



ΣΧΟΛΗ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

‘ΕΛΕΓΧΟΣ ΑΠΟΔΟΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΜΕΘΟΔΩΝ ΑΠΟΛΥΜΑΝΣΗΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΔΡΑΝΟΠΟΙΗΣΗ ΠΑΘΟΓΟΝΩΝ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ ΣΤΟ ΝΕΡΟ’

**Διπλωματική Εργασία
Τσίρου Μυρτώ
Α.Μ. 2014050076**

**ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ
ΒΕΝΙΕΡΗ ΔΑΝΑΗ (ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ)
ΨΥΛΛΑΚΗ ΕΛΕΥΘΕΡΙΑ
ΚΑΛΟΓΕΡΑΚΗΣ ΝΙΚΟΛΑΟΣ**

Χανιά 2020

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

Ευχαριστίες

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στο Εργαστήριο «Περιβαλλοντικής Μικροβιολογίας» στα πλαίσια του Προγράμματος Προπτυχιακών Σπουδών της σχολής Μηχανικών Περιβάλλοντος του Πολυτεχνείου Κρήτης.

Σε αυτό το σημείο θα ήθελα να ευχαριστήσω όλους όσους συνέβαλαν, με οποιονδήποτε τρόπο, στην ολοκλήρωση της παρούσας προπτυχιακής εργασίας.

Πρωταρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την Επιβλέπουσα Καθηγήτρια κα Βενιέρη Δανάη, για την ανάθεση του θέματος, την άψογη συνεργασία μας και για την πολύτιμη καθοδήγηση της καθ' όλη την διάρκεια της εκπόνησης της εργασίας. Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω τον κο Τριχάκη Γιάννη για την πολύτιμη επιστημονική καθοδήγηση και την καθοριστική συνεισφορά του σε ένα πολύ σημαντικό κομμάτι της εργασίας.

Ακόμη, ιδιαίτερες ευχαριστίες, οφείλω στην κα. Γουνάκη Ιωσηφίνα, Ε.Δ.Ι.Π., η οποία υπήρξε πολύτιμος αρωγός δείχνοντας ανεξάντλητη υπομονή και επιμονή, διαθέτοντας μεγάλο μέρος του χρόνου της, ώστε να με κατευθύνει σωστά τόσο στο εργαστηριακό μέρος της διπλωματικής μου, όσο και στο θεωρητικό.

Επίσης, ευχαριστώ πολύ τα μέλη της τριμελούς επιτροπής, τον κ. Καλογεράκη Νικόλαο και την κα. Ψυλλάκη Ελευθερία για την παρουσία τους και για το χρόνο που διέθεσαν στην αξιολόγηση της εργασίας.

Στο σημείο αυτό, θα παρακαλούσα να μου επιτραπεί να απευθυνθώ στους γονείς μου, Δημήτρη και Νάγια, και να τους ευχαριστήσω που μου συμπαραστάθηκαν σε όλες τις επιλογές μου και με στήριξαν, με όλη τη σημασία της λέξης, στα φοιτητικά μου χρόνια.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω τις φίλες μου, Ήλια, Μαρία, Ραφαέλα, Ρίτα και Μαριλύ για τα υπέροχα φοιτητικά χρόνια που περάσαμε μαζί.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η ανεπαρκής πρόσβαση ενός μεγάλου μέρους του παγκόσμιου πληθυσμού σε ασφαλές πόσιμο νερό, αποτελεί ένα από τα σημαντικότερα περιβαλλοντικά προβλήματα της εποχής μας. Η αντιμετώπιση αυτού του προβλήματος απαιτεί την βελτιστοποίηση των συμβατικών διεργασιών επεξεργασίας του νερού, με σκοπό την ενίσχυση της αποτελεσματικότητας και της ενεργειακής απόδοσης αυτών.

Απολύμανση του νερού ορίζεται η απαλλαγή του σε μεγάλο ποσοστό από παθογόνους μικροοργανισμούς και πραγματοποιείται με τη θανάτωση των μικροοργανισμών ή και με τον περιορισμό της ανάπτυξης και της αναπαραγωγής τους.

Υπάρχουν διάφοροι τρόποι απολύμανσης όπως είναι η χλωρίωση, η οζόνωση, η απολύμανση με υπεριώδη ακτινοβολία UV, τρόποι συνηθισμένοι και πετυχημένοι πλην όμως δαπανηροί και αντιοικολογικοί. Αυτό οδήγησε στην αναζήτηση νέων, φιλικών προς το περιβάλλον, τρόπων απολύμανσης όπως της αξιοποίησης της ηλιακής ακτινοβολίας μέσω του μηχανισμού της φωτοκατάλυσης.

Στη συγκεκριμένη διπλωματική εργασία μελετήθηκε εργαστηριακά η αποτελεσματικότητα της ηλιακής ακτινοβολίας παρουσία καταλύτη (ηλιακή φωτοκατάλυση), της χλωρίωσης αλλά και της ακτινοβολίας UVC ως μεθόδων απολύμανσης. Οι μικροοργανισμοί που εξετάστηκαν βρίσκονταν, ξεχωριστά ο καθένας, μέσα σε υδατικό διάλυμα. Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν έχοντας προκαθορίσει την ένταση της ακτινοβολίας UVC, τη δόση του χλωρίου όπως και τη συγκέντρωση των μικροοργανισμών, την ποσότητα του καταλύτη και τον όγκο του τελικού διαλύματος. Οι μικροοργανισμοί που μελετήθηκαν είναι η *Escherichia coli*, η *Klebsiella pneumoniae* και ο *Staphylococcus aureus*, ενώ οι καταλύτες που χρησιμοποιήθηκαν ήταν το τιτανικό μαγνήσιο ($MgTiO_3$) και ο τιτανικός ψευδάργυρος ($ZnTiO_3$) (περοβσκίτες).

Τέλος, μέσα από την υπεροξείδωση των λιπιδίων της μεμβράνης των κυττάρων των βακτηρίων ελέγχθηκε πόσο δραστική ήταν η κάθε μέθοδος απολύμανσης που εξετάστηκε. Ο προσδιορισμός της οξειδωσης των λιπιδίων μέσω της τιμής της σχηματιζόμενης malondialdehyde (MDA), έγινε με τη μέθοδο του θειοβαρβιτουρικού οξέος.

Σύμφωνα με τα πειραματικά αποτελέσματα, η μέθοδος που αποδείχθηκε πιο αποτελεσματική για όλα τα βακτήρια είναι η ακτινοβολία UVC, αφού η τάξη μείωσης των βακτηριακών πληθυσμών ήταν 6 Logs σε περίπου 1 min. Όσον αφορά στη μέθοδο της χλωρίωσης, σχετικά καλά αποτελέσματα μας έδωσαν και οι δύο συγκεντρώσεις, όπου η τάξη μείωσης των βακτηριακών πληθυσμών ήταν 4 Logs σε χρόνο 60 min. Η μέθοδος της ηλιακής ακτινοβολίας με καταλύτη $ZnTiO_3$ ήταν πιο αποτελεσματική για το βακτήριο *Staphylococcus aureus* αφού η τάξη μείωσης των βακτηριακών πληθυσμών ήταν 6 Logs για 50mg/L και 5 Logs για 25mg/L στις 4 h, ενώ για τα άλλα δύο βακτήρια ήταν 4 Logs και για τις δύο συγκεντρώσεις στις 4 h. Όσον αφορά τον καταλύτη $MgTiO_3$, χρησιμοποιήθηκε μόνο για την αδρανοποίηση του βακτηρίου *Escherichia coli*. Η αποτελεσματικότερη συγκέντρωση ήταν 50mg/L σε χρόνο 3 h, όπου η τάξη μείωσης είναι 6 Logs.

Τέλος, ελέγχοντας την ποσότητα της μηλονικής διαλδεΰδης που παράχθηκε μέσω της οξείδωσης των λιπιδίων, παρατηρούμε πως η πιο αποδοτική μέθοδος είναι η απολύμανση με ακτινοβολία UVC. Η ποσότητα της MDA που παράχθηκε στη συγκεκριμένη μέθοδο ήταν περισσότερη από οποιαδήποτε άλλη μέθοδο, ειδικά για το βακτήριο *S.aureus*, αφού ήταν αυξημένη κατά 57% από την αμέσως επόμενη.

Abstract

Inadequate access of a large part of the world's population to safe drinking water is one of the major environmental problems of our time. Addressing this problem requires the optimization of conventional water treatment processes, in order to enhance their effectiveness and energy efficiency.

Water disinfection is defined as its release from pathogenic micro-organisms and is carried out by killing the micro-organisms or by restricting their growth and reproduction.

There are various ways of disinfection such as chlorination, ozonation, UV disinfection, common and successful but costly and uneconomic ways. This has led to the search for new, environmentally friendly ways of disinfection such as utilizing solar radiation through the mechanism of photocatalysis.

In this thesis, the efficacy of solar radiation in the presence of catalyst, chlorination and UVC as disinfection methods was studied in the laboratory. The micro-organisms tested were, each, in water solution. Experiments were performed by predetermining the intensity of UVC radiation, the chlorine dose as well as the concentration of microorganisms, the amount of catalyst and the volume of the final solution. The microorganisms studied were *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* and *Staphylococcus aureus*, while the catalysts used were magnesium titanium ($MgTiO_3$) and zinc titanium ($ZnTiO_3$) (perovskites).

Finally, the lipid peroxidation of the bacterial cell membrane tested how effective each disinfection method was. Determination of lipid oxidation by the value of the formed malondialdehyde (MDA) was done by the thiobarbituric acid method.

According to the experimental results, the method that proved to be most effective for all bacteria is UVC radiation, since the reduction order of bacterial population was 6 Logs in about 1 min. Regarding the chlorination method, both concentrations yielded relatively good results, with the reduction order of bacterial population being 4 Logs at 60 min. The solar radiation method with $ZnTiO_3$ catalyst was more effective for *Staphylococcus aureus* bacteria as the reduction of bacterial population was 6 Logs for 50mg/L and 5 Logs for 25mg/L in 4 h, while for the other two bacterias it was 4 Logs for both concentrations at 4 h. For the catalyst $MgTiO_3$, it was used only to inactivate the bacterium *Escherichia coli*. The most effective concentration was 50mg/L at 3 h, with a reduction order of 6 Logs.

Finally, by controlling the amount of malondialdehyde produced through lipid oxidation, we observe that the most efficient disinfection method is UVC radiation.

The amount of MDA produced in this method was more than any other method, especially for the bacterium *S.aureus*, as it was increased by 57% from the next method.

Περιεχόμενα

Πίνακας περιεχομένων

<i>Ευχαριστίες</i>	2
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	3
<i>Abstract</i>	5
<i>Περιεχόμενα</i>	6
<i>Ευρετήριο πινάκων</i>	7
<i>Ευρετήριο εικόνων</i>	8
1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ	10
1.1 Η σημασία του νερού	10
1.2 Αναγκαιότητα Απολύμανσης	10
1.2.1 Μηχανισμοί Απολύμανσης	11
1.2.2 Μέσα και μέθοδοι απολύμανσης	12
1.2.3 Μηχανισμοί των απολυμαντικών.....	12
1.2.4 Παράγοντες που επηρεάζουν τη χρήση των απολυμαντικών	12
1.2.5 Νόμος της Harriette Chick	15
1.3 Βακτηριακοί δείκτες.....	16
1.3.1 <i>Escherichia coli</i>	16
1.3.2 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	17
1.3.3 <i>Staphylococcus aureus</i>	18
1.4 Χλωρίωση	19
1.4.1 Αντιδράσεις του χλωρίου με το νερό	19
1.4.2 Πλεονεκτήματα της χλωρίωσης.....	20
1.4.3 Μειονεκτήματα της χλωρίωσης	20
1.4.4 Παραπροϊόντα χλωρίωσης	20
1.5 Υπεριώδης ακτινοβολία	22
1.5.1 Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα της απολύμανσης με ακτινοβολία UV	23
1.6 Φωτοκατάλυση	23
1.6.1 Ετερογενής φωτοκατάλυση.....	24
1.6.2 Ηλιακή Φωτοκατάλυση	25
1.6.3 Καταλύτες.....	26
1.7 Υπεροξειδωση λιπιδίων	29
1.7.1 Μηλονική διαλδεϋδη (MDA).....	30
2 ΣΚΟΠΟΣ	32
3 ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ	33
3.1 Υλικά και εξοπλισμός	33
3.1.1 ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΑ ΥΛΙΚΑ	33
3.1.2 ΘΡΕΠΤΙΚΑ ΥΛΙΚΑ.....	34
3.1.3 ΧΗΜΙΚΑ ΥΛΙΚΑ	34
3.1.4 ΒΑΚΤΗΡΙΑΚΑ ΣΤΕΛΕΧΗ	34
3.1.5 ΔΙΑΛΥΜΑΤΑ ΠΟΥ ΠΑΡΑΣΚΕΥΑΣΤΗΚΑΝ	34
3.1.6 ΚΑΤΑΛΥΤΕΣ	35
3.1.7 ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ.....	35
3.2 Πειραματική Διαδικασία.....	36

3.2.1 Παρασκευή θρεπτικών υλικών.....	36
3.2.2 Μέθοδοι	36
3.2.3 Υπεροξείδωση λιπιδίων	41
4 MATLAB	43
5 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	43
5.1 Αποτελέσματα καταλυτών.....	43
5.1.1 Τιτανικό Μαγνήσιο ($MgTiO_3$).....	44
5.1.2 Τιτανικός Ψευδάργυρος ($ZnTiO_3$).....	46
5.2 Αποτελέσματα φωτοκατάλυσης με ηλιακή ακτινοβολία	48
5.2.1 Φωτοκατάλυση με $ZnTiO_3$	48
5.2.2 Φωτοκατάλυση με $MgTiO_3$	50
5.3 Αποτελέσματα χλωρίωσης.....	51
5.4 Αποτελέσματα ακτινοβολίας UVC	53
5.5 Κινητική σταθερά αδρανοποίησης	54
5.6 Υπολογισμός του C^*t	56
5.7 Αποτελέσματα Υπεροξείδωσης Λιπιδίων	57
5.7.1 Πρότυπη Καμπύλη.....	58
5.7.2 Φωτοκατάλυση με $ZnTiO_3$	59
5.7.3 Φωτοκατάλυση με $MgTiO_3$	61
5.7.4 Χλωρίωση	62
5.7.5 UVC.....	64
5.8 Αποτελέσματα με χρήση λογισμικού MATLAB.....	64
5.8.1 Φωτοκατάλυση με ηλιακή ακτινοβολία.....	65
5.8.2 Απολύμανση με χλώριο	66
5.8.3 Απολύμανση με ακτινοβολία UVC.....	68
6 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	70
7 ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΕΣ ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ.....	72
8 ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	73

Ευρετήριο πινάκων

Πίνακας 1:Μηχανισμοί απολύμανσης με χρήση χλωρίου, όζοντος και UV ακτινοβολίας, (Metcalf&Eddy,2007).....	11
Πίνακας 2: Χαρακτηριστικά ενός ιδανικού απολυμαντικού (Metcalf & Eddy, 2007).....	14
Πίνακας 3: Όρια για τα παραπροϊόντα απολύμανσης στο νερό (Φραγγεδάκη, 2014).....	21
Πίνακας 4: Κινητική Σταθερά Αδρανοποίησης Στελεχών χρησιμοποιώντας ως μέθοδο απολύμανσης φωτοκατάλυση με ηλιακή ακτινοβολία	54
Πίνακας 5: Κινητική Σταθερά Αδρανοποίησης Στελεχών χρησιμοποιώντας ως μέθοδο απολύμανσης χλωρίωση	55
Πίνακας 6: Κινητική Σταθερά Αδρανοποίησης Στελεχών χρησιμοποιώντας ως μέθοδο απολύμανσης ακτινοβολία UVC	55

Πίνακας 7: Τιμές C*t για 99% μείωση πληθυσμού των βακτηρίων που υποβλήθηκαν σε χλωρίωση 0,5 και 1mg/L, χρόνος t (min)	56
---	----

Ευρετήριο εικόνων

Εικόνα 1: Κύτταρα <i>E.coli</i> (https://www.inquirer.com/health/ecoli-explained-outbreak-romaine-fda-cdc-20191125.html)	17
Εικόνα 2: Κύτταρα της <i>Klebsiella pneumoniae</i> (www.mrsatoday.com).....	18
Εικόνα 3: Απεικόνιση διάταξης στο χώρο του βακτηρίου <i>S.aureus</i> (https://en.wikipedia.org/wiki/Staphylococcus_aureus).....	19
Εικόνα 4: Μηχανισμός ετερογενούς φωτοκατάλυσης (Πηγή: Ζουμπούλης και συν. 2015)	25
Εικόνα 5: Α: Δομή περοβσκίτη ABO_3 , B: SEM εικόνες περοβσκιτών $CoTiO_3$ (A, B), $Co_{0.8}Ni_{0.2}TiO_3$ (C) and $NiTiO_3$ (D) που έχουν παραχθεί από την ομάδα έργου του ΙΤΕ (Ινστιτούτο Ηλεκτρονικής Δομής και Λείζερ (IESL), Ηράκλειο Κρήτης.)	28
Εικόνα 6: Δομή της MDA.	30
Εικόνα 7: Erppendrofs, φωτογραφία κατά τη διάρκεια πειράματος.....	33
Εικόνα 8: Θρεπτικά υλικά Nutrient agar	34
Εικόνα 9: Πείραμα Ηλιακής Φωτοκατάλυσης.....	37
Εικόνα 10: Διάλυση καταλύτη με χρήση μαγνητικού αναδευτήρα.....	37
Εικόνα 11: Αποικίες σε θρεπτικό υλικό Nutrient agar	38
Εικόνα 12: Δοκιμαστικοί σωλήνες με διάλυμα MDA- TBA.....	43
Εικόνα 20: Διάγραμμα για το φάσμα περίθλασης ακτινών-x (XRD) για τον καταλύτη $MgTiO_3$	44
Εικόνα 21: SEM images για τον καταλύτη $MgTiO_3$	45
Εικόνα 22: Διάγραμμα απορρόφησης στο υπεριώδες και ορατό φάσμα για τον καταλύτη $MgTiO_3$	45
Εικόνα 23 : Διάγραμμα για το φάσμα περίθλασης ακτινών-x (XRD) για τον καταλύτη $ZnTiO_3$	46
Εικόνα 24: SEM images για τον καταλύτη $ZnTiO_3$	47
Εικόνα 25: Διάγραμμα απορρόφησης στο υπεριώδες και ορατό φάσμα για τον καταλύτη $ZnTiO_3$	47
Εικόνα 13: Αδρανοποίηση Βακτηριακών Στελεχών <i>E.coli</i> με φωτοκατάλυση και δόση καταλύτη 25 και 50 mg/L - Πειράματα Control με ήλιο και στο σκοτάδι(50mg/L) ...	49
Εικόνα 14: Αδρανοποίηση Βακτηριακών Στελεχών <i>K.pneumoniae</i> με φωτοκατάλυση και δόση καταλύτη 25 και 50 mg/L - Πειράματα Control με ήλιο και στο σκοτάδι(50mg/L)	49
Εικόνα 15: Αδρανοποίηση Βακτηριακών Στελεχών <i>S.aureus</i> με φωτοκατάλυση και δόση καταλύτη 25 και 50 mg/L - Πειράματα Control με ήλιο και στο σκοτάδι(50mg/L)	50
Εικόνα 16: Αδρανοποίηση Βακτηριακών Στελεχών <i>E.coli</i> με φωτοκατάλυση και δόση καταλύτη 25,50 και 100 mg/L - Πειράματα Control με ήλιο και στο σκοτάδι(100mg/L)	51
Εικόνα 17: Αδρανοποίηση Βακτηριακών Στελεχών <i>E.coli</i> , <i>K.pneumoniae</i> και <i>S.aureus</i> με χλωρίωση και δόση χλωρίου 0,5 mg/L	52
Εικόνα 18: Αδρανοποίηση Βακτηριακών Στελεχών <i>E.coli</i> , <i>K.pneumoniae</i> και <i>S.aureus</i> με χλωρίωση και δόση χλωρίου 1 mg/L	52

Εικόνα 19: Αδρανοποίηση Βακτηριακών Στελεχών <i>E.coli</i> , <i>K.pneumoniae</i> και <i>S.aureus</i> με ακτινοβολία UVC.....	53
Εικόνα 26: Πρότυπη καμπύλη για την εύρεση mM που προκύπτουν από την αντιστοιχία πειραματική απορρόφηση και απορρόφηση στην πρότυπη καμπύλη.....	58
Εικόνα 27: Αποτελέσματα υπεροξειδωσης λιπιδίων βακτηριακών Στελεχών <i>E.coli</i> , <i>K.pneumoniae</i> και <i>S.aureus</i> με φωτοκατάλυση με $ZnTiO_3$ 25mg/L.....	59
Εικόνα 28: Αποτελέσματα υπεροξειδωσης λιπιδίων βακτηριακών Στελεχών <i>E.coli</i> , <i>K.pneumoniae</i> και <i>S.aureus</i> με φωτοκατάλυση με $ZnTiO_3$ 50mg/L.....	60
Εικόνα 29: Αποτελέσματα υπεροξειδωσης λιπιδίων βακτηριακών Στελεχών <i>E.coli</i> με φωτοκατάλυση με $MgTiO_3$ 25,50 και 100mg/L	61
Εικόνα 30: Αποτελέσματα υπεροξειδωσης λιπιδίων βακτηριακών Στελεχών <i>E.coli</i> , <i>K.pneumoniae</i> και <i>S.aureus</i> με χλωρίωση 0,5mg/L	62
Εικόνα 31: Αποτελέσματα υπεροξειδωσης λιπιδίων βακτηριακών Στελεχών <i>E.coli</i> , <i>K.pneumoniae</i> και <i>S.aureus</i> με χλωρίωση 1mg/L	63
Εικόνα 32: Αποτελέσματα υπεροξειδωσης λιπιδίων βακτηριακών Στελεχών <i>E.coli</i> , <i>K.pneumoniae</i> και <i>S.aureus</i> με ακτινοβολία UVC	64
Εικόνα 33: Καμπύλη απολύμανσης για <i>E.coli</i> με χρήση ηλιακής ακτινοβολίας σε εκθετική συνάρτηση	65
Εικόνα 34: Καμπύλη απολύμανσης για <i>E.coli</i> με χρήση ηλιακής ακτινοβολίας σε πολυωνυμική συνάρτηση.....	66
Εικόνα 35: Καμπύλη απολύμανσης για <i>E.coli</i> με χρήση χλωρίου σε εκθετική συνάρτηση.....	67
Εικόνα 36: Καμπύλη απολύμανσης για <i>E.coli</i> με χρήση χλωρίου σε πολυωνυμική συνάρτηση.....	68
Εικόνα 37: Καμπύλη απολύμανσης για <i>E.coli</i> με χρήση ακτινοβολίας UVC σε εκθετική συνάρτηση	68
Εικόνα 38: Καμπύλη απολύμανσης για <i>E.coli</i> με χρήση ακτινοβολίας UVC σε πολυωνυμική συνάρτηση.....	69

1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Η σημασία του νερού

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

Γεγονότα σχετικά με την κατάσταση του νερού έχουν παρατηρηθεί παγκοσμίως. Πάνω από 6.000 παιδιά πεθαίνουν καθημερινά από ασθένειες που σχετίζονται με την έλλειψη ή την κακή ποιότητα του νερού καθώς και 1,2 δισεκατομμύρια άνθρωποι, δηλαδή σχεδόν ο ένας στους πέντε κατοίκους, δεν έχουν καθαρό νερό να πούν. Επιπρόσθετα, κάθε στιγμή οι μισές κλίνες των νοσοκομείων καταλαμβάνονται από ασθενείς, που υποφέρουν από ασθένειες που σχετίζονται με το νερό. Με τη συνέχιση των σημερινών τάσεων, μέσα στα επόμενα είκοσι χρόνια αναμένεται ότι οι μισοί περίπου άνθρωποι (3,5 δισεκατομμύρια) θα ζουν σε χώρες, που αντιμετωπίζουν προβλήματα με το νερό.

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

1.2 Αναγκαιότητα Απολύμανσης

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

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

Νερό που προορίζεται για ανθρώπινη κατανάλωση πρέπει να είναι απαλλαγμένο από παθογόνους μικροοργανισμούς. Για το λόγο αυτό είναι απαραίτητη η συνεχής παρακολούθηση των μικροβιολογικών του χαρακτηριστικών. Η απολύμανση του νερού που προορίζεται για πόσιμο δεν έχει σαν στόχο την εξυγίανση του από τυχόν ρύπανση, αλλά αποτελεί ένα μέτρο προφύλαξης του νερού από παθογόνους μικροοργανισμούς. Η απολύμανση του νερού είναι η αφαίρεση, απενεργοποίηση ή

θανάτωση παθογόνων μικροοργανισμών στο νερό και μπορεί να συμβεί είτε με χημικά είτε με φυσικά μέσα (Unuabonah. et. al., 2018). Οι γνωστές μέθοδοι για την αδρανοποίηση και την πρόληψη της ανάπτυξης μικροοργανισμών περιλαμβάνουν τη χρήση χημικών ουσιών, ακτινοβολίας ή ακόμα και διήθησης που απομακρύνει φυσικά τους οργανισμούς με αποκλεισμό μεγέθους (Malato et al., 2009).

Οι τρεις πιο διαδεδομένες μέθοδοι απολύμανσης των υδάτων είναι:

- Χλωρίωση
- Οζόνωση
- Ακτινοβολία UV

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

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

1.2.1 Μηχανισμοί Απολύμανσης

Πρωταρχικός σκοπός της απολύμανσης είναι η αναστολή του πολλαπλασιασμού και της επιβίωσης κάθε παθογόνου μικροοργανισμού μέσα στο σύστημα ύδρευσης. Οι πέντε βασικοί μηχανισμοί είναι η φθορά του κυτταρικού τοιχώματος, η μεταβολή της κυτταρικής διαπερατότητας, η μεταβολή της κολλοειδούς φύσης του πρωτοπλάσματος, η μεταβολή του DNA ή RNA των οργανισμών και η παρεμπόδιση της ενζυμικής

δράσης. Οι βασικοί παράγοντες της απολυμαντικής δράσης (συγκέντρωση απολυμαντικού και χρόνος επαφής) είναι μεταβλητά στοιχεία, διότι η θερμοκρασία, το pH και η θολερότητα του νερού μπορούν να επηρεάσουν την αποτελεσματικότητα της απολύμανσης. Για την απολύμανση του νερού χρησιμοποιούνται συγκεκριμένες χημικές ουσίες οι οποίες επιδρούν στους μικροοργανισμούς με αποτέλεσμα την καταστροφή τους.

1.2.2 Μέσα και μέθοδοι απολύμανσης

Η απολύμανση του νερού επιτυγχάνεται με τη χρήση:

- Χημικών αντιδραστηρίων: χλώριο και ενώσεις του, βρώμιο, ιώδιο, όζον, φαινόλη και φαινολικές ενώσεις κλπ.
- Φυσικών αντιδραστηρίων: θερμότητα, φως και ηχητικά κύματα όπως είναι ο βρασμός, η UV ακτινοβολία κλπ.
- Μηχανικών μέσων: χημική κατακρήμνιση, βιολογικά φίλτρα κλπ.
- Ακτινοβολίας: ηλεκτρομαγνητική, ηχητική και σωματιδιακή.

1.2.3 Μηχανισμοί των απολυμαντικών

Οι βασικοί μηχανισμοί που δικαιολογούν την δράση και χρήση των απολυμαντικών που προαναφέρθηκαν είναι οι εξής:

- Φθορά του κυτταρικού τοιχώματος
- Μεταβολή της κυτταρικής διαπερατότητας
- Μεταβολή της κολλοειδούς φύσης του πρωτοπλάσματος
- Μεταβολή του DNA ή RNA των οργανισμών
- Παρεμπόδιση της ενζυμικής δράσης

1.2.4 Παράγοντες που επηρεάζουν τη χρήση των απολυμαντικών

- Χρόνος επαφής

Είναι μία από τις σημαντικότερες μεταβλητές στην διεργασία απολύμανσης. Ο Harriet Chick, εργαζόμενος στην Αγγλία στις αρχές του 1900, παρατήρησε ότι για μία συγκεκριμένη συγκέντρωση απολυμαντικού, όσο μεγαλύτερος είναι ο χρόνος επαφής, τόσο μεγαλύτερη είναι η θανάτωση. Σε διαφορετική μορφή, ο νόμος του Chick, αποτυπώνεται ως εξής (Metcalf & Eddy, 2007):

$$\frac{dN_t}{dt} = -kN_t$$

➤ Συγκέντρωση απολυμαντικού

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

$$k = k' C^n$$

όπου,

k=σταθερά ρυθμού απενεργοποίησης

k'=σταθερά θανάτωσης

C=συγκέντρωση απολυμαντικού

n=συντελεστής διάλυσης

➤ Η ισχύς και η φύση των φυσικών μέσων απολύμανσης

Η θερμότητα και το φως είναι φυσικά μέσα απολύμανσης που έχουν χρησιμοποιηθεί κατά καιρούς για την απολύμανση των υγρών αποβλήτων. Παρατηρήθηκε ότι η απόδοσή τους εξαρτάται από την ισχύ τους. Για παράδειγμα, αν η αποσύνθεση των οργανισμών μπορεί να περιγραφεί με μία 1^{ης} τάξεως αντίδραση, τότε η επίδραση της ισχύος του φυσικού απολυμαντικού αντιπροσωπεύεται με τη σταθερά k μέσω κάποιων συναρτησιακών σχέσεων (Metcalf & Eddy, 2007).

➤ Η θερμοκρασία

Η επίδραση της θερμοκρασίας στο ρυθμό θανάτωσης με χημικά απολυμαντικά μπορεί να προσδιοριστεί από μία μορφή της εξίσωσης Van't Hoff – Arrhenius. Η αύξηση της θερμοκρασίας έχει ως αποτέλεσμα μία πιο γρήγορη θανάτωση. Η σχέση για τον απαιτούμενο χρόνο t ώστε να πραγματοποιηθεί συγκεκριμένο ποσοστό θανάτωσης, είναι:

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

Όπου,

t₁, t₂ = χρόνος για το δεδομένο ποσοστό θανάτωσης σε θερμοκρασίες T₁ και T₂, K, αντίστοιχα

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

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

➤ Τα είδη των μικροοργανισμών

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

➤ Το βιοφίλμ

Η ύπαρξη συσσωματωμάτων μικροοργανισμών που έχουν προσκολληθεί στις διάφορες επιφάνειες (π.χ. δίκτυο ύδρευσης, αντιδραστήρες) φαίνεται ότι δυσχεραίνει τη διαδικασία της απολύμανσης. Οι ποικίλοι μικροοργανισμοί, που δημιουργούν το βιοφίλμ εκκρίνοντας πολυσακχαρίτες, προστατεύονται ως ένα βαθμό από τη δράση των απολυμαντικών μέσων καθώς τα τελευταία δυσκολεύονται να διεισδύσουν στο εσωτερικό του υμενίου. Ταυτόχρονα, η επιβίωση των προσκολλημένων μικροβίων διευκολύνεται και από την ανάπτυξη συμβιωτικών σχέσεων μεταξύ διαφορετικών ειδών μικροοργανισμών ενώ παράλληλα υποβοηθάται ο πολλαπλασιασμός τους λόγω των ευνοϊκών συνθηκών (κατάλληλο pH, θερμοκρασία) που επικρατούν στο υμένιο σε σχέση με το εναιώρημα, καθιστώντας τη διαδικασία της απολύμανσης ακόμη πιο δύσκολη (Φραγγελδάκη, 2014).

➤ Η φύση του υγρού

Κατά την ανασκόπηση της ανάπτυξης διάφορων σχέσεων που προτάθηκαν για την απενεργοποίηση των μικροοργανισμών, είναι απαραίτητο να σημειωθεί ότι οι περισσότερες δοκιμές έγιναν σε αντιδραστήρες ασυνεχούς λειτουργίας με τη χρήση απεσταγμένου νερού ή νερού με ρυθμιστικό διάλυμα υπό συνθήκες εργαστηρίου. Στην πράξη, η φύση του υγρού πρέπει να εξεταστεί προσεκτικά. Για παράδειγμα, ξένα οργανικά υλικά θα αντιδράσουν με τα περισσότερα οξειδωτικά απολυμαντικά μέσα και θα μειώσουν την αποδοτικότητά τους. Η παρουσία αιωρούμενης ύλης θα μειώσει την αποδοτικότητα των απολυμαντικών με την απορρόφηση του απολυμαντικού και με την προστασία των παγιδευμένων βακτηρίων (Metcalf & Eddy, 2007).

➤ pH

Η επίδραση του pH στην απολύμανση, μπορεί ανάλογα με το απολυμαντικό μέσο, να είναι διαφορετική. Για παράδειγμα, αυξημένες τιμές pH ενισχύουν την απολυμαντική δράση ενώσεων του αμμωνίου ενώ μειώνουν εκείνη των υποχλωριωδών, των φαινολών και του ιωδίου (Φραγγελδάκη, 2014).

Πίνακας 2: Χαρακτηριστικά ενός ιδανικού απολυμαντικού (Metcalf & Eddy, 2007)

Χαρακτηριστικά	Ιδιότητες/απόκριση
Διαθεσιμότητα	Πρέπει να είναι διαθέσιμο σε μεγάλες ποσότητες και λογικές τιμές
Ικανότητα εξουδετέρωσης οσμών	Πρέπει να εξουδετερώνει τις οσμές ενώ απολυμαίνει

Ομοιογένεια	Οι αραιώσεις του πρέπει να είναι ομοιόμορφες στη σύσταση
Αλληλεπίδραση με ξένα υλικά	Δεν πρέπει να απορροφάται από άλλα οργανικά υλικά εκτός από τα κύτταρα των βακτηρίων
Μη διαβρωτικό και μη χρωστικό	Δεν πρέπει να παραμορφώνει τα μέταλλα ή να λεκιάζει τα ρούχα
Μη τοξικό στις ανώτερες μορφές ζωής	Πρέπει να είναι τοξικό τους μικροοργανισμούς και μη τοξικό στους ανθρώπους και τα ζώα
Διείσδυση	Πρέπει να έχει την ικανότητα να διεισδύει δια μέσω επιφανειών
Ασφάλεια	Πρέπει να είναι ασφαλές κατά τη μεταφορά, την αποθήκευση, τον χειρισμό και τη χρήση
Διαλυτότητα	Πρέπει να είναι διαλυτό στο νερό και στους κυτταρικούς ιστούς
Σταθερότητα	Πρέπει να έχει χαμηλή απώλεια της μικροβιοκτόνου δράσης με το χρόνο
Τοξικότητα στους μικροοργανισμούς	Πρέπει να είναι αποτελεσματικό σε υψηλές αραιώσεις
Τοξικότητα σε θερμοκρασίες περιβάλλοντος	Πρέπει να είναι αποδοτικό σε θερμοκρασίες περιβάλλοντος

1.2.5 Νόμος της Harriette Chick

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

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

Όπου:

(dN_t/dt) : Ο ρυθμός μεταβολής της συγκέντρωσης των μικροοργανισμών με το χρόνο

k: Σταθερά ρυθμού απενεργοποίησης

N_t : Αριθμός μικροοργανισμών σε χρόνο t

t: Χρόνος

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

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

$$\text{ή}$$

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

N_0 = ο αρχικός αριθμός μικροοργανισμών στο σύστημα

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

1.3 Βακτηριακοί δείκτες

Η κατάταξη των βακτηρίων με την χρώση κατά Gram, γίνεται με βάση τη δομή του κυτταρικού τους τοιχώματος και μπορεί να αποτελέσει ένδειξη για την επίδραση της απολυμαντικής μεθόδου στην κάθε κατηγορία. Η πρώτη γραμμή άμυνας των βακτηρίων είναι το κυτταρικό τους τοίχωμα. Η διαπερατότητα των κυττάρων ποικίλλει ανάμεσα στις διάφορες ομάδες βακτηρίων και εξαρτάται από το πάχος του κυτταρικού τοιχώματος. Στα θετικά κατά Gram βακτήρια, το κυτταρικό τοίχωμα περικλείεται από πολλά στρώματα πεπτιδογλυκάνης και τειχοϊκών οξέων τα οποία εμποδίζουν την διέλευση των οξειδωτικών ριζών (reactive oxygen species, ROS) στο εσωτερικό των κυττάρων και σύμφωνα με ορισμένες μελέτες, είναι πιο ανθεκτικά στην απολύμανση με φωτοκατάλυση. Τα αρνητικά κατά Gram, έχουν λεπτότερο κυτταρικό τοίχωμα, χωρίς αυτό απαραίτητα να σημαίνει ότι είναι και πιο ευάλωτα στο οξειδωτικό στρες των ROS. Η κατάταξη κατά Gram αποτελεί μια σημαντική, όχι όμως την μοναδική ένδειξη της ανθεκτικότητας των βακτηρίων. Για να εκτιμηθεί με ασφάλεια η αποτελεσματικότητα μιας απολυμαντικής μεθόδου χρειάζεται να δοκιμαστεί σε αντιπροσωπευτικά βακτήρια και των δύο κατηγοριών (Venieri and Mantzavinos 2017).

1.3.1 *Escherichia coli*

Ο πιο ευρέως χρησιμοποιούμενος δείκτης για τον έλεγχο ποιότητας του νερού και των υγρών αποβλήτων είναι το βακτήριο *Escherichia coli* (McGuigan et al. 2012; Venieri and Mantzavinos 2017). Μέχρι πρόσφατα, σε πολλές χώρες η ανίχνευση *E.coli* και η μέτρηση ολικής συγκέντρωσης χλωροφύλλης-α ήταν οι μοναδικοί έλεγχοι για την αξιολόγηση της ποιότητας του νερού (Bellinger and Sigee 2010).

Η *E.coli* αποτελεί οργανισμό-μοντέλο για τα αρνητικά κατά Gram βακτήρια. Η ευκολία στην καλλιέργεια, στον χειρισμό και την αναγνώριση, ο σύντομος χρόνος διπλασιασμού, η παγκόσμια εξάπλωση, η ανθεκτικότητα του και η σχετικά χαμηλή επικινδυνότητα για την ανθρώπινη υγεία είναι μερικοί από τους λόγους που το καθιστούν ιδανικό βακτήριο στην μικροβιολογική έρευνα. Το σύνολο του γονιδιώματός του έχει καταγραφεί, διευκολύνοντας των εντοπισμό γονιδίων ανθεκτικότητας και μεταλλάξεων. Η διαθέσιμη βιβλιογραφία σχετικά με την απολυμαντική δράση της ηλιακής φωτοκατάλυσης και των υδροβιοτόπων αναφέρεται κυρίως σε δοκιμές στην *E.coli*.

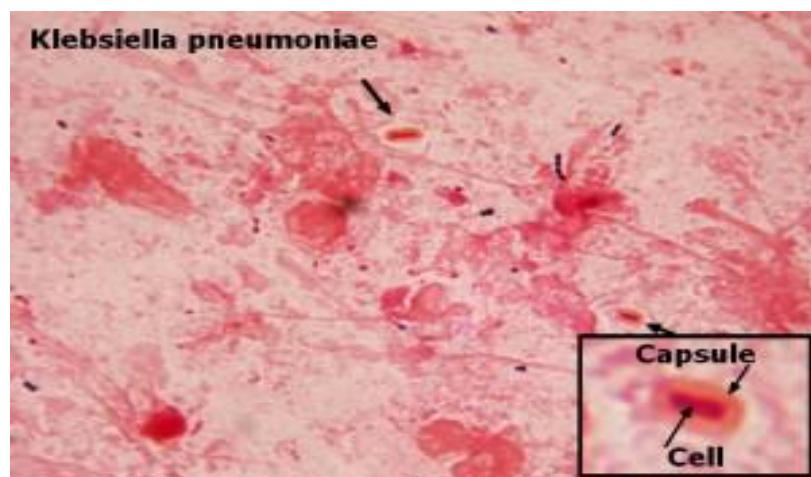


Εικόνα 1: Κύτταρα *E.coli* (<https://www.inquirer.com/health/ecoli-explained-outbreak-romaine-fda-cdc-20191125.html>)

1.3.2 *Klebsiella pneumoniae*

Η *K. pneumoniae* είναι ένα ραβδόμορφο, μη κινητό, Gram αρνητικό βακτήριο που ανήκει στην οικογένεια των Enterobacteriaceae. Το βακτήριο έχει μέγεθος περίπου 2 μm επί 0.5 μm και περιλαμβάνει ένα πυκνό πολυσακχαριδικό έλυτρο μεγέθους 160 nm που είναι γνωστό ως αντιγόνο K και το οποίο μαζί με τον λιποπολυσακχαρίτη (αντιγόνο O) συμβάλλει στην παθογονικότητα της *K. pneumoniae*. Το γονιδίωμα της *K.pneumoniae* είναι περίπου 5 Mbp (εκατομμύρια ζεύγη βάσεων) σε μήκος και είναι διατεταγμένα σε ένα κυκλικό χρωμόσωμα.

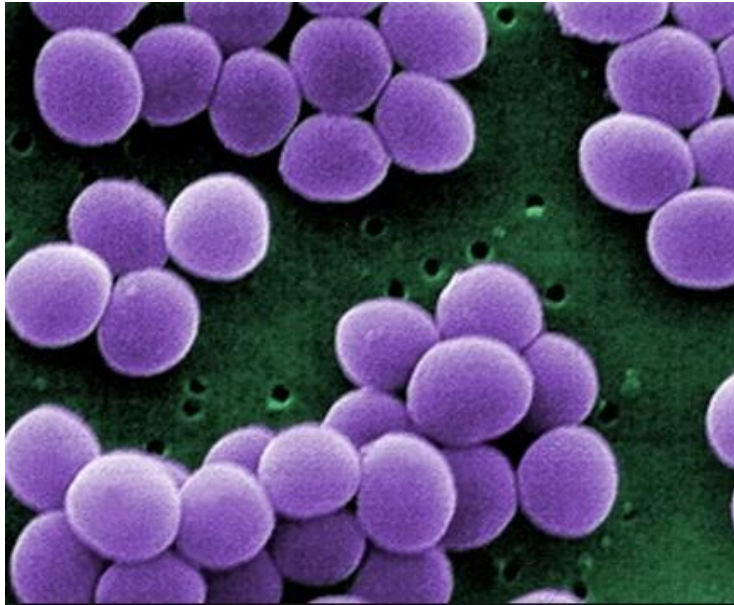
Η *Klebsiella pneumoniae* βρίσκεται στο γαστρεντερικό σωλήνα ανθρώπου ως μέρος της φυσιολογικής χλωρίδας (εντερικό μικροβίωμα). Το πολυσακχαριδικό έλυτρο προστατεύει το βακτήριο από τη φαγοκυττάρωση από τα κοκκιοκύτταρα πολυμορφοπύρρηνα του ξενιστή και παρέχει προστασία από τη βακτηριοκτόνο δράση του ορού του ξενιστή. Το πολυσακχαριδικό έλυτρο περιέχει επίσης μόρια που διαμεσολαβούν στη δέσμευση του μικροβίου με τα κύτταρα του ξενιστή. Τα άτομα με μειωμένη άμυνα στο αναπνευστικό σύστημα είναι ευαίσθητα σε λοίμωξη των πνευμόνων από *K.pneumoniae* όπου μπορεί να οδηγήσει σε φλεγμονή, νέκρωση και αιμορραγία του ιστού των πνευμόνων. Η *K. pneumoniae* μπορεί να προκαλέσει νοσοκομειακές λοιμώξεις, όπως πνευμονία, βακτηραιμία και μηνιγγίτιδα.



1.3.3 *Staphylococcus aureus*

Το βακτήριο της οικογένειας *Staphylococcus* συναντάται τις περισσότερες φορές στη φυσική μικροβιακή χλωρίδα του ανθρώπινου σώματος και συγκεκριμένα στο δέρμα, την μύτη και την αναπνευστική οδό. Όσον αφορά το σχήμα των κυττάρων του είναι στρογγυλό, με διάμετρο 0,5-2 μ m (Bakri,2018), όγκο 0,4-3 μ m³(Levin,2015) και συχνά οι αποικίες που τείνουν να εφάπτονται με αποτέλεσμα να παρομοιάζονται ως τσαμπιά σταφυλίων. Ως προς την ταξινόμησή του με την Gram μέθοδο ανήκει στα Gram θετικά βακτήρια και επομένως κατά τη χρώση του διατηρεί το ιώδες χρώμα. Με σκοπό τη διάκρισή του από άλλα βακτήρια της ίδιας οικογένειας υπόκεινται σε ταξινομήσεις βιοχημικής ταυτοποίησης όπως αυτές των καταλάσης, κοαγκουλάσης και ζύμωσης μανιτόλης. Και στις τρεις ταξινομήσεις που αναφέρθηκαν είναι θετικός ο *Staphylococcus aureus* και πραγματοποιούνται με σκοπό τη διάκρισή του από όλα τα άλλα στελέχη *Staphylococcus*.

Τα βακτήρια αυτά ανήκουν στους μικροοργανισμούς οι οποίοι μπορούν να επιβιώνουν και να αναπτύσσονται σε αερόβιες και αναερόβιες συνθήκες και σε ένα εύρος θερμοκρασιών 10-45°C. Ωστόσο αν και μόνο του το βακτήριο αυτό δεν θεωρούνταν παθογόνο, τα τελευταία χρόνια έχει παρατηρηθεί ότι δρα συναινετικά με άλλους μολυσματικούς παράγοντες και προκαλούν λοιμώξεις. Αυτό, σε συνδυασμό με την ανάπτυξη ανθεκτικότητας σε αντιβιοτικά πχ. μεθικιλίνη, οδηγεί στην παραγωγή τοξινών όπως για παράδειγμα πρωτεΐνες κυτταρικής επιφάνειας οι οποίες οδηγούν ακόμα και στην απενεργοποίηση αντισωμάτων. Στο σημείο αυτό αξίζει να αναφερθεί ότι το βακτήριο αυτό μπορεί να παραμείνει αδρανές στο σώμα ενός ξενιστή χωρίς να προκαλεί συμπτώματα και να είναι ανιχνεύσιμο. Πέρα από δερματικές παθήσεις για τις οποίες οφείλεται το βακτήριο αυτό, προκαλεί αναπνευστικές λοιμώξεις ακόμη και διατροφική δηλητηρίαση. Θεωρείται μεσόφιλο καθώς επιβιώνει σε ένα εύρος θερμοκρασιών 7-48°C ενώ μόνο σε εύρος 37-40°C μπορεί να παράγει την εντεροτοξίνη. Όταν το βακτήριο αυτό υπάρξει σε συγκεντρώσεις μεγαλύτερες των 10⁵cfu/mL είναι ικανό να προκαλέσει ήπιες ασθένειες ακόμα και σε χαμηλές τιμές pH (Bakri, 2018). Κατά την αδρανοποίησή του επηρεάζονται αρχικά το κυτταρικό τοίχωμα, έπειτα η κυτταρική μεμβράνη και η διαδικασία μεταφοράς θρεπτικών ουσιών, το ένζυμο και στο τέλος η πρωτεϊνική σύνθεση και το γαλακτικό οξύ (Bakri, 2018).



Εικόνα 3: Απεικόνιση διάταξης στο χώρο του βακτηρίου *S.aureus*
(https://en.wikipedia.org/wiki/Staphylococcus_aureus)

1.4 Χλωρίωση

Ο λόγος που το χλώριο είναι το πιο διαδεδομένο μέσο απολύμανσης είναι γιατί ικανοποιεί τα περισσότερα χαρακτηριστικά που καθιστούν ένα απολυμαντικό ιδανικό αλλά και γιατί καταστρέφει αποτελεσματικά το κυτταρικό τοίχωμα των περισσότερων μικροοργανισμών.

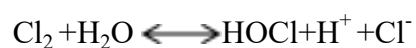
Όλα τα διαλύματα χλωρίου είναι ισχυρά οξειδωτικά, διασπώνται με το χρόνο και παρουσία φωτός. Είναι ουσίες ασταθείς γι' αυτό πρέπει κατά την μεταφορά και αποθήκευση τους να δίνεται ιδιαίτερη προσοχή.

1.4.1 Αντιδράσεις του χλωρίου με το νερό

Όταν το αέριο χλώριο ClO_2 έρθει σε επαφή με το νερό θα λάβουν χώρα δύο βασικές αντιδράσεις:

- Η υδρόλυση
- Ο ιονισμός

Η υδρόλυση είναι η διαδικασία κατά την οποία το αέριο ClO_2 ενώνεται με το νερό και σχηματίζεται το υποχλωριώδες οξύ (HOCl):



Ο ιονισμός του υποχλωριώδους οξέως σε υποχλωριώδες ιόν (OCl^-) γίνεται ως εξής:



Το υποχλωριώδες ασβέστιο και νάτριο όταν έρθουν σε επαφή με το νερό υδρολύονται για να σχηματίσουν υποχλωριώδες οξύ (HOCl):



1.4.2 Πλεονεκτήματα της χλωρίωσης

Η χλωρίωση σαν μέθοδος παρουσιάζει τα εξής πλεονεκτήματα:

- Είναι οικονομική σε σχέση με τις υπόλοιπες μεθόδους απολύμανσης
- Είναι απλή στην εφαρμογή
- Η δραστηριότητα των μορφών χλωρίου που χρησιμοποιούνται είναι αποτελεσματική για ένα ευρύ φάσμα μικροοργανισμών

Ωστόσο, παρά τα πλεονεκτήματά της, δεδομένου ότι το χλώριο είναι μια ουσία που μπορεί να προκαλέσει διαταραχές σε διάφορα οικοσυστήματα αλλά και στην υγεία του ανθρώπου, είναι σημαντικό να τονιστούν και τα μειονεκτήματα της μεθόδου.

1.4.3 Μειονεκτήματα της χλωρίωσης

- Αναφέρθηκε ήδη πως η απολύμανση σαν μέθοδος δεν καταστρέφει το 100% των μικροοργανισμών όπως κάνει η αποστείρωση. Έτσι, η χλωρίωση δεν καθιστά το νερό απόλυτα καθαρό καθώς πολλά είδη μικροοργανισμών μπορεί να παρουσιάζουν ανθεκτικότητα στη μέθοδο, ανάλογα πάντα με την προέλευσή τους.
- Το χλώριο και τα παράγωγά του όταν έρθουν σε επαφή με οργανικές ενώσεις δημιουργούν τριαλομεθάνια (όπως έχει ήδη αναφερθεί) τα οποία είναι καρκινογόνες ενώσεις, ενώ όλα αυτά μαζί προσδίδουν έντονη γεύση και οσμή στο νερό.
- Αν το νερό προορίζεται για επαναχρησιμοποίηση είναι απαραίτητη η αποχλωρίωση προς αποφυγή ζημιών σε οικοσυστήματα λόγω της έντονης δράσης του υπολειμματικού χλωρίου.

1.4.4 Παραπροϊόντα χλωρίωσης

Η αντίδραση του χλωρίου με μερικές οργανικές ενώσεις έχει σαν αποτέλεσμα τον σχηματισμό ενώσεων που αναφέρονται με τον γενικό όρο παραπροϊόντα χλωρίωσης. Τα πιο κοινά παραπροϊόντα χλωρίωσης είναι τα τριαλογονομεθάνια ή τριαλομεθάνια (THM, Trihalomethanes). Τα τριαλομεθάνια έχουν ταξινομηθεί ως ύποπτα καρκινογόνα (Τσώνης, 2004).

Το τριχλωρομεθάνιο προκύπτει από την αντίδραση του υποχλωριώδους οξέος με διάφορες οργανικές ενώσεις όπως π.χ. με χουμικά οξέα (Τσώνης, 2004).

Υπάρχουν ωστόσο και άλλες ενώσεις, εκτός από τα τριαλομεθάνια που προκύπτουν σαν παραπροϊόντα χλωρίωσης και θεωρούνται ως ύποπτα καρκινογόνα. Στον παρακάτω πίνακα φαίνονται ορισμένες από αυτές τις ενώσεις και οι επιτρεπτές συγκεντρώσεις αυτών:

Πίνακας 3: Όρια για τα παραπροϊόντα απολύμανσης στο νερό (Φραγγεδάκη, 2014)

<i>U.S. EPA regulations</i>	<i>MCL (mg/L)</i>
Total THMs (chloroform, bromodichloromethane, chlorodibromomethane, bromoform)	0.080
5 Haloacetic acids (chloro-, bromo-, dichloro-, dibromo-, trichloroacetic acid)	0.060
Bromate	0.010
Chlorite	1.0
<i>World Health Organization (WHO) guidelines</i>	<i>Guideline value^a (mg/L)</i>
Chloroform	0.3
Bromodichloromethane	0.06
Chlorodibromomethane	0.1
Bromoform	0.1
Carbon tetrachloride	0.004
Chloroacetic acid	0.02
Dichloroacetic acid	0.05 ^b
Trichloroacetic acid	0.2
Bromate	0.01 ^b
Chlorite	0.7 ^b
Dichloroacetonitrile	0.02 ^b
Dibromoacetonitrile	0.07
Cyanogen chloride	0.07
2,4,6-trichlorophenol	0.2
N-Nitrosodimethylamine (NMDA)	0.1
<i>European Union Standards</i>	<i>Standard value^a (mg/L)</i>
Total THMs	0.1
Bromate	0.01 ^c
<i>Other regulations</i>	<i>MCL (ng/L)</i>
NMDA	9 ^d , 10 ^e

^aWorld Health Organization (WHO) guidelines on THMs state that the sum of the ratio of the concentration of each THM to its respective guideline value should not exceed unity. WHO guidelines can be found at http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/gdwq3rev/en/. European Union drinking water standards can be found at www.nucfilm.com/eu_water_directive.pdf

^bProvisional guideline value

^cWhere possible, without compromising disinfection, EU member states should strive for a lower value

^dOntario, Canada

^eCalifornia, U.S.

Ο ρυθμός σχηματισμού των παραπροϊόντων εξαρτάται από πολλούς και διαφορετικούς παράγοντες όπως (Metcalf & Eddy, 2007):

- Την παρουσία πρόδρομων οργανικών ενώσεων
- Την συγκέντρωση ελεύθερου χλωρίου
- Την συγκέντρωση βρωμίου
- Το pH
- Την θερμοκρασία

1.5 Υπεριώδης ακτινοβολία

Οι μικροβιοκτόνες ιδιότητες της ακτινοβολίας που εκπέμπεται από υπεριώδεις πηγές φωτός, έχουν χρησιμοποιηθεί σε μια ποικιλία εφαρμογών από το χρόνο που πρωτοανακαλύφθηκαν, στις αρχές του 1900. Αρχικά χρησιμοποιήθηκε στην τροφοδοσία νερού υψηλής ποιότητας, ενώ η υπεριώδης ακτινοβολία ως απολυμαντικό υγρών αποβλήτων εξελίχθηκε κατά τη διάρκεια του 1990 με την ανάπτυξη νέων λυχνιών.

Από τα διάφορα είδη της ακτινοβολίας UV αυτή που χρησιμοποιείται σχεδόν αποκλειστικά στην επεξεργασία νερού είναι η ακτινοβολία UV-A(200-280nm). Η UV-A ακτινοβολία έχει χρησιμοποιηθεί για την απολύμανση νερού από τις αρχές του 20^{ου} αιώνα (1917, ΗΠΑ).

Η υπεριώδης ακτινοβολία είναι ηλεκτρομαγνητική ενέργεια που τοποθετείται στο ηλεκτρομαγνητικό φάσμα μεταξύ των ακτίνων X και του ορατού φωτός (Κυριακόπουλος, 2009) και συγκεκριμένα στα 100nm-400nm. Διαχωρίζεται σε 4 περιοχές, σύμφωνα με την Διεθνή Επιτροπή Φωτισμού:

- UV-A: Αυτή η ακτινοβολία κυμαίνεται στο κενό μεταξύ 315 και 400nm. Είναι το ακίνδυνο είδος.
- UV-B: Αυτή η ακτινοβολία κυμαίνεται στο κενό μεταξύ 280 και 315 nm. Αυτή προκαλεί το μαύρισμα, αλλά μπορεί να γίνει επικίνδυνη.
- UV-C: Αυτή η ακτινοβολία κυμαίνεται στο κενό μεταξύ 100 και 280 nm. Είναι το πιο επικίνδυνο είδος της υπεριώδους ακτινοβολίας, καθώς με αυτήν έχουν επιτευχθεί εργαστηριακά μεταλλάξεις.
- V-UV: Αυτή η ακτινοβολία κυμαίνεται μεταξύ 100 και 200 nm (Chen et al., 2007)

1.5.1 Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα της απολύμανσης με ακτινοβολία UV

Η απολύμανση με ακτινοβολία UV έχει σημαντικά πλεονεκτήματα τα οποία σε ορισμένες περιπτώσεις την καθιστούν αποδοτικότερη σε σχέση με άλλες μεθόδους απολύμανσης.

Τα πλεονεκτήματά της είναι τα εξής (Metcalf & Eddy, 2007):

- Μη υπολειμματική τοξικότητα
- Μεγαλύτερη αποδοτικότητα στην καταστροφή ιών, σπόρων και κυστών σε σχέση με το χλώριο
- Αποδοτικότητα στην καταστροφή των ανθεκτικών οργανικών συστατικών όπως η NDMA (*N*-Nitrosodimethylamine)
- Βελτιωμένη ασφάλεια σχετικά με τη χρήση χημικών απολυμαντικών

Αντίθετα, η απολύμανση με υπεριώδη ακτινοβολία παρουσιάζει και κάποια μειονεκτήματα:

- Υψηλό κόστος εφαρμογής και συντήρησης του συστήματος απολύμανσης
- Μη άμεση μέτρηση για τον έλεγχο της επιτυχίας της απολύμανσης

1.6 Φωτοκατάλυση

Η φωτοκατάλυση είναι μία από τις Προηγμένες Μεθόδους Οξειδωσης (ΠΔΟ) που χρησιμοποιείται τα τελευταία χρόνια και πρόκειται για απολύμανση με ακτινοβολία UV παρουσία καταλύτη, ο οποίος επιταχύνει μια διαδικασία που χωρίς τη χρήση του, θα χρειαζόταν αρκετός χρόνος για να δράσει αποτελεσματικά η διαδικασία απολύμανσης με ακτινοβολία UV.

Επίσης, η φωτοκατάλυση μπορεί να είναι ομογενής ή ετερογενής, δηλαδή ο καταλύτης να είναι της ίδιας μορφής με το διάλυμα (υγρή μορφή) ή διαφορετικής μορφής από το διάλυμα (συνήθως στερεής μορφής).

Οι Προηγμένες Διεργασίες Οξειδωσης έχουν αναδειχθεί ως τεχνικές υψηλού οξειδωτικού δυναμικού με βιοκτόνο δράση εναντίον ποικίλων παθογόνων. Η αποτελεσματικότητα των ΠΔΟ βασίζεται στην επί τόπου δημιουργία συστατικών υψηλής δραστικότητας, όπως HO^\bullet , τα οποία επάγουν οξειδωτικό στρες στους μικροοργανισμούς, καταλήγοντας στην αδρανοποίησή τους. Η αξία τους, ως μεθόδων απολύμανσης, αναδεικνύεται ακόμη περισσότερο από τη δυνατότητα που έχουν να αποδομούν ποικιλία οργανικών συστατικών και άλλων τοξικών παραπροϊόντων.

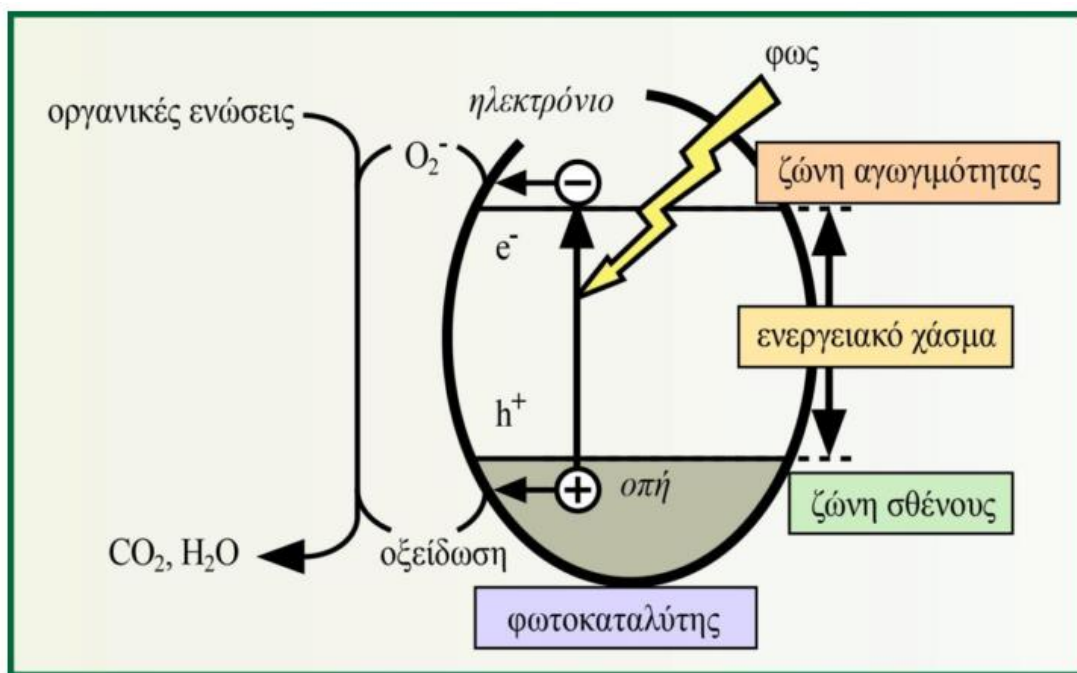
Η φωτοκατάλυση κερδίζει ολοένα έδαφος στις περιβαλλοντικές εφαρμογές. Οι καταλύτες που χρησιμοποιούνται εκτενώς σε αυτό το πεδίο είναι υλικά με βάση το TiO_2 (πρώτη γενιά καταλυτών) και με κατάλληλες προσμίξεις (δεύτερη γενιά καταλυτών). Μία τρίτη γενιά φωτοκαταλυτών, αποδοτικοί και υψηλής σταθερότητας,

αποδεικνύονται οι περοβσκίτες με διακριτά πλεονεκτήματα. Πρόκειται για οξειδία που περιγράφονται από το γενικό τύπο ABO_3 , τα οποία κερδίζουν το ερευνητικό ενδιαφέρον ως οξειδοαναγωγικοί καταλύτες, των οποίων το κρυσταλλικό πλέγμα μπορεί να περιέχει κατιόντα διαφορετικών μετάλλων. Παρόλο που τα υλικά αυτά έχουν μελετηθεί αρκετά, η εφαρμογή τους στην ετερογενή φωτοκατάλυση για την επεξεργασία και απολύμανση νερού/υγρών αποβλήτων είναι ακόμη πολύ περιορισμένη. Ωστόσο, τα ίδια, κατόπιν σωστού σχεδιασμού (δομικού και μορφολογικού), δύνανται να χρησιμοποιηθούν για την εξουδετέρωση παθογόνων. Επιπλέον, εξαιρετικά δελεαστικό είναι το γεγονός ότι υπό ορισμένες προϋποθέσεις, οι περοβσκίτες μπορούν να ενεργοποιηθούν κατόπιν έκθεσης σε φυσικό ηλιακό φως.

1.6.1 Ετερογενής φωτοκατάλυση

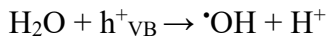
Η φωτοκατάλυση, όπως και γενικότερα η κατάλυση, διακρίνεται σε δύο μεγάλες κατηγορίες, την ετερογενή και την ομογενή. Η ετερογενής φωτοκατάλυση αναφέρεται σε καταλυτικές αντιδράσεις και διεργασίες που λαμβάνουν χώρα σε αιωρήματα ημιαγωγίων κόνεων όπως TiO_2 , ZnO , WO_3 , CdS κ.α., παρουσία τεχνητού ή φυσικού φωτός, οι οποίες επιφέρουν την πλήρη οξείδωση διαφόρων οργανικών και ανόργανων ρύπων, καθώς και την απενεργοποίηση των παθογόνων μικροοργανισμών χωρίς την περαιτέρω επιβάρυνση του περιβάλλοντος (Ζουμπούλης και συν. 2015).

Στην ετερογενή φωτοκατάλυση, ένας ημιαγωγίμος καταλύτης διαλύεται στο νερό και δρα σαν μια μικροφωτοηλεκτροχημική κυψέλη στην οποία συνυπάρχουν η άνοδος και η κάθοδος (Ζουμπούλης και συν. 2015). Σύμφωνα με το μοντέλο των μοριακών τροχιακών για τα ημιαγωγία υλικά, υπάρχουν δύο κύριες ενεργειακές στάθμες. Η υψηλότερη, είναι πλήρης ηλεκτρονίων και ονομάζεται ζώνη σθένους (valence gap) και η χαμηλότερη, η ζώνη αγωγιμότητας είναι ελεύθερη ηλεκτρονίων. Το μεταξύ τους ενεργειακό χάσμα (E_{bg} , Energy band gap) καθορίζει το φορτίο που απαιτείται για την ενεργοποίηση των φωτοκαταλυτικών ιδιοτήτων του ημιαγωγού (Ευγενίδου 2005). Όταν στο μόριο προσπίπτουν φωτόνια με ενέργεια μεγαλύτερη του ενεργειακού χάσματος, το ηλεκτρόνιο της ζώνης σθένους διεγείρεται και μεταπηδά στην ζώνη αγωγιμότητας. Έτσι, κατά την διέγερση, σχηματίζονται οπές στην ζώνη σθένους ($h\nu_{VB}^+$) και ηλεκτρόνια στην ζώνη αγωγιμότητας (e_{CB}^-) (Fernández et al. 2005). Οι οπές είναι ιδιαίτερα οξειδωτικά σωματίδια και τα ηλεκτρόνια ιδιαίτερα αναγωγικά και κατά την κίνηση τους στην επιφάνεια του καταλύτη, αντιδρούν με στοιχεία, ιόντα και ενώσεις που έχουν απορροφηθεί. Οι φωτοδημιουργούμενες οπές αντιδρούν με τα ιόντα OH^- ή με τα μόρια του H_2O που είναι προσροφημένα στην επιφάνεια του ημιαγωγού και τα οξειδώνουν προς ρίζες υδροξυλίου ($\cdot OH$). Τα ηλεκτρόνια, αντιδρούν με το μοριακό οξυγόνο και το μετατρέπουν σε ρίζες ανιόντων σουπεροξειδίου (O_2) και υπεροξειδίου (O_2^{2-}) (Venieri and Mantzavinos 2017).



Εικόνα 4: Μηχανισμός ετερογενούς φωτοκατάλυσης (Πηγή: Ζουμπούλης και συν. 2015)

Οι αντιδράσεις που μπορούν να λάβουν χώρα στην ετερογενή φωτοκατάλυση είναι πολύπλοκες και περιλαμβάνουν το νερό, το διαλυμένο οξυγόνο και την επιφάνεια του καταλύτη. Μπορούν να συνοψιστούν στους παρακάτω τύπους:



1.6.2 Ηλιακή Φωτοκατάλυση

Η αδρανοποίηση μικροοργανισμών με ηλιακή ακτινοβολία (Solar Disinfection, SODIS) μελετάται από τους επιστήμονες εδώ και περισσότερα από 30 χρόνια, όμως πρακτικά, εφαρμόζεται από την αρχαιότητα. Τελετουργικά που πραγματοποιούνταν μέχρι και 2000 χρόνια πριν σε περιοχές της Ινδίας και αναφέρονται στον εξαγνισμό του νερού από τον ήλιο, ουσιαστικά περιγράφουν πρωτόγονες μεθόδους απολύμανσης μέσω της φωτόλυσης. Η πρώτη εκτενής μελέτη της μικροβιοκτόνου δράσης της ηλιακής ακτινοβολίας έγινε από τους Downes και Blunt το 1877, όμως σύγχρονη έρευνα πραγματοποιήθηκε πρώτη φορά το 1984 από τον Aftim Acra και τους συνεργάτες του που δοκίμαζαν να αδρανοποιήσουν παθογόνους μικροοργανισμούς σε μολυσμένο νερό (McGuigan et al. 2012).

Το φάσμα της ηλιακής ακτινοβολίας που μπορεί να έχει μικροβιοκτόνα δράση είναι το ερυθρό, το υπέρυθρο και το UVA (Oates et al. 2003; Goslan et al. 2006). Οι κύριοι μηχανισμοί μικροβιακής αδρανοποίησης είναι οι εξής:

➤ Η απορρόφηση της UVA ακτινοβολίας από το DNA, μπορεί να προκαλέσει την ένωση παρακείμενων πυριμιδινών (θυμίνη και κυτοσίνη) προς σχηματισμό διμερών πυριμιδινών, παρεμποδίζοντας έτσι την ένωση των δακτυλίων θυμίνης και κυτοσίνης με τις συμπληρωματικές τους βάσεις. Η αλλαγή αυτή στην δομή του DNA εμποδίζει

τα ένζυμα πολυμεράσες, που είναι υπεύθυνα για την αντιγραφή του, να συνεχίσουν την κίνηση τους κατά μήκος του μορίου, με αποτέλεσμα να τερματίζουν πρόωρα την αντιγραφή στην περιοχή του διμερούς, να υπερπηδούν το προβληματικό σημείο, ή να εναποθέτουν τυχαίες βάσεις κατά την αντιγραφή και την μεταγραφή. Η αποσταθεροποίηση της διπλής έλικας του DNA και οι μεταλλάξεις, εάν δεν διορθωθούν μπορεί να προκαλέσουν κυτταρικό θάνατο (Venieri and Mantzavinos 2017).

➤ Η διέγερση των ενδοκυττάρων φωτοευαίσθητοποιών, όπως πορφυρίνες, φλαβόνες, κινίνες, NADH/NADPH, από την υπεριώδη ακτινοβολία, φαίνεται πως οδηγεί στον σχηματισμό ενεργών μορφών οξυγόνου, εντός του κυττάρου. Οι ενεργές μορφές οξυγόνου και κυρίως το $\cdot\text{OH}$, είναι ιδιαίτερα αντιδραστικές και είναι γνωστό πως προκαλούν φθορά στο DNA, οξειδώνουν τα δομικά αμινοξέα των πρωτεϊνών και τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα των λιπιδίων. Το RNA, ως πιο ασταθές μόριο, είναι ακόμη πιο ευάλωτο στην οξειδωτική πίεση των ROS και υπόκειται σε περισσότερες βλάβες. Έτσι, ακόμη και μικρότερη δόση UV, που δεν επαρκεί για να βλάψει άμεσα το DNA, μπορεί έμμεσα να προκαλέσει κυτταρικό θάνατο, μέσω των ROS (McGuigan et al. 2012; Misstear et al. 2013).

➤ Εκτός από τα μικροβιακά κύτταρα, οι οργανικές φωτοευαίσθητες ενώσεις που βρίσκονται διαλυμένες στο νερό (είτε πρόκειται για επιφανειακό νερό είτε για λύμα) όπως οι χρωστικές και οι χουμικές ενώσεις, απορροφούν υπεριώδη ακτινοβολία και πραγματοποιούν φωτοχημικές αντιδράσεις που έχουν ως προϊόντα ενεργές μορφές οξυγόνου. Τα οξείδια αυτά βλάπτουν τους μικροοργανισμούς οξειδώνοντας ενώσεις της κυτταρικής τους μεμβράνης (Oates et al. 2003).

➤ Η φωτοχημική οξείδωση του συνενζύμου-A, διαταράσσει το κύκλου του Krebs και οδηγεί σε αδυναμία κυτταρικής αναπνοής (Benabbou et al. 2007b).

➤ Το νερό, καθώς απορροφά έντονα τις ερυθρές και υπέρυθρες ακτινοβολίες, θερμαίνεται. Αν η θερμοκρασία φτάσει επίπεδα μεγαλύτερα των ορίων αντοχής των μικροοργανισμών (συνήθως 45°C), προκαλεί μετουσίωση των πρωτεϊνών τους και πιθανόν θάνατο. Έχει παρατηρηθεί έντονα συνεργιστική δράση θερμότητας και ακτινοβολίας στην αδρανοποίηση παθογόνων μικροοργανισμών. Αναφορικά, για την αδρανοποίηση της *E.coli* στους 50°C , απαιτείται το ένα τρίτο της ροής UV σε σχέση με χαμηλότερες θερμοκρασίες (Oates et al. 2003).

1.6.3 Καταλύτες

Ο πιο διαδεδομένος φωτοκαταλύτης είναι το TiO_2 , ή τιτάνια, καθώς συγκεντρώνει τα περισσότερα θετικά χαρακτηριστικά. Εκδηλώνει χημική σταθερότητα, εξαιρετική λειτουργικότητα σε συνθήκες περιβάλλοντος, δεν είναι τοξικός και είναι σχετικά οικονομικός (Wang and Lewis 2006; Venieri and Mantzavinos 2017). Επίσης, εκτός από τη μεγάλη φωτοκαταλυτική δραστηριότητα συγκριτικά με τους υπόλοιπους ημιαγωγούς, παρουσιάζει και τη μεγαλύτερη ανθεκτικότητα στη διάβρωση και φωτοδιάβρωση με αποτέλεσμα τη δυνατότητα ανακύκλωσής του. Οι τρεις κρυσταλλικές δομές που μπορεί να σχηματίσει ονομάζονται ανατάση (anatase), ρουτίλιο (rutile) και μπρουκίτης (brookite), με πιο σταθερή και φωτοκαταλυτικά

ενεργή την ανατάση. Έχει διαπιστωθεί καλύτερη απόδοση με συνδυασμό των μορφών ανατάση-ρουτιλίου (Luo et al. 2015).

Στον τομέα της απολύμανσης, ήδη από την δεκαετία του 1990, ο συνδυασμός TiO_2 /ηλιακή UV έχει δοκιμαστεί από αρκετές επιστημονικές ομάδες ενάντια σε κοινούς παθογόνους μικροοργανισμούς όπως τα βακτήρια *E.coli*, *E.Faecalis* και TC, ιούς, πρωτόζωα και σπόρια διάφορων παθογόνων μυκήτων (Agulló-Barceló et al. 2013; Misstear et al. 2013).

Το μεγάλο μειονέκτημα του TiO_2 είναι ότι λόγω του μεγάλου ενεργειακού χάσματος (3,2 eV) ενεργοποιείται από φωτόνια με μήκος κύματος 390 nm (UV) ή λιγότερο, δηλαδή μόνο με το υπεριώδες φάσμα, το οποίο αποτελεί ένα μικρό ποσοστό της ηλιακής ακτινοβολίας (9%) (Wang and Lewis 2006; McGuigan et al. 2012). Αν το ενεργειακό χάσμα του TiO_2 μπορούσε να μειωθεί, έτσι ώστε να διεγείρεται από φωτόνια που αντιστοιχούν στη ορατή περιοχή του φάσματος, τότε το ποσοστό της εκμεταλλεύσιμης ηλιακής ακτινοβολίας θα άγγιζε το 50%. Μία ακόμη αρνητική ιδιότητα είναι ο ταχύς ανασυνδυασμός μεταξύ οπών και ηλεκτρονίων (Venieri and Mantzavinos 2017).

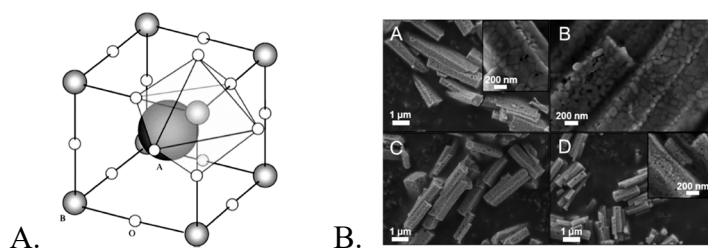
Έχουν μελετηθεί διάφορες τεχνικές για την βελτιστοποίηση των φωτοκαταλυτικών ιδιοτήτων του TiO_2 , όπως:

- Θερμική κατεργασία υπό κενό ή υπό ατμόσφαιρα H_2 .
- Απόθεση μεταλλικών νησίδων από Pt, Au, Pd, Ag στην επιφάνεια των νανοσωματιδίων του TiO_2 .
- Δημιουργία μικτών οξειδίων από $\text{TiO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3$, $\text{TiO}_2/\text{SiO}_2$, TiO_2/WO_3 .
- Η φωτοευαισθητοποίηση του καταλύτη με τη βοήθεια χρωστικών ουσιών που προσροφώνται στην επιφάνεια του κόκκου. Με τον τρόπο αυτό είναι δυνατή η εκμετάλλευση ενός σημαντικού τμήματος του ορατού φάσματος της ηλιακής ακτινοβολίας. Το μειονέκτημα σ' αυτή την περίπτωση βρίσκεται στην ταυτόχρονη καταστροφή τόσο της τοξικής όσο και της χρωστικής ουσίας.
- Ενίσχυση (doping) με διάφορα μεταλλικά ιόντα, όπως Cr, V, Mo, W, Fe, κ.α., με απώτερο στόχο την αύξηση των φωτοκαταλυτικών ιδιοτήτων του TiO_2 , καθώς και τη μετατόπιση του φάσματος απορρόφησης προς το ορατό (Ζουμπούλης και συν. 2015).

Σύνθεση καταλυτών με υψηλή ενεργότητα στο ηλιακό φως, ούτως ώστε να δύνανται να χρησιμοποιηθούν στην εφαρμογή.

Η ηλιακή φωτοκατάλυση αποτελεί μια άκρως δελεαστική λύση όσον αφορά στην επεξεργασία νερού και υγρών αποβλήτων, δεδομένου του χαμηλού κόστους και του υψηλού βαθμού απόδοσης. Η ηλιακή ακτινοβολία ως πηγή ενέργειας για την παραγωγή των οξειδωτικών ριζών, μπορεί να χρησιμοποιηθεί τόσο για την αποδόμηση οργανικών ρύπων όσο και για την αδρανοποίηση ποικιλίας μικροοργανισμών. Ωστόσο, η εφαρμογή της απαιτεί τη χρήση κατάλληλων καταλυτικών υλικών, τα οποία να

ενεργοποιούνται κατόπιν έκθεσης στο ηλιακό φως. Έχουν επιλεγθεί καταλύτες τρίτης γενιάς περοβσκιτικού τύπου, οι οποίοι είναι οξειδία με γενικό τύπο ABO_3 (εικόνα 5).



Εικόνα 5: Α: Δομή περοβσκίτη ABO_3 , Β: SEM εικόνες περοβσκιτών $CoTiO_3$ (Α, Β), $Co_{0.8}Ni_{0.2}TiO_3$ (C) and $NiTiO_3$ (D) που έχουν παραχθεί από την ομάδα έργου του ITE (Ινστιτούτο Ηλεκτρονικής Δομής και Λείζερ (IESL), Ηράκλειο Κρήτης.)

1.6.3.1 Περοβσκίτες/doping

Οξειδία τύπου περοβσκίτη, που περιγράφονται από τον γενικό τύπο ABO (ABO_3), έχουν προσελκύσει την εκτενή προσοχή των ερευνητών και έχουν αναφερθεί ως πολλά υποσχόμενοι καταλύτες στην οξείδωση, υδρογόνωση και αντιδράσεις υδρογονόλησης λόγω των μοναδικά διαρθρωτικών χαρακτηριστικών τους και των υψηλών οξειδοαναγωγικών ιδιοτήτων τους. Μεταξύ της ποικιλίας των υλικών που έχουν μελετηθεί, οι φωτοκαταλύτες με βάση τον περοβσκίτη έχουν μοναδικές φωτο-φυσικές ιδιότητες και προσφέρουν ξεχωριστά πλεονεκτήματα (Kanhare και Chen 2014). Αν και οι περοβσκίτες έχουν μελετηθεί σε μεγάλο βαθμό σε διάφορους τομείς, ειδικά για την ηλεκτρονική και την ενεργειακή αξιοποίηση, η διερεύνηση των περοβσκιτών ως ετερογενών καταλυτών για την επεξεργασία νερού εξακολουθεί να είναι μάλλον περιορισμένη.

Παρά τις καλές επιδόσεις τους, ο κύριος περιορισμός της χρήσης περοβσκιτών, σε μεγάλη κλίμακα, προκύπτει από τη μειωμένη ικανότητά τους να αναπτύσσουν μεγάλες επιφάνειες. Μέχρι τώρα, τα οξειδία ζirkονίου, αλουμινίου και πυριτίου έχουν χρησιμοποιηθεί για να αυξήσουν την επιφάνεια επαφής μεταξύ του περοβσκίτη και των αντιδρώντων ειδών με εναπόθεση σε επαρκή υποστηρίγματα.

Γενικά, ένα οξείδιο τύπου περοβσκίτη έχει κρυσταλλική δομή τύπου ABO_3 , όπου τα κατιόντα με μεγάλη ιοντική ακτίνα έχουν 12 δεσμούς με άτομα οξυγόνου και καταλαμβάνουν θέσεις Α, ενώ τα κατιόντα με μικρότερη ιοντική ακτίνα έχουν 6 δεσμούς και καταλαμβάνουν θέσεις Β (Tanaka και Misono 2001). Οι ενώσεις περοβσκίτη είναι σημαντικά φερ-ροηλεκτρικά υλικά, που συνήθως διερευνώνται ως πιεζοηλεκτρικές ενώσεις. Πρωτοποριακές μελέτες σχετικά με τη σιδηροηλεκτρική ενέργεια σε οξειδία περοβσκίτη εμφανίστηκαν κατά την περίοδο 1940-1960, κυρίως σε Τιτανικό βάριο και Τιτανικό βάριο-στροντίου (Hippel et al. 1946, Matthias 1951; Davis και Rubin 1953; 1959, Mitsui και Westphal 1961). Παρά το γεγονός ότι πολλές μελέτες έχουν επικεντρωθεί στην ανάπτυξη ενώσεων περοβσκίτη ζirkονικού Τιτανικού (PZT) χωρίς μόλυβδο για χρήση σε ηλεκτρονικές συσκευές καθ ' όλη τη διάρκεια του χρόνου (Hardiman et al. 1978; Kutty και Balachandran 1984; Viehland et al. 1996; Khodoron και Gomes 2006; Kimura et al. 2010; Kong et al. 2016), η ανάγκη για τις αμόλυβδες αντικαταστάσεις για PZT έχει προκαλέσει ενδιαφέρον για την

ανάπτυξη Τιτανικού ζirkονικού ασβεστίου και βαρίου (Li et al. 2010; Wang et al. 2011; Hao et al. 2012; Fisher et al. 2013).

Όσον αφορά την φωτοκατάλυση, ο περοβσκίτης μπορεί να προσφέρει πολύ σημαντικά πλεονεκτήματα σε σύγκριση με τα αντίστοιχα δυαδικά οξείδια λόγω των σημαντικών ορίων εύρους ζώνης, επίτευξης ορατής δραστηριότητας φωτός και δυνατότητα συνδυασμού σιδηροηλεκτρικής ενέργειας ή πιεζοηλεκτρικής ενέργειας με φωτοκαταλυτικό αποτέλεσμα για την ενίσχυση της φωτοκαταλυτικής διεργασίας (Kanhare και Chen 2014). Η κρυσταλλική δομή περοβσκίτη παρέχει ένα καλό πλαίσιο για τη μετατόπιση των τιμών διακένου ζώνης, επιτρέποντας την επίτευξη δυνατοτήτων άκρου ζώνης, κατάλληλων για συγκεκριμένες φωτοκαταλυτικές αντιδράσεις. Επιπλέον, η παραμόρφωση πλέγματος σε ενώσεις περοβσκίτη μπορεί να βελτιώσει έντονα το διαχωρισμό των φωτοδημιουργούμενων φορέων φόρτισης, παρεμποδίζοντας τον ανασυνδυασμό (Grabowska 2016).

Τέλος, σύμφωνα με τους Alammar et al. (2015), οι περοβσκίτες τιτανικού είναι πολύ υποσχόμενα υλικά για φωτοκαταλυτικές διεργασίες λόγω της εξαιρετικής αντοχής τους στη φωτοδιάβρωση και της υψηλής θερμικής σταθερότητας. Επιπροσθέτως, οι περοβσκίτες τιτανικού ντόπινγκ με μεταλλικά ιόντα (Ca, Sr και Ba) μπορούν να μεταβάλλουν τις οπτοηλεκτρικές ιδιότητες και να παρέχουν καλή φωτοκαταλυτική δραστηριότητα (Alammar et al. 2015).

1.7 Υπεροξειδωση λιπιδίων

Οι βιολογικές μεμβράνες αποτελούνται από λιπίδια και πρωτεΐνες, των οποίων η σύσταση και η περιεκτικότητα παρουσιάζουν μεταβολές, ανάλογα με την ένταση και την ποσότητα των λειτουργιών του οργανισμού. Τα λιπίδια είναι μια ομάδα ουσιών που παρουσιάζουν ετερογένεια και υδροφοβικότητα, περιλαμβάνοντας λιπαρά οξέα, ακυλογλυκερόλες, γλυκεροφωσfolιπίδια, σφινγγολιπίδια και στεροειδή (Halliwell and Gutteridge, 1999).

Υψηλής δραστηριότητας μόρια οξυγόνου και ρίζες οξυγόνου όπως το σουπεροξειδικό ανιόν (O_2^-) και η ρίζα υδροξυλίου (OH \cdot) δημιουργούνται από το μοριακό οξυγόνο με διέγερση ή με μονοσθενή αναγωγή αντίστοιχα. Οι ελεύθερες ρίζες αναπτύσσονται ενδογενώς στον οργανισμό σε ένα σύνολο μεταβολικών διαδικασιών και αυξάνονται από εξωτερικούς παράγοντες που χαρακτηρίζονται από οξειδοαναγωγικές ιδιότητες. Αυτές οι ελεύθερες ρίζες είναι ιδιαίτερα δραστικές διότι περιέχουν ασύζευκτα ηλεκτρόνια και μπορεί εύκολα να οξειδώσουν και να βλάψουν ζωτικά βιολογικά μόρια, όπως λίπη, πρωτεΐνες και DNA, επάγοντας φαινόμενα οξειδωτικής καταπόνησης ή stress (Junquiera et al., 2004, Dailianis, 2009, Franco et al., 2009).

Τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα που είναι ενσωματωμένα στις κυτταρικές μεμβράνες είναι ιδιαίτερα ευαίσθητα στην οξείδωση. Οι μεμβράνες των κυττάρων μπορεί να δεχθούν την επίθεση ελεύθερων ριζών οξυγόνου, με αποτέλεσμα την υπεροξειδωση των λιπιδίων τους. Λιπιδική υπεροξειδωση μπορεί να προκληθεί από κάθε ένωση που διαθέτει ικανοποιητική ενέργεια για την αφαίρεση ενός ατόμου υδρογόνου από τα PUFA. Γνωστές ελεύθερες ρίζες οξυγόνου, οι οποίες μπορούν να αφαιρέσουν άτομο

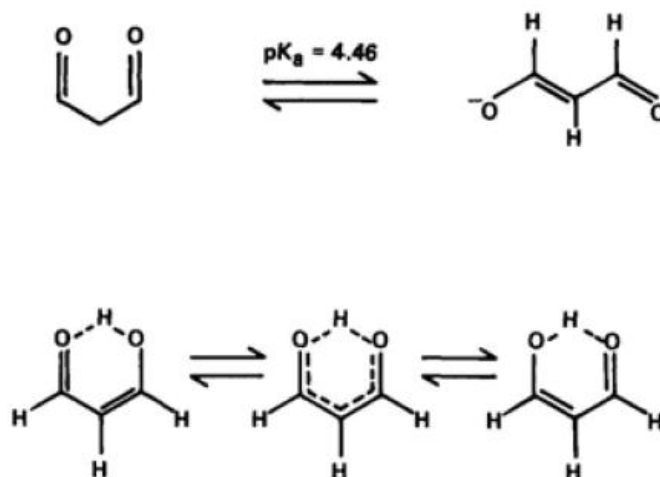
υδρογόνου είναι η υδροξυλική (OH^\cdot), η αλκοξυλική (RO^\cdot), η υπεροξειδική (ROO^\cdot), ενώ υπάρχουν δεδομένα που υποστηρίζουν πως το υπεροξείδιο του υδρογόνου και το ανιόν του σουπεροξειδίου δεν μπορούν από μόνα τους να προκαλέσουν την έναρξη της λιπιδικής υπεροξείδωσης (Comporti, 1993, Gutteridge, 1998).

Τα τελικά προϊόντα της λιπιδικής υπεροξείδωσης μπορεί να προκαλέσουν σημαντικές βλάβες τόσο στην λειτουργία δομών της μεμβράνης όσο και στην λειτουργία πρωτεϊνών και βιομορίων, όπως το DNA (Woff and Dean, 1986).

1.7.1 Μηλονική διαλδεΰδη (MDA)

Από τη διάσπαση λιπιδικών υπεροξειδίων με 2 ή περισσότερους διπλούς δεσμούς προκύπτει η μηλονική διαλδεΰδη (MDA, malondialdehyde), η οποία χρησιμοποιείται ως δείκτης της λιπιδικής υπεροξείδωσης και της πρόκλησης οξειδωτικού stress (Botsoglou *et al.*, 1994).

Η MDA είναι μια πτητική, χαμηλού μοριακού βάρους, βραχείας αλυσίδας 1,3-δικαρβονυλική ένωση και ένα μέτρια ασθενές οξύ ($\text{pK}_a=4,46$). Τόσο σε διαλυτή όσο και σε αέρια φάση η MDA βρίσκεται σε ενολική μορφή και εναλλάσσεται ταχέως ανάμεσα σε δύο ενδομοριακές ασυμμετρικές μορφές μέσω μιας συμμετρικής μεσομερικής δομής (Εικόνα 5).



Εικόνα 6: Δομή της MDA.

Η αφόρτιστη ελεύθερη ενόλη της MDA είναι πιο δραστική από τη συζευγμένη βάση και ειδικά προς τις νουκλεοφιλικές ενώσεις. Η MDA μπορεί να δράσει είτε ως νουκλεοφιλική ένωση, είτε ως ηλεκτροφιλική ένωση και σχηματίζει πολυμερικές ενώσεις. Αυτές οι ιδιότητες αντανακλώνται στην ασταθή φύση της. Στα βιολογικά συστήματα η MDA αντιδρά με βιομόρια τα οποία περιέχουν αμινομάδες. Η παρουσία τόσο της ελεύθερης όσο και δεσμευμένης MDA στους ιστούς δείχνει ότι η MDA είναι

μια δραστική ένωση, η οποία *in vivo*, μπορεί να σχηματίζει τουλάχιστον σε κάποιο βαθμό, σταθερά παράγωγα με τα βιομόρια. Η ικανότητά της να διαφοροποιεί ή να συνδέεται με μια ποικιλία από βιολογικά μακρομόρια μπορεί να συνεισφέρει στην τοξικότητά της, και οι μεταλλαξιγόνες/καρκινογόνες ικανότητές της μπορεί να αντανakλούν τον σχηματισμό παραγώγων με τις βάσεις των νουκλεϊκών οξέων.

Η αποδόμηση μιας ποικιλίας βιολογικά σημαντικών μορίων που προκαλείται από οξειδωτικό stress, έχει αναφερθεί ότι οδηγεί στην παραγωγή MDA. Οι αναφερόμενες μη λιπιδικές πηγές της MDA περιλαμβάνουν τις πρωτεΐνες, τα νουκλεϊκά οξέα, τους υδατάνθρακες και τις χολοχρωστικές. Παρ'όλα αυτά ο σχηματισμός της από μη λιπιδικά μακρομόρια συμπεραίνεται έμμεσα και δεν έχει καταδειχτεί άμεσα. Όσον αφορά τα λιπίδια ως πηγή, η MDA είναι ένα παραπροϊόν του ενζυμικού σχηματισμού εικοσανοειδών (ενζυμική υπεροξειδωση των λιπαρών οξέων) και ένα τελικό προϊόν της μη ενζυμικής υπεροξειδωσης των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων.

1.7.1.2 Μέθοδος θειοβαρβιτουρικού οξέος

Από τις μεθόδους μέτρησης των τελικών προϊόντων της λιπιδικής υπεροξειδωσης (Chatziargyriou and Dailianis, 2010, Banakou and Dailianis, 2010), η δοκιμασία του θειοβαρβιτουρικού οξέος (thiobarbituric acid, TBA) είναι η περισσότερο δημοφιλής στις μέρες μας. Πρόκειται για μια ανέξοδη μέθοδο, χωρίς τη χρησιμοποίηση πολύπλοκου εξοπλισμού, η οποία εφαρμόζεται εύκολα σε πολλά βιολογικά δείγματα. Η δοκιμασία TBA βασίζεται στη μέτρηση της συγκέντρωσης της MDA σε ιστούς και κύτταρα και διενεργείται με θέρμανση του δείγματος ή εκχυλίσματος του δείγματος με θειοβαρβιτουρικό οξύ σε όξινο περιβάλλον και μέτρηση της απορρόφησης σε μήκος κύματος 532nm του κοκκινωπού συμπλόκου TBA-MDA που σχηματίζεται.

2 ΣΚΟΠΟΣ

Ο σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι ο έλεγχος αποδοτικότητας επιλεγμένων μεθόδων απολύμανσης για την αδρανοποίηση παθογόνων βακτηρίων (*E.coli*, *K.pneumoniae* και *S.aureus*) στο νερό.

Χρησιμοποιήθηκαν τρεις μέθοδοι απολύμανσης, οι οποίες είναι η φωτοκατάλυση με ηλιακή ακτινοβολία και τη χρήση περοξσκιτών ως καταλυτών, η χλωρίωση και η χρήση ακτινοβολίας UVC. Παράλληλα, εκτιμήθηκε η υπεροξείδωση λιπιδίων στη μεμβράνη των βακτηρίων με τη χρήση θειοβαρβιτουρικού οξέος.

Οι στόχοι της συγκεκριμένης εργασίας είναι:

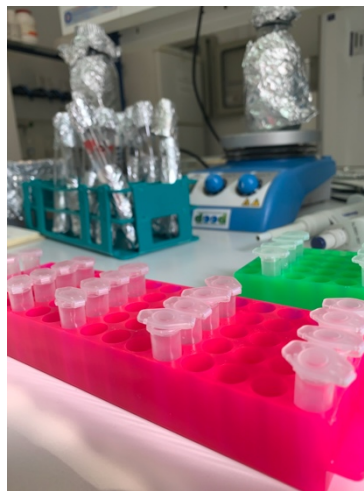
- Έλεγχος αποδοτικότητας επιλεγμένων μεθόδων απολύμανσης ως προς την αδρανοποίηση των βακτηρίων *E.coli*, *K.pneumoniae* και *S.aureus* σε υδατική μήτρα,
- Καταγραφή του ρυθμού μείωσης των βακτηριακών πληθυσμών σε συνάρτηση με το χρόνο, μέσω καλλιέργειας και καταμέτρηση των βακτηριακών αποικιών κατόπιν επώασης.
- Εύρεση των βέλτιστων συνθηκών απολύμανσης (συγκέντρωση καταλυτών, συγκέντρωση χλωρίου, χρόνος εφαρμογής της εκάστοτε μεθόδου).
- Μελέτη σχετικά με τη διαφορετική συμπεριφορά και ανθεκτικότητα των επιλεγμένων βακτηριακών δεικτών.
- Σύγκριση των επιλεγμένων μεθόδων ως προς την αδρανοποίηση παθογόνων βακτηρίων σε υδατική μήτρα.
- Εκτίμηση του εύρους καταστροφής/αλλοιώσεων της κυτταρικής μεμβράνης των επιλεγμένων βακτηρίων μέσω εκτίμησης υπεροξείδωσης των λιπιδίων με θειοβαρβιτουρικό οξύ.

3 ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

3.1 Υλικά και εξοπλισμός

3.1.1 ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΑ ΥΛΙΚΑ

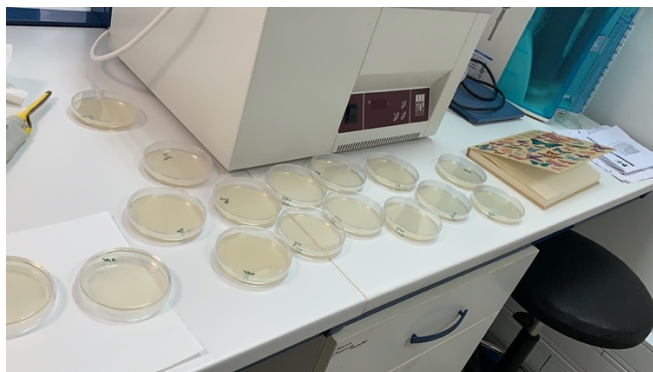
- Αποστειρωμένα τρυβλία Petri διαμέτρου 9cm
- Αποστειρωμένο νερό
- Eppendrofs (χωρητικότητας 1,5 mL)
- Γάντια νιτριλίου μιας χρήσης χωρίς πούδρα
- Δοκιμαστικοί σωλήνες
- Ποτήρι ζέσεως διαφόρων μεγεθών
- Μαγνήτης ανάδευσης
- Υδροβολέας
- Κωνική Φιάλη (0,5-1L)
- Ογκομετρικός Κύλινδρος
- Γυάλινη φιάλη με βιδωτό πώμα
- Πιπέττες μετρήσεως γυάλινες
- Dispencer πιπετών Pipump
- Πιπέττες ρυθμιζόμενες αυτόματες
- Ρύγχη αυτόματων πιπετών πλαστικά Kartell (tips)
- Κρίκος εμβολιασμού
- Αναδευτήρας Vortex



Εικόνα 7: Eppendrofs, φωτογραφία κατά τη διάρκεια πειράματος

3.1.2 ΘΡΕΠΤΙΚΑ ΥΛΙΚΑ

- Nutrient Agar (Lab M)



Εικόνα 8: Θρεπτικά υλικά Nutrient agar

3.1.3 ΧΗΜΙΚΑ ΥΛΙΚΑ

- Οξικό Οξύ (Sigma Aldrich)
- Ιωδιούχο κάλιο (Sigma Aldrich)
- Θειοθειικό νάτριο κανονικότητας 0,1 N (Panreac)
- Χλωριούχο νάτριο (Sigma Aldrich)
- Υποχλωριώδες νάτριο (Sigma Aldrich)
- TBA (Thiobarbituric acid)
- MDA (Malondialdehyde)

3.1.4 ΒΑΚΤΗΡΙΑΚΑ ΣΤΕΛΕΧΗ

- *Escherichia coli*
- *Klebsiella pneumoniae*
- *Staphylococcus aureus*

3.1.5 ΔΙΑΛΥΜΑΤΑ ΠΟΥ ΠΑΡΑΣΚΕΥΑΣΤΗΚΑΝ

- Διάλυμα NaOCl συγκέντρωσης 1000 mg/L v/v (ως προς Cl₂)
- Διάλυμα Na₂S₂O₃ συγκέντρωσης 18 mg/L w/v
- Διάλυμα NaCl συγκέντρωσης 0,9 % w/v
- Διάλυμα 1mM MDA-οξικό οξύ
- Διάλυμα 4mM TBA-οξικό οξύ
- Διάλυμα TCA 10% w/v (trichloroacetic acid)
- Διάλυμα TBA 0,67% w/v (thiobarbituric acid)

3.1.6 ΚΑΤΑΛΥΤΕΣ

Οι καταλύτες TiO_3 ενισχυμένοι με μέταλλα κατασκευάστηκαν στο Ινστιτούτο Ηλεκτρονικής Δομής και Λέιζερ (IESL) στο ΙΤΕ, Ηράκλειο Κρήτης.

- MgTiO_3 σε συγκεντρώσεις 25,50 και 100 mg/L
- ZnTiO_3 σε συγκεντρώσεις 25 και 50 mg/L

3.1.7 ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ

3.1.7.1 ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΟ

Η αρχική συγκέντρωση των μικροβιακών κυττάρων στα εναιωρήματα που χρησιμοποιήθηκαν στην φωτοκατάλυση με τεχνητό φωτισμό εκτιμούνταν με μέτρηση της οπτικής απορρόφησης του διαλύματος στα 600nm σε φασματοφωτόμετρο (Shimadzu UV 1240 spectrophotometer). Η οπτική απορρόφηση του εναιωρήματος θα πρέπει να είναι γύρω στο $A=0,1$. Οι μετρήσεις λαμβάνονταν μέσω ειδικών πλαστικών κυψελίδων χωρητικότητας 1mL, οι οποίες πληρώνονταν με δείγμα. Έπειτα από την πλήρωσή τους με το δείγμα και πριν από την τοποθέτησή τους στη θήκη του φασματοφωτομέτρου για την λήψη μέτρησης, καθαριζόταν εξωτερικά ώστε να αποφευχθούν τυχόν αλλοιώσεις.

3.1.7.2 ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΑΣ

Κατά την διάρκεια των πειραμάτων χρησιμοποιήθηκε ένας αντιδραστήρας χωρητικότητας 500 mL. Αυτός ο αντιδραστήρας θεωρείται ως κλειστό σύστημα γιατί κατά την διάρκεια της λειτουργίας του δεν υπάρχουν εισερχόμενες και εξερχόμενες ροές. Ο αντιδραστήρας ήταν μία γυάλινη φιάλη με βιδωτό πώμα που τοποθετούταν σε μαγνητικό αναδευτήρα σε όλη την διάρκεια των πειραμάτων. Ως πηγή ακτινοβολίας χρησιμοποιήθηκε ο ήλιος και η λάμπα UVC.

3.1.7.3 ΛΑΜΠΑ UVC

Η λάμπα που χρησιμοποιήθηκε κατά την διάρκεια της φωτοκατάλυσης με ακτινοβολία UVC έχει ισχύ 30W και είναι λάμπα χαμηλής πίεσης ατμών υδραργύρου. Κατασκευάστηκε από την εταιρεία OSRAM GmbH®.

3.1.7.4 ΑΛΛΕΣ ΣΥΣΚΕΥΕΣ ΚΑΙ ΟΡΓΑΝΑ

- Θάλαμος επώασης (Thermo Scientific Heraeus)
- Κλίβανος υγρής αποστείρωσης (TRADE Raypa)
- Κλίβανος ξηρής αποστείρωσης (Elvem K103)
- Ζυγαριά ακριβείας (Adventurer OHAUS Balance)

- Ζυγαριά (KERN 440-21A)
- Υδατόλουτρο (GFL)
- Μαγνητικός αναδευτήρας

3.2 Πειραματική Διαδικασία

3.2.1 Παρασκευή θρεπτικών υλικών

- Παρασκευή διαλύματος θρεπτικού υλικού για στερεή καλλιέργεια: Nutrient agar (μη εκλεκτικό), σύμφωνα με τις αναγραφόμενες στη συσκευασία οδηγίες της εταιρίας.
- Στην περίπτωση των Nutrient agar απαιτούνταν ακολούθως η αποστείρωσή τους σε αυτόκαυστο σε πίεση 1.1 atm και θερμοκρασία 121 °C για 30 min.
- Επίστρωση τρυβλίων με Nutrient και στερεοποίησή τους.
- Κατάλληλη συσκευασία των τρυβλίων ώστε να ελαχιστοποιηθεί ο κίνδυνος επιμόλυνσής τους.
- Φύλαξη των τρυβλίων που περιείχαν το άγαρ στο ψυγείο ύστερα από μία μέρα που έχουν μείνει σε θερμοκρασία περιβάλλοντος.

3.2.2 Μέθοδοι

3.2.2.1 Φωτοκατάλυση με ηλιακή ακτινοβολία

Πραγματοποιήθηκε απολύμανση σε 3 διαφορετικά βακτήρια. Ως απολυμαντικό μέσο χρησιμοποιήθηκε η ηλιακή ακτινοβολία σε συνδυασμό με καταλύτη ο οποίος ενισχύει τη δράση της.

Για κάθε στέλεχος παρασκευάστηκε διάλυμα 500mL, το οποίο περιείχε αποστειρωμένο νερό, τον καταλύτη (σε διάφορες συγκεντρώσεις) και το εναιώρημα των μικροοργανισμών συγκέντρωσης 10^6 CFU/mL.

Οι καταλύτες που χρησιμοποιήθηκαν ήταν οι εξής:

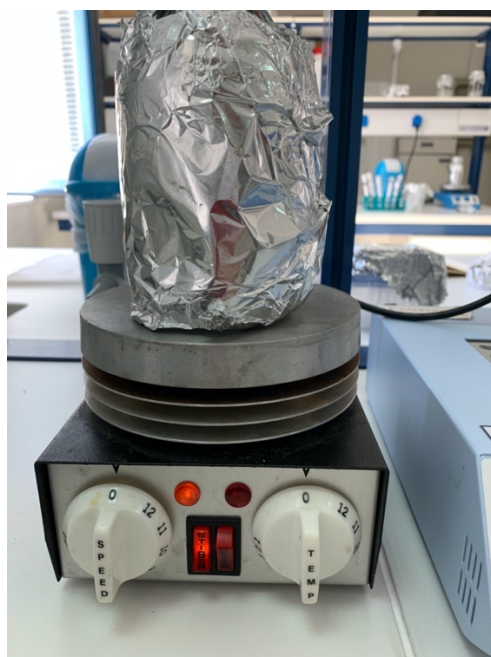
- Τιτανικό Μαγνήσιο ($MgTiO_3$) σε συγκεντρώσεις 25,50 και 100mg/L
- Τιτανικός Ψευδάργυρος ($ZnTiO_3$) σε συγκεντρώσεις 25 και 50 mg/L



Εικόνα 9: Πείραμα Ηλιακής Φωτοκατάλυσης

3.2.2.1.1 Προετοιμασία

Αρχικά ζυγίζεται η ποσότητα του καταλύτη με την οποία πραγματοποιείται το πείραμα και αναμιγνύεται με το αποστειρωμένο νερό μέσα σε γυάλινη φιάλη. Η φιάλη βρίσκεται πάνω σε μαγνητικό αναδευτήρα καθόλη τη διάρκεια του πειράματος.



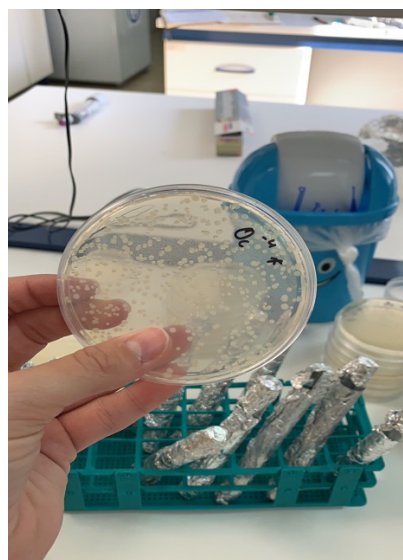
Εικόνα 10: Διάλυση καταλύτη με χρήση μαγνητικού αναδευτήρα

Η τελική συγκέντρωση του βακτηρίου στο διάλυμα θα πρέπει να είναι ίση με 10^6 CFUs/mL. Αρχικά παρασκευάστηκε εναιώρημα και φωτομετρήθηκε στα 600nm δίνοντας απορρόφηση ίση με $A=0,1$. Η τιμή της απορρόφησης αυτής βάσει της κλίμακας McFarland αντιστοιχεί σε συγκέντρωση αποικιών ίση με 10^8 CFUs/mL. Με αραίωση επιτυγχάνεται η επιθυμητή τελική συγκέντρωση διαλύματος.

Όταν διαλυθεί ο καταλύτης, αναμιγνύεται το διάλυμα με την κατάλληλη ποσότητα εναιωρήματος και η φιάλη τοποθετείται σε μέρος εκτεθειμένη στην ηλιακή ακτινοβολία.

3.2.2.1.2 Πειραματική διαδικασία

Λίγα λεπτά αφότου το διάλυμα έχει αναμιχθεί καλά, για τον χρόνο 0h, απομονώνεται δείγμα, και τοποθετείται σε δοκιμαστικό σωλήνα. Στη συνέχεια, τοποθετείται η φιάλη στον ήλιο. Λήφθηκαν 4 δείγματα ανά μία ώρα και η διάρκεια του πειράματος ήταν 4 ώρες. Στα δείγματα αυτά, έγιναν διαδοχικές αραιώσεις, με σκοπό την επίστρωσή τους σε τριβλία. Τα τριβλία τοποθετούνται στο θάλαμο επώασης στους 37°C για 24 h. Τέλος, γίνεται καταμέτρηση των αποικιών που αναπτύχθηκαν και ο αριθμός καταγράφεται.



Εικόνα 11: Αποικίες σε θρεπτικό υλικό Nutrient agar

Για τις διάφορες συγκεντρώσεις καταλυτών και τους διαφορετικούς μικροοργανισμούς πραγματοποιήθηκαν πειράματα control και dark.

Πείραμα Control: Διάλυμα με αποστειρωμένο νερό και εναιώρημα, χωρίς καταλύτη, τοποθετείται στον ήλιο.

Πείραμα Dark: Διάλυμα με αποστειρωμένο νερό, εναιώρημα και καταλύτη. Τυλίγεται με αλουμινόχαρτο και δεν τοποθετείται στον ήλιο.

Η μέτρηση της έντασης της ηλιακής ακτινοβολίας τις ημέρες των πειραμάτων μας δόθηκαν από μετεωρολογικό σταθμό. Γνωρίζοντας ότι η ένταση της ηλιακής ακτινοβολίας μεταβάλλεται κατά την διάρκεια της ημέρας και του χρόνου και εξαρτάται από το τοπικό κλίμα και τις μεταβολές στην υγρασία της ατμόσφαιρας, προκειμένου τα πειράματα να είναι συγκρίσιμα μεταξύ τους αλλά και με άλλων ερευνητών, εφαρμόστηκε κανονικοποίηση του χρόνου σύμφωνα με την Εξίσωση (1) (Malato et al. 2003):

Εξίσωση 1: $t_{30W,n} = t_{30W,n-1} + \Delta t_n \frac{I_{UV}}{30} \frac{V_i}{V_t}; \Delta t_n = t_n - t_{n-1}$

Όπου,

t_n : η χρονική στιγμή της μέτρησης της ακτινοβολίας,

Δt_n : το χρονικό διάστημα ανάμεσα σε δύο μετρήσεις,

I_{UV} : η ένταση της ακτινοβολίας σε $\frac{W}{m^2}$ την χρονική στιγμή t_n ,

V_i : ο ακτινοβολούμενος όγκος,

V_t : ο συνολικός όγκος

και t_{30W} : μία τιμή «κανονικοποιημένου» χρόνου, που αντιστοιχεί στον χρόνο ακτινοβολήσης με σταθερή ένταση UV ακτινοβολίας ίση με 30W/m². Η τιμή αυτή επιλέγεται διότι αντιστοιχεί στην ένταση της UV ακτινοβολίας που προσπίπτει στην γη μία τελείως ανέφελη ημέρα κατά το μεσημέρι.

3.2.2.2 Απολύμανση με χλώριο

Πραγματοποιήθηκε απολύμανση σε 3 διαφορετικά βακτήρια. Ως απολυμαντικό μέσο χρησιμοποιήθηκε πυκνό διάλυμα NaOCl συγκέντρωσης 1000 mg/L ως προς Cl₂.

Για κάθε στέλεχος παρασκευάστηκε διάλυμα 500 mL το οποίο περιείχε αποστειρωμένο νερό και εναιώρημα.

Η ακριβής ποσότητα του διαλύματος NaOCl που χρησιμοποιήθηκε κάθε φορά δεν αναφέρεται γιατί ανάλογα με την τιτλοδότηση που γινόταν σε τακτά χρονικά διαστήματα άλλαζε η ποσότητα που χρησιμοποιούνταν από το αρχικό διάλυμα, ώστε να παραμένει σταθερή η συγκέντρωση που χρειαζόμασταν κάθε φορά στο δείγμα.

Οι συγκεντρώσεις χλωρίου (Cl₂) που εξετάστηκαν ήταν 0,5 και 1 mg/L.

3.2.2.2.1 Προετοιμασία

Το διάλυμα NaOCl συγκέντρωσης 1000 mg/L v/v (ως προς Cl₂) παρασκευάστηκε με αραιώση πυκνού διαλύματος NaOCl (ως προς Cl₂).

Η τελική συγκέντρωση του βακτηρίου στο διάλυμα θα πρέπει να είναι ίση με 10⁶ CFUs/mL. Αρχικά παρασκευάστηκε εναιώρημα και στη συνέχεια φωτομετρήθηκε στα 600nm δίνοντας απορρόφηση ίση με A=0,1. Η τιμή της απορρόφησης αυτής βάσει της κλίμακας McFarland αντιστοιχεί σε συγκέντρωση αποικιών ίση με 10⁸ CFUs/mL. Με αραιώση επιτυγχάνεται η επιθυμητή τελική συγκέντρωση διαλύματος.

Σε δοκιμαστικούς σωλήνες τοποθετείται ποσότητα διαλύματος Na₂S₂O₃ ίση με 100μL, ώστε η τελική συγκέντρωση να είναι 18mg/L, με σκοπό την διακοπή της

δράσης του υπολειμματικού χλωρίου στο δείγμα σε κάθε χρονική στιγμή t της δειγματοληψίας.

3.2.2.2 Πειραματική διαδικασία

Τιτλοδότηση

Με την πάροδο του χρόνου η δραστητικότητα του διαλύματος NaOCl συγκέντρωσης 1000 mg/L v/v (ως προς Cl_2) μεταβάλλεται, για το λόγο αυτό πραγματοποιείται τιτλοδότηση μέσω της οποίας υπολογίζεται η συγκέντρωση του ως προς Cl_2 .

Σε μία κωνική φιάλη προστίθενται τα εξής:

- 10 mL διαλύματος NaOCl συγκέντρωσης 1000 mg/L ως προς Cl_2
- 5mL CH_3COOH
- 1g ιωδιούχου καλίου

Στη συνέχεια, τιτλοδοτείται διάλυμα $Na_2S_2O_3$ κανονικότητας 0,1N μέχρι να αποχρωματιστεί το δείγμα και μετράται η ποσότητα $Na_2S_2O_3$ που καταναλώθηκε.

Με την εφαρμογή της παρακάτω σχέσης υπολογίζονται πόσα g/L Cl_2 περιέχονται στο αρχικό διάλυμα NaOCl :

$$\frac{g}{L} Cl_2 = \frac{(ml Na_2S_2O_3 \text{ που καταναλώθηκαν}) \times 0,1N \times 35,5}{10mL}$$

Όπου :

- 10 mL είναι η ποσότητα διαλύματος που χρησιμοποιήθηκε για την τιτλοδότηση
- 35.5 είναι το Ar του χλωρίου

Για τον χρόνο 0h της πειραματικής διαδικασίας (πριν την έναρξη του χρονομέτρου) απομονώνεται δείγμα ποσότητας και τοποθετείται σε δοκιμαστικό σωλήνα.

Αφού προστεθεί η απαραίτητη δόση NaOCl στο διάλυμα, για κάθε χρονική στιγμή t λαμβάνεται και τοποθετείται σε δοκιμαστικό σωλήνα δείγμα. Ο κάθε σωλήνας περιέχει διάλυμα $Na_2S_2O_3$ (τελικής συγκέντρωσης 18mg/L) ίση με 100μL (εκτός από το χρόνο 0h), με σκοπό την διακοπή της δράσης του υπολειμματικού χλωρίου στο δείγμα.

Η δειγματοληψία πραγματοποιείται μέχρι και την ολοκλήρωση του χρόνου $t = 60 \text{ min}$ και συνολικά πάρθηκαν 11 δείγματα.

Στη συνέχεια, οι καλλιέργειες τοποθετούνται στο θάλαμο επώασης στους $37^\circ C$ για 24 h. Τέλος, γίνεται καταμέτρηση των αποικιών που αναπτύχθηκαν.

3.2.2.3 Απολύμανση με ακτινοβολία UVC

Πραγματοποιήθηκε απολύμανση σε 3 διαφορετικά βακτήρια. Ως απολυμαντικό μέσο χρησιμοποιήθηκε η ακτινοβολία UVC.

Για κάθε στέλεχος παρασκευάστηκε διάλυμα 300mL.

3.2.2.3.1 Προετοιμασία

Η τελική συγκέντρωση του βακτηρίου στο διάλυμα θα πρέπει να είναι ίση με 10^6 CFUs/mL. Αρχικά παρασκευάστηκε εναιώρημα και φωτομετρήθηκε στα 600nm δίνοντας απορρόφηση ίση με $A=0,1$. Η τιμή της απορρόφησης αυτής βάσει της κλίμακας McFarland αντιστοιχεί σε συγκέντρωση αποικιών ίση με 10^8 CFUs/mL. Με αραιώση επιτυγχάνεται η επιθυμητή τελική συγκέντρωση διαλύματος.

Για το συγκεκριμένο πείραμα χρησιμοποιήθηκε ένα γυάλινο πλατύ σκεύος. Ο λόγος που χρησιμοποιήθηκε το συγκεκριμένο σκεύος είναι γιατί η ακτινοβολία πρέπει να διαχέεται ομοιόμορφα σε όλο το διάλυμα.

Το σκεύος βρίσκεται πάνω σε μια πλάκα που δημιουργεί μαγνητικό πεδίο και με την χρήση ενός μαγνήτη πραγματοποιείται πλήρης ανάδευση σε όλη την διάρκεια του πειράματος ώστε να επιτυγχάνεται «ομοιογένεια» από την άποψη της συγκέντρωσης.

3.2.2.3.2 Πειραματική διαδικασία

Λίγα λεπτά αφότου το διάλυμα έχει αναμιχθεί καλά, για τον χρόνο 0h, απομονώνεται δείγμα, και τοποθετείται σε δοκιμαστικό σωλήνα.

Στη συνέχεια, τοποθετείται το σκεύος κάτω από τη λάμπα UVC(30W), η οποία ενεργοποιείται μαζί με το χρονόμετρο.

Λήφθηκαν 6 δείγματα και η διάρκεια του πειράματος ήταν 10 min.

Στο δείγμα που λήφθηκε την ώρα 0h, έγιναν διαδοχικές αραιώσεις, έτσι ώστε όταν στρωθεί πάνω στο θρεπτικό υλικό οι αποικίες που θα αναπτυχθούν να μπορούν να μετρηθούν με ευκολία.

Στη συνέχεια, τα τριβλία τοποθετούνται στο θάλαμο επώασης στους $37^{\circ}C$ για 24 h. Τέλος, γίνεται καταμέτρηση των αποικιών που αναπτύχθηκαν και ο αριθμός καταγράφεται.

3.2.3 Υπεροξείδωση λιπιδίων

Πραγματοποιήθηκε έλεγχος αποδοτικότητας όλων των μεθόδων απολύμανσης και για τα 3 βακτήρια.

3.2.3.1 Προετοιμασία

Πραγματοποιήθηκε παρασκευή διαλύματος TCA (trichloroacetic acid) 10% w/v αρκετής ποσότητας έτσι ώστε να φτάσει για όλα τα πειράματα.

Η παρασκευή του TBA (thiobarbituric acid) 0,67% w/v γινόταν στην αρχή του κάθε πειράματος γιατί πρέπει να είναι πάντα φρέσκο.

3.2.3.2 Πειραματική διαδικασία

Η διαδικασία ξεκινάει φτιάχνοντας ένα διάλυμα το οποίο περιέχει 1 mL από το εκάστοτε δείγμα και 2mL από το διάλυμα TCA 10% w/v.

Το τελικό διάλυμα μοιράζεται σε 2 σωλήνες erpendorf (χωρητικότητας 1,5mL).

Τα σωληνάκια Erpendorf, τοποθετούνται στη φυγόκεντρο στα 11000g για 35 min.

Έπειτα, αφαιρούνται τα στερεά που έχουν καθιζάνει και τα σωληνάκια τοποθετούνται ξανά στη φυγόκεντρο στα 11000g για 20 min. Για την φυγοκέντρωση χρησιμοποιήθηκε η φυγόκεντρος συσκευή Centrifuge 5415D της εταιρείας Erpendorf.

Φτιάχνουμε ένα διάλυμα από το υπερκείμενο υγρό που προκύπτει και 3 mL από φρέσκο TBA.

Το διάλυμα φτιάχνεται σε δοκιμαστικούς σωλήνες, οι οποίοι τοποθετούνται στο υδατόλουτρο στους 100°C για 10 min.

Αφού έρθει σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, μετριέται η απορρόφηση με φωτόμετρο, στα 532nm.

Σωληνάκια Erpendorf μετά την ξήρανση, ήρθαν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και μετρήθηκε το βάρος τους σε ζυγαριά ακριβείας.

Στη συνέχεια, πάρθηκε 1mL από όλα τα δείγματα και τοποθετήθηκε στα ξηραμένα Erpendorf, τα οποία μπήκαν στη φυγόκεντρο στα 4000g για 30 min.

Το υπερκείμενο υγρό απορρίπτεται και τα σωληνάκια με το ίζημα μπαίνουν στον κλίβανο ξηρής αποστειρώσεως στους 50°C για 24 h, με σκοπό να εξατμιστεί όλη η υγρασία που υπήρχε πάνω.

Την επόμενη μέρα μετριέται το βάρος των Erpendorf, και αφαιρώντας το αρχικό βάρος τους προκύπτει το βάρος του ιζήματος.

3.2.3.3 Πρότυπη καμπύλη

Για να υπολογιστεί η ποσότητα του MDA ανά γραμμάρια ξηρού βάρους που αντιστοιχεί στην απορρόφηση που βρήκαμε κατά τη διαδικασία της υπεροξειδωσής των λιπιδίων, πρέπει να φτιαχτεί μία πρότυπη καμπύλη.

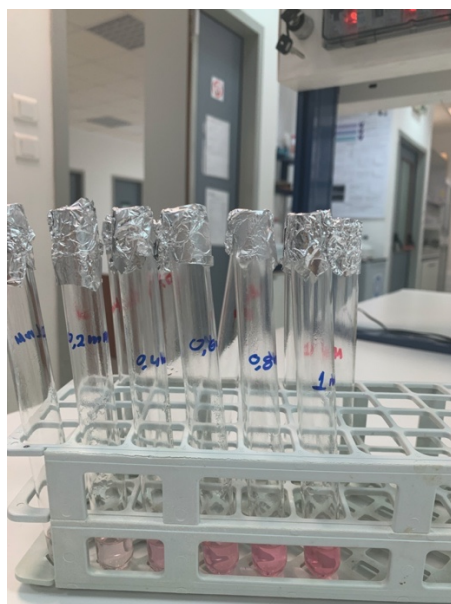
Αρχικά φτιάχτηκε διάλυμα 15mL, TBA 4mM με διαλυτικό μέσο το οξικό οξύ.

Έπειτα φτιάχτηκε πρότυπο διάλυμα MDA 1mM με διαλυτικό μέσο, πάλι, το οξικό οξύ.

Από αυτό το αρχικό διάλυμα MDA φτιάχτηκαν με αραιώσεις και άλλες συγκεντρώσεις (0.1,0.2,0.4,0.6,0.8,1,10μM και 0.1,0.2,0.4,0.6,0.8,1 mM)

Παίρνοντας 1 ml από κάθε συγκέντρωση, μαζί με 1 mL από το φρέσκο TBA σε δοκιμαστικό σωλήνα, προκύπτουν 13 δοκιμαστικοί σωλήνες οι οποίοι τοποθετούνται στο υδατόλουτρο στους 95°C για 60 min. Όταν έρθουν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος φωτομετρούνται στα 532nm.

Έτσι έχοντας την πρότυπη καμπύλη, μπορούμε να υπολογίσουμε την ποσότητα MDA (nM/mg cell dry wt).



Εικόνα 12: Δοκιμαστικοί σωλήνες με διάλυμα MDA- TBA

4 MATLAB

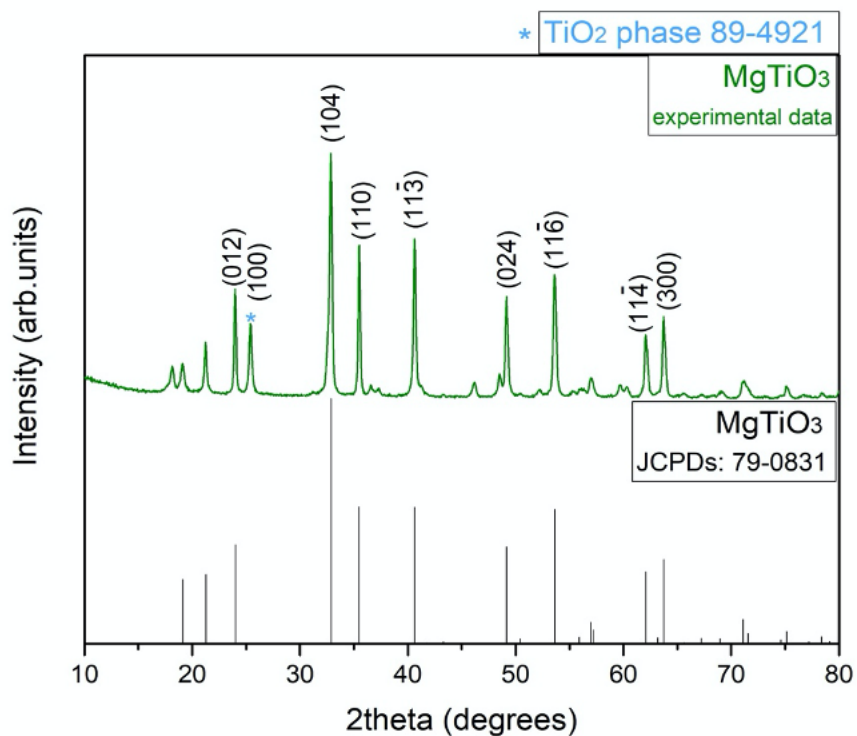
Η προσομοίωση των πειραματικών αποτελεσμάτων πραγματοποιήθηκε μέσω του λογισμικού Matlab. Από την εισαγωγή των απαραίτητων πληροφοριών εισόδου και την προσομοίωσή τους ως πληροφορίες εξόδου του μοντέλου λαμβάνονται οι τιμές των παραμέτρων και τα διαστήματα εμπιστοσύνης 95%. Αναλυτικότερα οι καμπύλες απολύμανσης παρουσιάζονται στα αποτελέσματα.

5 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

5.1 Αποτελέσματα καταλυτών

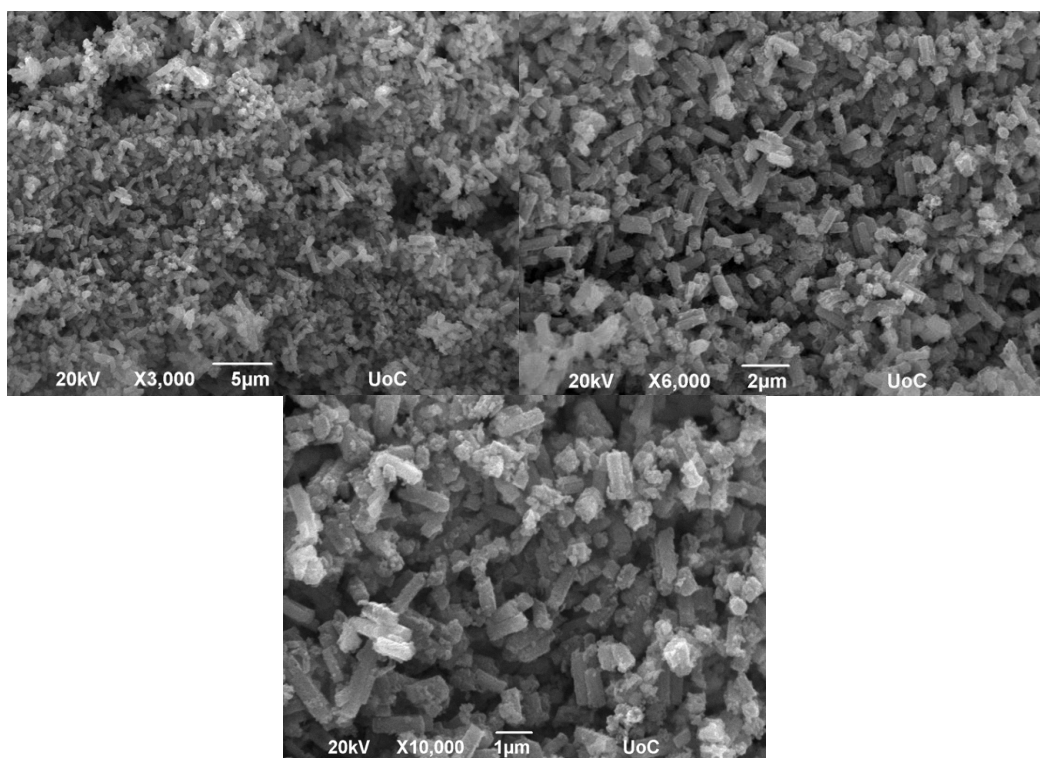
Οι οξειδοαναγωγικοί καταλύτες διαθέτουν κρυσταλλικό πλέγμα που μπορεί να περιέχει κατιόντα και κερδίζουν έδαφος στο πεδίο των προηγμένων διεργασιών οξείδωσης. Ο κατάλληλος σχεδιασμός (δομικός και μορφολογικός) αυτών των υλικών τα καθιστά ικανά να ενεργοποιηθούν κατόπιν έκθεσης σε φυσικό ηλιακό φως. Η προτεινόμενη μέθοδος επεξεργασίας νερού και αποβλήτων αποτελεί ιδανική, οικονομική και φιλική προς το περιβάλλον λύση, δεδομένου ότι η χρήση τέτοιων υλικών δεν οδηγεί στην παραγωγή τοξικών ή καρκινογόνων παραπροϊόντων. Επίσης, το υψηλό οξειδωτικό δυναμικό ενισχύει την οξειδωτική και βιοκτόνο δράση τους εναντίον πολλών παθογόνων που περιέχονται στα λύματα, συμπεριλαμβανομένων και των πιο ανθεκτικών, όπως είναι οι ιοί εντερικής προέλευσης.

5.1.1 Τιτανικό Μαγνήσιο (MgTiO_3)



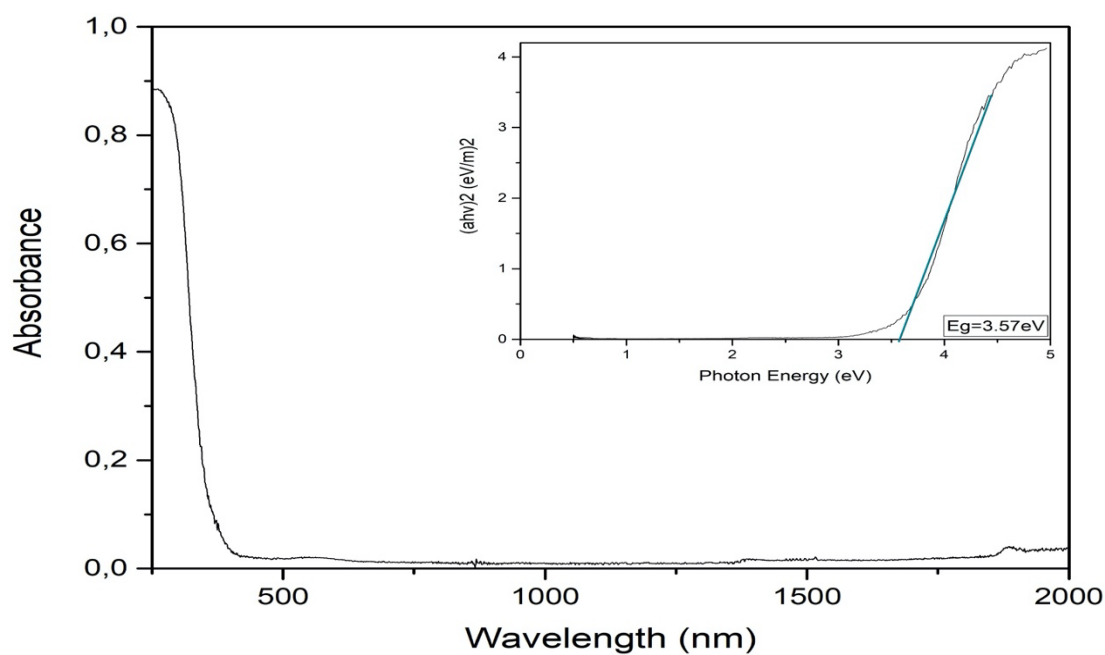
Εικόνα 13: Διάγραμμα για το φάσμα περίθλασης ακτίνων-x (XRD) για τον καταλύτη MgTiO_3

Το διάγραμμα XRD δείχνει το φάσμα περίθλασης των ακτίνων-x MgTiO_3 με JCPDS card 79-0831, στο κρυσταλλικό σύστημα Rhombohedral, με space group: R-3. Μια δεύτερη φάση απεικονίζεται στο διάγραμμα και αντιστοιχεί σε Anatase TiO_2 [card JCPDS 89-4921]. Με σύστημα Tetragonal Crystal και space group: I41 / amd



Εικόνα 14: SEM images για τον καταλύτη MgTiO_3

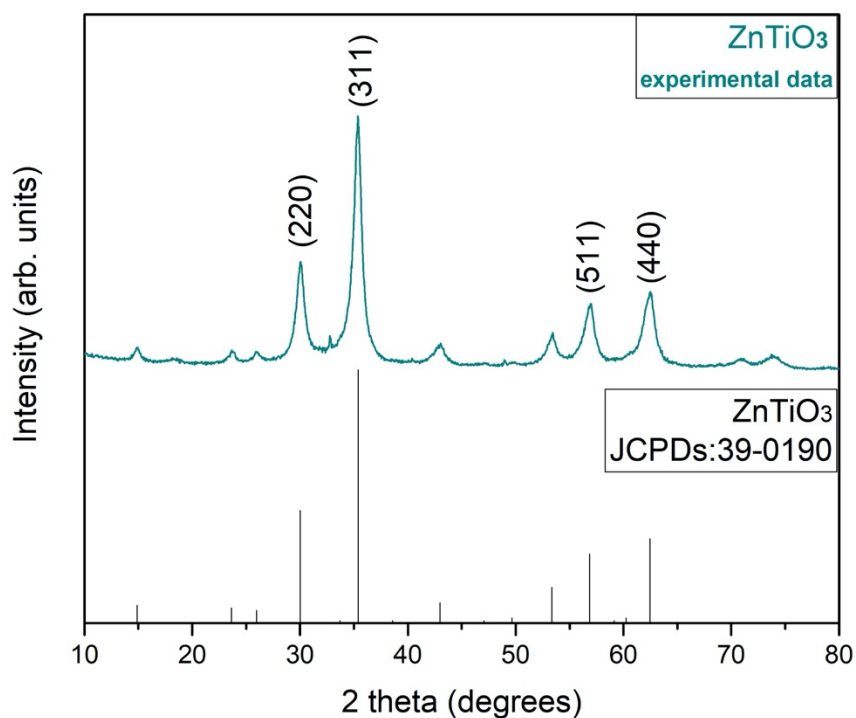
Ένα ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (SEM) είναι ένας τύπος μικροσκοπίου ηλεκτρονίων που παράγει εικόνες ενός δείγματος, με σάρωση της επιφάνειας με μια εστιασμένη δέσμη ηλεκτρονίων. Τα ηλεκτρόνια αλληλεπιδρούν με άτομα στο δείγμα, παράγοντας διάφορα σήματα που περιέχουν πληροφορίες σχετικά με την επιφανειακή τοπογραφία και τη σύνθεση του δείγματος.



Εικόνα 15: Διάγραμμα απορρόφησης στο υπεριώδες και ορατό φάσμα για τον καταλύτη MgTiO_3

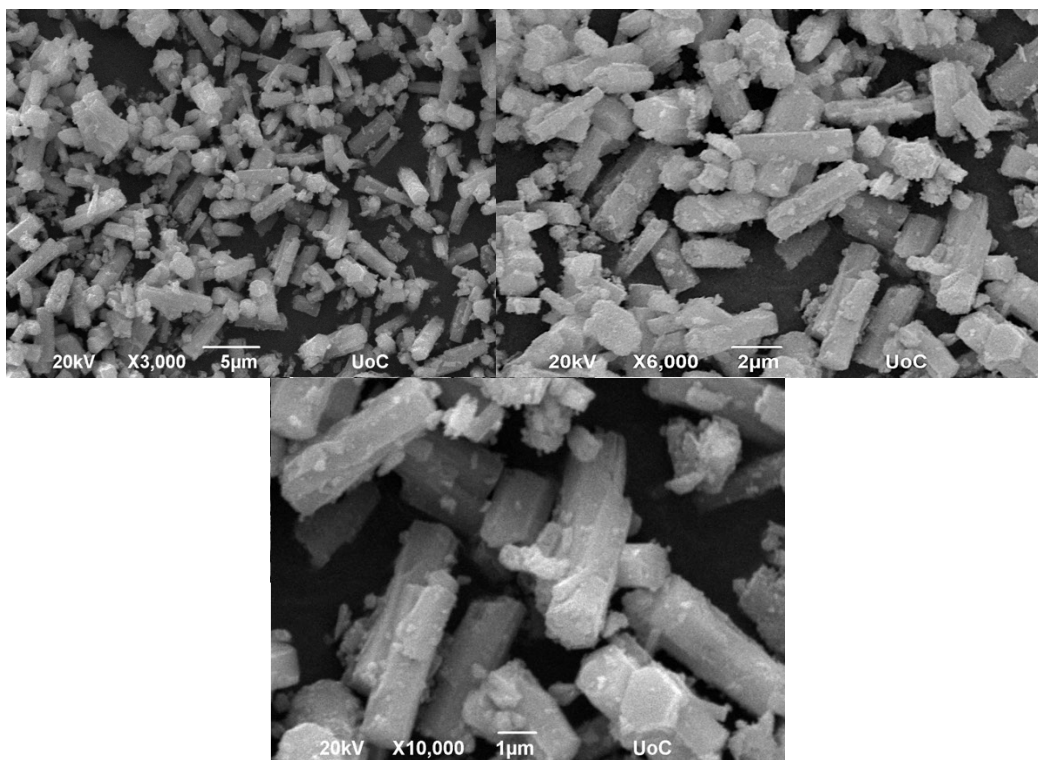
Παρατηρούμε πως ο συγκεκριμένος καταλύτης, απορροφάται και στο ορατό φάσμα, δηλαδή από 400nm έως περίπου 600nm. Η απορρόφηση αυτή (0,02) είναι πολύ μικρή σε σχέση με την απορρόφηση στο υπεριώδες φάσμα(0,9).

5.1.2 Τιτανικός Ψευδάργυρος (ZnTiO_3)

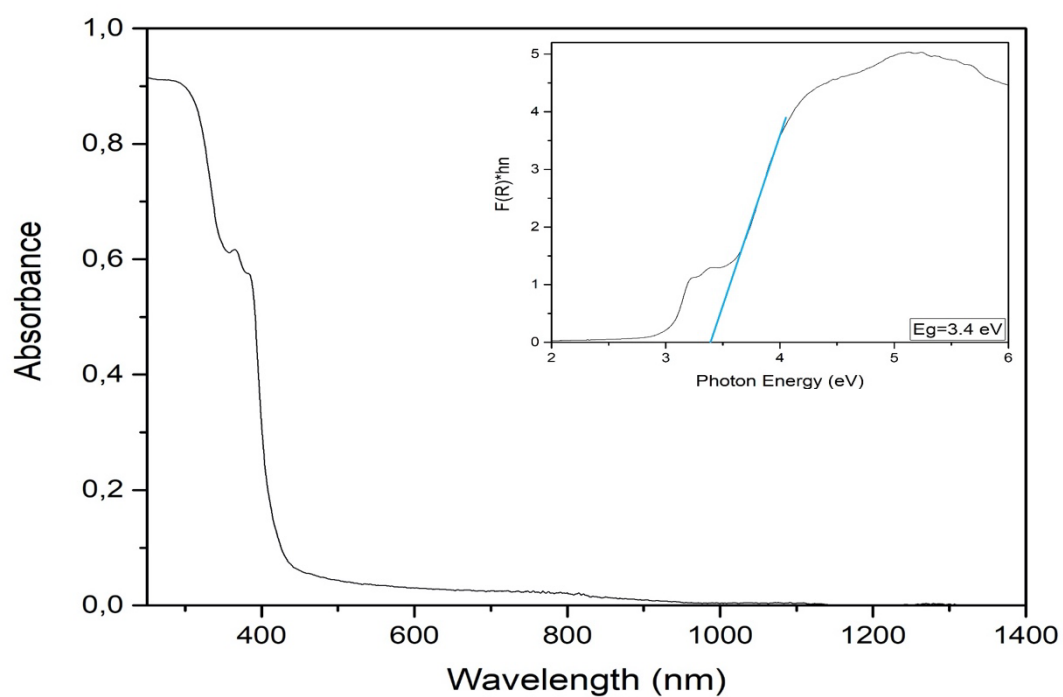


Εικόνα 16 : Διάγραμμα για το φάσμα περίθλασης ακτίνων-x (XRD) για τον καταλύτη ZnTiO_3

Το διάγραμμα XRD δείχνει το φάσμα περίθλασης ακτίνων-x ZnTiO_3 με card JCPDs 39-0190, στο σύστημα κυβικών κρυστάλλων. Τα επίπεδα των κύριων περιθλάσεων κορυφής φαίνονται στο διάγραμμα.



Εικόνα 17: SEM images για τον καταλύτη ZnTiO_3



Εικόνα 18: Διάγραμμα απορρόφησης στο υπεριώδες και ορατό φάσμα για τον καταλύτη ZnTiO_3

Παρατηρούμε πως ο συγκεκριμένος καταλύτης παρουσιάζει μεγαλύτερη απορρόφηση (περίπου 0,08) στο ορατό φως σε σχέση με τον προηγούμενο.

Παρατηρείται επίσης, πως απορροφάται ελάχιστα και στην υπέρυθρη ακτινοβολία (700-850nm).

5.2 Αποτελέσματα φωτοκατάλυσης με ηλιακή ακτινοβολία

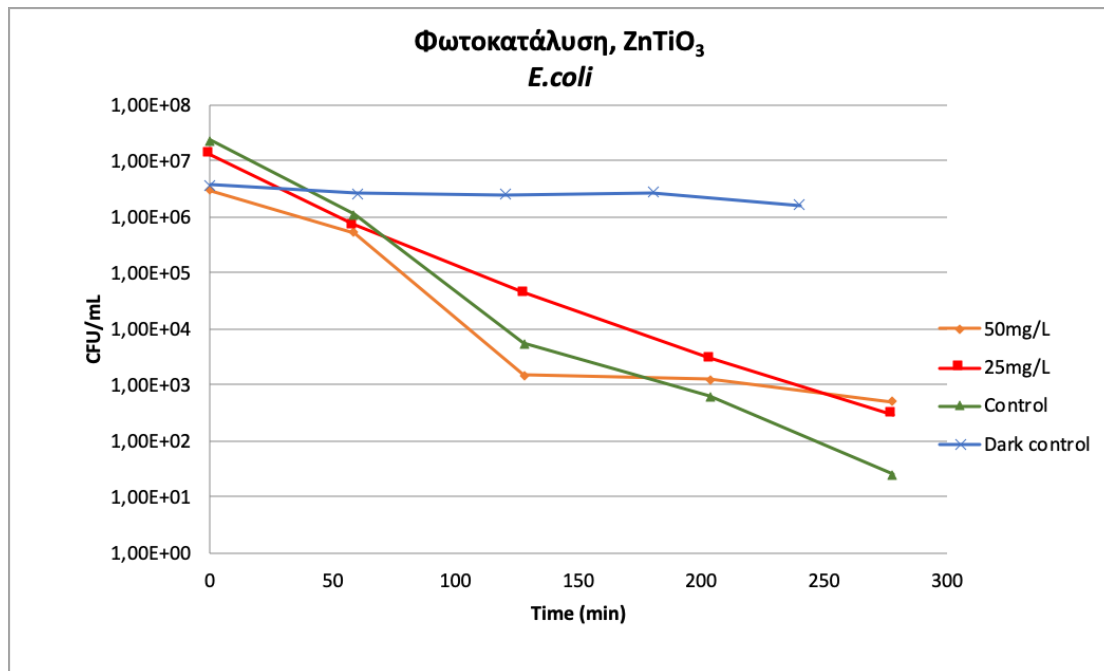
Η φωτοκατάλυση είναι μία από τις Προηγμένες Μεθόδους Οξειδωσης (ΠΔΟ) που χρησιμοποιείται τα τελευταία χρόνια και πρόκειται για απολύμανση με ακτινοβολία UV παρουσία καταλύτη, ο οποίος επιταχύνει μια διαδικασία που χωρίς τη χρήση του, θα χρειαζόταν αρκετός χρόνος για να δράσει αποτελεσματικά η διαδικασία απολύμανσης με ακτινοβολία UV.

Η αδρανοποίηση του *E.coli* οφείλεται στην διατάραξη μιας σειράς κυτταρικών λειτουργιών. Μετά από σύντομη έκθεση, διακόπτεται η σύνθεση ATP και δυσχεραίνεται η εκροή μεταβολικών αποβλήτων. Στη συνέχεια, μειώνεται το δυναμικό της μεμβράνης και η πρόσληψη γλυκόζης. Ήδη σε αυτό το στάδιο τα κύτταρα δεν είναι καλλιεργήσιμα. Τέλος, η μεμβράνη χάνει την ημιπερατή της ιδιότητα και ακολουθεί λύση του κυττάρου (McGuigan et al. 2012).

Η αδρανοποίηση του *E.coli*, αλλά και το αν αυτή οφείλεται σε καταστροφή του DNA ή της κυτταρικής μεμβράνης, εξαρτάται από το μήκος κύματος, τη συγκέντρωση διαλυμένου οξυγόνου, την αλατότητα και τις συνθήκες επώασης μετά την ακτινοβολία. Στο είδος περιλαμβάνονται στελέχη με διαφορετική ευαισθησία στην ηλιακή ακτινοβολία, με αποτέλεσμα ο ελάχιστος χρόνος επεξεργασίας να ποικίλλει (McGuigan et al. 2012)

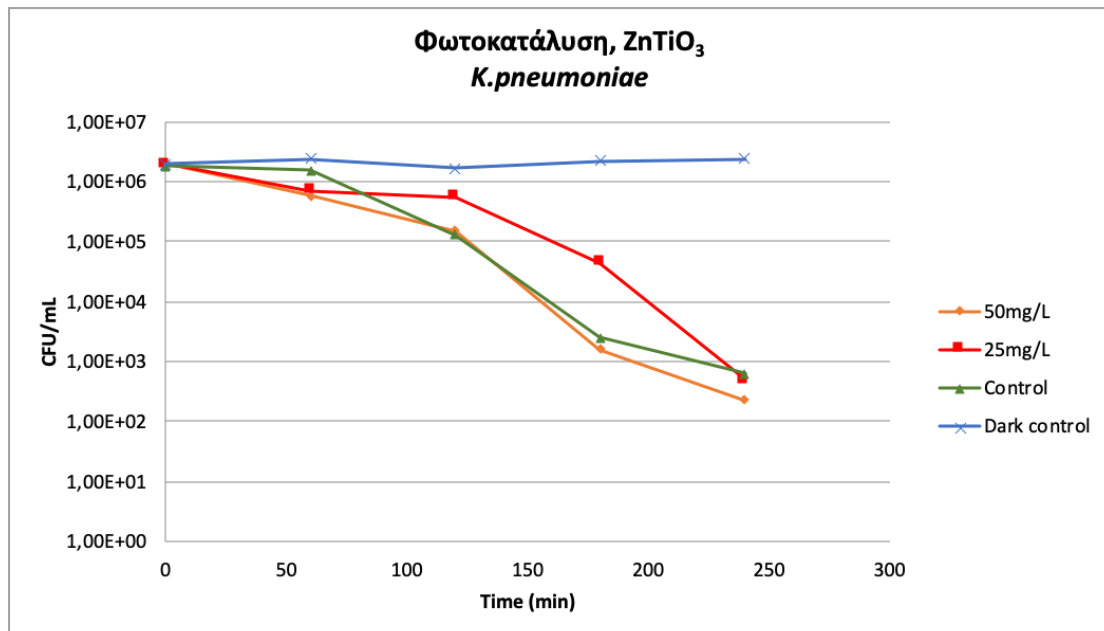
5.2.1 Φωτοκατάλυση με $ZnTiO_3$

Είναι γνωστό, πως τα θετικά κατά gram βακτήρια είναι αρκετά πιο ανθεκτικά από τα αρνητικά. Παρακάτω όμως βλέπουμε πως το βακτήριο *Staphylococcus aureus*, το οποίο ανήκει στα gram θετικά βακτήρια, έχει αδρανοποιηθεί εντελώς σε αντίθεση με τα άλλα δύο βακτήρια, των οποίων ο πληθυσμός δεν έχει μηδενισθεί. Συνεπώς το βακτήριο *S.aureus*, είναι λιγότερο ανθεκτικό στην μέθοδο της φωτοκατάλυσης με χρήση του καταλύτη $ZnTiO_3$.



Εικόνα 19: Αδρανοποίηση Βακτηριακών Στελεχών *E.coli* με φωτοκατάλυση και δόση καταλύτη 25 και 50 mg/L - Πειράματα Control με ήλιο και στο σκοτάδι(50mg/L)

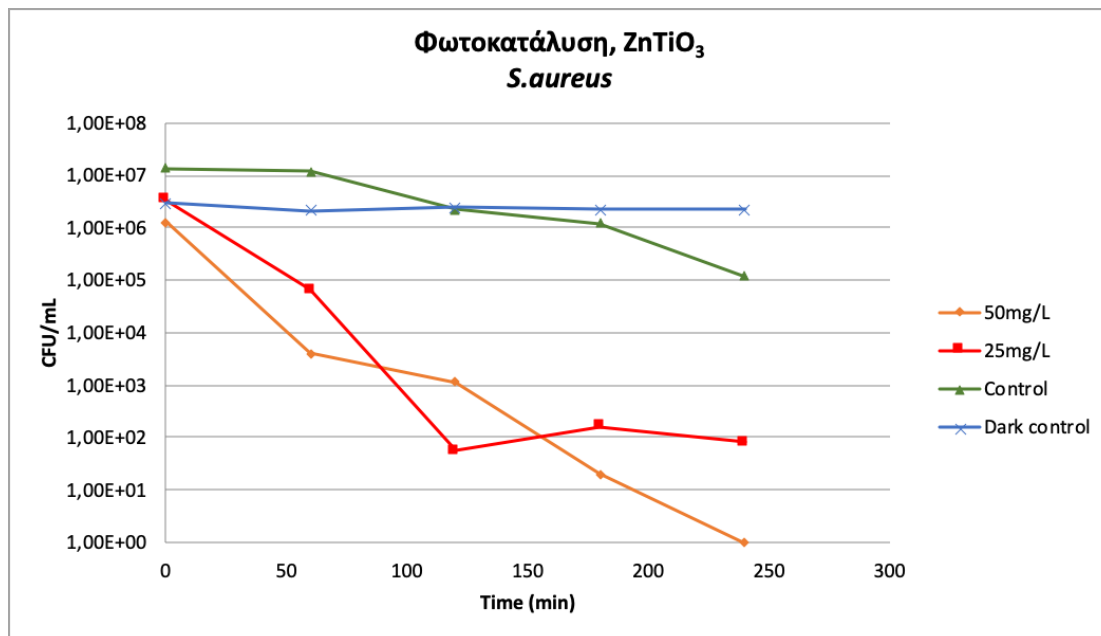
Στο παραπάνω διάγραμμα είναι εμφανές πως το πείραμα Control είναι πιο αποτελεσματικό και από τις δύο συγκεντρώσεις καταλύτη. Παρατηρούμε πως οι δύο συγκεντρώσεις καταλύτη (25 και 50mg/L) έδωσαν παρόμοια αποτελέσματα, δηλαδή μείωσαν τον πληθυσμό αποικιών κατά 4 logs, ενώ το πείραμα Control κατά 5 logs. Τέλος, παρατηρείται πως η μέγιστη μείωση πληθυσμού έγινε και στις τρεις περιπτώσεις στα 278 min από την αρχή του πειράματος.



Εικόνα 20: Αδρανοποίηση Βακτηριακών Στελεχών *K.pneumoniae* με φωτοκατάλυση και δόση καταλύτη 25 και 50 mg/L - Πειράματα Control με ήλιο και στο σκοτάδι(50mg/L)

Στο παραπάνω διάγραμμα παρατηρείται πως η πιο αποτελεσματική περίπτωση είναι η προσθήκη καταλύτη 50mg/L. Και στις άλλες δύο περιπτώσεις βέβαια έχουμε εξίσου

καλά αποτελέσματα αφού η τάξη μείωσης είναι 4 logs, όπως και στην περίπτωση των 50mg/L. Η μέγιστη μείωση παρατηρείται σε χρόνο 263 min από την αρχή του πειράματος.



Εικόνα 21: Αδρανοποίηση Βακτηριακών Στελεχών *S.aureus* με φωτοκατάλυση και δόση καταλύτη 25 και 50 mg/L - Πειράματα Control με ήλιο και στο σκοτάδι(50mg/L)

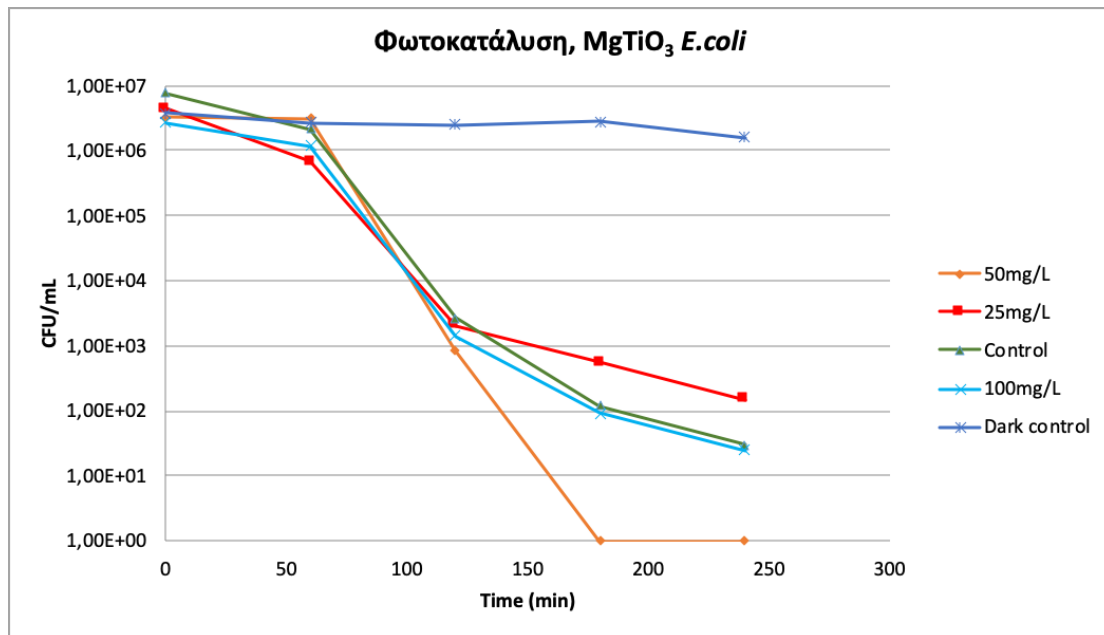
Στην περίπτωση του σταφυλόκοκκου παρατηρούμε πως η συγκέντρωση με τα καλύτερα αποτελέσματα ήταν αυτή με τα 50mg/L αφού η τάξη μείωσης είναι 6 logs, δηλαδή στο θρεπτικό υλικό παρατηρήθηκε μόνο μία αποικία. Στο χρόνο 267 min παρατηρούμε πως η τάξη μείωσης για τα 25mg/L είναι 5 logs και για το πείραμα control 1 log.

Στα 125 min παρατηρούμε πως στη συγκέντρωση 25mg/L έχει γίνει πειραματικό λάθος, αφού σε εκείνη τη χρονική στιγμή παρατηρείται ελάχιστος αριθμός αποικιών, ο οποίος στη συνέχεια αυξάνεται κατά 1 log (197 min).

Στα τρία παραπάνω διαγράμματα βλέπουμε την εξέλιξη του πειράματος dark και για τα τρία βακτήρια. Όπως είναι αναμενόμενο η συγκέντρωση του μικροοργανισμού παραμένει σταθερή, δηλαδή η τάξη μείωσης είναι στα 0 log. Αυτό σημαίνει ότι ο καταλύτης δεν έχει καμία απολυμαντική δράση χωρίς την παρουσία της ηλιακής ακτινοβολίας.

5.2.2 Φωτοκατάλυση με $MgTiO_3$

Αλλάζοντας τον καταλύτη, εξετάστηκε η αδρανοποίηση του βακτηρίου *E.coli* σε τρεις διαφορετικές συγκεντρώσεις. Δεν εξετάστηκε η απόδοση αυτού του καταλύτη όσον αφορά την αδρανοποίηση των άλλων δύο βακτηριακών στελεχών.



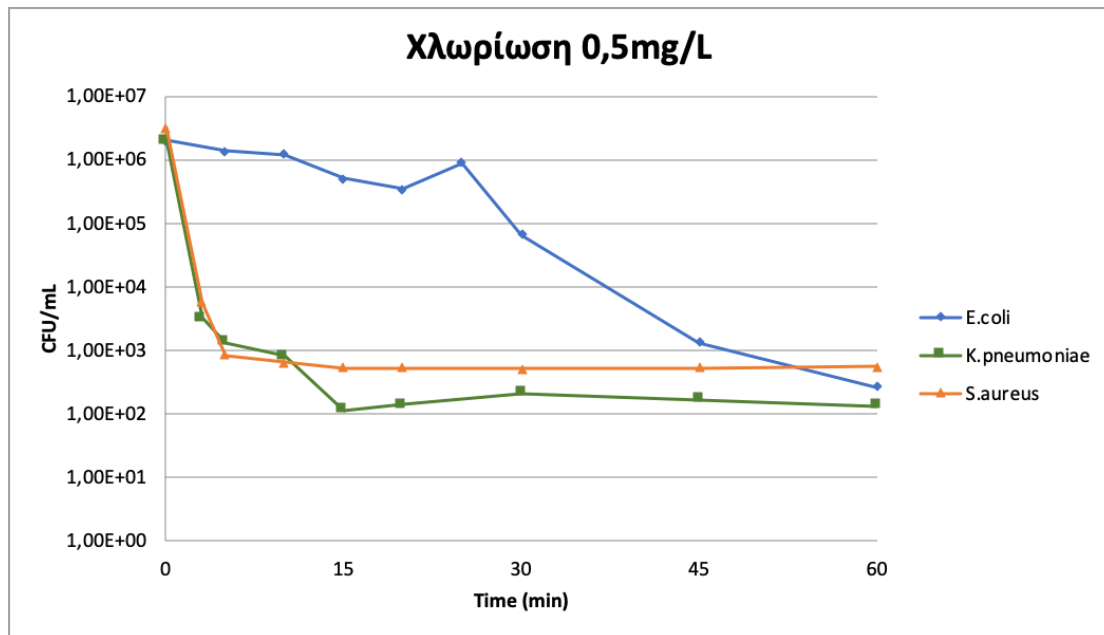
Εικόνα 22: Αδρανοποίηση Βακτηριακών Στελεχών *E.coli* με φωτοκατάλυση και δόση καταλύτη 25,50 και 100 mg/L - Πειράματα Control με ήλιο και στο σκοτάδι(100mg/L)

Παρατηρείται πως η συγκέντρωση με τα καλύτερα αποτελέσματα είναι τα 50mg/L αφού από τα 181 min του πειράματος είχαμε μείωση της τάξης των αποικιών κατά 6 logs, δηλαδή πλήρης αδρανοποίηση του βακτηρίου. Τα 100mg/L είχαν τα ίδια αποτελέσματα με το πείραμα control, μείωση τάξης κατά 5 logs, ενώ τα 25mg/L κατά 4 logs.

Όπως και στα παραπάνω πειράματα dark, η συγκέντρωση του βακτηρίου παραμένει σταθερή. Συνεπώς, επιβεβαιώνεται πως ο καταλύτης χρειάζεται ηλιακή ακτινοβολία για να έχει απολυμαντική δράση.

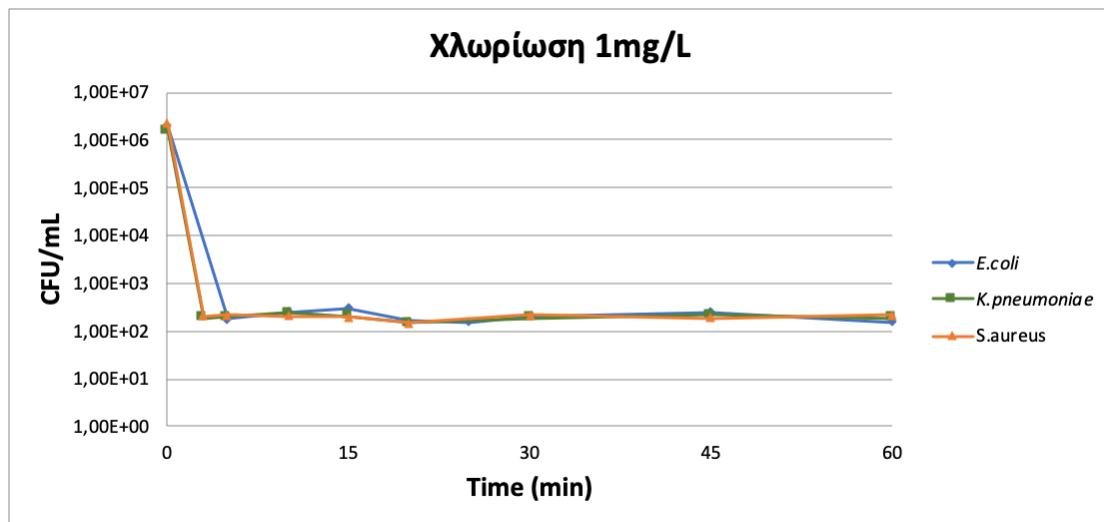
5.3 Αποτελέσματα χλωρίωσης

Χλωρίωση εφαρμόστηκε με δύο διαφορετικές συγκεντρώσεις χλωρίου και σε τρία διαφορετικά βακτήρια. Η διάρκεια των πειραμάτων ήταν πάντα η ίδια, όπως επίσης και η αρχική συγκέντρωση μικροοργανισμού. Οι δύο συγκεντρώσεις που χρησιμοποιήθηκαν φέρουν παρόμοια αποτελέσματα όσον αφορά τη μείωση του βακτηριακού πληθυσμού, όμως στη συγκέντρωση 1mg/L, η μείωση αυτή έγινε αρκετά πιο γρήγορα. Αναλυτικότερα τα αποτελέσματα αυτά παρουσιάζονται στα παρακάτω διαγράμματα.



Εικόνα 23: Αδρανοποίηση Βακτηριακών Στελεχών *E.coli*, *K.pneumoniae* και *S.aureus* με χλωρίωση και δόση χλωρίου 0,5 mg/L

Παρατηρούμε πως με τη συγκεκριμένη δόση χλωρίου και στα τρία βακτήρια είχαμε μείωση συγκέντρωσης της ίδιας τάξης, δηλαδή 4logs. Με μικρή διαφορά, πιο αποτελεσματική ήταν η αδρανοποίηση στο βακτήριο *K.pneumoniae*. Τέλος, παρατηρούμε μερικά πειραματικά σφάλματα στην πορεία της συγκέντρωσης των βακτηρίων *E.coli* και *K.pneumoniae* στα 25 και 20 min αντίστοιχα.



Εικόνα 24: Αδρανοποίηση Βακτηριακών Στελεχών *E.coli*, *K.pneumoniae* και *S.aureus* με χλωρίωση και δόση χλωρίου 1 mg/L

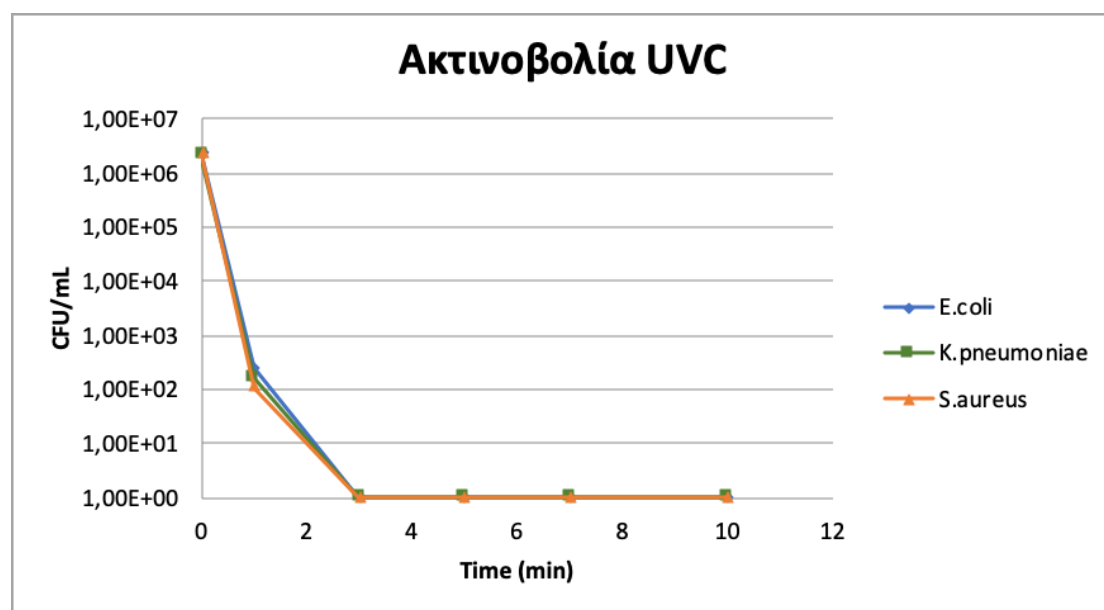
Η αδρανοποίηση των τριών βακτηρίων με τη μέθοδο της χλωρίωσης και δόση χλωρίου 1mg/L παρατηρούμε πως έχει ακριβώς τα ίδια αποτελέσματα και για τα τρία βακτήρια καθώς η συγκέντρωση μειώνεται κατά 4logs. Η μέγιστη αδρανοποίηση για τα βακτήρια *K.pneumoniae* και *S.aureus* παρατηρείται στα 3 min ενώ για το βακτήριο *E.coli* στα 5 min. Τέλος, υπάρχει πειραματικό σφάλμα στα 15 min αφού η συγκέντρωση αυξάνεται ελάχιστα.

5.4 Αποτελέσματα ακτινοβολίας UVC

Η χρήση της υπεριώδους ακτινοβολίας για την απολύμανση του νερού έχει αποκτήσει αυξημένη δημοτικότητα, διότι δεν παράγονται καρκινογόνα ή τοξικά παραπροϊόντα, δεν προκαλούνται προβλήματα δυσοσμίας και αλλοίωσης της γεύσης, και δεν χρησιμοποιούνται τοξικά χημικά. Δυστυχώς, έχει αρκετά μειονεκτήματα όπως το υψηλότερο κόστος από τα αλογόνα, η απουσία υπολειμματικής δράσης, η δυσκολία στον προσδιορισμό της δόσης UV, η συντήρηση και ο καθαρισμός των λαμπτήρων UV, και το ενδεχόμενο φωτοενεργοποίησης κάποιων εντερικών βακτηρίων.

Η υπεριώδης ακτινοβολία καταστρέφει το DNA σε μήκος κύματος περίπου 260nm. Η πιο κοινή πηγή UV-C ακτινοβολίας είναι ένας λαμπτήρας ατμών υδραργύρου κατασκευασμένος από χαλαζία ή από παρόμοιο υλικό, όπου δεν απορροφάει στο έντονο και καταστρεπτικό μη ορατό φως των 254nm. Η UV ακτινοβολία προκαλεί διμερισμό θυμίνης, εμποδίζοντας την αντιγραφή των νουκλεϊνικών οξέων και αδρανοποιεί αποτελεσματικά τους μικροοργανισμούς.

Η αδρανοποίηση με ακτινοβολία UVC παρατηρούμε πως είναι άμεση και αποδοτική. Οι βακτηριακοί πληθυσμοί και των τριών βακτηρίων μηδενίσθηκαν αμέσως την ίδια ακριβώς στιγμή.



Εικόνα 25: Αδρανοποίηση Βακτηριακών Στελεχών *E.coli*, *K.pneumoniae* και *S.aureus* με ακτινοβολία UVC

Η αδρανοποίηση των βακτηρίων με ακτινοβολία UVC παρατηρούμε πως έχει τα καλύτερα αποτελέσματα στη μείωση τη συγκέντρωσης τους αφού από τα 3 min η συγκέντρωση και των τριών βακτηρίων μειώνεται κατά 6logs, δηλαδή μηδενίζεται εντελώς.

5.5 Κινητική σταθερά αδρανοποίησης

Πίνακας 4: Κινητική Σταθερά Αδρανοποίησης Στελεχών χρησιμοποιώντας ως μέθοδο απολύμανσης φωτοκατάλυση με ηλιακή ακτινοβολία

Συγκεντρώσεις καταλύτη $ZnTiO_3$ (mg/L)	Βακτήριο	$C_{αρχ}$ (CFU/ mL)	$C_{τελ}$ (CFU/ mL)	Μείωση Πληθυσμού (%)	k (Κινητική σταθερά αδρανοποίησης, min^{-1})	R^2 (Συντελεστής γραμμικής συσχέτισης)
25	<i>Escherichia coli</i>	1×10^7	3×10^2	99,97	0,04	0,99
25	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2×10^6	$4,9 \times 10^2$	99,95	0,025	0,94
25	<i>Staphylococcus aureus</i>	3×10^6	8×10	99,99	0,05	0,91
50	<i>Escherichia coli</i>	3×10^6	5×10^2	99,98	0,037	0,94
50	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2×10^6	2×10^2	99,99	0,032	0,97
50	<i>Staphylococcus aureus</i>	10^6	1	100	0,055	0,98
Συγκεντρώσεις καταλύτη $MgTiO_3$ (mg/L)						
25	<i>Escherichia coli</i>	2×10^6	$1,5 \times 10^2$	99,99	0,043	0,97
50	<i>Escherichia coli</i>	3×10^6	1	100	0,07	0,95
100	<i>Escherichia coli</i>	3×10^6	2×10	99,99	0,051	0,97

Πίνακας 5: Κινητική Σταθερά Αδρανοποίησης Στελεχών χρησιμοποιώντας ως μέθοδο απολύμανσης χλωρίωση

Συγκεντρώσεις χλωρίου (mg/L)	Βακτήριο	C _{αρχ} (CFU/ mL)	C _{τελ} (CFU/ mL)	Μείωση Πληθυσμού (%)	k (Κινητική σταθερά αδρανοποίησης, min ⁻¹)	R ² (Συντελεστής γραμμικής συσχέτισης)
0,5	<i>Escherichia coli</i>	2x10 ⁶	2,7x10 ²	99,98	0,141	0,96
0,5	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2x10 ⁶	1,4x10 ²	99,99	1,648	0,97
0,5	<i>Staphylococcus aureus</i>	3x10 ⁶	5,5x10 ²	99,98	1,769	0,99
1	<i>Escherichia coli</i>	2x10 ⁶	1,6x10 ²	99,99	2,141	0,93
1	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1,6x10 ⁶	1,9x10 ²	99,98	2,119	0,94
1	<i>Staphylococcus aureus</i>	2x10 ⁶	2,2x10 ²	99,98	2,171	0,94

Πίνακας 6: Κινητική Σταθερά Αδρανοποίησης Στελεχών χρησιμοποιώντας ως μέθοδο απολύμανσης ακτινοβολία UVC

Βακτήριο	C _{αρχ} (CFU/ mL)	C _{τελ} (CFU/ mL)	Μείωση Πληθυσμού (%)	k (Κινητική σταθερά αδρανοποίησης, min ⁻¹)	R ² (Συντελεστής γραμμικής συσχέτισης)
<i>Escherichia coli</i>	2,4x10 ⁶	1	100	5,324	0,95
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2x10 ⁶	1	100	5,3	0,94

<i>Staphylococcus aureus</i>	2,3x10 ⁶	1	100	5,389	0,93
------------------------------	---------------------	---	-----	-------	------

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

5.6 Υπολογισμός του C^*t

Με την σχέση C^*t υπολογίζεται η αποτελεσματικότητα του απολυμαντικού μέσου. Όπου C αντικαθίσταται η συγκέντρωση του απολυμαντικού μέσου σε mg/L και t (min) αντιστοιχεί στον χρόνο που χρειάστηκε ώστε να επέλθει 99,9 % αδρανοποίηση του πληθυσμού των βακτηρίων ο οποίος υποβλήθηκε σε απολύμανση. Όσο χαμηλότερο είναι το αποτέλεσμα C^*t , τόσο αποτελεσματικότερο είναι το απολυμαντικό μέσο για τον συγκεκριμένο μικροοργανισμό. Ακόμη, αυτή η σχέση επιτρέπει την σύγκριση διαφόρων απολυμαντικών μέσων ως προς την αποτελεσματικότητά τους έναντι διαφορετικών ειδών μικροοργανισμών.

Πίνακας 7: Τιμές C^*t για 99% μείωση πληθυσμού των βακτηρίων που υποβλήθηκαν σε χλωρίωση 0,5 και 1mg/L , χρόνος t (min)

Συγκεντρώσεις (mg/L)	Βακτήριο	C^*t
0,5	<i>Escherichia coli</i>	30
0,5	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	7,5
0,5	<i>Staphylococcus aureus</i>	15

1	<i>Escherichia coli</i>	5
1	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	3
1	<i>Staphylococcus aureus</i>	3

Όσο μικρότερη είναι η σχέση C*t καταλαβαίνουμε πως τόσο πιο αποτελεσματικό υπήρξε το απολυμαντικό μέσο στην αδρανοποίηση του βακτηριακού πληθυσμού. Συγκεκριμένα, χρειάστηκε λιγότερος χρόνος ή/και μικρότερη δόση χλωρίου για να ελαττωθεί ο βακτηριακός πληθυσμός.

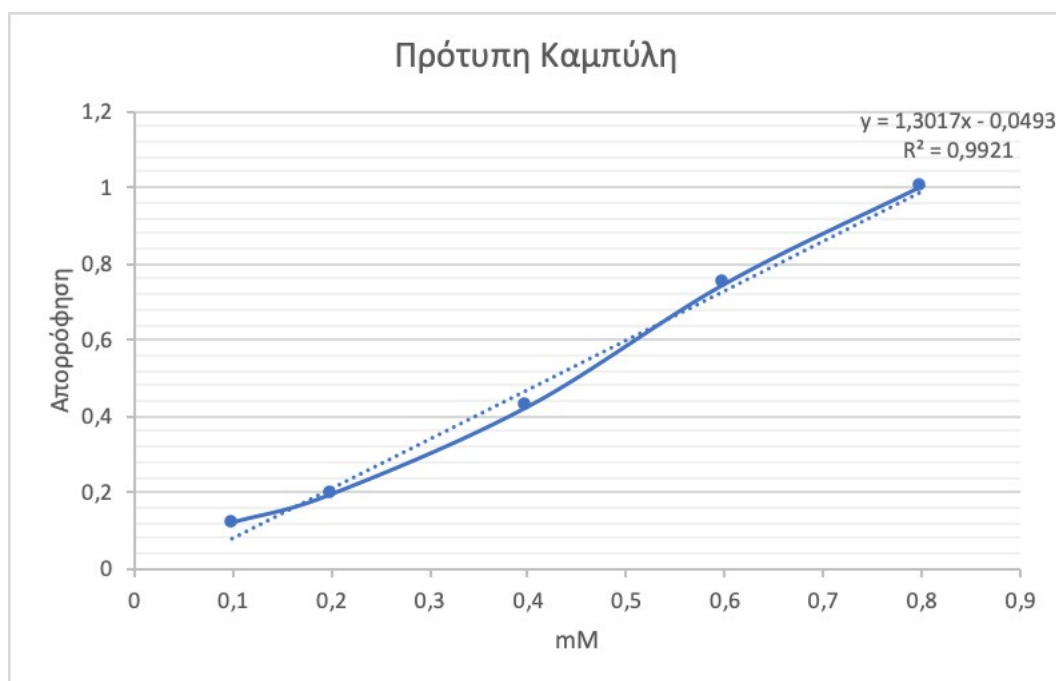
Συμφώνα με τους παραπάνω πίνακες τα πιο καλά αποτελέσματα επήλθαν με τις συγκεντρώσεις 1 mg/L Cl₂ για τα βακτήρια *E.coli*, *K.pneumoniae* και *S.aureus* με τιμές 5,3 και 3 αντίστοιχα, τιμές τόσο χαμηλές λόγω του μικρού χρόνου.

Ο λόγος που το C*t υπολογίστηκε μόνο για τη μέθοδο της χλωρίωσης είναι πως δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί η συγκέντρωση καταλύτη για τον όρο C. Αυτό συμβαίνει διότι ο καταλύτης δεν είναι το άμεσα απολυμαντικό μέσο, αλλά η ύπαρξη του είναι βοηθητική για την απολύμανση. Τέλος, η ακτινοβολία UVC δεν μετρείται με τη συγκέντρωση, αλλά με Watt.

5.7 Αποτελέσματα Υπεροξειδωσης Λιπιδίων

Η διαθεσιμότητα των άμεσων μεθόδων για την ανίχνευση και την ποσοτικοποίηση της MDA ως παραπροϊόν της ενζυμικής υπεροξειδωσης των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων και τελικό προϊόν της μη-ενζυμικής υπεροξειδωσης των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων φαίνεται να κάνει το σχηματισμό της MDA ένα ελκυστικό διαγνωστικό δείκτη της υπεροξειδωσης των λιπαρών οξέων και της οξειδωτικής βλάβης δομών πλούσιων σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα, όπως οι βιομεμβράνες και οι λιποπρωτεΐνες.

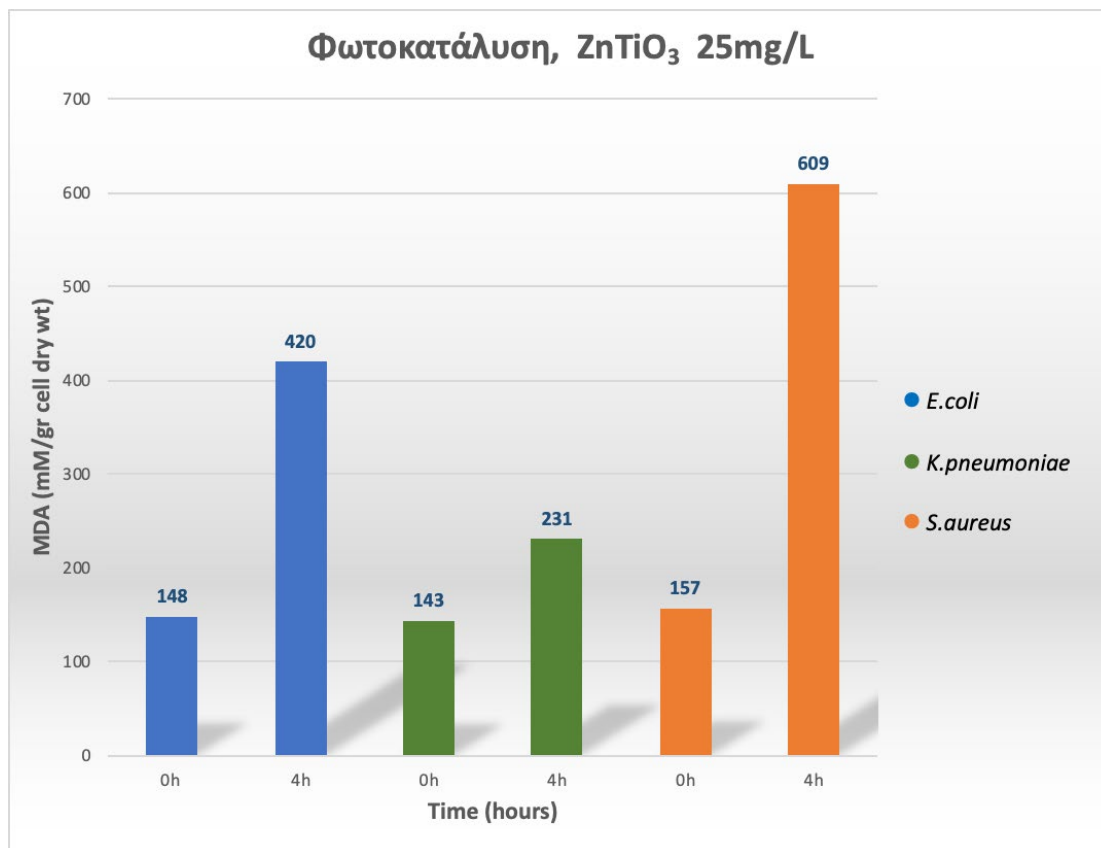
5.7.1 Πρότυπη Καμπύλη



Εικόνα 26: Πρότυπη καμπύλη για την εύρεση mM που προκύπτουν από την αντιστοιχία πειραματική απορρόφηση και απορρόφηση στην πρότυπη καμπύλη

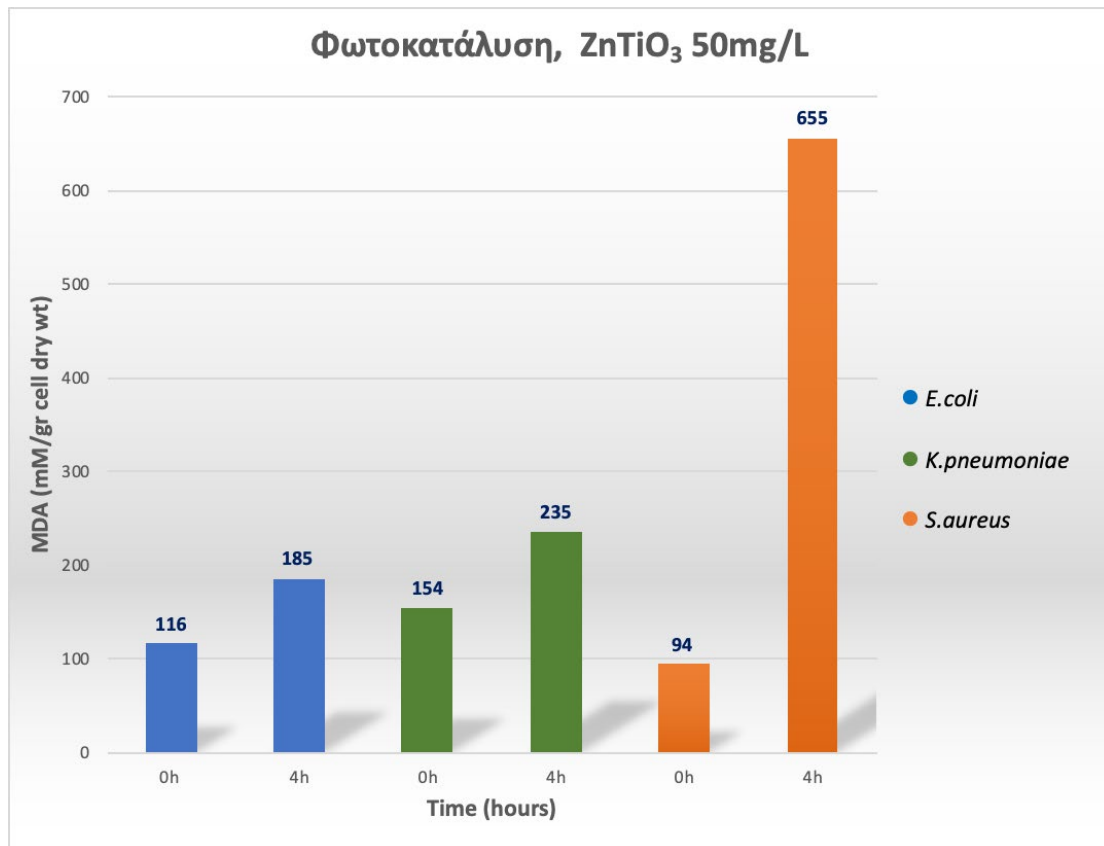
Για να υπολογιστεί η ποσότητα του MDA ανά γραμμάριο ξηρού βάρους που αντιστοιχεί στην απορρόφηση που βρήκαμε κατά τη διαδικασία της υπεροξειδωσής των λιπιδίων, πρέπει να φτιαχτεί η πρότυπη καμπύλη. Έχοντας υπολογίσει την πειραματική απορρόφηση, την αντιστοιχούμε με την απορρόφηση στην πρότυπη καμπύλη και βρίσκουμε τα mM της MDA που έχουν παραχθεί και διαιρώντας τα με τα gr ξηρού βάρους που αντιστοιχούν σε 1mL δείγματος, βρίσκουμε την ποσότητα της MDA ανά γραμμάριο ξηρού βάρους ανά κύτταρο βακτηρίου.

5.7.2 Φωτοκατάλυση με ZnTiO_3



Εικόνα 27: Αποτελέσματα υπεροξειδωσης λιπιδίων βακτηριακών Στελεχών *E.coli*, *K.pneumoniae* και *S.aureus* με φωτοκατάλυση με ZnTiO_3 25mg/L

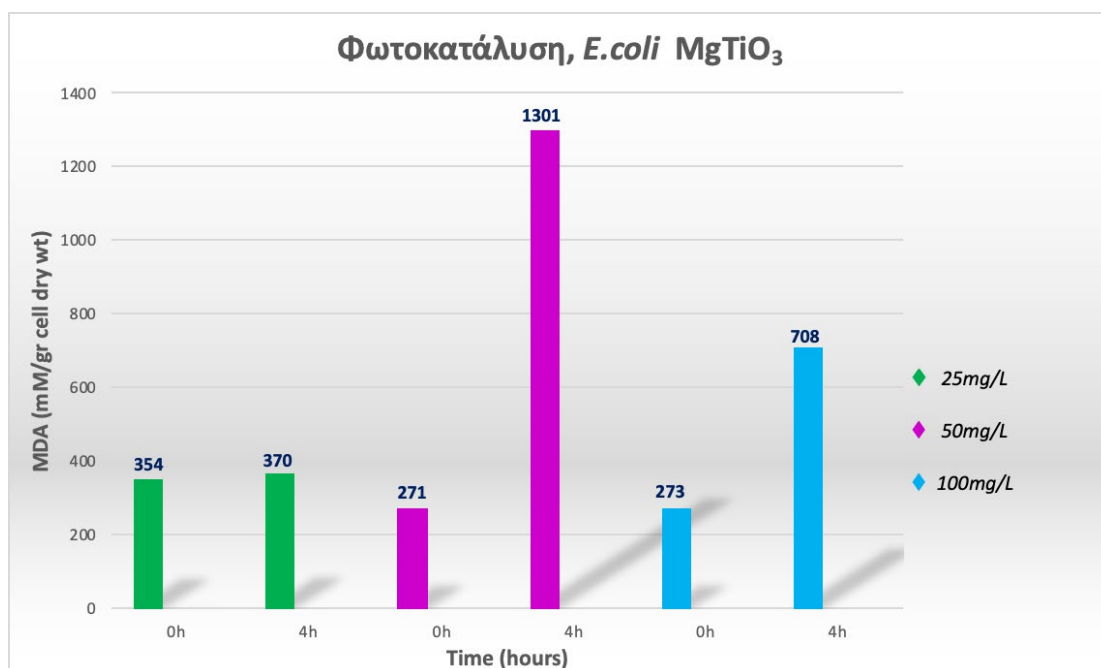
Στο συγκεκριμένο γράφημα, παρατηρούμε την ποσότητα σε mM της MDA που παράχθηκε ανά γραμμάριο ξηρού βάρους ανά κύτταρο βακτηρίου με τη μέθοδο της φωτοκατάλυσης με ZnTiO_3 25mg/L. Όπως φαίνεται και στο γράφημα, οι ποσότητες MDA μετρήθηκαν στους χρόνους 0 και 4 h. Η μέθοδος αυτή, στη συγκεκριμένη συγκέντρωση καταλύτη, όπως φαίνεται, είναι πιο αποτελεσματική για το βακτήριο *S.aureus*, έπειτα για το βακτήριο *E.coli* και τέλος για το βακτήριο *K.pneumoniae*.



Εικόνα 28: Αποτελέσματα υπεροξειδωσης λιπιδίων βακτηριακών Στελεχών *E.coli*, *K.pneumoniae* και *S.aureus* με φωτοκατάλυση με ZnTiO₃ 50mg/L

Στο συγκεκριμένο γράφημα, παρατηρούμε την ποσότητα σε mM της MDA που παράχθηκε ανά γραμμάριο ξηρού βάρους ανά κύτταρο βακτηρίου με τη μέθοδο της φωτοκατάλυσης με ZnTiO₃ 50mg/L. Όπως φαίνεται και στο γράφημα, οι ποσότητες MDA μετρήθηκαν στους χρόνους 0 και 4 h. Η μέθοδος αυτή, όπως και στην προηγούμενη συγκέντρωση καταλύτη, είναι πιο αποτελεσματική για το βακτήριο *S.aureus*. Με πολύ μικρή διαφορά η μέθοδος είναι πιο αποτελεσματική για την *K.pneumoniae* σε σχέση με το βακτήριο *E.coli*.

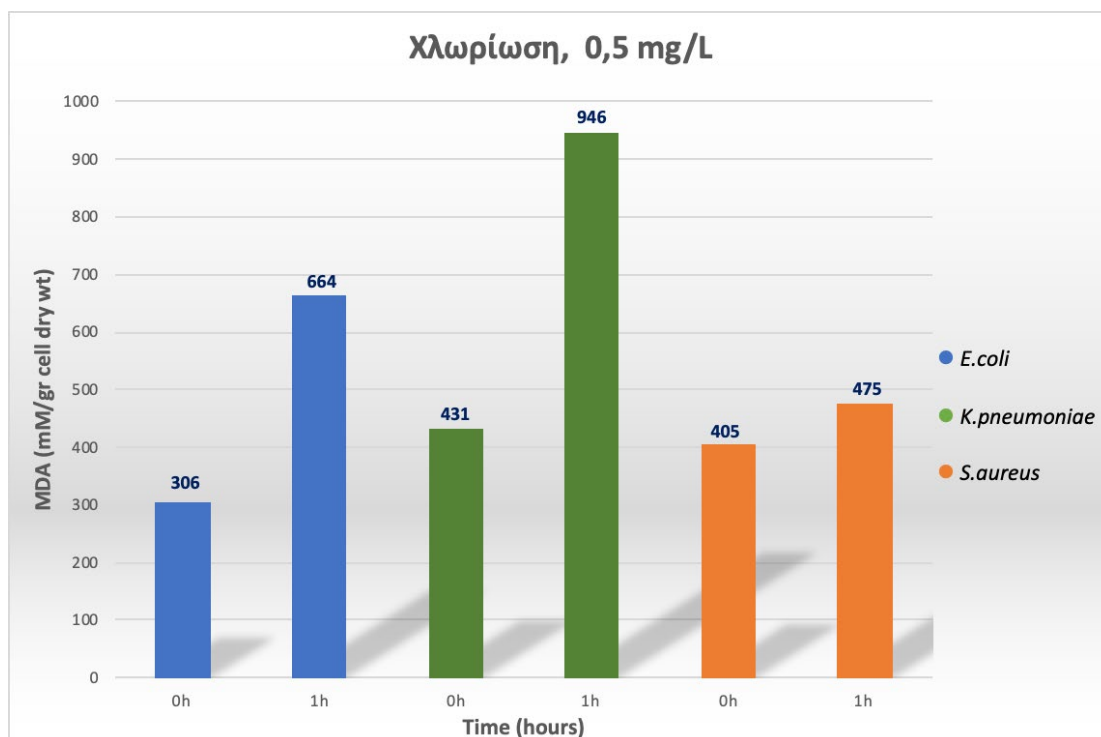
5.7.3 Φωτοκατάλυση με MgTiO_3



Εικόνα 29: Αποτελέσματα υπεροξειδωσης λιπιδίων βακτηριακών Στελεχών *E.coli* με φωτοκατάλυση με MgTiO_3 25,50 και 100mg/L

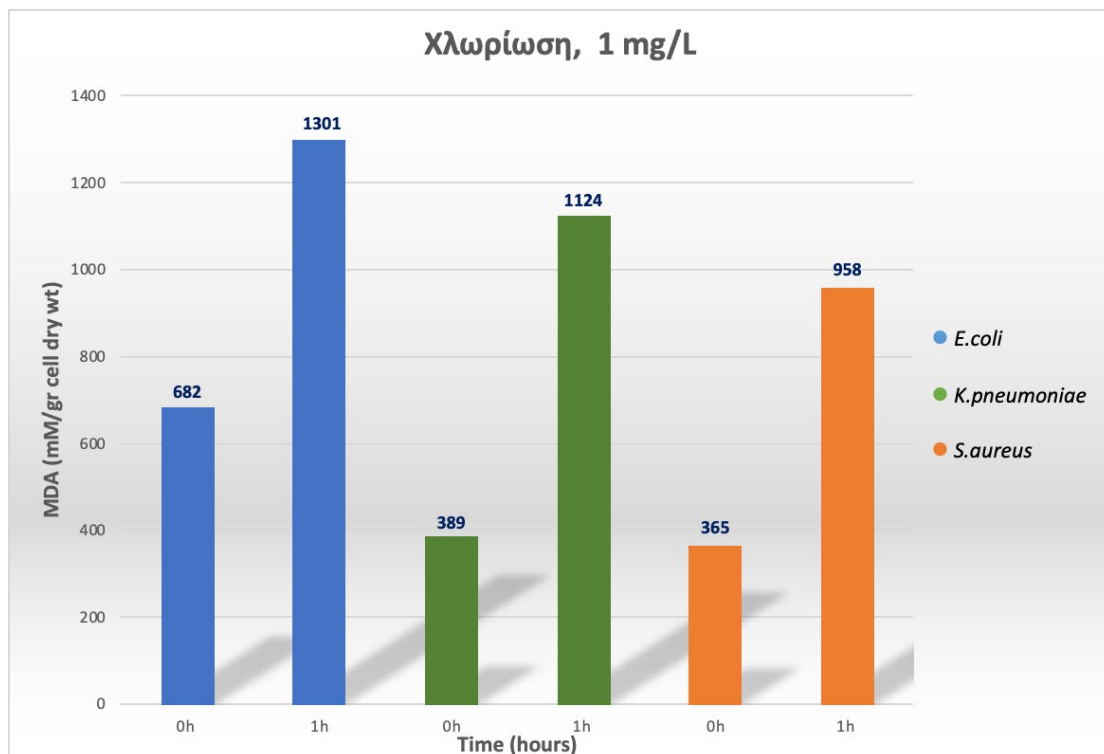
Στο συγκεκριμένο γράφημα, παρατηρούμε την ποσότητα σε mM της MDA που παράχθηκε ανά γραμμάριο ξηρού βάρους ανά κύτταρο βακτηρίου με τη μέθοδο της φωτοκατάλυσης με MgTiO_3 25,50,100mg/L. Όπως φαίνεται και στο γράφημα, οι ποσότητες MDA μετρήθηκαν στους χρόνους 0 και 4 h. Ο καταλύτης αυτός χρησιμοποιήθηκε μόνο για το βακτήριο *E.coli* για τις τρεις συγκεντρώσεις που αναφέρθηκαν παραπάνω. Τα καλύτερα αποτελέσματα είχε η συγκέντρωση 50mg/L αφού η ποσότητα της MDA που παράχθηκε είναι αρκετά μεγάλη, ακολουθεί η συγκέντρωση 100mg/L, ενώ τα 25mg/L δεν ήταν αρκετά αποτελεσματικά για το συγκεκριμένο βακτήριο, αφού η διαφορά της παραγόμενης MDA από το χρόνο 0h είναι ελάχιστη.

5.7.4 Χλωρίωση



Εικόνα 30: Αποτελέσματα υπεροξειδωσης λιπιδίων βακτηριακών Στελεχών *E.coli*, *K.pneumoniae* και *S.aureus* με χλωρίωση 0,5mg/L

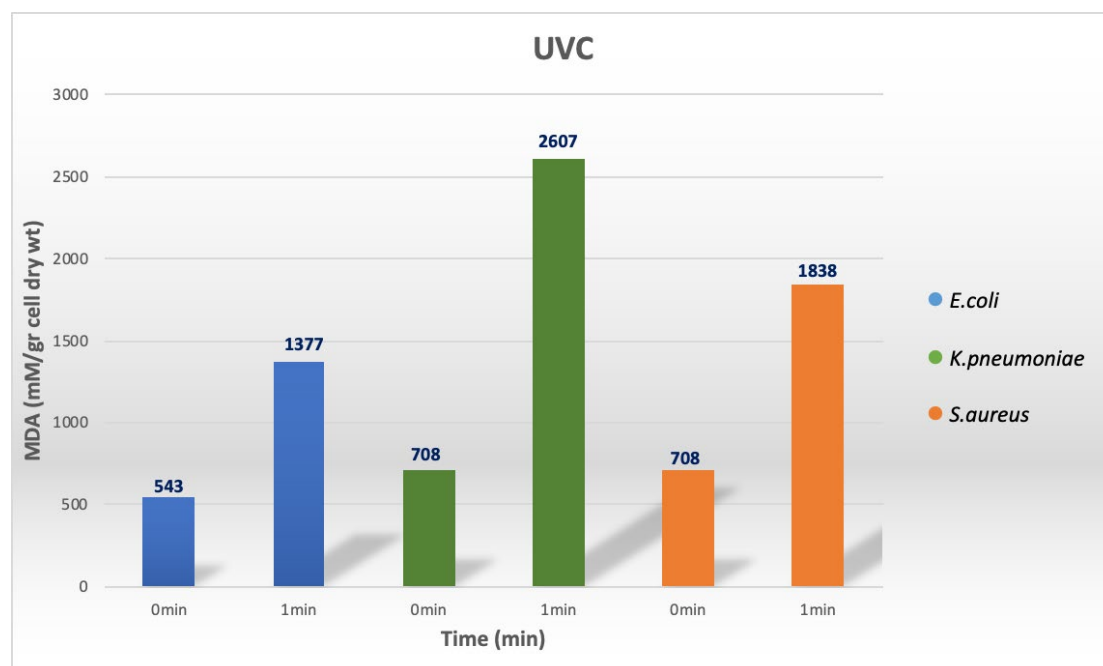
Στο συγκεκριμένο γράφημα, παρατηρούμε την ποσότητα σε mM της MDA που παράχθηκε ανά γραμμάριο ξηρού βάρους ανά κύτταρο βακτηρίου με τη μέθοδο της χλωρίωσης με Cl_2 0,5mg/L. Όπως φαίνεται και στο γράφημα, οι ποσότητες MDA μετρήθηκαν στους χρόνους 0 και 1 h. Η μέθοδος αυτή, είναι πιο αποτελεσματική για το βακτήριο *K.pneumoniae*. Ακολουθεί το βακτήριο *E.coli*, ενώ λιγότερο αποτελεσματική ήταν η μέθοδος για το βακτήριο *S.aureus*.



Εικόνα 31: Αποτελέσματα υπεροξειδωσης λιπιδίων βακτηριακών Στελεχών *E.coli*, *K.pneumoniae* και *S.aureus* με χλωρίωση 1mg/L

Στο συγκεκριμένο γράφημα, παρατηρούμε την ποσότητα σε mM της MDA που παράχθηκε ανά γραμμάριο ξηρού βάρους ανά κύτταρο βακτηρίου με τη μέθοδο της χλωρίωσης με Cl_2 1mg/L. Όπως φαίνεται και στο γράφημα, οι ποσότητες MDA μετρήθηκαν στους χρόνους 0 και 1 h. Η συγκέντρωση αυτή είναι πιο αποτελεσματική από την προηγούμενη αφού η ποσότητα της MDA είναι περισσότερη και στα τρία βακτήρια. Συγκρίνοντας τα βακτήρια μεταξύ τους, η συγκέντρωση αυτή είναι καλύτερη για το βακτήριο *E.coli*, έπειτα για το βακτήριο *K.pneumoniae* και τέλος για *S.aureus*.

5.7.5 UVC



Εικόνα 32: Αποτελέσματα υπεροξειδωσης λιπιδίων βακτηριακών Στελεχών *E.coli*, *K.pneumoniae* και *S.aureus* με ακτινοβολία UVC

Στο συγκεκριμένο γράφημα, παρατηρούμε την ποσότητα σε mM της MDA που παράχθηκε ανά γραμμάριο ξηρού βάρους ανά κύτταρο βακτηρίου με τη μέθοδο της ακτινοβολίας UVC. Όπως φαίνεται και στο γράφημα, οι ποσότητες MDA μετρήθηκαν στους χρόνους 0 και 1 min. Η μέθοδος αυτή, είναι πιο αποτελεσματική από όλες τις προηγούμενες και ως προς την ποσότητα της MDA που παράχθηκε αλλά και ως προς το χρόνο που χρειάστηκε για να ολοκληρωθεί η μέθοδος απολύμανσης. Όσον αφορά τα βακτήρια ξεχωριστά, η ακτινοβολία UVC είναι πιο αποτελεσματική για το βακτήριο *K.pneumoniae*, έπειτα για το βακτήριο *S.aureus* και τέλος για την *E.coli*.

5.8 Αποτελέσματα με χρήση λογισμικού MATLAB

Οι καμπύλες που παρουσιάζονται παρακάτω αποτελούν καμπύλες απολύμανσης για το βακτήριο *E.coli* για κάθε μέθοδο απολύμανσης. Τα υπόλοιπα βακτήρια φέρουν τα παρόμοια αποτελέσματα, και για αυτό το λόγο δεν παρουσιάζονται οι καμπύλες τους εδώ. Ο άξονας x αφορά το χρόνο t σε min, ενώ ο άξονας y αφορά τη συγκέντρωση του βακτηρίου, η οποία όπως φαίνεται μειώνεται σημαντικά με την πάροδο του χρόνου.

Παρατηρούμε, πως σε κάθε μέθοδο η συνάρτηση που ταιριάζει καλύτερα με τα πειραματικά μας σημεία, είναι η εκθετική.

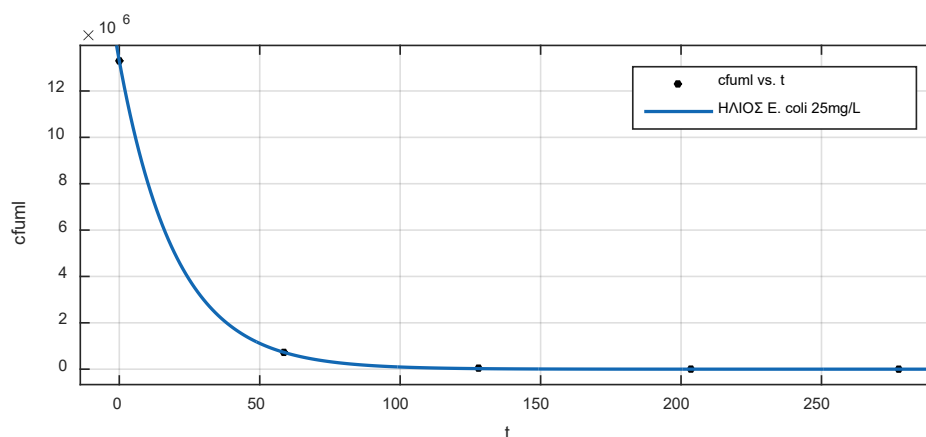
R^2 : Ο συντελεστής R^2 εκφράζει το ποσοστό της συνολικής διασποράς (των τιμών της εξαρτημένης μεταβλητής Y) η οποία εξηγείται από την ανεξάρτητη μεταβλητή X και παίρνει τιμές στο κλειστό διάστημα [0, 1].

SSE: Δείκτης καλής προσαρμογής→ Η ποσότητα αυτή λέγεται άθροισμα τετραγώνων των εκτιμημένων σφαλμάτων (Sum of Squares of Errors ή Error Sum of Squares)

$$\text{RMSE: } \sqrt{\frac{\text{SSE}}{n}}$$

5.8.1 Φωτοκατάλυση με ηλιακή ακτινοβολία

5.8.1.1 Εκθετική συνάρτηση



Εικόνα 33: Καμπύλη απολύμανσης για *E.coli* με χρήση ηλιακής ακτινοβολίας σε εκθετική συνάρτηση

General model Exp1:

$$f(x) = a \cdot \exp(b \cdot x)$$

Coefficients (with 95% confidence bounds):

$$a = 1.33e+07 \quad (1.326e+07, 1.334e+07)$$

$$b = -0.04961 \quad (-0.05055, -0.04867)$$

Goodness of fit:

SSE: 4.776e+08

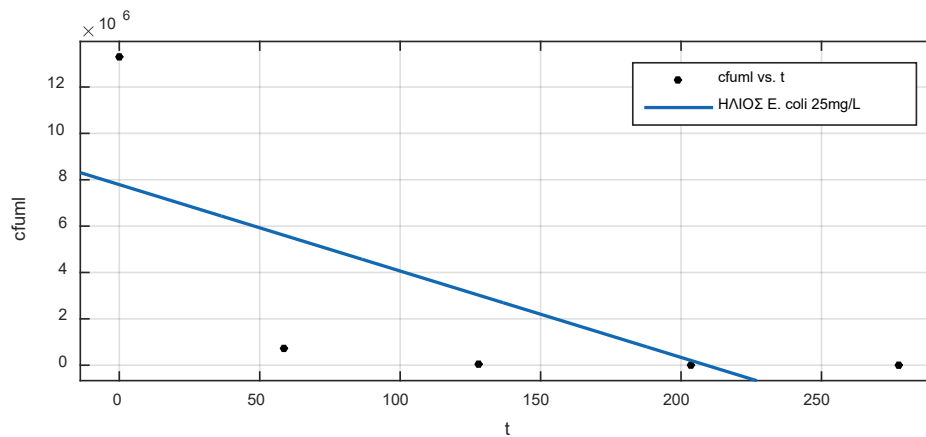
R-square: 1

Adjusted R-square: 1

RMSE: 1.262e+04

Στο συγκεκριμένο διάγραμμα παρατηρούμε πως η καμπύλη απολύμανσης για το βακτήριο *E.coli* με χρήση ηλιακής ακτινοβολίας ταυτίζεται με τα σημεία που σχηματίστηκαν από τα πειραματικά δεδομένα, γεγονός που επιβεβαιώνεται από το $R^2 = 1$ αλλά και από το δείκτη καλής προσαρμογής SSE που δεν είναι αρκετά υψηλός. Συνεπώς, το εκθετικό μοντέλο ταυτίζεται πλήρως με το γράφημα.

5.8.1.2 Πολυωνυμική συνάρτηση



Εικόνα 34: Καμπύλη απολύμανσης για *E.coli* με χρήση ηλιακής ακτινοβολίας σε πολυωνυμική συνάρτηση

Linear model Poly1:

$$f(x) = p1 * x + p2$$

Coefficients (with 95% confidence bounds):

$$p1 = -3.727e+04 \quad (-1.065e+05, 3.191e+04)$$

$$p2 = 7.79e+06 \quad (-3.712e+06, 1.929e+07)$$

Goodness of fit:

SSE: 6.961e+13

R-square: 0.4949

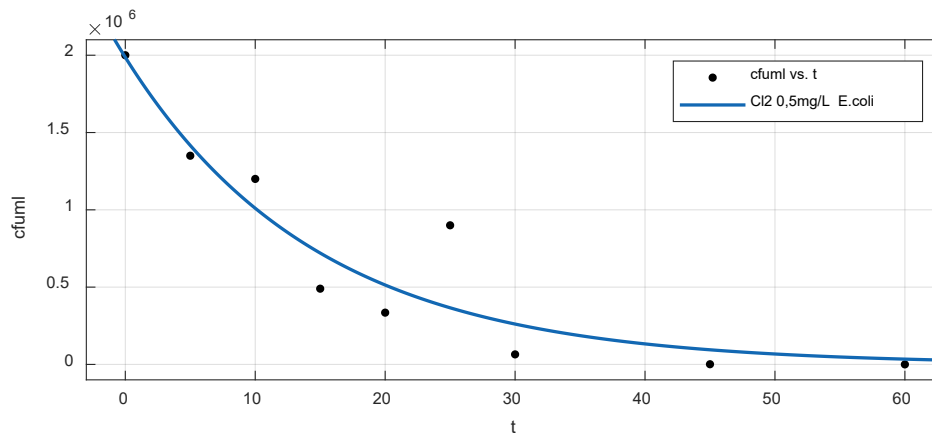
Adjusted R-square: 0.3265

RMSE: 4.817e+06

Στο συγκεκριμένο διάγραμμα, παρατηρούμε μία ακόμα καμπύλη απολύμανσης με τη χρήση της πολυωνυμικής συνάρτησης. Η καμπύλη αυτή αφορά πάλι το βακτήριο *E.coli* και χρησιμοποιείται ως μέθοδος απολύμανσης η ηλιακή ακτινοβολία. Σε σύγκριση με την προηγούμενη καμπύλη παρατηρούμε πως το πολυωνυμικό μοντέλο δεν συμπίπτει με τα πειραματικά αποτελέσματα αφού ο δείκτης $R^2 = 0,49$ ενώ ο δείκτης SSE είναι αρκετά υψηλότερος από αυτόν του εκθετικού μοντέλου. Όλα αυτά παρατηρούνται και οπτικά αφού η καμπύλη απολύμανσης αποτελεί μία ευθεία γραμμή που δεν πλησιάζει καθόλου τα πειραματικά σημεία.

5.8.2 Απολύμανση με χλώριο

5.8.2.1 Εκθετική συνάρτηση



Εικόνα 35: Καμπύλη απολύμανσης για *E.coli* με χρήση χλωρίου σε εκθετική συνάρτηση

General model Exp1:

$$f(x) = a \cdot \exp(b \cdot x)$$

Coefficients (with 95% confidence bounds):

$$a = 1.987e+06 \quad (1.456e+06, 2.517e+06)$$

$$b = -0.06763 \quad (-0.1, -0.03525)$$

Goodness of fit:

SSE: 4.589e+11

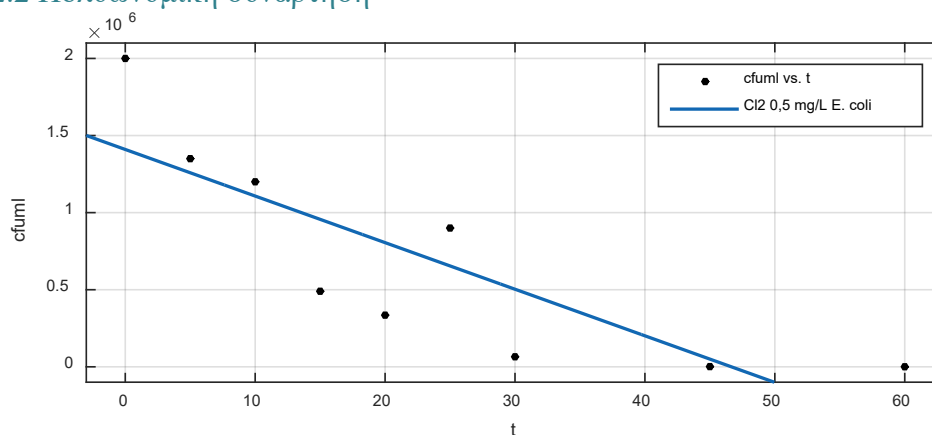
R-square: 0.8841

Adjusted R-square: 0.8676

RMSE: 2.56e+05

Στο συγκεκριμένο διάγραμμα παρατηρούμε πως η καμπύλη απολύμανσης για το βακτήριο *E.coli* με μέθοδο απολύμανσης τη χλωρίωση δεν ταυτίζεται πλήρως με τα σημεία που σχηματίστηκαν από τα πειραματικά δεδομένα, αλλά έχει μία απόκλιση γεγονός που επιβεβαιώνεται από το $R^2 = 0,88$ αλλά και από το δείκτη καλής προσαρμογής SSE που είναι αρκετά υψηλός. Παρατηρείται επίσης, και ένα σημείο για $t=25\text{min}$, το οποίο έχει μεγάλη απόκλιση από την καμπύλη απολύμανσης το οποίο δεν είναι αξιόπιστο και μπορεί να οφείλεται σε πειραματικό σφάλμα.

5.8.2.2 Πολυωνυμική συνάρτηση



Εικόνα 36: Καμπύλη απολύμανσης για *E.coli* με χρήση χλωρίου σε πολυωνυμική συνάρτηση

Linear model Poly1:

$$\hat{f}(x) = p1 \cdot x + p2$$

Coefficients (with 95% confidence bounds):

$$p1 = -3.022e+04 \quad (-4.825e+04, -1.218e+04)$$

$$p2 = 1.41e+06 \quad (8.753e+05, 1.944e+06)$$

Goodness of fit:

SSE: 1.222e+12

R-square: 0.6915

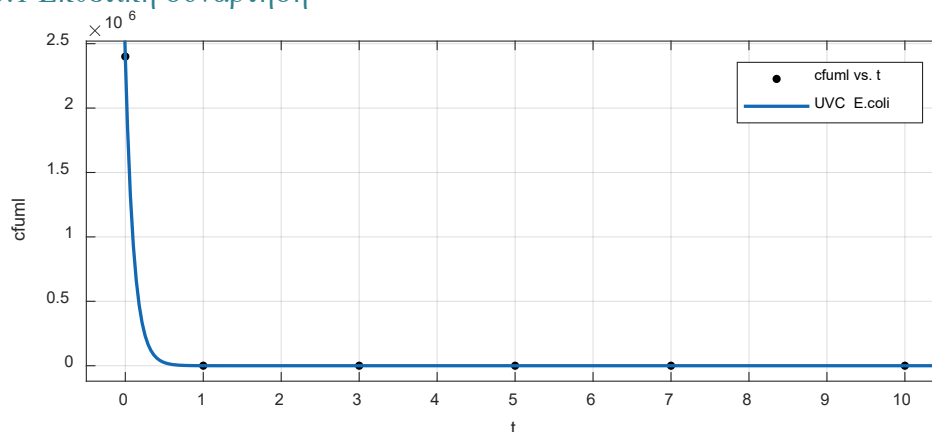
Adjusted R-square: 0.6474

RMSE: 4.178e+05

Παρατηρείται πως και σε αυτό το γράφημα, η πολυωνυμική συνάρτηση έχει μεγαλύτερη απόκλιση σε σχέση με την αντίστοιχη εκθετική από τα πειραματικά σημεία αφού το R^2 είναι κατά 27% μικρότερο και ο δείκτης SSE έχει αυξηθεί. Και σε αυτό το γράφημα υπάρχει το σημείο, για $t=25\text{min}$, το οποίο οφείλεται σε πειραματικό σφάλμα και φέρει σημαντικές ευθύνες για τον υψηλό δείκτη SSE. Συνεπώς αν αφαιρούσαμε το συγκεκριμένο σημείο από το γράφημα μας, οι δείκτες θα ήταν πολύ καλύτεροι, δηλαδή το R^2 αρκετά πιο κοντά στο 1 και το SSE πιο μικρό.

5.8.3 Απολύμανση με ακτινοβολία UVC

5.8.3.1 Εκθετική συνάρτηση



Εικόνα 37: Καμπύλη απολύμανσης για *E.coli* με χρήση ακτινοβολίας UVC σε εκθετική συνάρτηση

General model Exp1:

$$\hat{f}(x) = a \cdot \exp(b \cdot x)$$

Coefficients (with 95% confidence bounds):

$$a = 2.4e+06 \quad (2.4e+06, 2.4e+06)$$

$$b = -9.17 \quad (-9.181, -9.158)$$

Goodness of fit:

SSE: 4

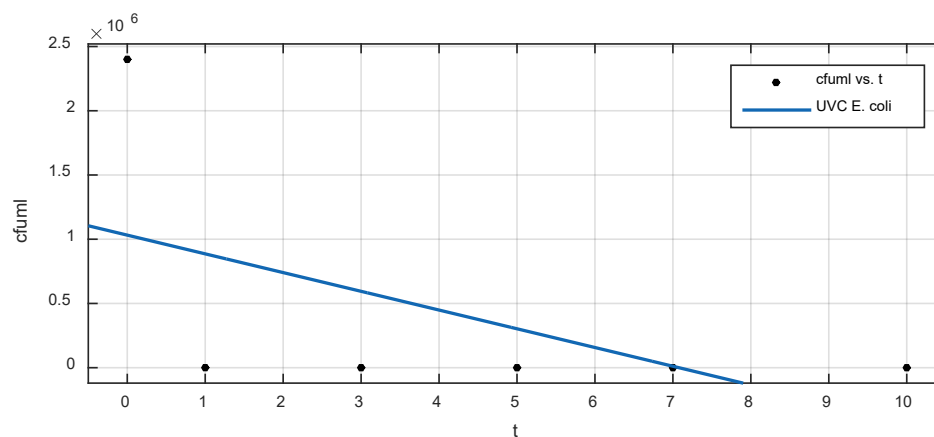
R-square: 1

Adjusted R-square: 1

RMSE: 1

Στο συγκεκριμένο διάγραμμα παρατηρούμε πως η καμπύλη απολύμανσης για το βακτήριο *E.coli* με χρήση ακτινοβολίας UVC ταυτίζεται απόλυτα με τα σημεία που σχηματίστηκαν από τα πειραματικά δεδομένα, γεγονός που επιβεβαιώνεται από το $R^2 = 1$ αλλά και από το δείκτη καλής προσαρμογής $SSE=4$. Συνεπώς, το εκθετικό μοντέλο ταυτίζεται πλήρως με το γράφημα απολύμανσης και σχηματίζεται μία τέλεια καμπύλη.

5.8.3.2 Πολυωνυμική συνάρτηση



Εικόνα 38: Καμπύλη απολύμανσης για *E.coli* με χρήση ακτινοβολίας UVC σε πολυωνυμική συνάρτηση

Linear model Poly1:

$$\hat{f}(x) = p1 * x + p2$$

Coefficients (with 95% confidence bounds):

$$p1 = -1.458e+05 \quad (-4.436e+05, 1.52e+05)$$

$$p2 = 1.032e+06 \quad (-6.174e+05, 2.681e+06)$$

Goodness of fit:

SSE: 3.283e+12

R-square: 0.316

Adjusted R-square: 0.1449

RMSE: 9.06e+05

Παρατηρείται πως και σε αυτό το γράφημα, η καμπύλη με χρήση πολυωνυμικής συνάρτησης δεν έχει καμία σχέση με τα πειραματικά σημεία αφού το R^2 είναι πάρα πολύ μικρό και ο δείκτης SSE πολύ μεγάλος. Οπτικά, βλέπουμε πως η καμπύλη ουσιαστικά αποτελεί μία ευθεία γραμμή η οποία δε συμπίπτει σχεδόν με κανένα σημείο. Ο δείκτης R^2 έχει διαφορά με τον αντίστοιχο δείκτη της εκθετικής συνάρτησης κατά 86%.

6 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η παρούσα εργασία επιχείρησε να ελέγξει την αδρανοποίηση τριών βακτηρίων, *E.coli*, *K. Pneumoniae* και *S.aureus* τα οποία χαρακτηρίζονται ως ευκαιριακά παθογόνα με σημαντική ανθεκτικότητα σε διάφορους βακτηριοκτόνους παράγοντες. Χρησιμοποιήθηκαν τρεις μέθοδοι απολύμανσης, ηλιακή ακτινοβολία με χρήση καταλυτών, χλωρίωση και ακτινοβολία UVC. Τέλος, πραγματοποιήθηκε έλεγχος αποδοτικότητας αυτών των απολυμαντικών μεθόδων με λιπιδική υπεροξειδωση, με χρήση της δοκιμασίας του θειοβαρβιτουρικού οξέος. Ακολουθούν τα κυρία συμπεράσματα που συνήχθησαν από την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων των πειραμάτων που έλαβαν χώρα:

➤ Όλοι οι χρησιμοποιούμενοι καταλύτες ($MgTiO_3, ZnTiO_3$) υπό ηλιακή ακτινοβολία αδρανοποιούσαν με ικανοποιητικό ρυθμό τα βακτήρια που εξετάστηκαν. Πιο συγκεκριμένα, το βακτήριο *E.coli* αδρανοποιήθηκε πιο αποτελεσματικά με τον καταλύτη $MgTiO_3$, ενώ για τα άλλα δύο βακτήρια, τα οποία εξετάστηκαν μόνο με τον καταλύτη $ZnTiO_3$, βρέθηκε πως η πιο αποτελεσματική συγκέντρωση για την αδρανοποίησή τους είναι τα 50mg/L.

➤ Η αδρανοποίηση των βακτηρίων με τη μέθοδο της χλωρίωσης είναι αρκετά αποτελεσματική και για τις δύο συγκεντρώσεις που εξετάστηκαν (0,5 και 1 mg/L) και φέρουν παρόμοια αποτελέσματα για τα τρία βακτήρια. Η συγκέντρωση των βακτηρίων μειώθηκε σημαντικά αλλά δεν μηδενίστηκε. Παρατηρώντας τα διαγράμματα των αποτελεσμάτων, η αδρανοποίηση των βακτηρίων, για τη συγκέντρωση 1mg/L, ολοκληρώνεται στα πρώτα λεπτά του πειράματος, ενώ στα 0,5mg/L η ολοκλήρωση της αδρανοποίησης καθυστερεί αρκετά. Συνεπώς, για το λόγο αυτό, η συγκέντρωση 1mg/L έχει σημαντικότερη αλλά και ταχύτερη απολυμαντική δράση.

➤ Η απολύμανση με ακτινοβολία UVC πραγματοποιήθηκε και για τα τρία βακτήρια, τα οποία είχαν ακριβώς τα ίδια αποτελέσματα αφού η συγκέντρωσή τους μηδενίστηκε από το τρίτο κίονας λεπτό του πειράματος. Συνεπώς, η συγκεκριμένη μέθοδος απολύμανσης θεωρείται εξαιρετικά αποτελεσματική.

➤ Για να ελέγξουμε την αποδοτικότητα των παραπάνω μεθόδων πραγματοποιήθηκε το πείραμα της υπεροξειδωσης των λιπιδίων. Παρατηρώντας τα αποτελέσματα, η πιο αποδοτική μέθοδος απολύμανσης είναι η ακτινοβολία UVC αφού η συγκέντρωση των βακτηρίων μηδενίζεται εντελώς και από τα πρώτα λεπτά του πειράματος, γεγονός που αποδεικνύεται από την ποσότητα MDA που παράγεται κατά την ολοκλήρωση του πειράματος. Στη συνέχεια πιο αποτελεσματική είναι η χλωρίωση με συγκέντρωση χλωρίου, 1mg/L. Τέλος, η φωτοκατάλυση έρχεται τρίτη στη σειρά όσον αφορά την αποδοτικότητα της, δηλαδή την ποσότητα της MDA που παράχθηκε, και πιο

συγκεκριμένα για τα βακτήρια *K.pneumoniae* και *S.aureus* η πιο αποτελεσματική απολυμαντική μέθοδος είναι η φωτοκατάλυση με χρήση καταλύτη $ZnTiO_3$ και συγκέντρωση 50mg/L, ενώ για το βακτήριο *E.coli* η φωτοκατάλυση με χρήση καταλύτη $MgTiO_3$ και συγκέντρωση 50mg/L.

7 ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΕΣ ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ

- Επανάληψη πειραμάτων με δοκιμή και άλλων συγκεντρώσεων.
- Η αξιολόγηση των φωτοκαταλυτών ως προς την ικανότητά τους να αδρανοποιούν άλλα βακτήρια και άλλα ανθεκτικά είδη όπως είναι οι ιοί και οι κύστες πρωτόζωων.
- Αδρανοποίηση των ανθεκτικών βακτηρίων με άλλες μεθόδους απολύμανσης (π.χ. οζόνωση)
- Έλεγχος αποδοτικότητας απολυμαντικών μεθόδων με διαφορετικούς τρόπους όπως είναι η υπεροξειδωση πρωτεϊνών.

8 ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

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

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

Δρούμπαλη, Α., 2010. Έλεγχος απολύμανσης νερού και υγρών αποβλήτων με χρήση UV-A και UV-C ακτινοβολίας, Διπλωματική εργασία, Πολυτεχνείο Κρήτης, Χανιά.

Ευγενίδου Ε., (2005) Μελέτη της φωτοκαταλυτικής αποικοδόμησης επιλεγμένων οργανοσφωφορικών παρασιτοκτόνων σε υδατικά διαλύματα. Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Τμήμα Χημείας

Ζουμπούλης Α, Πελέκα Ε, Τριανταφυλλίδης Κ (2015) Κεφάλαιο 7 - Η Κατάλυση ως βασική «Αρχή» της Πράσινης Χημείας. In: Πράσινη χημεία και τεχνολογία στη βιώσιμη ανάπτυξη. Εκδόσεις Κάλλιπος, pp 222–239

Μάρακας Χαρίδημος (2006), Απολύμανση Επεξεργασμένων Αστικών Λυμάτων με Χρήση Εξελιγμένων Διεργασιών Οξειδωσης και Χλωρίωσης με Συνδυασμό και Σύγκριση των Μεθόδων, Μεταπτυχιακή Διατριβή, Πολυτεχνείο Κρήτης

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

Στεφανίδης Χ., (2017), Μελέτη πάνω στην ετερογενή φωτοκαταλυτική απολύμανση, Μεταπτυχιακή διατριβή, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη

Τσώνης Σ., (2004), "Επεξεργασία Λυμάτων", Εκδ. Παπασωτηρίου, Αθήνα, ISBN: 960-7530-51-9

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

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

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

ΔΙΕΘΝΗΣ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Aguilera-Ruiz E, García-Pérez UM, De La Garza-Galván M, et al (2015) Efficiency of Cu₂O/BiVO₄ particles prepared with a new soft procedure on the degradation of dyes under visible-light irradiation. Appl Surf Sci 328:361–367. doi: 10.1016/j.apsusc.2014.12.059

Agulló-Barceló M, Polo-López MI, Lucena F, et al (2013) Solar Advanced Oxidation Processes as disinfection tertiary treatments for real wastewater: Implications for water reclamation. Appl Catal B Environ 136–137:341–350. doi: 10.1016/j.apcatb.2013.01.069

Akasaka S., and Yamamoto K., 1994. Mutagenesis resulting from DNA damage by lipid peroxidation in the supF gene of Escherichia Coli. Mutat. Res. 315:105-112

Alammar T, Hamm I, Wark M, Mudring AV (2015) Low-temperature route to metal titanate perovskite nanoparticles for photocatalytic applications. Appl Catal B-Environ 178:20–28. doi:10.1016/j.apcatb.2014.11.010

Andreozzi R., Caprio V., Insola A., Marotta R., (1999), Advanced oxidation processes (AOP) for water purification and recovery, Elsevier: Catalysis Today, 53, 51-59.

Bahnmann, D., 2004. Photocatalytic water treatment: solar energy applications. Solar Energy, 77: 445-459.

Benabbou AK, Derriche Z, Felix C, et al (2007b) Photocatalytic inactivation of Escherichia coli. Appl Catal B Environ 76:257–263. doi: 10.1016/j.apcatb.2007.05.0263

Bichai F, Polo-López MI, Fernández Ibañez P (2012) Solar disinfection of wastewater to reduce contamination of lettuce crops by Escherichia coli in reclaimed water irrigation. Water Res 46:6040–6050. doi: 10.1016/j.watres.2012.08.024

Brown, C., Seider, R.J. , 1973. Potential pathogens in the environment: *Klebsiella pneumoniae*, a taxonomic and ecological enigma. Applied Microbiology, 25(6):900-904.

Davis L Jr, Rubin LG (1953) Some dielectric properties of barium- strontium titanate ceramics at 3000 megacycles. J Appl Phys 24: 1194–1197. doi:10.1063/1.1721469

D.Venieri and D. Mantzavinos, 2017. Disinfection of Waters/Wastewaters by Solar Photocatalysis (chapter 8). Advances in Photocatalytic Disinfection, edited by Taicheng An, Huijun Zhao and Po Keung Wong. DOI 10.1007/978-3-662-53496-0 © Springer-Verlag GmbH Germany 2017.

- Draper H., Hadley M., 1990. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods Enzymol.* 186B:421-431
- E. G. Bellinger, D. C. Sigee (2010). *Freshwater Algae: Identification and Use as Bioindicators*
- Esterbauer H., Cheeseman K., 1990. Determination of Aldehydic Lipid Peroxidation Products: Malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. 1990;186:407-21. doi:10.1016/0076-6879(90)86134-h.
- Ferrari-Lima A.M., Ueda A.C., Bergamo E.A., Marques R.G., Ferri E.A.V., Pinto C.S., Pereira C.A.A., Yassue-Cordeiro P.H., Souza R.P., 2016. Perovskite-type titanate zirconate as photocatalyst for textile wastewater treatment. DOI 10.1007/s11356-016-7590-4 © Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2016.
- Fisher JG, Lee DG, JH O, Kim HN, Nguyen D, Kim JH, Lee JS, Lee HY (2013) Low-temperature sintering of barium calcium zirconium titanate lead-free piezoelectric ceramics. *Journal of the Korean Ceramic Society* 50:157–162. doi:10.4191/kcers.2013.50.2.157
- Fukuzaki, S., 2006. Mechanisms of actions of sodium hydrochlorite in cleaning and disinfection processes. *Biocontrol Science and Technology*, 11:147–157.
- Goslan EH, Gurses F, Banks J, Parsons SA (2006) An investigation into reservoir NOM reduction by UV photolysis and advanced oxidation processes. *Chemosphere* 65:1113–1119. doi: 10.1016/j.chemosphere.2006.04.041
- Grabowska E (2016) Selected perovskite oxides: characterization, preparation and photocatalytic properties—a review. *Appl Catal B- Environ* 186:97–126. doi:10.1016/j.apcatb.2015.12.035
- Haas C.N. and Karra S.A.B., 1984. Kinetics of Microbial Inactivation By Chlorine – I, Review of Results in Demand Free Systems, *Water research*, Vol. 18, No. 11, p.p. 1443-1449.
- Hammouda S.B., Zhao F., Safaei Z., Babu I., Ramasamy D.L., Sillanpää M., 2017. Reactivity of novel Ceria-Perovskite composites CeO_2 - LaMO_3 (MCu, Fe) in the catalytic wet peroxidative oxidation of the new emergent pollutant ‘Bisphenol F’: Characterization, kinetic and mechanism studies. 0926-3373/© 2017 Elsevier B.V.
- Hao J, Bai W, Li W, Zhai J (2012) Correlation between the microstructure and electrical properties in high-performance $(\text{Ba}_{0.85}\text{Ca}_{0.15})(\text{Ti}_{0.9}\text{Zr}_{0.1})\text{O}_3$ lead-free piezoelectric ceramics. *J Am Ceram Soc* 95:1998–2006. doi:10.1111/j.1551-2916.2012.05146.x
- Hardiman B, Kiehl KV, Reeves CP, Zeyfang RR (1978) Lead titanate zirconate-based pyroelectric ceramics. *Ceramurg Int* 4:108–112. doi:10.1016/0390-5519(78)90094-7
- Hippel AV, Breckenridge RG, Chesley FG, Tisza L (1946) High dielectric constant ceramics. *Ind Eng Chem* 38:1097–1109. doi:10.1021 /ie50443a009

Hoyer, O., 2004. Water disinfection with UV radiation—requirements and realization. In: Proceedings of the European Conference UV Karlsruhe, UV radiation. Effects and Technologies, September 22–24, 2003, Karlsruhe.

Huang J., Wang L., Ren N., Ma F., July, 1997. Disinfection effect of chlorine dioxide on bacteria in water. *Water Research*, 31(3):607–613.

Kanhere P, Chen Z (2014) A review on visible light active perovskite- based photocatalysts. *Molecules* 19:19995–20022. doi:10.3390 /molecules191219995

Khodorov A, Gomes MJM (2006) Preparation and optical characteriza- tion of lanthanum modified lead zirconate titanate thin films on indium-doped tin oxide-coated glass substrate. *Thin Solid Films* 515:1782–1787. doi:10.1016/j.tsf.2006.06.038

Kimura, M, Ando, A, Sakabe, Y (2010) Lead zirconate titanate-based piezo-ceramics. *Advanced Piezoelectric Materials* 89–110. doi:10.1533/9781845699758.1.89

Kong L, Karatchevtseva I, Holmes R, Davis J, Zhang Y, Triani G (2016) New synthesis route for lead zirconate titanate powder. *Ceram Int* 42:6782–6790. doi:10.1016/j.ceramint.2016.01.055

Kutty TRN, Balachandran R (1984) Direct precipitation of lead zirconate titanate by the hydrothermal method. *Mater Res Bull* 19:1479–1488. doi:10.1016/0025-5408(84)90262-9

Li H, Hong W, Cui Y, et al (2014) Enhancement of the visible light photocatalytic activity of Cu₂O/BiVO₄ catalysts synthesized by ultrasonic dispersion method at room temperature. *Mater Sci Eng B Solid-State Mater Adv Technol* 181:1–8. doi: 10.1016/j.mseb.2013.11.001

Li W, Xu Z, Chu R, Fu P, Zang G (2010) Piezoelectric and dielectric properties of (Ba_{1-x}Ca_x)(Ti_{0.95}Zr_{0.05})O₃ lead-free ceramics. *J Am Ceram Soc* 93:2942–2944. doi:10.1111/j.1551-2916.2010.03907.x

Luo Z, Poyraz AS, Kuo C, et al (2015) Crystalline Mixed Phase (Anatase / Rutile) Mesoporous Titanium Dioxides for Visible Light Photocatalytic Activity. *Chem Mater* 27:6–17. doi: 10.1051/0004-6361

Malato S., Blanco J., Vidal A., Alarcon D., Maldonado M., Caceres J., Gernjak W., July 2003, Applied studies in solar photocatalytic detoxification: an overview, 7 July 2002

Malato S., Plataforma Solar de Almeria, The use of of solar energy for the treatment of liquid wastewater (solar detoxification), Thessalonica, February 2004.

Malato S., Fernández-Ibáñez P., Maldonado M.I., Blanco J., Gernjak W., 2009, Decontamination and disinfection of water by solar photocatalysis: Recent overview and trends. *Catalysis Today*, 147: 1–59.

- Maness P., Smolinski S., Blake D., Huang Z., Wolfrum E., Jacoby W., 1999, Bactericidal activity of photocatalytic TiO_2 reaction: toward an understanding of its killing mechanism. Applied and environmental microbiology, Sept. 1999, p. 4094-4098
- Marugán J, van Grieken R, Sordo C, Cruz C (2008) Kinetics of the photocatalytic disinfection of *Escherichia coli* suspensions. Appl Catal B Environ 82:27–36. doi: 10.1016/j.apcatb.2008.01.002
- Matthias BT (1951) Ferroelectricity. Science 113:591–596. doi:10.1126/science.113.2943.591
- McGuigan KG, Conroy RM, Mosler HJ, et al (2012) Solar water disinfection (SODIS): A review from bench-top to roof-top. J Hazard Mater 235–236:29–46. doi: 10.1016/j.jhazmat.2012.07.053
- Metcalf & Eddy, 2007, Μηχανική Υγρών Αποβλήτων: Επεξεργασία και Επαναχρησιμοποίηση, Αθήνα, Εκδόσεις Τζιόλα.
- Min Cho, Jaeun Kim, Jee Yeon Kim, Jeyong Yoon, Jae-Hong Kim (2010), Mechanisms of *Escherichia coli* inactivation by several disinfectants. Water research 44 (2010) 3410-3418
- Miranda-García N, Suárez S, Sánchez B, et al (2011) Photocatalytic degradation of emerging contaminants in municipal wastewater treatment plant effluents using immobilized TiO_2 in a solar pilot plant. Appl Catal B Environ 103:294–301. doi: 10.1016/j.apcatb.2011.01.030
- Misstear DB, Murtagh JP, Gill LW (2013) The Effect of Dark Periods on the UV Photolytic and Photocatalytic Disinfection of *Escherichia coli* in a Continuous Flow Reactor. J Sol Energy Eng 135:21012. doi: 10.1115/1.4023179
- Mitsui T, Westphal WB (1961) Dielectric and X-ray studies of $\text{Ca}_x\text{Ba}_{1-x}\text{TiO}_3$ and $\text{Ca}_x\text{Sr}_{1-x}\text{TiO}_3$. Phys Rev 124:1354–1359. doi:10.1103/PhysRev.124.1354
- Oates PM, Shanahan P, Polz MF (2003) Solar disinfection (SODIS): Simulation of solar radiation for global assessment and application for point-of-use water treatment in Haiti. Water Res 37:47–54. doi: 10.1016/S0043-1354(02)00241-5
- Pepper IL, Gerba CP, Brusseau ML (2006) Environmental & pollution science. Elsevier/Academic Press
- Sökmen M., Candan F., Sümer Z., June 2001, Disinfection of *E.coli* by the Ag- TiO_2 /UV system: lipidperoxidation. Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry 143 (2001) 241–244
- Viehland D, Li J, Dai X, Xu Z (1996) Structural and property studies of high Zr-content lead zirconate titanate. J Phys Chem Solids 57: 1545–1554. doi:10.1016/0022-3697(96)00025-X

Wang H, Lewis JP (2006) Second-generation photocatalytic materials: anion-doped TiO₂. *J Phys Condens Matter* 18:421–434. doi: 10.1088/0953-8984/18/2/006

Wang P, Li Y, Lu Y (2011) Enhanced piezoelectric properties of $(Ba_{0.85}Ca_{0.15})(Ti_{0.9}Zr_{0.1})O_3$ lead-free ceramics by optimizing calcination and sintering temperature. *J Eur Ceram Soc* 31:2005–2012. doi:10.1016/j.jeurceramsoc.2011.04.023

Wang W, Huang G, Yu JC, Wong PK (2015) Advances in photocatalytic disinfection of bacteria: Development of photocatalysts and mechanisms ScienceDirect Invited article Development of photocatalysts and mechanisms. *JES* 34:232–247. doi: 10.1016/j.jes.2015.05.003

Yin W, Wei S, Al-jassim MM, Yan Y (2011) Double-Hole-Mediated Coupling of Dopants and Its Impact on Band Gap Engineering in TiO₂. 66801:9–12. doi: 10.1103/PhysRevLett.106.066801

Yujiao Long, Jinren Ni, Zuhui Wang, (2015) Subcellular mechanism of Escherichia coli inactivation during electrochemical disinfection with boron-doped diamond anode: A comparative study of three electrolytes. *Water Research* 84 (2015) 198-206.