όταν αυξάνεται η δόση του υπερθειικού ο ρυθμός της αντίδρασης μειώνεται, στην αδρανοποίηση του βακτηρίου παρατηρείται πως ενισχύει τον ρυθμό αντίδρασης. Παράλληλα λαμβάνοντας υπόψη τις τιμές του K των δυο αυτών περιπτώσεων παρατηρούμε πως η καλύτερη μέθοδος θεωρείται όταν υπάρχει αυξημένη δόση υπερθειικού νατρίου στα 200mg/L.



Εικόνα 22 θερμότητα (50 °C)/υπερθειικό νάτριο (200mg/L)

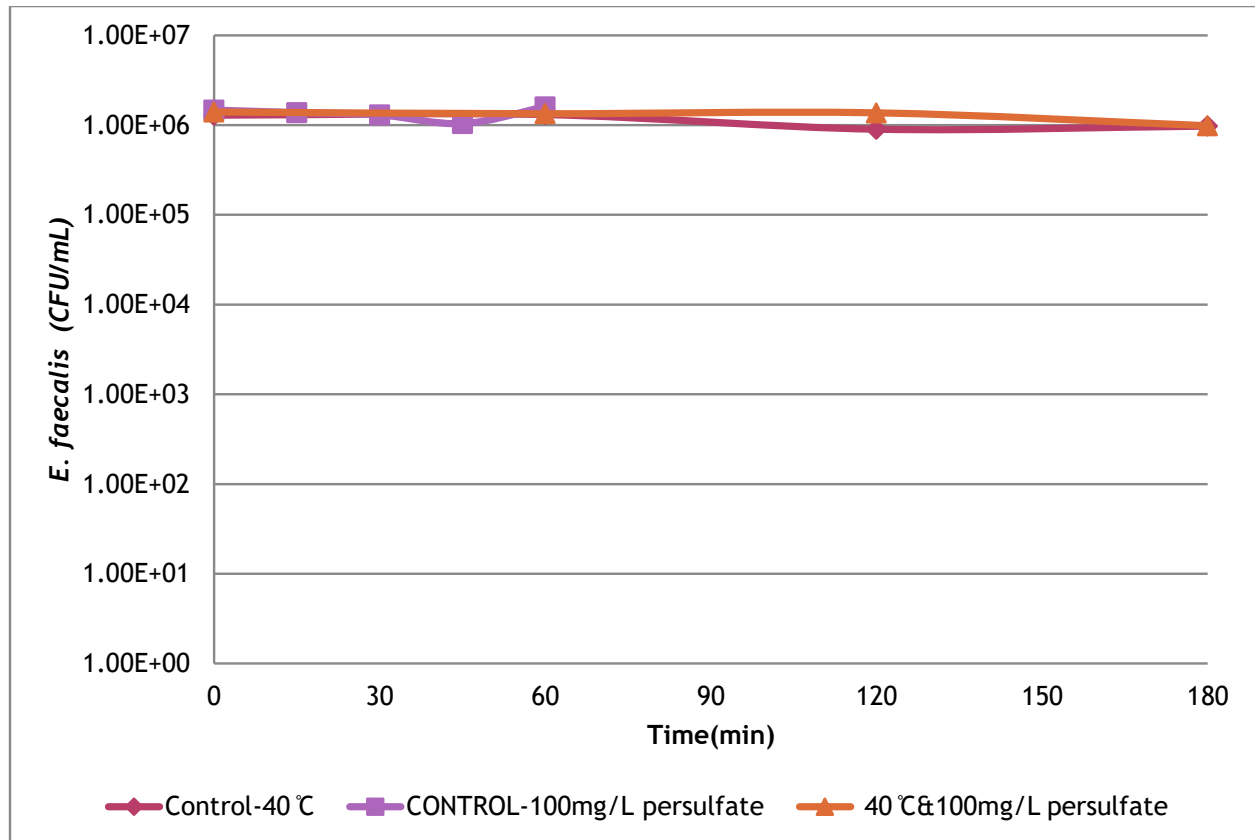
Στο παρακάτω διάγραμμα (Εικόνα 23), παρατηρούμε πως από το control πείραμα στους 60 °C υπάρχει αδρανοποίηση του βακτηρίου. Παρόλα αυτά η προσθήκη υπερθειικού δόσης 100mg/L προκαλεί πλήρη αδρανοποίηση από τα πρώτα 10 min, με αρχική συγκέντρωση $1.14 \cdot 10^6$ CFU/mL. Υψηλότερες θερμοκρασίες έχουν θετική επίδραση στην αδρανοποίηση των βακτηρίων. Συγκριτικά με άλλη έρευνα έχει παρατηρηθεί πως η θερμοκρασία των 60 °C δεν φέρει κάποιες σημαντικές επιπτώσεις στην οξείδωση οξέων[51].



Εικόνα 23 θερμότητα (60 °C)/υπερθειικό νάτριο (100mg/L)

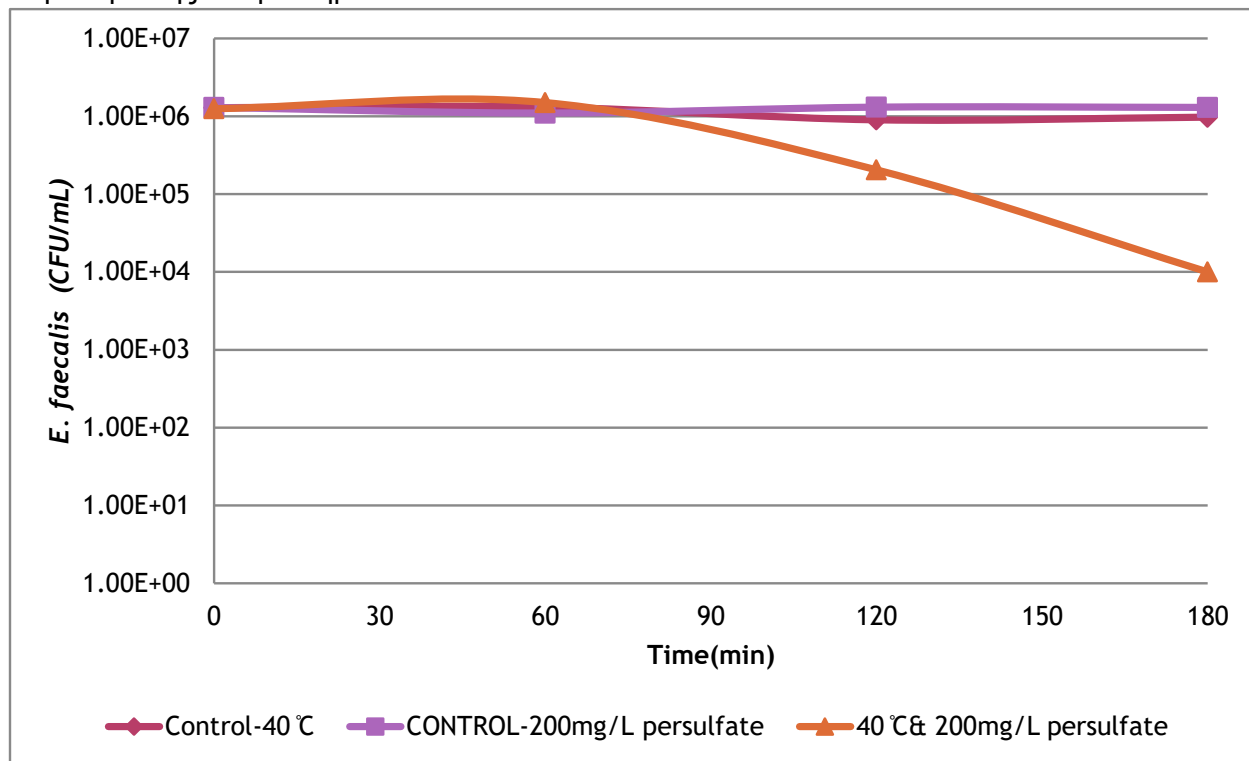
➤ ***E. faecalis***

Ο *E. faecalis* ως Gram+ βακτήριο έχει πιο σκληρό κυτταρικό τοίχωμα και έτσι είναι πιο ανθεκτικό σε υψηλές θερμοκρασίες[52]. Στην Εικόνα 24 δεν παρατηρούμε κάποια σημαντική μείωση στο πείραμα με την χρήση 40 °C και δόση υπερθειικού 100mg/L. Πιο συγκεκριμένα η αρχική συγκέντρωση της *E. faecalis* είναι $1.40 \cdot 10^6$ CFU/mL και στις 3 h ανέρχεται σε $9.85 \cdot 10^5$ CFU/mL



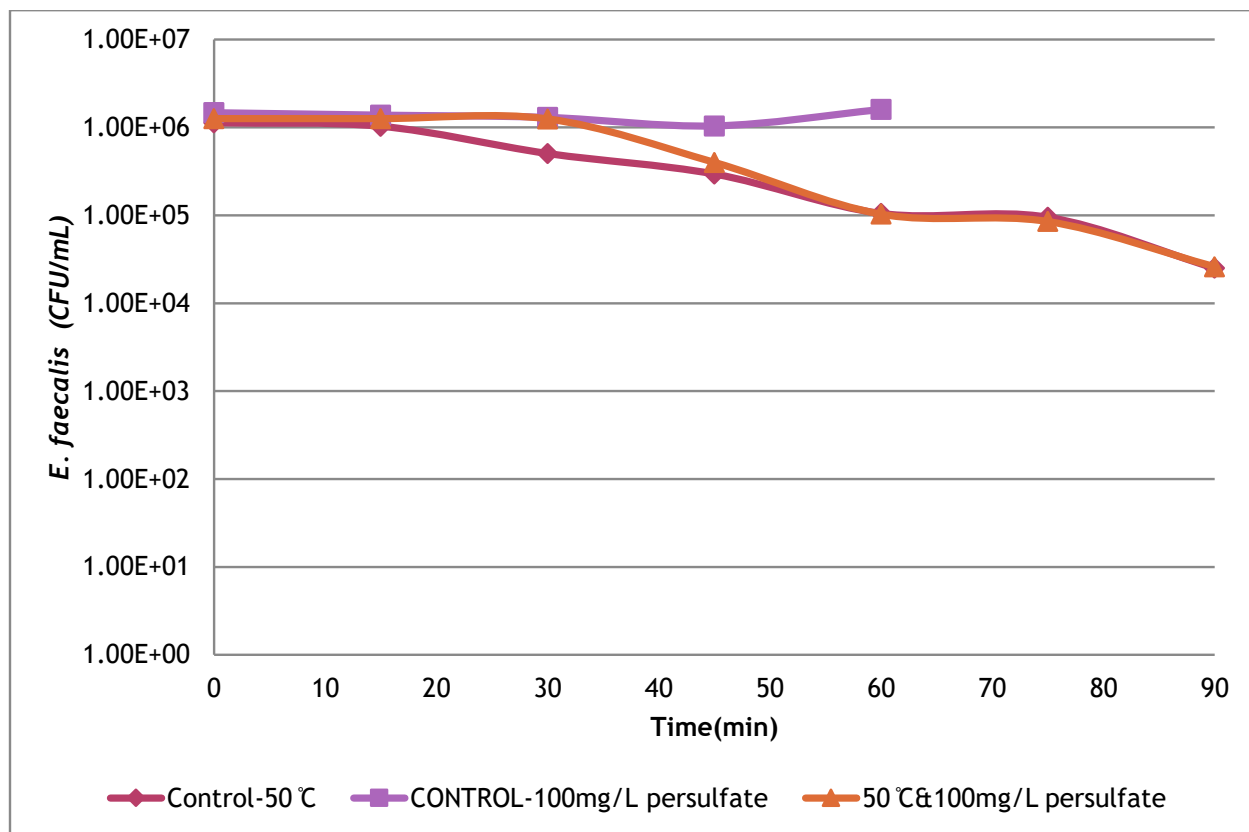
Εικόνα 24 θερμότητα (40 °C)/υπερθειικό νάτριο (100mg/L)

Στην Εικόνα 25 παρατηρούμε μια σημαντική μείωση της τάξης 2Log στο πείραμα με την χρήση 40 °C και δόση υπερθειικού 200mg/L. Πιο συγκεκριμένα η αρχική συγκέντρωση του *E. faecalis* είναι $1.25 \cdot 10^6$ CFU/mL και στις 3 h ανέρχεται σε $1.00 \cdot 10^4$ CFU/mL. Συγκριτικά με την περίπτωση που χρησιμοποιήθηκε η ίδια θερμοκρασία αλλά 100mg/L υπερθειικό μπορούμε να συμπεράνουμε πως τα 200mg/L δρουν αποτελεσματικά. Σε άλλη μελέτη[29] παρατηρείται πως όταν αυξάνεται η δόση του υπερθειικού ο ρυθμός της αντίδρασης μειώνεται, στην αδρανοποίηση του βακτηρίου παρατηρείται πως ενισχύει τον ρυθμό αντίδρασης μιας και στην προηγούμενη περίπτωση με λιγότερη δόση υπερθειικού δεν υπήρξε κάποια μείωση της συγκέντρωσης του βακτηρίου.



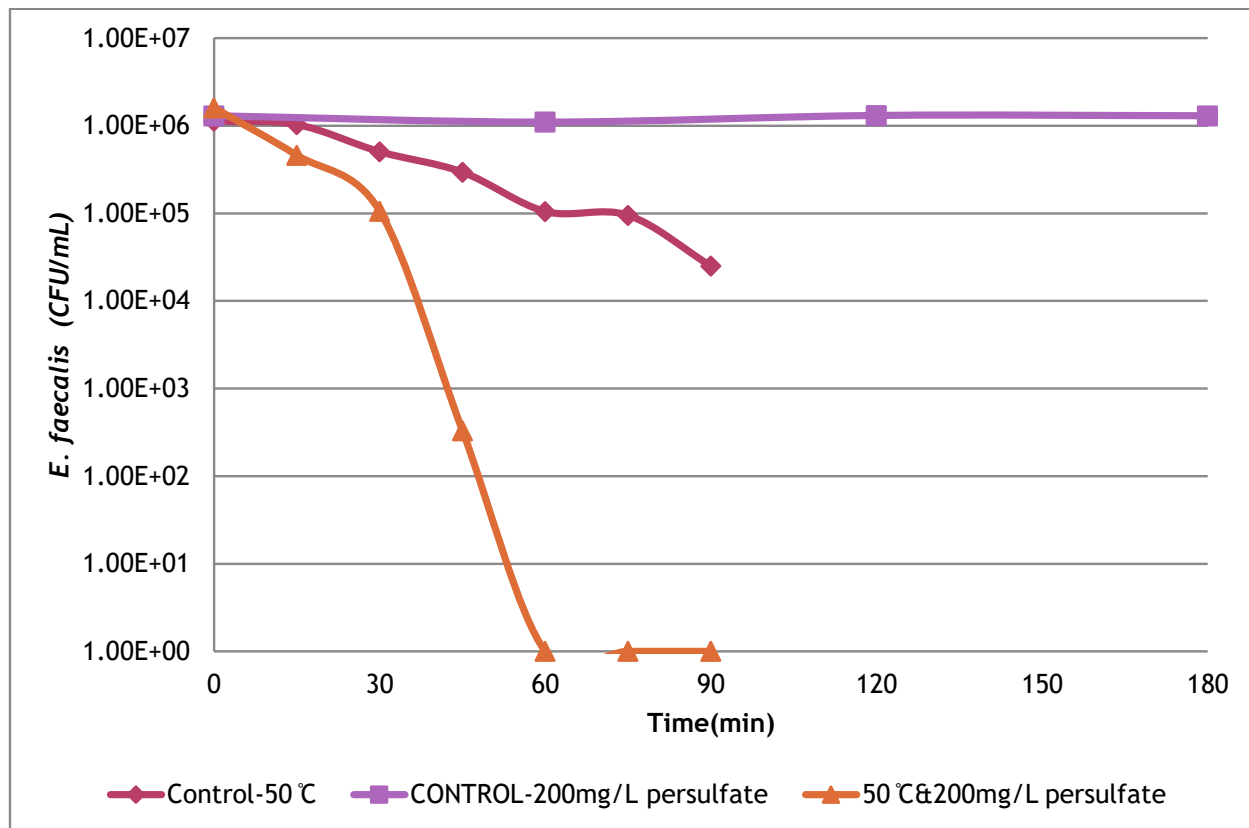
Εικόνα 25 θερμότητα (40 °C)/υπερθειικό νάτριο (200mg/L)

Στην περίπτωση όπου χρησιμοποιήθηκε θερμοκρασία 50 °C και δόση υπερθειικού 100mg/L (Εικόνα 26) , αν και υπάρχει μείωση και στο control πείραμα, παρατηρούμε πως η μείωση γίνεται σε νωρίτερο χρόνο χωρίς όμως ιδιαίτερη διαφορά στην τάξη μεγέθους με το control. Πιο συγκεκριμένα η αρχική συγκέντρωση είναι $1.26 \cdot 10^6$ CFU/mL και στη 1.5 h φτάνει τα $2.60 \cdot 10^4$ CFU/mL . Ως πιο ανθεκτικό βακτήριο ο *E. faecalis* [52] φαίνεται και σε αυτή την περίπτωση πως σε υψηλότερες θερμοκρασίες η μείωση της συγκέντρωσης είναι αισθητή σε συνδυασμό με το υπερθειικό νάτριο.



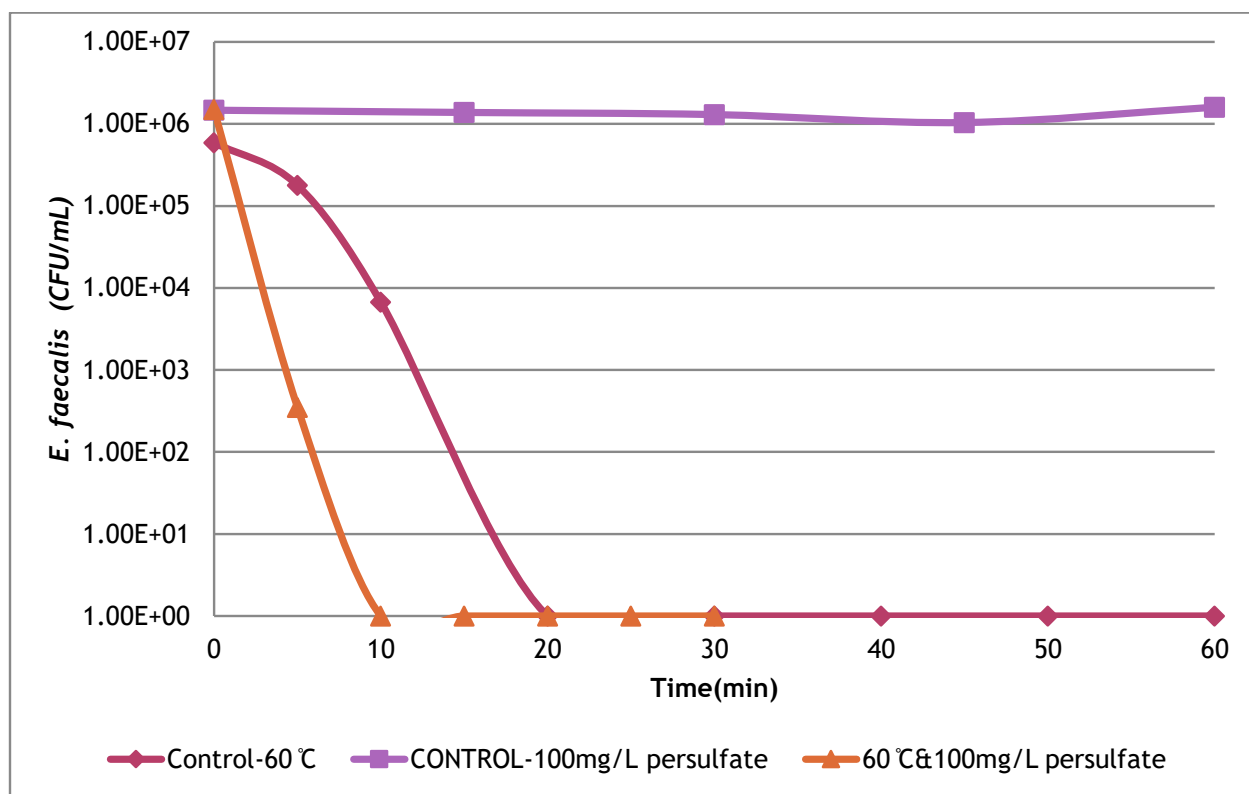
Εικόνα 26 θερμοότητα (50 °C)/υπερθειικό νάτριο (100mg/L)

Συγκρίνοντας τις περιπτώσεις στις Εικόνες 26-27, μπορούμε να συμπεράνουμε πως στην δεύτερη περίπτωση όπου χρησιμοποιήθηκε θερμοκρασία 50 °C και δόση υπερθειικού 200mg/L υπάρχει 100% αδρανοποίηση του *E. faecalis* στη 1 h με αρχική συγκέντρωση $1.60 \cdot 10^6$ CFU/mL, ενώ στην πρώτη περίπτωση με δόση υπερθειικού 100mg/L στη 1.5 h υπάρχει μείωση της τάξης 2 Log. Παράλληλα λαμβάνοντας υπόψη τις τιμές του K των δυο αυτών περιπτώσεων παρατηρούμε πως η καλύτερη μέθοδος θεωρείται όταν υπάρχει αυξημένη δόση υπερθειικού νατρίου στα 200mg/L. Παρόλο που παρατηρείται πως όταν αυξάνεται η δόση του υπερθειικού ο ρυθμός της αντίδρασης μειώνεται, στην αδρανοποίηση του βακτηρίου παρατηρείται πως ενισχύει τον ρυθμό αντίδρασης[29]



Εικόνα 27 θερμοότητα (50 °C)/υπερθειικό νάτριο (200mg/L)

Στο παρακάτω διάγραμμα (Εικόνα 28), παρατηρούμε πως από το control πείραμα στους 60 °C υπάρχει αδρανοποίηση του βακτηρίου. Παρόλα αυτά η προσθήκη υπερθειικού δόσης 100mg/L προκαλεί πλήρη αδρανοποίηση από τα πρώτα 10 min, με αρχική συγκέντρωση $1.50 \cdot 10^6$ CFU/mL. Υψηλότερες θερμοκρασίες έχουν θετική επίδραση στην αδρανοποίηση των βακτηρίων. Συγκριτικά με άλλη έρευνα έχει παρατηρηθεί πως η θερμοκρασία των 60 °C δεν φέρει κάποιες σημαντικές επιπτώσεις στην οξείδωση οξέων[51] ενώ στην συγκεκριμένη περίπτωση υπάρχει 100% αδρανοποίηση του βακτηρίου.



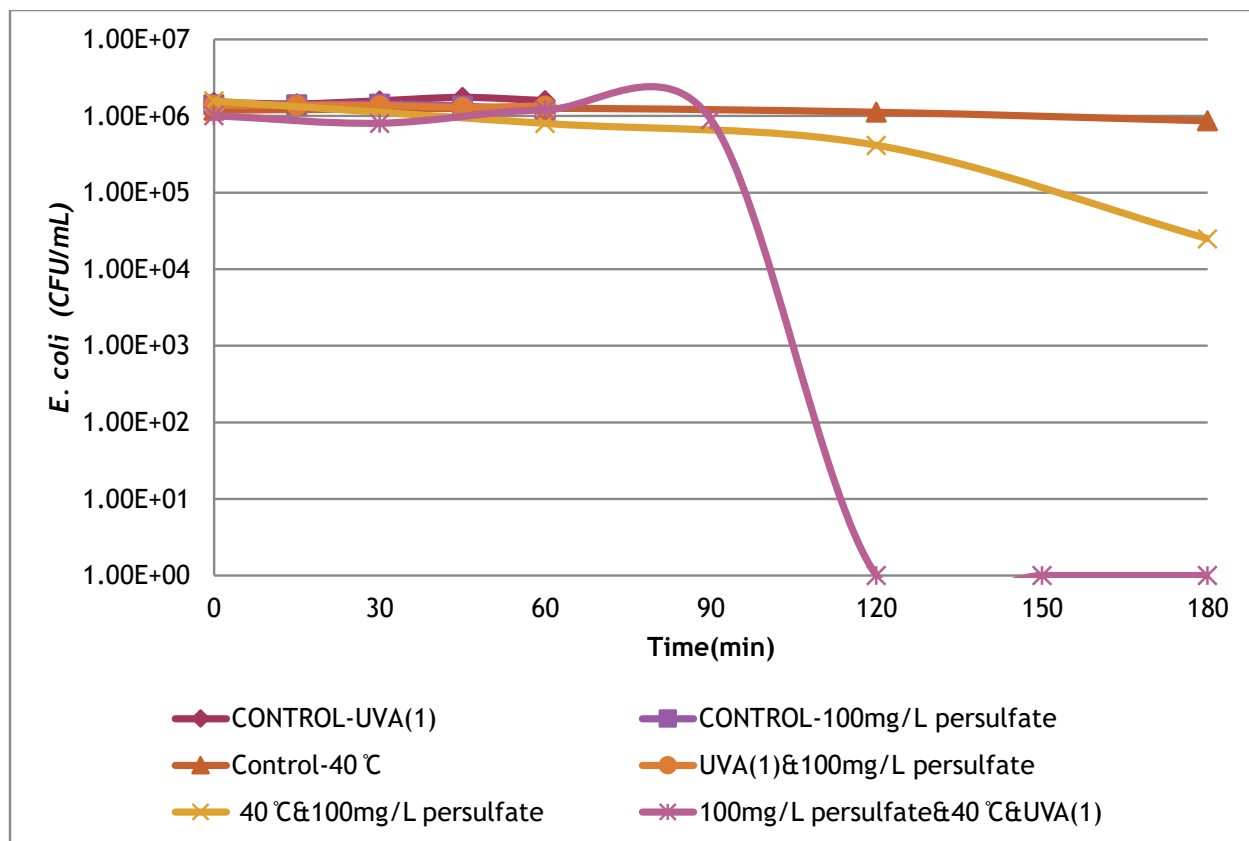
Εικόνα 28 θερμότητα (60 °C)/υπερθειικό νάτριο (100mg/L)

- **Τρίτος κύκλος πειραμάτων UVA/θερμότητα/υπερθειικό νάτριο**

Στην ενότητα αυτή παρουσιάζονται τα αποτελέσματα όσον αφορά την ενεργοποίηση υπερθειικού άλατος με την χρήση θερμότητας και την χρήση λάμπας UVA. Πρώτα παρατίθενται τα αποτελέσματα σχετικά με το βακτήριο *E.coli* και μετά για τον *E. faecalis*.

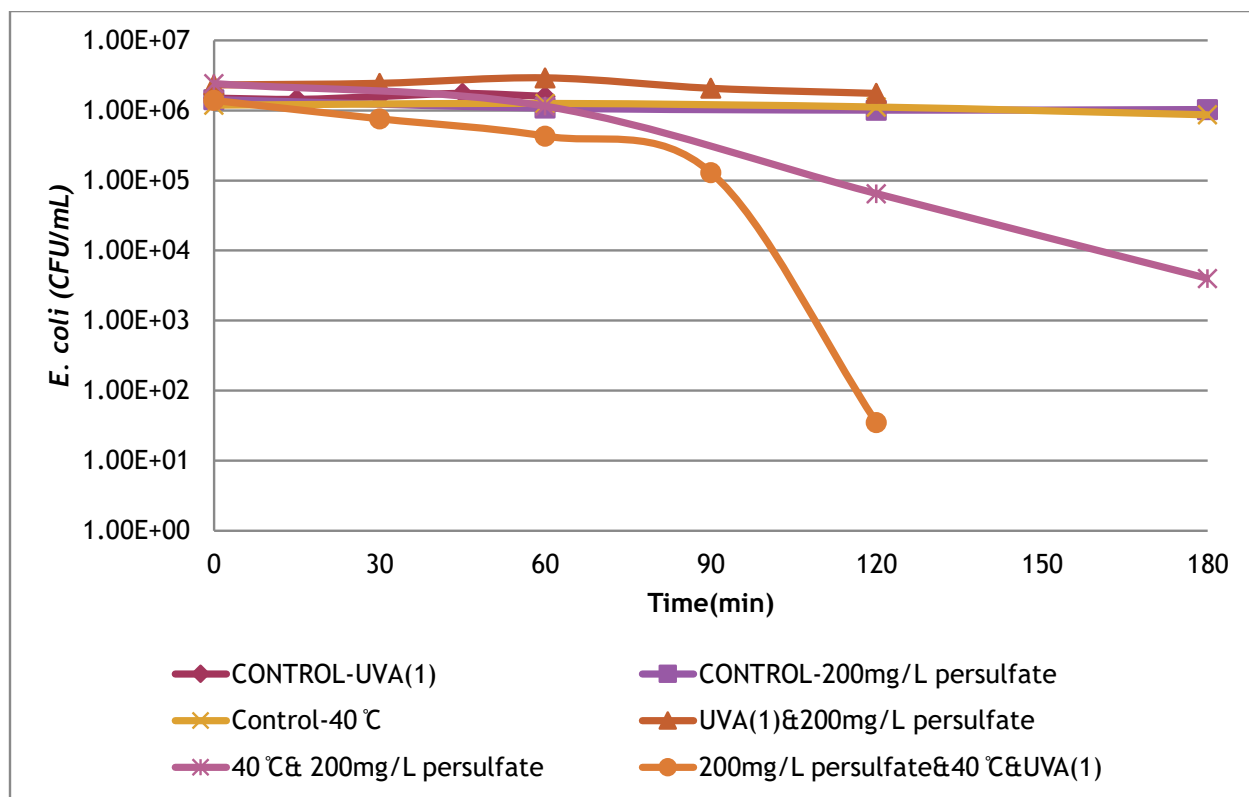
➤ **E.coli**

Στο παρακάτω διάγραμμα (Εικόνα 29) παρατηρούμε πως ο συνδυασμός των μεθόδων δρα καταλυτικά για την απομάκρυνση της *E. coli*. Πιο συγκεκριμένα, στην περίπτωση του πειράματος UVA/υπερθειικό (100mg/L) δεν υπάρχει καμία ελάττωση της συγκέντρωσης, και στο πείραμα με θερμότητα(40 °C)/υπερθειικό (100mg/L) υπάρχει μείωση της τάξης των 2 Log στον συνδυασμό, UVA/θερμότητα (40 °C)/υπερθειικό νάτριο (100mg/L), στις 2 h υπάρχει 100% αδρανοποίηση του βακτηρίου με αρχική συγκέντρωση στον χρόνο 0 $1.01 \cdot 10^6$ CFU/mL. Έχει παρατηρηθεί πως ο συνδυασμός μεθόδων για την ενεργοποίηση του υπερθειικού δρα αποτελεσματικά. Παρόλα αυτά συγκριτικά με μελέτη όπου χρησιμοποιήθηκε θερμότητα, ιόντα σιδήρου και υπερθειικό παρατηρήθηκε πως αυξήθηκε ο ρυθμός σχηματισμού του Fe^{3+} με αποτέλεσμα την αναστολή της αντίδρασης[2]. Αυτό μπορούμε να το παρατηρήσουμε συγκρίνοντας τις κινητικές, τις τιμές των K όπου φαίνεται πως στις περιπτώσεις όπου δεν υπάρχει συνδυασμός τριών μεθόδων η αντίδραση είναι καλύτερη.



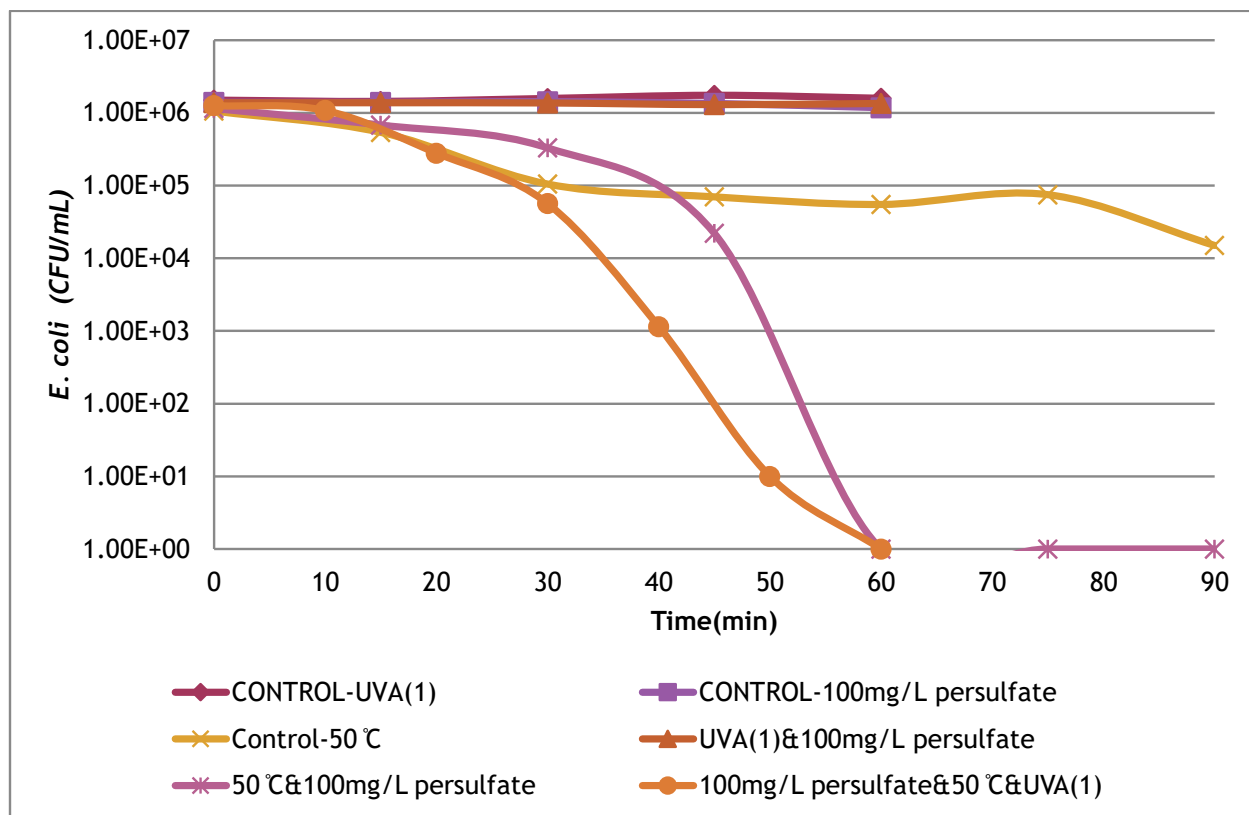
Εικόνα 29 UVA/θερμότητα (40 °C)/υπερθειικό νάτριο (100mg/L)

Στο παρακάτω διάγραμμα (Εικόνα 30) παρατηρούμε πως ο συνδυασμός των μεθόδων δρα καταλυτικά για την απομάκρυνση της *E. coli*. Πιο συγκεκριμένα, στην περίπτωση του πειράματος UVA/υπερθειικό (200mg/L) δεν υπάρχει καμία ελάττωση της συγκέντρωσης, και στο πείραμα με θερμοκρασία(40 °C)/υπερθειικό (200mg/L) υπάρχει μείωση της τάξης των 3 Log στον συνδυασμό, UVA/θερμότητα(40 °C)/υπερθειικό νάτριο (200mg/L), στις 2 h υπάρχει αδρανοποίηση του βακτηρίου της τάξης των 5 Log με αρχική συγκέντρωση στον χρόνο 0 1.39×10^6 CFU/mL. Ωστόσο, μπορούμε να πούμε πως η περίπτωση του συνδυασμού UVA/θερμότητα(40 °C)/υπερθειικό νάτριο (100mg/L) έδρασε πιο αποτελεσματικά, μιας και υπήρξε πλήρης αδρανοποίηση του βακτηρίου, απ'ότι η περίπτωση UVA/θερμότητα (40 °C)/υπερθειικό νάτριο (200mg/L). Σε άλλη μελέτη[29] παρατηρείται πως όταν αυξάνεται η δόση του υπερθειικού ο ρυθμός της αντίδρασης μειώνεται, σε αυτή την περίπτωση συμβαίνει το ίδιο πράγμα.



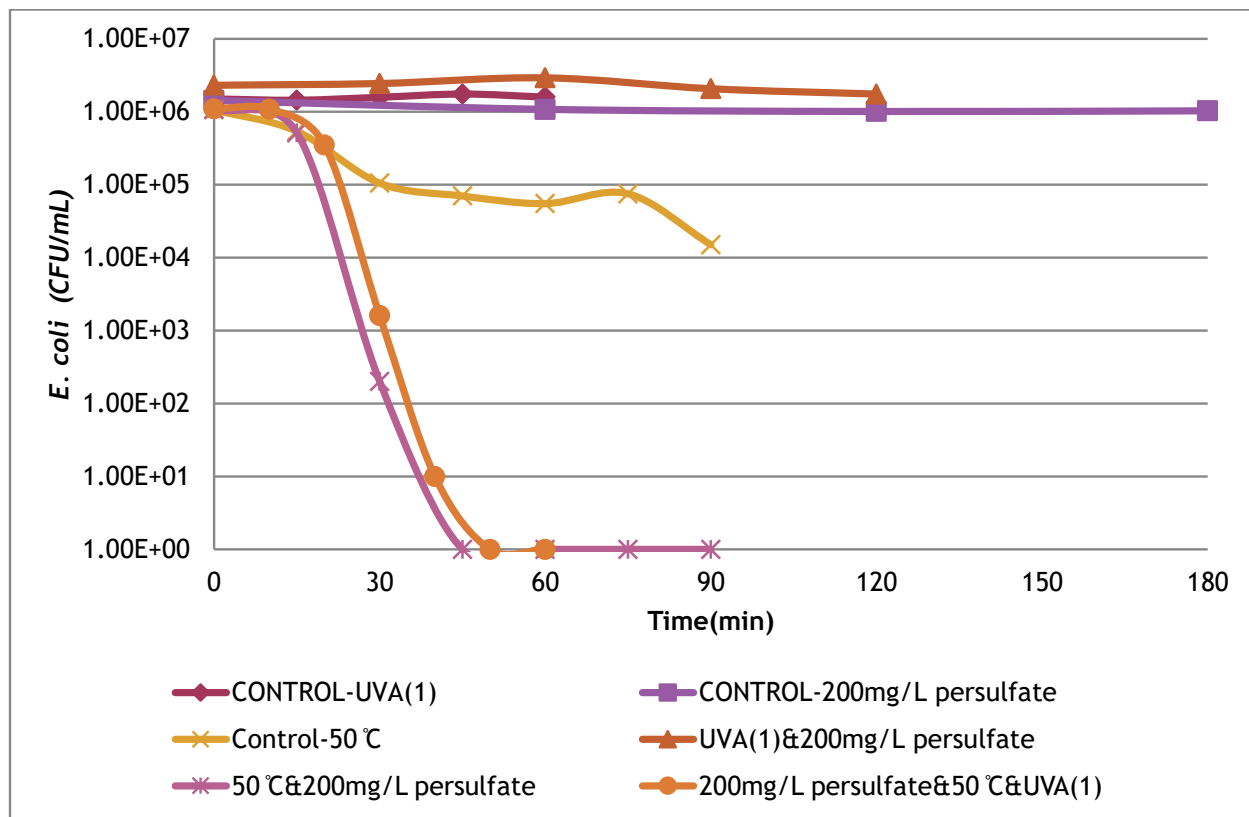
Εικόνα 30 UVA/θερμότητα (40 °C)/υπερθειικό νάτριο (200mg/L)

Στο παρακάτω γράφημα παρουσιάζεται ο συνδυασμός των παραγόντων με λάμπα UVA, θερμοκρασία 50 °C, και δόση υπερθειικού 100mg/L. Μπορούμε να διαπιστώσουμε πως αυτός ο συνδυασμός δρα καταλυτικά στην πλήρη αδρανοποίηση της *E. coli*. Παρόλο που η απομάκρυνση και στην περίπτωση του πειράματος με θερμοκρασία 50 °C, και δόση υπερθειικού 100mg/L, με αρχική συγκέντρωση $1.15 \cdot 10^6$ CFU/mL και στο συνδυασμό των παραγόντων με λάμπα UVA, θερμοκρασία 50 °C, και δόση υπερθειικού 100mg/L γίνεται στη 1 h, με αρχική συγκέντρωση $1.26 \cdot 10^6$ CFU/mL παρατηρείται πως χρονικά πιο γρήγορη είναι η μέθοδος του συνδυασμού.



Εικόνα 31 UVA/θερμότητα (50 °C)/υπερθειικό νάτριο (100mg/L)

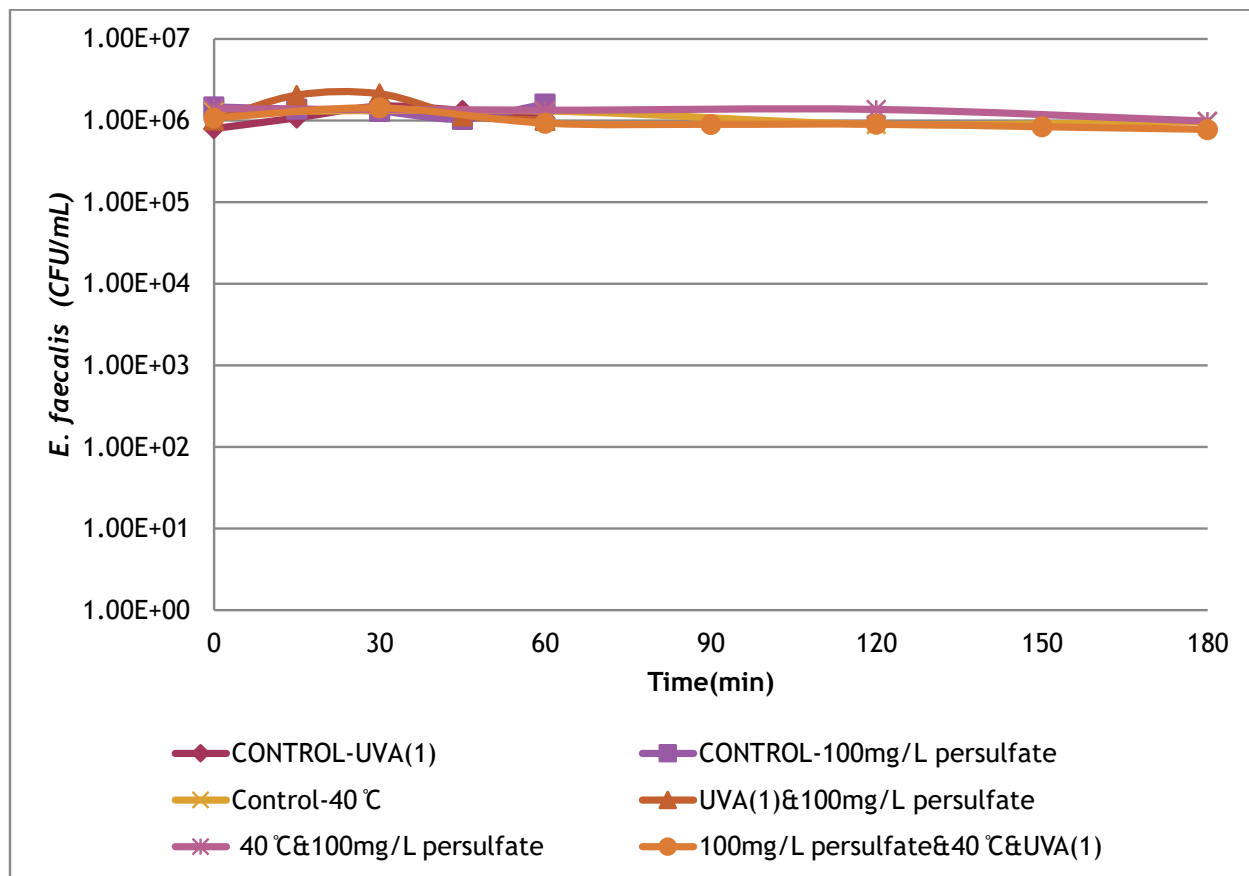
Παρακάτω αναγράφεται (Εικόνα 32) ο συνδυασμός των παραγόντων με λάμπα UVA, θερμοκρασία 50 °C, και δόση υπερθειικού 200mg/L. Μπορούμε να διαπιστώσουμε πως αυτός ο συνδυασμός δρα καταλυτικά στην πλήρη αδρανοποίηση της *E. coli*. Ωστόσο, η απομάκρυνση στην περίπτωση του πειράματος με θερμοκρασία 50 °C, και δόση υπερθειικού 200mg/L με αρχική συγκέντρωση $1.08 \cdot 10^6$ CFU/mL, έχει μείωση της τάξης των 6Log στη 1 h, στο συνδυασμό των παραγόντων με λάμπα UVA, θερμοκρασία 50 °C, και δόση υπερθειικού 100mg/L με αρχική συγκέντρωση $1.08 \cdot 10^6$ CFU/mL $1.10 \cdot 10^6$ γίνεται στα 50 min, μπορούμε να διαπιστώσουμε πως η σταθερά κινητικής της αντίδρασης του συνδυασμού είναι καλύτερη. Συγκριτικά τις περιπτώσεις UVA/θερμότητα (50 °C)/υπερθειικό νάτριο (100mg/L), UVA/θερμότητα (50 °C)/υπερθειικό νάτριο (200mg/L) μπορούμε να συμπεράνουμε πως και οι δυο προκαλούν πλήρη αδρανοποίηση της *E. coli* αλλά με λιγότερη απαίτηση χρόνου η δεύτερη περίπτωση στα 50 min. Εάν λάβουμε υπόψη τις τιμές του K που αναγράφονται τους πίνακες 8 και 17 συγκρίνοντας με μελέτη[2] όπου χρησιμοποιήθηκε συνδυασμός μεθόδων αλλά με χρήση ιόντων σιδήρου αντί ακτινοβολίας UVA παρατηρούμε πως και σε αυτή της περίπτωση η κινητική της αντίδρασης δρα ανασταλτικά.



Εικόνα 32 UVA/θερμότητα (50 °C)/υπερθειικό νάτριο (200mg/L)

➤ *E. faecalis*

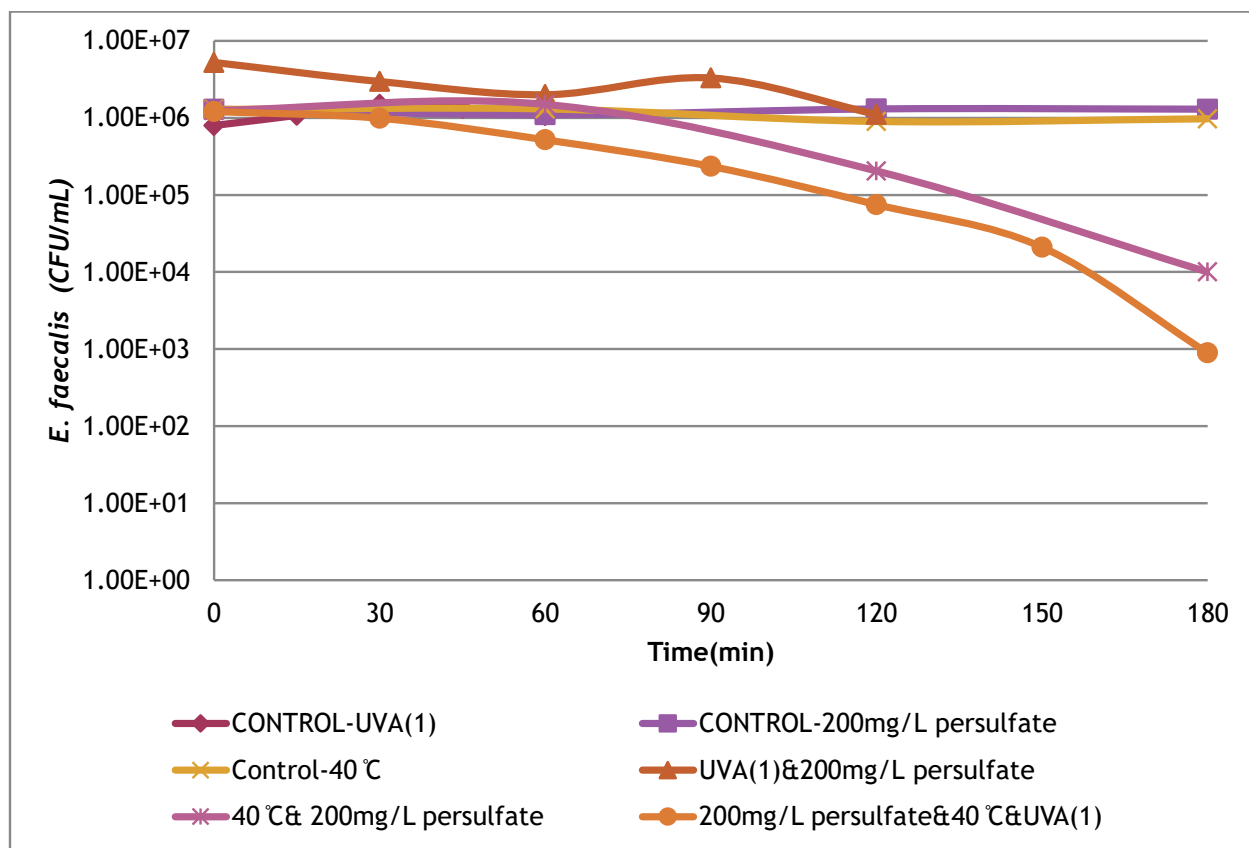
Στο παρακάτω διάγραμμα (Εικόνα 33) παρατηρούμε πως ο συνδυασμός των μεθόδων δεν δρα για την απομάκρυνση του *E. faecalis*. Πιο συγκεκριμένα, στην περίπτωση του πειράματος UVA/υπερθειικό (100mg/L) δεν υπάρχει καμία ελάττωση της συγκέντρωσης με αρχική τιμή $1.02 \cdot 10^6$ CFU/mL, ούτε και στο πείραμα με θερμότητα (40 °C)/υπερθειικό (100mg/L) με αρχική τιμή $1.40 \cdot 10^6$ CFU/mL, αλλά ούτε και στον συνδυασμό, UVA/θερμότητα(40 °C)/υπερθειικό νάτριο (100mg/L), με αρχική συγκέντρωση $1.08 \cdot 10^6$ CFU/mL. Ο *E. faecalis* ως Gram+ βακτήριο έχει πιο σκληρό κυτταρικό τοίχωμα και έτσι είναι πιο ανθεκτικό σε υψηλές θερμοκρασίες[52]



Εικόνα 33 UVA/θερμότητα (40 °C)/υπερθειικό νάτριο (100mg/L)

Στο γράφημα παραπάνω, (Εικόνα 34) παρατηρούμε πως ο συνδυασμός των μεθόδων δρα αποτελεσματικά για την απομάκρυνση του *E. faecalis*. Πιο συγκεκριμένα, στην περίπτωση του

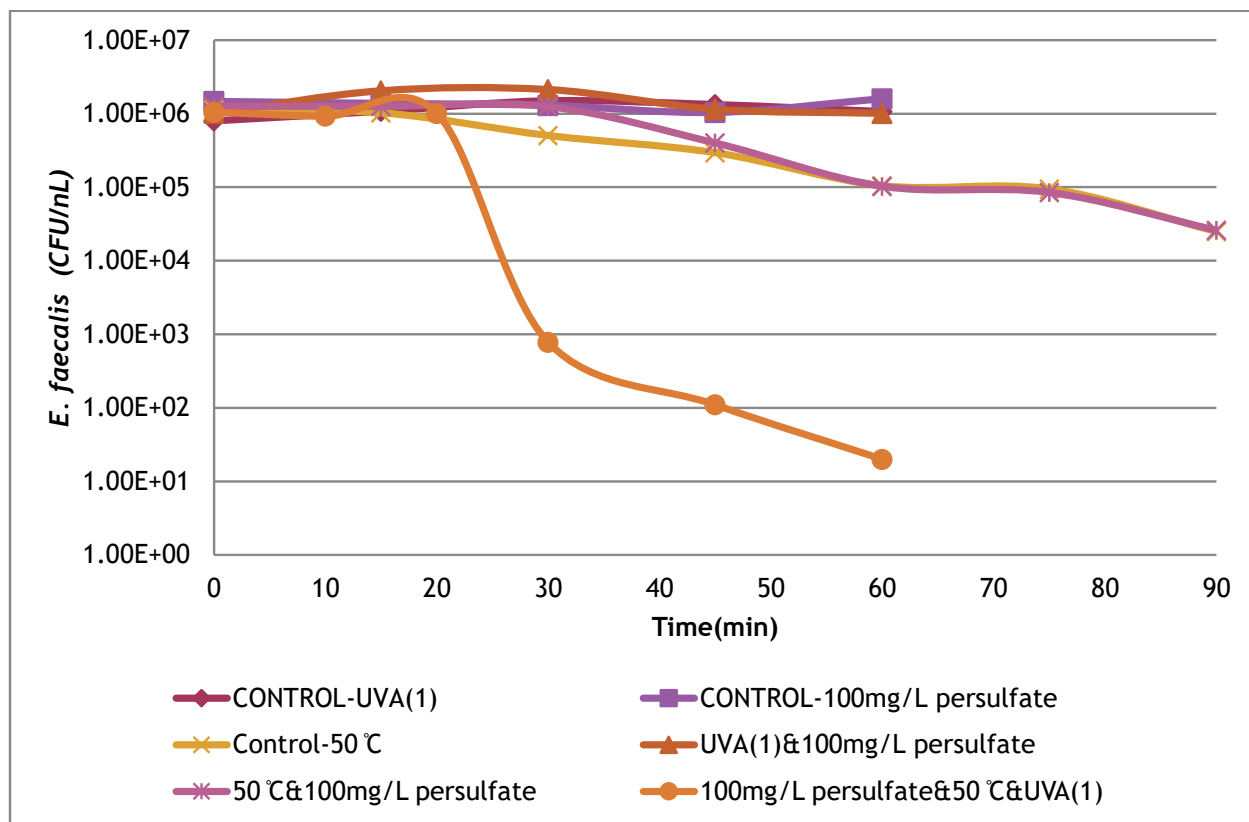
πειράματος UVA/υπερθειικό (200mg/L) με αρχική τιμή συγκέντρωσης $5.25 \cdot 10^6$ CFU/mL δεν υπάρχει καμία ελάττωση της συγκέντρωσης, και στο πείραμα με θερμότητα (40 °C)/υπερθειικό (200mg/L) με αρχική τιμή $1.25 \cdot 10^6$ CFU/mL, υπάρχει μείωση της τάξης των 3 Log στον συνδυασμό, UVA/θερμότητα(40 °C)/υπερθειικό νάτριο (200mg/L), στις 3 h υπάρχει μείωση της τάξης των 4 Log με αρχική συγκέντρωση στον χρόνο 0 $1.26 \cdot 10^6$ CFU/mL. Και σε αυτή την περίπτωση ο συνδυασμός των παραγόντων έπαιξαν σημαντικό ρόλο στο θετικό αποτέλεσμα της μείωσης της συγκέντρωσης του βακτηρίου. Συγκριτικά με τις τιμές του K που αναγράφονται στους πίνακες 10 και 18 μπορούμε να συμπεράνουμε πως η συνδυαστική μέθοδος είναι καλύτερη σε σχέση με άλλη μελέτη όπου ο συνδυασμός τριών παραμέτρων έδρασε ανασταλτικά [2].



Εικόνα 34 UVA/θερμότητα (40 °C)/υπερθειικό νάτριο (200mg/L)

Μέσω του παρακάτω γραφήματος (Εικόνα 35) συμπεραίνουμε πως ο συνδυασμός των παραγόντων με λάμπα UVA, θερμοκρασία 50 °C, και δόση υπερθειικού 100mg/L, επιταχύνει και επιτυγχάνει την μείωση της συγκέντρωσης του *E. faecalis*. Παρόλο που φαίνεται πως η

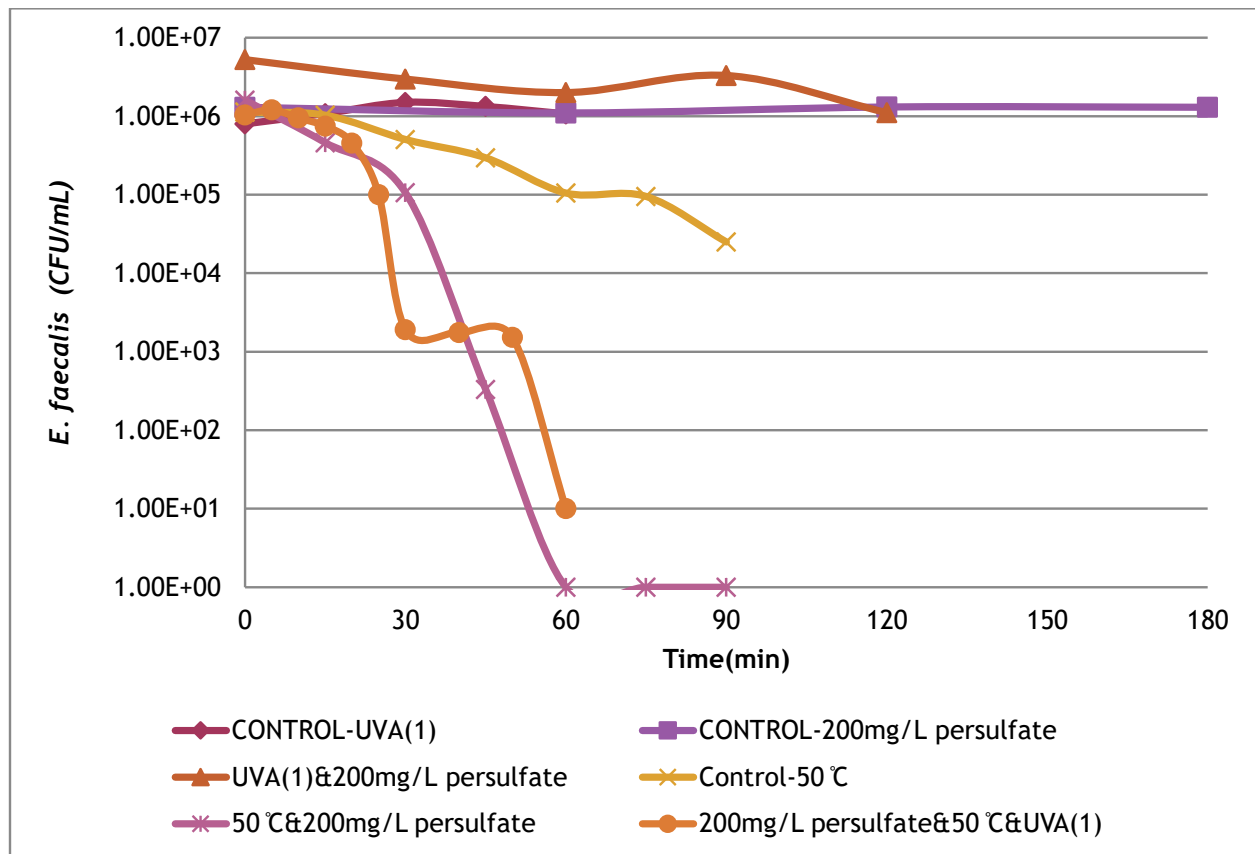
θερμοκρασία 50 °C με δόση υπερθειικού 100mg/L δεν επηρεάζει ιδιαίτερα το βακτήριο, ο συνδυασμός με λάμπα UVA, θερμοκρασία 50 °C, και δόση υπερθειικού 100mg/L ανέρχεται σε μείωση της τάξης των 5 Log, στη 1 h, με αρχική συγκέντρωση στον χρόνο 0 $1.05 \cdot 10^6$ CFU/mL. Είναι διακριτό πως δρα θετικά στην απομάκρυνση του βακτηρίου.



Εικόνα 35 UVA/θερμότητα (50 °C)/υπερθειικό νάτριο (100mg/L)

Παρακάτω αναγράφεται (Εικόνα 36) ο συνδυασμός των παραγόντων με λάμπα UVA, θερμότητα (50 °C), και δόση υπερθειικού 200mg/L. Μπορούμε να διαπιστώσουμε πως η μείωση της συγκέντρωσης του *E. faecalis* γίνεται πιο γρήγορα σε σχέση με την περίπτωση του πειράματος με θερμοκρασία 50 °C, και δόση υπερθειικού 200mg/L. Παρόλα αυτά, στην περίπτωση χωρίς τη χρήση λάμπας UVA έχουμε πλήρη αδρανοποίηση του μικροοργανισμού ενώ στην περίπτωση αυτή με τη χρήση λάμπας UVA, έχει μείωση της τάξης των 5 Log στη 1 h, με αρχική συγκέντρωση $1.04 \cdot 10^6$ CFU/mL. Συγκριτικά τις περιπτώσεις UVA/θερμότητα (50 °C)/υπερθειικό νάτριο (100mg/L), UVA/θερμότητα (50 °C)/υπερθειικό νάτριο (200mg/L) μπορούμε να συμπεράνουμε πως καμία από τις δυο δεν προκαλούν πλήρη αδρανοποίηση του *E. faecalis* αλλά είναι προφανές πως στην περίπτωση με αυξημένη δόση υπερθειικού 200mg/L η μείωση γίνεται πιο γρήγορα στο ίδιο διάστημα χρόνου της 1 h σε σχέση με την περίπτωση που

χρησιμοποιήθηκαν 100mg/L υπερθειικού. Ο συνδυασμός των μεθόδων UVA/θερμότητα/υπερθειικό φάνηκε να δρα αποτελεσματικά στη μερική ή και ολική αδρανοποίηση του *E. faecalis*. Παρόλα αυτά, η πιο αποτελεσματική περίπτωση αυτών των συνδυαστικών μεθόδων ήταν η χρήση μιας λάμπας UVA, θερμοκρασία 50 °C και 200mg/L δόση υπερθειικού, μιας και έχει το μεγαλύτερο K από τις υπόλοιπες περιπτώσεις. Με δεδομένα από άλλη μελέτη, πως με υψηλότερη δόση υπερθειικού υπάρχει αναστολή του ρυθμού της αντίδρασης, εμείς παρατηρούμε πως δρα πιο αποτελεσματικά από ότι με χαμηλότερες δόσεις υπερθειικού[29]. Και σε αυτή την περίπτωση, αν και δρα αποτελεσματικά ο συνδυασμός των μεθόδων προς αδρανοποίηση του βακτηρίου, συγκριτικά και με άλλη μελέτη[2] δρα όμως και ανασταλικά σε σχέση με την μέθοδο θερμοκρασίας/υπερθειικό νάτριο, πράγμα που διαπιστώνεται από τις τιμές του K στον συγκεντρωτικό πίνακα 21.

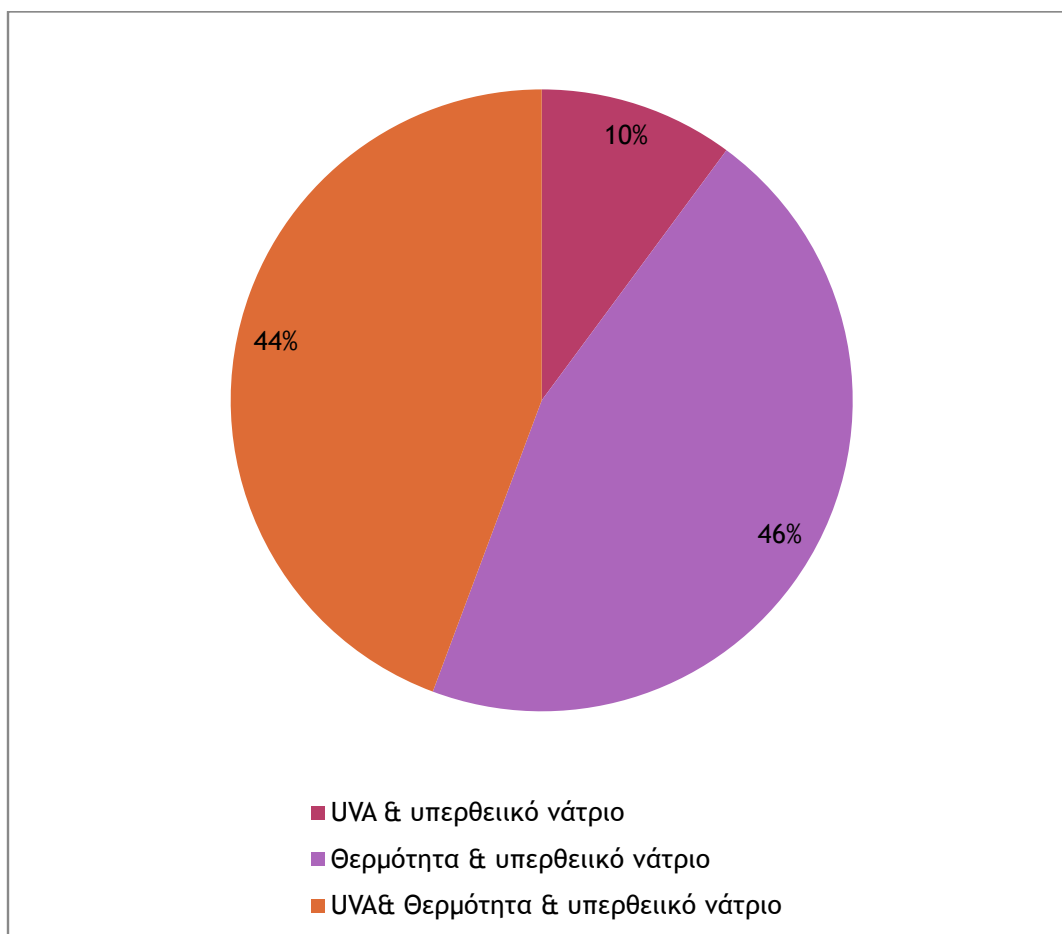


Εικόνα 36 UVA/θερμότητα (50 °C)/υπερθειικό νάτριο (200mg/L)

Πίνακας 3 Συγκεντρωτικός πίνακας για την αδρανοποίηση των βακτηρίων

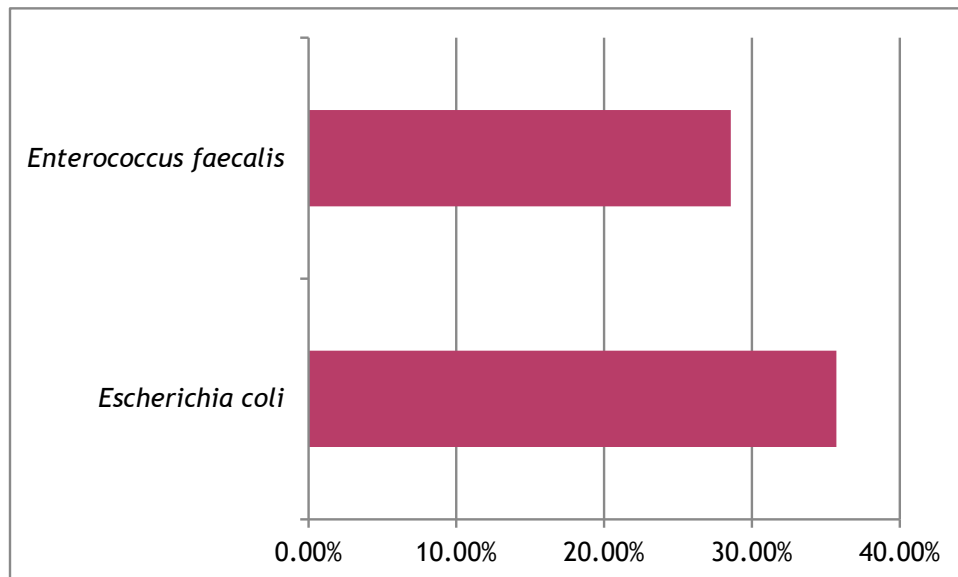
Είδος βακτηρίου	Δεδομένα πειράματος	C _{αρχικό} (CFUs/mL)	C _{τελικό} (CFUs/mL)	Μείωση πληθυσμού* (%)	k	R ² (συντελεστής γραμμικής συσχέτισης)
					(κινητική σταθερά αδρανοποίησης)	
<i>Escherichia coli</i>	UVA(2)& 300mg/Λυπερθειικό νάτριο	1.60E+06	1.00E+00	100.00%	2.2436	0.5328
<i>Escherichia coli</i>	40 °C & 100mg/Λυπερθειικό νάτριο	1.57E+06	2.50E+04	98.41%	0.0188	0.8354
<i>Escherichia coli</i>	40 °C & 200mg/Λυπερθειικό νάτριο	2.42E+06	4.00E+03	99.83%	0.0324	0.9283
<i>Escherichia coli</i>	50 °C & 100mg/Λυπερθειικό νάτριο	1.15E+06	1.00E+00	100.00%	0.1571	0.6618
<i>Escherichia coli</i>	50 °C & 200mg/Λυπερθειικό νάτριο	1.08E+06	1.00E+00	100.00%	0.2838	0.8972
<i>Escherichia coli</i>	60 °C & 100mg/Λυπερθειικό νάτριο	1.14E+06	1.00E+00	100.00%	1.4292	0.9939
<i>Escherichia coli</i>	UVA(1)&40 °C & 100mg/Λυπερθειικό νάτριο	1.01E+06	1.00E+00	100.00%	0.0617	0.4183
<i>Escherichia coli</i>	UVA(1)&40 °C & 200mg/Λυπερθειικό νάτριο	1.39E+06	3.50E+02	99.97%	0.0582	0.6331
<i>Escherichia coli</i>	UVA(1)&50 °C & 100mg/Λυπερθειικό νάτριο	1.26E+06	1.00E+00	100.00%	0.2016	0.8652
<i>Escherichia coli</i>	UVA(1)&50 °C & 200mg/Λυπερθειικό νάτριο	1.10E+06	1.00E+01	100.00%	0.2507	0.8589
<i>Enterococcus faecalis</i>	UVA(2)& 300mg/Λυπερθειικό νάτριο	1.37E+06	1.00E+00	100.00%	0.1106	0.6415
<i>Enterococcus faecalis</i>	40 °C & 200mg/Λυπερθειικό νάτριο	1.25E+06	1.00E+04	99.20%	0.0213	0.7728
<i>Enterococcus faecalis</i>	50 °C & 100mg/Λυπερθειικό νάτριο	1.26E+06	2.60E+04	97.94%	0.0368	0.8542
<i>Enterococcus faecalis</i>	50 °C & 200mg/Λυπερθειικό νάτριο	1.60E+06	1.00E+00	100.00%	0.1984	0.8639
<i>Enterococcus faecalis</i>	60 °C & 100mg/Λυπερθειικό νάτριο	1.50E+06	1.00E+00	100.00%	1.4722	0.9877
<i>Enterococcus faecalis</i>	UVA(1)&40 °C & 200mg/Λυπερθειικό νάτριο	1.21E+06	8.90E+02	99.93%	0.0298	0.8313
<i>Enterococcus faecalis</i>	UVA(1)&50 °C & 100mg/Λυπερθειικό νάτριο	1.05E+06	2.00E+01	100.00%	0.1548	0.8368
<i>Enterococcus faecalis</i>	UVA(1)&50 °C & 200mg/Λυπερθειικό νάτριο	1.04E+06	1.00E+01	100.00%	0.1826	0.8461

Ο συντελεστής k εκφράζει την αποτελεσματικότητα της μεθόδου απολύμανσης. Όσο πιο μεγάλος είναι ο συντελεστής k, τόσο αποτελεσματικότερη είναι η μέθοδος απολύμανσης. Αν παρατηρηθεί το ποσοστό μείωση πληθυσμού (%), του παραπάνω πίνακα, συγκριτικά με τον συντελεστή k, είναι εμφανείς οι διακυμάνσεις του ανάλογα τη μείωση του πληθυσμού του εκάστοτε βακτηρίου. Παρατηρούμε με βάση τα δεδομένα του παραπάνω πίνακα (Πίνακας 21) πως ως βέλτιστη λύση με την μεγαλύτερη τιμή του k να θεωρείται και για τα δυο βακτήρια η μέθοδος όπου χρησιμοποιήθηκε 60 °C και 100mg/L συγκέντρωση υπερθειικού νατρίου. Όμως εάν λάβουμε υπόψη τα control πειράματα και στα δυο βακτήρια στο πείραμα μόνο με θερμοκρασία 60 °C υπήρξε 100% αδρανοποίηση των βακτηρίων στα 20 min, οπότε η ενεργοποίηση του υπερθειικού έδρασε πιο γρήγορα για την πλήρη απολύμανση στα 10 min. Καταλήγουμε πως η βέλτιστη μέθοδος για την *E. coli* και για τον *E. faecalis* είναι 50 °C/200mg/L υπερθειικό νάτριο.



Εικόνα 37 Απεικόνιση μεθόδων σε σχέση με την αποτελεσματικότητά τους στην αδρανοποίηση των βακτηρίων.

Στην Εικόνα 37 απεικονίζεται συνοπτικά η απήχηση που είχε κάθε μέθοδος στην αδρανοποίηση των βακτηρίων *E. coli* και *E. faecalis*. Παρατηρούμε πως η μέθοδος όπου χρησιμοποιήθηκε θερμότητα για ενεργοποίηση υπερθειικού νατρίου ήταν η πιο αποτελεσματική μέθοδος, πράγμα που φάνηκε και παραπάνω συγκρίνοντας τις τιμές του K. Πραγματοποιήθηκαν 28 πειράματα, στον πρώτο κύκλο πειραμάτων για το κάθε βακτήριο έγιναν 5 πειράματα. Από τα 5 πειράματα μόνο το ένα έφερε θετικά αποτελέσματα ως προς την αδρανοποίηση των βακτηρίων. Στον δεύτερο κύκλο πειραμάτων έγιναν 10 πειράματα και επιθυμητά αποτελέσματα υπήρξαν από τα 9. Στον τελευταίο κύκλο πειραμάτων πραγματοποιήθηκαν 8 πειράματα από τα οποία τα 7 έδωσαν επιθυμητά αποτελέσματα.



Εικόνα 38 Αποτελεσματικότητα αδρανοποίησης μεταξύ των δυο βακτηρίων.

Στην παρούσα εργασία πραγματοποιήθηκαν 28 πειράματα. Για την *E.coli* υπήρξαν συνολικά 10 αποτελεσματικά πειράματα όπου έδρασαν αποτελεσματικά για την αδρανοποίηση του από τα οποία ένα υπήρξε από τον πρώτο κύκλο πειραμάτων, πέντε από τον δεύτερο και τέσσερα από τον τρίτο κύκλο. Για τον *E. faecalis* υπήρξαν συνολικά 8 αποτελεσματικά πειράματα ως προς επίδραση στην μείωση της συγκέντρωσής του από τα οποία υπήρξε ένα από τον πρώτο κύκλο πειραμάτων, τέσσερα από τον δεύτερο και τρία από τον τρίτο κύκλο πειραμάτων. Συγκρίνοντας τα δυο βακτήρια, μπορούμε να παρατηρήσουμε πως ο *E. faecalis* είναι πιο ανθεκτικός σε κάποιες περιπτώσεις σε σχέση με την *E. coli*, το οποίο μπορεί να οφείλεται στις διαφορετικές δομές του κυτταρικού περιβλήματος μεταξύ Gram – και Gram+ βακτηρίων.

5.ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η παρούσα εργασία επικεντρώθηκε στην αδρανοποίηση του Gram(-) βακτηρίου *E. coli* και του Gram(+) βακτηρίου *E. faecalis* με τη χρήση μια μεθόδου απολύμανσης φιλική προς το περιβάλλον, οικονομική και αποτελεσματική. Πιο συγκεκριμένα εξετάστηκε η ενεργοποίηση του υπερθειικού νατρίου μέσω διαφόρων παραγόντων προς παραγωγή οξειδωτικών ριζών που εν τέλει προκαλούν αδρανοποίηση των βακτηρίων. Χρησιμοποιήθηκαν οι εξής παράμετροι, UVA/υπερθειικό νάτριο, θερμότητα/υπερθειικό νάτριο και UVA/θερμότητα/υπερθειικό νάτριο. Τα κύρια συμπεράσματα που εξάγονται από αυτήν την εργασία συνοψίζονται παρακάτω:

- Η απολυμαντική δράση του ενεργοποιημένου υπερθειικού με τη χρήση UVA δεν ήταν ιδιαίτερα αποτελεσματική στην αδρανοποίηση και των δυο βακτηρίων. Αυξανόμενης της συγκέντρωσης του υπερθειικού (300mg/L) αλλά και της ακτινοβολίας επέφερε μείωση σε χρονικό διάστημα 3 h σε σχέση με τις χαμηλότερες συγκεντρώσεις και την λιγότερη ακτινοβολία.
- Η απολύμανση με την χρήση θερμότητας για ενεργοποίηση του υπερθειικού ήταν αποτελεσματική στην αδρανοποίηση και των δυο βακτηρίων. Πιο συγκεκριμένα η *E. coli* στους 40 °C είχε μείωση της συγκέντρωσης της τάξης των 2 Log με συγκέντρωση υπερθειικού 100mg/L ενώ με συγκέντρωση 200mg/L είχε μείωση της τάξης των 3 Log. Παράλληλα, με την χρήση 50 °C και 60 °C υπήρξε 100% αδρανοποίηση του βακτηρίου.
- Παρότι το βακτήριο *E. faecalis* αποδείχθηκε πιο ανθεκτικό σε υψηλότερη θερμοκρασία, στους 40 °C παρατηρήθηκε μια μείωση της τάξης του 1 Log ενώ με αυξημένη συγκέντρωση υπερθειικού (200mg/L) υπήρξε μείωση της τάξης των 2 Log. Ωστόσο, σε θερμοκρασία 50 °C και με αυξημένη δόση υπερθειικού (200mg/L) αλλά και στους 60 °C υπήρξε 100% αδρανοποίηση του βακτηρίου.
- Η βελτίωση της απολυμαντικής ικανότητας επήλθε στα πειράματα όπου υπήρχαν τρεις παράγοντες, UVA/θερμότητα/υπερθειικό νάτριο. Η προσθήκη ενός τρίτου παράγοντα έδρασε καταλυτικά σε σχέση με την πάροδο του χρόνου για την αδρανοποίηση των βακτηρίων.
- Υψηλότερη δόση υπερθειικού (200mg/L) έδρασε πιο αποτελεσματικά για την αδρανοποίηση της *E. coli* μαζί με την χρήση θερμοκρασία 50 °C από ότι με χαμηλότερη δόση υπερθειικού.
- Υψηλότερη δόση υπερθειικού (200mg/L) έδρασε πιο γρήγορα για την μερική αδρανοποίηση του *E. faecalis* μαζί με την χρήση θερμοκρασία 50 °C από ότι με χαμηλότερη δόση υπερθειικού.
- Η χρήση της θερμοκρασίας 50 °C με δόση υπερθειικού 200mg/L επιφέρει το καλύτερο αποτέλεσμα για την αδρανοποίηση της *E. coli*.
- Η χρήση της θερμοκρασίας 50 °C με δόση υπερθειικού 200mg/L επιφέρει το καλύτερο αποτέλεσμα για την αδρανοποίηση του *E. faecalis*.
- Εκτός από τον πρώτο κύκλο πειραμάτων, στον δεύτερο και τρίτο κύκλο έπειτα από 24 h δεν υπήρξε κάποια ανάπτυξη των βακτηρίων.

6.ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΕΣ ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ

Προκειμένου να υπάρξει μια πιο ολοκληρωμένη και καλύτερη εικόνα θα ήταν σημαντικό να πραγματοποιηθούν οι παρακάτω προτάσεις.

- Έλεγχος διαφορετικών συγκεντρώσεων του υπερθειικού νατρίου.
- Αδρανοποίηση των βακτηρίων με χρήση διαφορετικών μεθόδων ενεργοποίησης του υπερθειικού νατρίου .
- Διερεύνηση αδρανοποίησης περαιτέρω μικροοργανισμών-δεικτών που υπάρχουν στα ύδατα όπως *Citrobacter*, *Klebsiella*.
- Συνδυασμός της ενεργοποίησης του υπερθειικού νατρίου και με άλλους τρίτους παράγοντες όπως UVA/pH/υπερθειικό νάτριο.
- Διενέργεια πειραμάτων και σε άλλες υδατικές μήτρες (π.χ. συνθετικό και πραγματικό υγρό απόβλητο).

7.ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ:

- [1] Advanced Oxidation Process - an overview | ScienceDirect Topics, (n.d.). <https://www.sciencedirect.com/topics/earth-and-planetary-sciences/advanced-oxidation-process> (accessed March 12, 2019).
- [2] L.W. Matzek, K.E. Carter, Activated persulfate for organic chemical degradation: A review, *Chemosphere*. 151 (2016) 178–188. doi:10.1016/j.chemosphere.2016.02.055.
- [3] T. Asano, *Water reuse : issues, technologies, and applications*, McGraw-Hill, 2007. <https://www.accessengineeringlibrary.com/browse/water-reuse-issues-technologies-and-applications> (accessed May 6, 2019).
- [4] R.L. Droste, R.L. Gehr, *Theory and practice of water and wastewater treatment*, n.d. https://books.google.gr/books?hl=en&lr=&id=gmV-DwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PR21&dq=Droste,+R.L.,+1997.+Theory+and+Practice+of+Wate+r+and+Wastewater+Treatment.+Chapter+13,+Wiley,+NY.&ots=-6v-AehaS8&sig=c4XPKyw4nTz1PpB4VtwO-uQANHg&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false (accessed May 8, 2019).
- [5] ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ ΚΡΗΤΗΣ Σχολή Μηχανικών Περιβάλλοντος, (n.d.).
- [6] WebMD, *E. Coli Bacteria Infection: Symptoms, Treatment, Causes & Prevention*, (2018). <https://www.webmd.com/food-recipes/food-poisoning/what-is-e-coli#1> (accessed April 16, 2019).
- [7] G. Reshes, S. Vanounou, I. Fishov, M. Feingold, Cell Shape Dynamics in *Escherichia coli*, *Biophys. J.* 94 (2008) 251–264. doi:10.1529/biophysj.107.104398.
- [8] Σ. Παπαθανασόπουλος, *ΤΟ ΔΙΑΔΙΚΤΥΟ ΤΩΝ ΑΝΘΡΩΠΩΝ ΚΑΙ ΤΩΝ ΠΡΑΓΜΑΤΩΝ* | In Deep Analysis, (2017). <http://www.indeepanalysis.gr/nees-technologies/to-diadiktyo-twn-anthrw-pwn-kai-twn-pragmatwn> (accessed May 8, 2019).
- [9] M. Zischka, C.T. Künne, J. Blom, D. Wobser, T. Sakinç, K. Schmidt-Hohagen, P.W. Dabrowski, A. Nitsche, J. Hübner, T. Hain, T. Chakraborty, B. Linke, A. Goesmann, S. Voget, R. Daniel, D. Schomburg, R. Hauck, H.M. Hafez, P. Tielen, D. Jahn, M. Solheim, E. Sadowy, J. Larsen, L.B. Jensen, P. Ruiz-Garbajosa, D. Quiñones Pérez, T. Mikalsen, J. Bender, M. Steglich, U. Nübel, W. Witte, G. Werner, Comprehensive molecular, genomic and phenotypic analysis of a major clone of *Enterococcus faecalis* MLST ST40, *BMC Genomics*. 16 (2015) 175. doi:10.1186/s12864-015-1367-x.
- [10] *Subgingival Microbes*, *Atlas Oral Microbiol.* (2015) 67–93. doi:10.1016/B978-0-12-802234-4.00004-5.
- [11] *Enterococcus faecalis and Enterococcus faecium*, (n.d.). https://astro.temple.edu/~tomfeke/enterococcus_faecalis (accessed May 4, 2019).
- [12] ΦΡΑΓΓΕΔΑΚΗ, ΑΝΤΩΝΙΑ, Μεταπτυχιακή Διατριβή Απολύμανση νερού με τη χρήση φωτοκατάλυσης: Αδρανοποίηση της, (2014).
- [13] C.P. Huang, C. Dong, Z. Tang, Advanced chemical oxidation: Its present role and potential future in hazardous waste treatment, *Waste Manag.* 13 (1993) 361–377.

doi:10.1016/0956-053X(93)90070-D.

- [14] M.A. Oturan, J.-J. Aaron, Advanced Oxidation Processes in Water/Wastewater Treatment: Principles and Applications. A Review, Crit. Rev. Environ. Sci. Technol. 44 (2014) 2577–2641. doi:10.1080/10643389.2013.829765.
- [15] M.I. Stefan, Advanced oxidation processes for water treatment: fundamentals and applications., Adv. Oxid. Process. Water Treat. Fundam. Appl. (2017). <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20183102002> (accessed May 14, 2019).
- [16] ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ - ΕΥΑΓΓΕΛΙΑ ΚΑΛΕΜΗ_ΤΕΛΙΚΟ, (n.d.).
- [17] ΤΜΗΜΑ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ ΠΡΟΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ : ΕΛΕΓΧΟΣ ΑΠΟΛΥΜΑΝΣΗΣ ΝΕΡΟΥ ΚΑΙ ΛΥΜΑΤΩΝ ΜΕ, (2012) 1–105.
- [18] Major types of Advanced Oxidation Processes. | Download Scientific Diagram, (n.d.). https://www.researchgate.net/figure/Major-types-of-Advanced-Oxidation-Processes_fig1_254218653 (accessed May 5, 2019).
- [19] Π. Ιντζεβίδου, Προηγμένες διεργασίες οξείδωσης για την απομάκρυνση αντιμικροβιακών ουσιών από υδατικές μήτρες, (2018). <https://apothesis.eap.gr/handle/repo/37712> (accessed May 13, 2019).
- [20] Joonseon Jeong, and Jee Yeon Kim, J. Yoon*, The Role of Reactive Oxygen Species in the Electrochemical Inactivation of Microorganisms, (2006). doi:10.1021/ES0604313.
- [21] STP Ozonation & Advanced Oxidation Process [AOP], (n.d.). <https://www.slideshare.net/chemtronics/stp-ozonation-advanced-oxidation-process-aop> (accessed May 6, 2019).
- [22] M. Petrovic, J. Radjenovic, D. Barcelo, ADVANCED OXIDATION PROCESSES (AOPs) APPLIED FOR WASTEWATER AND DRINKING WATER TREATMENT. ELIMINATION OF PHARMACEUTICALS, Holist. Approach to Environ. 1 (2011) 63–74. https://hrcak.srce.hr/index.php?id_clanak_jezik=103247&show=clanak (accessed May 14, 2019).
- [23] Sodium persulfate | Na₂S₂O₈ - PubChem, (n.d.). <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/62655> (accessed May 4, 2019).
- [24] M. Cho, H. Chung, W. Choi, J. Yoon, Different inactivation behaviors of MS-2 phage and Escherichia coli in TiO₂ photocatalytic disinfection., Appl. Environ. Microbiol. 71 (2005) 270–5. doi:10.1128/AEM.71.1.270-275.2005.
- [25] H. Ikai, K. Nakamura, M. Shirato, T. Kanno, A. Iwasawa, K. Sasaki, Y. Niwano, M. Kohno, Photolysis of hydrogen peroxide, an effective disinfection system via hydroxyl radical formation., Antimicrob. Agents Chemother. 54 (2010) 5086–91. doi:10.1128/AAC.00751-10.
- [26] I.M. Kolthoff, I.K. Miller, The Chemistry of Persulfate. I. The Kinetics and Mechanism of the Decomposition of the Persulfate Ion in Aqueous Medium ¹, J. Am. Chem. Soc. 73 (1951) 3055–3059. doi:10.1021/ja01151a024.
- [27] D.A. House, Kinetics and Mechanism of Oxidations by Peroxydisulfate., Chem. Rev. 62 (1962) 185–203. doi:10.1021/cr60217a001.

- [28] A. TSITONAKI, B. PETRI, M. CRIMI, H. MOSBÆK, R.L. SIEGRIST, P.L. BJERG, In Situ Chemical Oxidation of Contaminated Soil and Groundwater Using Persulfate: A Review, *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* 40 (2010) 55–91. doi:10.1080/10643380802039303.
- [29] Y. Chen, P. Xie, Z. Wang, R. Shang, S. Wang, UV/persulfate preoxidation to improve coagulation efficiency of *Microcystis aeruginosa*, *J. Hazard. Mater.* 322 (2017) 508–515. doi:10.1016/j.jhazmat.2016.10.017.
- [30] S.-Y. Oh, H.-W. Kim, J.-M. Park, H.-S. Park, C. Yoon, Oxidation of polyvinyl alcohol by persulfate activated with heat, Fe²⁺, and zero-valent iron, *J. Hazard. Mater.* 168 (2009) 346–351. doi:10.1016/J.JHAZMAT.2009.02.065.
- [31] C. Tan, N. Gao, Y. Deng, N. An, J. Deng, Heat-activated persulfate oxidation of diuron in water, *Chem. Eng. J.* 203 (2012) 294–300. doi:10.1016/J.CEJ.2012.07.005.
- [32] Y. Ji, C. Dong, D. Kong, J. Lu, Q. Zhou, Heat-activated persulfate oxidation of atrazine: Implications for remediation of groundwater contaminated by herbicides, *Chem. Eng. J.* 263 (2015) 45–54. doi:10.1016/J.CEJ.2014.10.097.
- [33] R.H. Waldemer, P.G. Tratnyek, R.L. Johnson, J.T. Nurmi, Oxidation of chlorinated ethenes by heat-activated persulfate: kinetics and products., *Environ. Sci. Technol.* 41 (2007) 1010–5. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17328217> (accessed May 3, 2019).
- [34] X. Gu, S. Lu, L. Li, Z. Qiu, Q. Sui, K. Lin, Q. Luo, Oxidation of 1,1,1-Trichloroethane Stimulated by Thermally Activated Persulfate, *Ind. Eng. Chem. Res.* 50 (2011) 11029–11036. doi:10.1021/ie201059x.
- [35] A. Ghauch, A.M. Tuqan, N. Kibbi, Ibuprofen removal by heated persulfate in aqueous solution: A kinetics study, *Chem. Eng. J.* 197 (2012) 483–492. doi:10.1016/J.CEJ.2012.05.051.
- [36] K.-C. Huang, R.A. Couttenye, G.E. Hoag, Kinetics of heat-assisted persulfate oxidation of methyl tert-butyl ether (MTBE)., *Chemosphere.* 49 (2002) 413–20. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12365838> (accessed May 3, 2019).
- [37] P. Drzewicz, L. Perez-Estrada, A. Alpatova, J.W. Martin, M. Gamal El-Din, Impact of Peroxydisulfate in the Presence of Zero Valent Iron on the Oxidation of Cyclohexanoic Acid and Naphthenic Acids from Oil Sands Process-Affected Water, *Environ. Sci. Technol.* 46 (2012) 8984–8991. doi:10.1021/es3011546.
- [38] R.P. Buck, S. Singhadeja, L.B. Rogers, Ultraviolet Absorption Spectra of Some Inorganic Ions in Aqueous Solutions, *Anal. Chem.* 26 (1954) 1240–1242. doi:10.1021/ac60091a051.
- [39] W.H. Glaze, J.-W. Kang, D.H. Chapin, The Chemistry of Water Treatment Processes Involving Ozone, Hydrogen Peroxide and Ultraviolet Radiation, *Ozone Sci. Eng.* 9 (1987) 335–352. doi:10.1080/01919518708552148.
- [40] S. Neysari, Kinetics of heat-assisted persulfate oxidation of methyl tert-butyl ether (MTBE), *Chemosphere.* (n.d.). https://www.academia.edu/3345780/Kinetics_of_heat-assisted_persulfate_oxidation_of_methyl_tert-butyl_ether_MTBE_ (accessed May 3, 2019).

- [41] P.R. Shukla, S. Wang, H.M. Ang, M.O. Tadó, Photocatalytic oxidation of phenolic compounds using zinc oxide and sulphate radicals under artificial solar light, *Sep. Purif. Technol.* 70 (2010) 338–344. doi:10.1016/J.SEPPUR.2009.10.018.
- [42] P. Avetta, A. Pensato, M. Minella, M. Malandrino, V. Maurino, C. Minero, K. Hanna, D. Vione, Activation of Persulfate by Irradiated Magnetite: Implications for the Degradation of Phenol under Heterogeneous Photo-Fenton-Like Conditions, *Environ. Sci. Technol.* 49 (2015) 1043–1050. doi:10.1021/es503741d.
- [43] M.K. Sahoo, M. Marbaniang, R.N. Sharan, UV light-assisted mineralisation and biodegradation of Ponceau S with hydroxyl and sulfate radicals, *Chem. Pap.* 70 (2016) 1066–1077. doi:10.1515/chempap-2016-0050.
- [44] D. Raharinirina, G. Ramanantsizehena, F. Lahatra Razafindramisa, N. Karpel, V. Leitner, Comparison of UV/H₂O₂ and UV/S₂O₈²⁻-processes for the decoloration of azo dyes Congo Red in various kinds of water, n.d. <http://www.slac.stanford.edu/econf/C0908211/pdf/022.pdf> (accessed May 15, 2019).
- [45] H.-Y. Shu, M.-C. Chang, S.-W. Huang, UV irradiation catalyzed persulfate advanced oxidation process for decolorization of Acid Blue 113 wastewater, *Desalin. Water Treat.* 54 (2015) 1013–1021. doi:10.1080/19443994.2014.924033.
- [46] E.A. Serna-Galvis, L. Salazar-Ospina, J.N. Jiménez, N.J. Pino, R.A. Torres-Palma, Elimination of carbapenem resistant *Klebsiella pneumoniae* in water by UV-C, UV-C/persulfate and UV-C/H₂O₂. Evaluation of response to antibiotic, residual effect of the processes and removal of resistance gene, *J. Environ. Chem. Eng.* (2018). doi:10.1016/J.JECE.2018.02.004.
- [47] A. Hassen, M. Mahrouk, H. Ouzari, M. Cherif, A. Boudabous, J.J. Damelincourt, UV disinfection of treated wastewater in a large-scale pilot plant and inactivation of selected bacteria in a laboratory UV device, *Bioresour. Technol.* 74 (2000) 141–150. doi:10.1016/S0960-8524(99)00179-0.
- [48] K.G. McGuigan, T.M. Joyce, R.M. Conroy, J.B. Gillespie, M. Elmore-Meegan, Solar disinfection of drinking water contained in transparent plastic bottles : characterizing the bacterial inactivation process, 1998. https://s3.amazonaws.com/academia.edu.documents/33287013/1998_McGuigan_1998_J_Appl_Microbiol.pdf?AWSAccessKeyId=AKIAIWOWYYGZ2Y53UL3A&Expires=1559053890&Signature=uZ9nee6KFG5DBV4SXi2QHjOFDEU%3D&response-content-disposition=inline%3B filename%3DSolar_disinfection_of_drinking_water_con.pdf (accessed May 28, 2019).
- [49] K.-C. Huang, Z. Zhao, G.E. Hoag, A. Dahmani, P.A. Block, Degradation of volatile organic compounds with thermally activated persulfate oxidation, *Chemosphere.* 61 (2005) 551–560. doi:10.1016/J.CHEMOSPHERE.2005.02.032.
- [50] C. Tan, N. Gao, Y. Deng, N. An, J. Deng, Heat-activated persulfate oxidation of diuron in water, *Chem. Eng. J.* 203 (2012) 294–300. doi:10.1016/J.CEJ.2012.07.005.
- [51] Y. Lee, S. Lo, J. Kuo, C. Hsieh, Decomposition of perfluorooctanoic acid by microwaveactivated persulfate: Effects of temperature, pH, and chloride ions, *Front. Environ. Sci. Eng.* 6 (2012) 17–25. doi:10.1007/s11783-011-0371-x.

- [52] Thermal inactivation of *Enterococcus faecium*: effect of growth temperature and physiological state of microbial cells. - PubMed - NCBI, (n.d.).
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14633102> (accessed May 28, 2019).

Ιστοσελίδες:

- scopus
- sience direct
- web of science
- pubchem
- wikipedia
- eclass/tuc
- research gate