

ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ ΚΡΗΤΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

**«Αδρανοποίηση δεικτών κοπρανώδους μόλυνσης
στο νερό με χλωρίωση και φωτοκατάλυση»**

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ
ΧΑΜΑΤΖΟΛΑΣ ΣΤΥΛΙΑΝΟΣ
A.M.: 2013050002
ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ
ΒΕΝΙΕΡΗ ΔΑΝΑΗ
ΛΑΖΑΡΙΖΗΣ ΜΙΧΑΛΗΣ
ΔΙΑΜΑΝΤΟΠΟΥΛΟΣ ΕΥΑΓΓΕΛΟΣ

Χανιά, 2020

Ευχαριστίες

Στο σημείο αυτό θα ήθελα να εκφράσω την μέγιστη ευαρέσκειά μου στην επιβλέπουσα καθηγήτρια κυρία Βενιέρη Δανάη για την αμέριστη υποστήριξη και βοήθεια που μου παρείχε. Παράλληλα, είναι επιβεβλημένη η απονομή ευχαριστιών στην υπεύθυνη του εργαστηρίου κυρία Ιωσηφίνα Γουνάκη καθώς και στα υπόλοιπα μέλη της τριμελούς επιτροπής.

Περιεχόμενα

Περίληψη.....	3
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	4
1.1. Απολύμανση νερού.....	4
1.2. Χλωρίωση.....	5
1.2.1. Πλεονεκτήματα χλωρίωσης.....	7
1.2.2. Μειονεκτήματα χλωρίωσης.....	7
1.3. Προηγμένες διεργασίες οξείδωσης.....	8
1.3.1. Φωτοκατάλυση.....	9
1.3.2. Χρήση TiO_2 ως καταλύτη.....	11
1.4. Δείκτες κοπρανώδους μόλυνσης.....	12
1.4.1. <i>Escherichia coli</i> (<i>E.coli</i>).....	13
1.4.2. <i>Enterococcus faecalis</i> (<i>E. faecalis</i>).....	13
2. Σκοπός.....	14
3. Πειραματικό Μέρος.....	15
3.1. Υλικά.....	15
3.2. Διαλύματα.....	15
3.3. Συσκευές και όργανα.....	15
3.4. Πρότυπα στελέχη <i>Escherichia coli</i> & <i>Enterococcus faecalis</i>	15
3.5. Πειραματική διαδικασία φωτοκατάλυσης.....	16
3.6. Πειραματική διαδικασία χλωρίωσης.....	17
4. Αποτελέσματα – Συζήτηση.....	19
4.1 Φωτοκατάλυση.....	19
4.2. Χλωρίωση.....	26
4.2.1. Υπολογισμός C^*t	28
4.3. Κινητική της απολύμανσης.....	28
5. Συμπεράσματα.....	31
6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	32

Περίληψη

Η παρούσα διπλωματική εργασία επικεντρώνεται στον έλεγχο της αποτελεσματικότητας δύο μεθόδων απολύμανσης νερού για την αδρανοποίηση δεικτών κοπρανώδους μόλυνσης και συγκεκριμένα των βακτηρίων *Escherichia coli* (Gram αρνητικό βακτήριο) και *Enterococcus faecalis* (Gram θετικό βακτήριο). Οι μέθοδοι που εφαρμόστηκαν είναι η φωτοκατάλυση με UVA ακτινοβολία με την χρήση του TiO_2 ως καταλύτη και η χλωρίωση. Στο πλαίσιο της εργασίας έγινε προσπάθεια αποτίμησης των δύο μεθόδων ως προς την αδρανοποίηση των βακτηριακών δεικτών, των οποίων ο έλεγχος επιβάλλεται από την τρέχουσα νομοθεσία. Σύμφωνα με τα πειράματα που διεξήχθησαν παρατηρήθηκαν διαφορές, οι οποίες σχετίζονταν με τις λειτουργικές παραμέτρους των δύο μεθόδων, αλλά και με το είδος του βακτηρίου που ελεγχόταν κάθε φορά.

Η απόδοση της φωτοκατάλυσης βελτιώθηκε αυξάνοντας τη συγκέντρωση του καταλύτη έως ένα βαθμό. Η βέλτιστη συγκέντρωση TiO_2 υπό τις δεδομένες πειραματικές συνθήκες ήταν 25 mg/L, καθώς σημειώθηκε μείωση των βακτηριακών πληθυσμών της τάξης των 6-7 Log εντός 20 min. Περαιτέρω αύξηση συγκέντρωσης του καταλύτη δεν οδήγησε σε βελτίωση της απόδοσης. Αντίθετα, ο πληθυσμός του κάθε βακτηρίου παρέμεινε σε υψηλά επίπεδα.

Όσον αφορά στη χλωρίωση, η αποδοτικότητα της μεθόδου ήταν αρκετά ικανοποιητική για την περίπτωση της *E. coli*, ενώ ο Εντερόκοκκος εκδήλωσε υψηλή ανθεκτικότητα. Ωστόσο, η δόση χλωρίου που χρησιμοποιήθηκε ήταν χαμηλή (3 mg/L), ενώ παράλληλα, η αρχική βακτηριακή συγκέντρωση ήταν της τάξης των 10^7 CFU/mL.

Γενικά, μεταξύ των δύο δεικτών κοπρανώδους μόλυνσης ο *E. faecalis* ήταν περισσότερο ανθεκτικός στις «αντίξοες συνθήκες» που επάγονταν σε καθεμιά από τις δύο μεθόδους.

Με βάση τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας καθίσταται εμφανές ότι η απόδοση της φωτοκατάλυσης και της χλωρίωσης ως μεθόδων απολύμανσης επηρεάζεται από τις λειτουργικές παραμέτρους, καθώς και από το είδος βακτηρίου που εξετάζεται σε κάθε περίπτωση.

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1. Απολύμανση νερού

Στις μέρες μας παρατηρείται το φαινόμενο της μόλυνσης των υδάτων γι' αυτό είναι επιτακτική η ανάγκη αναφοράς μας στις μεθόδους απολύμανσης. Αυτή είναι μία διεργασία που στόχο έχει την καταστροφή των παθογόνων μικροοργανισμών σε τέτοιο βαθμό ώστε η διάθεση των εκροών να μην δημιουργεί κινδύνους στην δημόσια υγεία και στο περιβάλλον.¹ Πιο συγκεκριμένα, οι μέθοδοι απολύμανσης ακολουθούν την τριτοβάθμια επεξεργασία λυμάτων και περιλαμβάνουν την χλωρίωση, υπεριώδη ακτινοβολία και την οζόνωση. Η αποτελεσματική απολύμανση του πόσιμου νερού αποτελεί πρωταρχική προτεραιότητα για την εξασφάλιση υψηλών προδιαγραφών δημόσιας υγείας.² Ακόμα, γίνεται αναφορά στο μηχανισμό των απολυμαντικών που δικαιολογούν την δράση των μεθόδων απολύμανσης.

Οι κυριότεροι μηχανισμοί είναι η μεταβολή της κυτταρικής διαπερατότητας, η πρόκληση βλαβών του DNA ή RNA των οργανισμών και η αλλοίωση της κολλοειδούς φύσης του πρωτοπλάσματος. Άλλοι μηχανισμοί είναι η παρεμπόδιση της ενζυμικής δράσης και η φθορά του κυτταρικού τοιχώματος. Οι παράγοντες που επηρεάζουν τη χρήση απολυμαντικών είναι τα είδη, η φύση και η κατάσταση των μικροοργανισμών. Μία άλλη μεταβλητή είναι το pH η επίδραση του οποίου διαφοροποιείται ανάλογα με το απολυμαντικό μέσο. Η συμβολή του χρόνου επαφής αποτελεί παράγοντα επιρροής της απολύμανσης. Η επίδραση αυτού έγκειται στο ότι η αύξηση του για καθορισμένη ποσότητα απολυμαντικού έχει ως επακόλουθο μία δεκαπλάσια αύξηση θνησιμότητας. Άλλοι παράγοντες είναι η συμβολή της ισχύος και της φύσης των φυσικών μέσων απολύμανσης. Πιο αναλυτικά, το φως και η θερμότητα δύνανται να δράσουν ως απολυμαντικά μέσα και η απόδοσή τους εξαρτάται από την ισχύ τους. Επίσης, η ύπαρξη βιοφίλμ δρα ανασταλτικά για την απολύμανση των υδάτων. Πιο συγκεκριμένα, η δυσκολία στην διεργασία της απολύμανσης δημιουργείται από την ύπαρξη συσσωματωμάτων μικροοργανισμών που έχουν προσκολληθεί στις επιφάνειες. Η τελευταία επίδραση της χρήσης των απολυμαντικών με την οποία θα ασχοληθούμε είναι η φύση του υγρού. Η παρουσία αιωρούμενης ύλης θα μειώσει την αποτελεσματικότητα των απολυμαντικών με την απορρόφηση του απολυμαντικού και με την προστασία των παγιδευμένων βακτηρίων³

Ακόμα, τα χαρακτηριστικά ενός ιδανικού απολυμαντικού είναι το χαμηλό κόστος, η συντήρηση του απαιτούμενου εξοπλισμού, ο βαθμός τοξικότητας στους υδρόβιους οργανισμούς και η διαθεσιμότητά του. Το τέλειο απολυμαντικό χαρακτηρίζεται από μεγάλη ομοιογένεια, σταθερότητα και αποδοτικότητα στις θερμοκρασίες περιβάλλοντος. Συνακόλουθα, το απολυμαντικό είναι αναγκαίο να παρουσιάζει εύκολη ανιχνευσιμότητα στο νερό με μηδενικό κίνδυνο κατά την χρήση και να εμφανίζει περιορισμένη διαβρωτικότητα και δραστικότητα με ουσίες που περιέχονται στο νερό.⁴

1.2. Χλωρίωση

Η σημασία της χλωρίωσης ως μεθόδου απολύμανσης είναι ευρέως γνωστή. Η ίδια δρα αποτελεσματικά για πλήθος μικροοργανισμών που περιέχονται στο νερό, καθιστώντας το κατάλληλο και ασφαλές προς χρήση.

Η χλωρίωση είναι η πρώτη μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε για την απολύμανση τόσο των υγρών αποβλήτων όσο και του πόσιμου νερού και αποτελεί την πιο συνηθισμένη σήμερα τεχνολογία απολύμανσης. Γίνεται με προσθήκη στο νερό:

A) ελεύθερου χλωρίου (Cl_2)

B) υποχλωριώδους ασβεστίου ($\text{Ca}(\text{OCl})_2$)

Γ) υποχλωριώδους νατρίου (NaOCl)

τα οποία διαλυόμενα στο νερό σχηματίζουν υποχλωριώδες οξύ (HOCl) και υδροχλωρικό οξύ (HCl)

ή

Δ) διοξειδίου του χλωρίου (ClO_2) που δε διαλύεται στο νερό.

A) Η αντίδραση που λαμβάνει χώρα όταν προστίθεται αέριο χλώριο στο νερό είναι η ακόλουθη:



Επειδή το υποχλωριώδες οξύ είναι ασθενές, διασπάται στη συνέχεια σε ιόντα υδρογόνου (H^+) και υποχλωριώδη ιόντα (OCl^-):



Σε χαμηλές τιμές pH στο νερό, υπερισχύει το HOCl ενώ σε υψηλές τα OCl^- . Ισχυρότερη απολυμαντική δράση εκ των δύο έχει το HOCl καθώς το αρνητικό φορτίο που διαθέτουν οι περισσότεροι μικροοργανισμοί εντός του νερού απωθεί τα OCl^- ενώ

το HOCl πλησιάζει, διεισδύει ευκολότερα στα μικροβιακά κύτταρα και τελικά αδρανοποιεί κάποια ένζυμα απαραίτητα για την επιβίωση του μικροβίου.

Συνήθως, πλήρης απολύμανση θεωρείται ότι επιτυγχάνεται όταν η περιεκτικότητα του ελεύθερου διαθέσιμου χλωρίου (HOCl και OCl⁻) είναι περίπου 0.2 ppm μετά την ανάμειξη και οξείδωση και η διάρκεια της χλωρίωσης τουλάχιστον 15-30 min. Μεγαλύτερες περιεκτικότητες συνδέονται με εμφάνιση οσμής και γεύσης στο νερό ενώ μικρότερες δεν εξασφαλίζουν πλήρη απολύμανση καθώς μπορεί να είναι αντιστρέψιμη η αντίδραση χλωρίου-ενζύμων με αποτέλεσμα την επαναλειτουργία των ενζύμων των μικροοργανισμών.

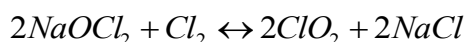
Β) Όταν χρησιμοποιείται υποχλωριώδες νάτριο (NaOCl) πραγματοποιείται η εξής αντίδραση:



Σε περιπτώσεις υψηλού pH, το HOCl μετατρέπεται σε OCl⁻ που έχουν χαμηλότερη απολυμαντική δράση και γι' αυτό απαιτείται διόρθωσή του ώστε να γίνει μικρότερο του 7.5

Γ) Για μικρές εγκαταστάσεις είναι πιο οικονομική η χρήση υποχλωριώδους ασβεστίου Ca(OCl)₂ αντί του χλωρίου. Η ουσία αυτή αντιδρά με το νερό και απελευθερώνεται χλώριο.

Δ) Το διοξειδίο του χλωρίου (ClO₂) δε διατίθεται σε εμπορεύσιμη μορφή και πρέπει να παράγεται στο σημείο χρήσης κάτω από αυστηρές συνθήκες ασφαλείας σύμφωνα με την αντίδραση:



Έχει καλή απολυμαντική δράση και δημιουργεί πολύ λίγα παραπροϊόντα, όπως τριαλογονομεθάνια. Το ClO₂ είναι αέριο που παραμένει σαν υπόλειμμα στο νερό για μικρό χρονικό διάστημα και σε σύγκριση με το ελεύθερο χλώριο παρουσιάζει καλύτερη δράση έναντι παθογόνων βακτηρίων, αλλά μικρότερη έναντι ιών.

Αξιολόγηση της χλωρίωσης

Η χλωρίωση ως απολυμαντική μέθοδος είναι αποτελεσματική εναντίον μεγάλου φάσματος μικροοργανισμών, έχει χαμηλό κόστος, εύκολη εφαρμογή ενώ παράλληλα έχει το πλεονέκτημα της υπολειμματικής δράσης δηλαδή παραμένει δραστικό το απολυμαντικό μέσα στο νερό για σχετικά μεγάλο χρονικό διάστημα.

Όμως, η συγκεκριμένη τεχνική έχει εγείρει προβληματισμό λόγω μιας σειράς μειονεκτημάτων που εμφανίζει ^{5 6}. Συνδέεται συχνά με την εμφάνιση δυσάρεστης οσμής και γεύσης στο νερό εξαιτίας του χλωρίου ή παραπροϊόντων του ^{7 8}. Τα τριαλογονομεθάνια βρέθηκε ότι προκαλούν καρκίνο σε εργαστηριακά ζώα κι έτσι ακολούθησαν ρυθμίσεις σχετικά με αυτά από τις ΗΠΑ και άλλες χώρες ενώ πλέον όρια έχουν θεσπιστεί για αριθμό άλλων παραπροϊόντων της απολύμανσης όπως τα αλογονωμένα οξικά οξέα (σχηματίζονται, όπως και τα τριαλογονομεθάνια, κυρίως από χλώριο και χλωραμίνες), ενώσεις που περιέχουν το χλωριώδες ανιόν (ClO_2^-) (σχηματίζεται κυρίως από το διοξείδιο του χλωρίου) και ενώσεις που περιέχουν το βρωμικό ανιόν (BrO_3^-) (σχηματίζεται κυρίως από την οζόνωση). Παρ' όλα αυτά, ο Διεθνής Οργανισμός για την Έρευνα πάνω στον Καρκίνο θεώρησε ανεπαρκή τα στοιχεία συσχέτισης της χλωρίωσης με την εμφάνιση καρκίνου. Σήμερα, εκτός των προαναφερθέντων, θεωρούνται μεγάλης σημασίας για την υγεία και άλλα παραπροϊόντα όπως τα ιωδιούχα οξέα, βρωμιούχα νιτρομεθάνια, ιωδιούχα τριαλογονομεθάνια, αλογονωμένα αμίδια, αλογονωμένες φουρανόνες, αλογονωμένες πυρόλες, αλογονωμένες κινόνες, αλογονωμένες κετόνες, αλογονωμένες αλδεΐδες, αλογονωμένα νιτρίλια και νιτροζαμίνες. Ακόμη, φαίνεται ότι τα παραπροϊόντα που περιέχουν άζωτο ("N-DBPs"), είναι πιο τοξικά για το γενετικό υλικό και τα κύτταρα εν συγκρίσει με εκείνα που δεν περιέχουν.

1.2.1. Πλεονεκτήματα χλωρίωσης

- Είναι οικονομική μέθοδος κάτι που γίνεται εμφανές από το γεγονός ότι το χλώριο παρουσιάζει υπολειμματική δράση δρώντας προστατευτικά μέσα στο νερό για αρκετό χρονικό διάστημα. Άρα, είναι ωφέλιμη αφού με μικρό κόστος επαρκεί για πολύ χρόνο.⁹
- Απλή στην εφαρμογή της που σημαίνει ότι δεν εμφανίζει πολυπλοκότητα στην εφαρμογή της
- Αποτελεσματικότητα των μορφών Cl_2 σε εκτεταμένο φάσμα μικροοργανισμών ¹⁰

1.2.2. Μειονεκτήματα χλωρίωσης

- Στην περίπτωση που το νερό προορίζεται για επαναχρησιμοποίηση είναι αναγκαία η αποχλωρίωση για την εξάλειψη του ενδεχόμενου πρόκλησης

καταστροφών σε οικοσυστήματα λόγω της έντονης δράσης του υπολειμματικού χλωρίου. Βέβαια, κάποια παθογόνα βακτήρια παρουσιάζουν ανθεκτικότητα στο χλώριο καθιστώντας το νερό ακατάλληλο και αναγκαίο την υλοποίηση άλλων μεθόδων απολύμανσης.

- Το Cl_2 είναι ιδιαίτερα τοξικό για το άνθρωπο και επιβαρυντικός παράγοντας για το περιβάλλον και παράλληλα η χλωρίωση προκαλεί έντονη οσμή και γεύση που οφείλεται στα παραπροϊόντα απολύμανσης. Αυτά δημιουργούνται από την αντίδραση του χλωρίου με διάφορες ενώσεις όπως τα τριαλομεθάνια τα οποία θεωρούνται ύποπτα για πρόσκληση καρκίνου.¹¹

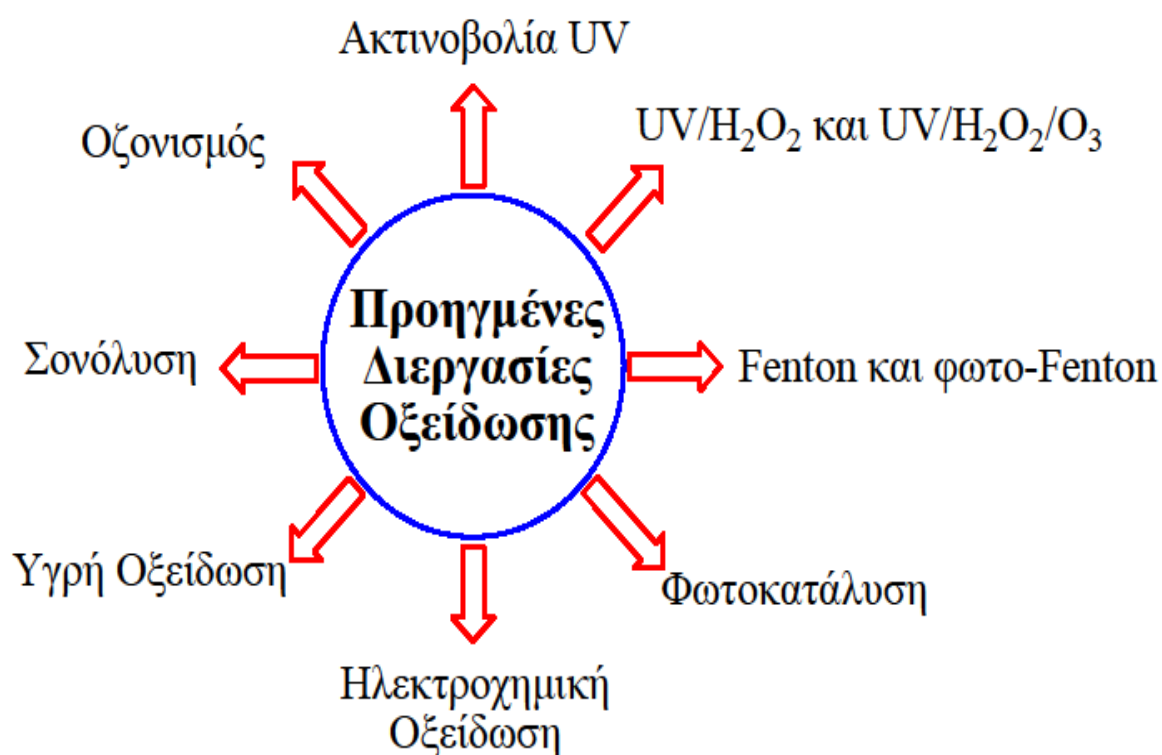
1.3. Προηγμένες διεργασίες οξείδωσης

Οι προηγμένες διεργασίες οξείδωσης είναι οι τεχνικές οι οποίες αξιοποιούνται για την οξείδωση διαφόρων οργανικών μολυσματικών ουσιών σε μολυσμένο νερό. Ο στόχος τους είναι να καταστεί το νερό πόσιμο. Αυτές χρησιμοποιούν ισχυρά χημικά οξειδωτικά για να μειώσουν το επίπεδο ρύπων στο νερό και έχουν την ικανότητα μερικής εξολόθρευσης των βακτηρίων. Επίσης, άλλη ιδιότητα τους είναι να αφαιρούν τη δυσοσμία καθώς και να βελτιώνουν τη γεύση του πόσιμου νερού. Η επίτευξη όλων των παραπάνω υλοποιείται με την απώλεια της βιολογικής δραστηριότητας του ρύπου που υπάρχει στο πόσιμο νερό χωρίς την δημιουργία τοξικότητας. Βέβαια, η επιλογή των μεθόδων προηγμένες διεργασίες οξείδωσης εξαρτάται από τον τύπο του ρυπαντή που πρέπει να αφαιρεθεί.¹²

Οι Προηγμένες Διεργασίες Οξείδωσης βασίζονται στην επί τόπου δημιουργία ενδιάμεσων υψηλής δραστηριότητας όπως H_2O_2 , HO^\bullet , $\text{O}_2^\bullet^-$, O_3 για την ανοργανοποίηση ανθεκτικών οργανικών ενώσεων και την αδρανοποίηση παθογόνων μικροοργανισμών και παραπροϊόντων απολύμανσης. Σε αυτόν τον τύπο τεχνολογιών ανήκουν η φωτόλυση (UV-B,C), ο οζονισμός (O_3 , $\text{O}_3/\text{UV-B}$, $\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2$), $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV-B}$, η ετερογενής φωτοκατάλυση ($\text{TiO}_2/\text{UV-A}$), το αντιδραστήριο Fenton και Photo-Fenton (ομοιογενής φωτοκατάλυση), η υγρή οξείδωση, η ηλεκτροχημική οξείδωση, η (καταλυτική ή μη) οξείδωση σε υψηλές πιέσεις και θερμοκρασίες κ.ά.

Η απολυμαντική δράση των εν λόγω διεργασιών έγκειται στην πρόκληση καταστροφών στα κυτταρικά συστατικά των μικροοργανισμών από τις δραστικές οξειδωτικές ελεύθερες ρίζες που δημιουργούνται και συνήθως είναι ρίζες υδροξυλίου (HO^\bullet), τα πιο ισχυρά οξειδωτικά μέσα μετά το φθόριο¹³. Πιο συγκεκριμένα, οι ρίζες υδροξυλίου αντιδρούν με τα διαλυτά συστατικά εκκινώντας μια σειρά αντιδράσεων

οξειδωσης. Αντιδρούν με οργανικές ενώσεις αποσπώντας ή δημιουργώντας υπεροξειδικές ρίζες που προκαλούν οξειδωτικές αντιδράσεις. Οι τελευταίες αντιδράσεις οδηγούν τελικά στην πλήρη μετατροπή των οργανικών ενώσεων σε CO₂, H₂O και ανόργανα άλατα. Μάλιστα, λόγω του υψηλού δυναμικού αναγωγής των ριζών αυτών (2.8 V), είναι δυνατή η προσβολή πρακτικά όλων των οργανικών ρύπων των αποβλήτων. Αυτό έχει ως επακόλουθο οι Προηγμένες Διεργασίες Οξειδωσης να κερδίζουν το ενδιαφέρον της έρευνας σήμερα αφού συνδυάζουν την αποτελεσματική απολύμανση του νερού με την καταστροφή πολλών τοξικών μη βιοαποδομήσιμων υγρών και αέριων ουσιών χωρίς τη δημιουργία επικίνδυνων για την υγεία και το περιβάλλον παραπροϊόντων.



Εικόνα 1: Διάγραμμα απεικόνισης των προηγμένων διεργασιών οξείδωσης ¹⁴

1.3.1. Φωτοκατάλυση

Μια από τις Προηγμένες Διεργασίες Οξείδωσης που έχει απασχολήσει πλήθος ερευνών τις τελευταίες δεκαετίες είναι η φωτοκατάλυση. Πρόκειται για την επιτάχυνση μιας φωτοαντίδρασης από την παρουσία καταλύτη, ο οποίος, χωρίς να

καταναλώνεται, μειώνει την ενέργεια ενεργοποίησης της αντίδρασης προσφέροντας έναν εναλλακτικό μηχανισμό πραγματοποίησής της.

Η φωτοκατάλυση διακρίνεται σε δυο τύπους, την ομοιογενή όπου ο καταλύτης βρίσκεται στην ίδια (υγρή) φάση με το εναιώρημα και την ετερογενή που περιλαμβάνει δυο διαφορετικές φάσεις.

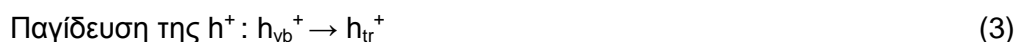
Η ετερογενής φωτοκατάλυση που χρησιμοποιεί ημιαγωγίμους καταλύτες (TiO_2 , ZnO , Fe_2O_3 , CdS , GaP and ZnS) έχει επιδείξει μεγάλη αποτελεσματικότητα τόσο στη μετατροπή πλήθους σταθερών οργανικών σε εύκολα βιοδιασπώμενες ενώσεις και τελικά στη μετατροπή τους σε αβλαβές διοξείδιο του άνθρακα και νερό όσο και στην απολύμανση νερού.

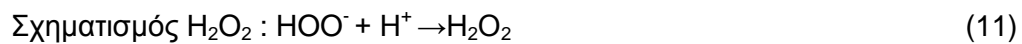
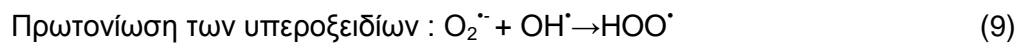
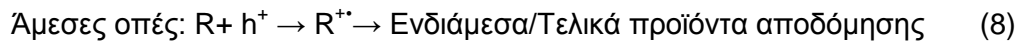
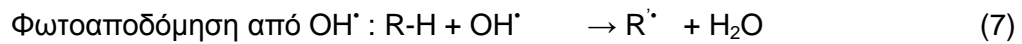
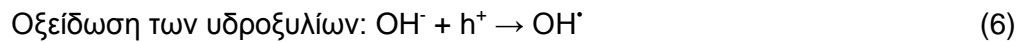
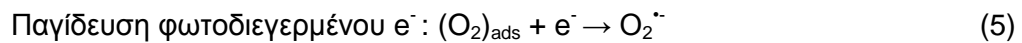
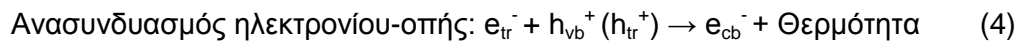
Οι βασικές αρχές της φωτοφυσικής και φωτοχημείας στις οποίες στηρίζεται η ετερογενής φωτοκατάλυση που χρησιμοποιεί ημιαγωγίμο καταλύτη έχουν αναφερθεί αρκετές φορές στη βιβλιογραφία και αφορούν στο φωτοηλεκτρικό φαινόμενο.

Σύμφωνα με το μοντέλο των μοριακών τροχιακών, η ηλεκτρονιακή δομή των περισσότερων ημιαγωγίμων υλικών περιλαμβάνει δυο σημαντικές ενεργειακές στάθμες. Η πρώτη που λέγεται ζώνη σθένους (valence band) είναι ανώτερη και πλήρης ηλεκτρονίων ενώ η δεύτερη, ονομάζεται ζώνη αγωγιμότητας, είναι χαμηλότερη και ελεύθερη ηλεκτρονίων. Μεταξύ τους παρεμβάλλεται η απαγορευμένη ζώνη. Το ενεργειακό κενό ανάμεσα τους αποκαλείται ενεργειακό χάσμα (E_{bg} , band gap energy).

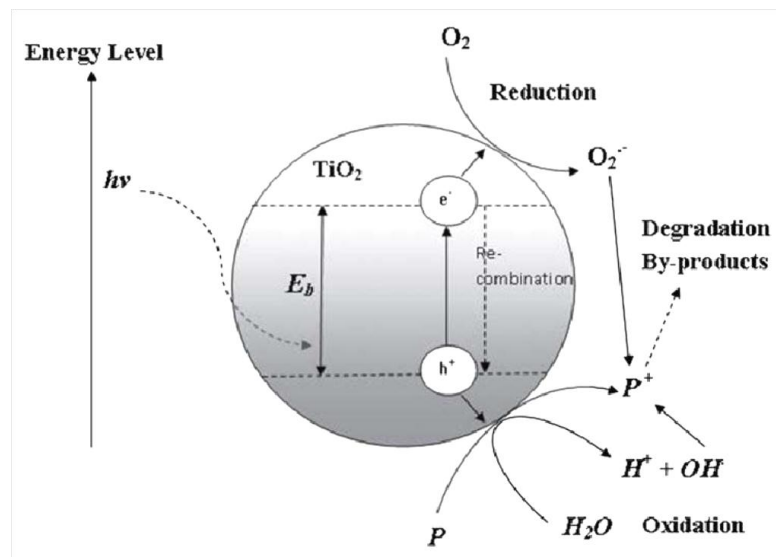
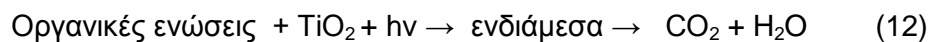
Στην περίπτωση του TiO_2 , που χρησιμοποιείται ευρύτατα για την επαγωγή σειράς αναγωγικών και οξειδωτικών αντιδράσεων στην επιφάνειά του λόγω του μοναδικού ηλεκτρονίου του εξωτερικού του τροχιακού, το ενεργειακό χάσμα είναι 3.2 eV. Όταν πάνω στην επιφάνεια του καταλύτη φθάσει ενέργεια φωτονίου ($h\nu$) ίση ή μεγαλύτερη από την ενέργεια χάσματος, το μοναδικό ηλεκτρόνιο σθένους θα διεγερθεί από τη ζώνη σθένους στη ζώνη αγωγιμότητας σε κάποια femtoseconds¹⁵.

Η **Σφάλμα! Το αρχείο προέλευσης της αναφοράς δεν βρέθηκε.** παρουσιάζει το μηχανισμό δημιουργίας του ζεύγους ηλεκτρονίου-οπής όταν το σωματίδιο του TiO_2 ακτινοβοληθεί με επαρκή φωτεινή ενέργεια η οποία συνήθως αντιστοιχεί σε μήκη κύματος μικρότερα των 400nm. Η φωτονιακή διέγερση αφήνει πίσω μια κενή ζώνη σθένους δημιουργώντας έτσι το ζεύγος ηλεκτρονίου-οπής (e^-h^+). Η ακολουθία των αλυσιδωτών αντιδράσεων οξείδωσης-αναγωγής που συμβαίνουν στη φωτοδιεγειρόμενη επιφάνεια είναι η εξής:





Οπότε συνολικά:



Εικόνα 2: Φωτοεπαγόμενος σχηματισμός ζεύγους ηλεκτρονίου-οπής στην επιφάνεια κόκκου TiO_2 παρουσία ρύπου (P) ¹⁶

1.3.2. Χρήση TiO_2 ως καταλύτη

Το διοξείδιο του τιτανίου (TiO_2) είναι μία ουσία που χρησιμοποιείται ευρέως χωρίς να προκαλεί προβλήματα στην ανθρώπινη υγεία. Χρησιμοποιείται σε βιομηχανίες παρασκευής χρωμάτων, μελανιών, συνθετικών υφασμάτων, μολυβιών, κεραμικών κ.α.

Το μεγαλύτερο ενδιαφέρον στη φωτοκαταλυτική τεχνολογία μέχρι τώρα στρέφεται στο TiO_2 καθώς συγκεντρώνει τα περισσότερα θετικά χαρακτηριστικά μεταξύ των διάφορων φωτοκαταλυτών.

Συναντάται σε τρεις κρυσταλλικές μορφές, οι οποίες είναι η ανατάση (η πιο σταθερή δομή στις χαμηλές θερμοκρασίες, ανήκει στο τετράγωνο κρυσταλλικό σύστημα), το ρουτίλιο (η πιο σταθερή δομή στις υψηλές θερμοκρασίες κι έτσι βρίσκεται ακόμη και σε πυριγενή πετρώματα, ανήκει στο τετράγωνο κρυσταλλικό σύστημα) και ο μπρουκίτης (συναντάται σε διάφορα ορυκτά και ανήκει στο ορθορομβικό κρυσταλλικό σύστημα). Η ανατάση είναι η πιο δραστική φωτοκαταλυτικά, λόγω της ισχυρότερης προσρόφησης των ανιόντων OH^- και του H_2O στην επιφάνειά της, καθώς και λόγω του χαμηλότερου βαθμού επανασύνδεσης των φωτοπαραγόμενων e^- και h^+ . Έτσι, μετά από πλήθος ερευνών τις τελευταίες δύο δεκαετίες που υποστηρίζουν το παραπάνω, χρησιμοποιείται κυρίως στη μορφή της ανατάσης ή στη συνδυασμένη μορφή ανατάσης – ρουτιλίου ¹⁶.

Όταν ο καταλύτης TiO_2 έρθει σε επαφή με υπεριώδη ακτινοβολία, είτε από τον ήλιο είτε από κάποια τεχνητή πηγή, καταλύει την παραγωγή ριζών υδροξυλίου, οι οποίες στη συνέχεια έρχονται σε επαφή με οργανικές ενώσεις και τις καταστρέφουν. Εκτός από οργανικές ενώσεις, καταστρέφουν και μικροοργανισμούς όπως βακτήρια, ιούς, μύκητες, άλγη, ακόμη και πτητικές οργανικές ενώσεις (VOC). Για να είναι αποτελεσματικός ο φωτοκαταλύτης θα πρέπει να δοθεί σημασία σε ορισμένες παραμέτρους. Παράμετροι της χρήσης του είναι οι εξής:

- Πρέπει να δοθεί προσοχή ως προς την ποσότητα του TiO_2 που χρησιμοποιείται για το εκάστοτε διάλυμα ώστε να μην εμποδίζει, λόγω αυξημένης θολερότητας, την υπεριώδη ακτινοβολία να έρθει σε επαφή με τα κύτταρα των μικροοργανισμών ή τις οργανικές ενώσεις.
- Χρειάζεται ένα μικρό χρονικό διάστημα προσαρμογής του καταλύτη στο δείγμα προτού αρχίσει η δράση του.

1.4. Δείκτες κοπρανώδους μόλυνσης

Οι βακτηριακοί δείκτες κοπρανώδους μόλυνσης που ελέγχονται στο νερό, σύμφωνα με την ισχύουσα νομοθεσία περί καταλληλότητάς του είναι η *Escherichia coli* και ο *Enterococcus faecalis*. Οι μικροοργανισμοί αυτοί είναι βακτήρια και επιλέγονται ως δείκτες γιατί είναι γενικά παρόντες σε νερό που περιέχει παθογόνα, είναι σχετικά ακίνδυνοι κι επίσης αναπτύσσονται, απομονώνονται και προσδιορίζονται εύκολα.

1.4.1. *Escherichia coli* (E.coli)

Η *Escherichia coli* ανήκει στα κοπρανώδη κολοβακτηριοειδή και είναι Gram αρνητικό βακτήριο. Το γένος *Escherichia* ανήκει στην οικογένεια των εντεροβακτηριακών και η *E. coli* είναι το τυπικό είδος του γένους και το πιο αντιπροσωπευτικό είδος της οικογένειας των εντεροβακτηριακών, καθώς διαθέτει όλους τους γενικούς χαρακτήρες της. Θεωρείται ο βασικός δείκτης κοπρανώδους μόλυνσης, τόσο του πρωτογενούς όσο και του επεξεργασμένου νερού. Πρόκειται για ευρέως διαδεδομένο μικροοργανισμό, καθώς είναι το κυρίαρχο δυννητικά αναερόβιο βακτήριο της ανθρώπινης εντερικής χλωρίδας. Διαβιώνει μόνιμα τόσο στον εντερικό σωλήνα του ανθρώπου όσο και των θερμόαιμων ζώων (βοοειδή, αιγοπρόβατα, σκύλοι κ.α.), όπου μπορεί να υπάρχει σε μεγάλους αριθμούς και μπορεί να αντιπροσωπεύει το 95% των εντεροβακτηριακών που απαντώνται στα κόπρανα.

1.4.2. *Enterococcus faecalis* (E. faecalis)

Το γένος *Enterococcus* ανήκει στην οικογένεια των στρεπτόκοκκων. Οι εντερόκοκκοι (enterococci) είναι Gram-θετικά σφαιρικά βακτήρια τα οποία μπορούν να επιβιώσουν κάτω από αντίξοες συνθήκες στη φύση. Απαντώνται στο έδαφος, το νερό, σε φυτά καθώς και στα κόπρανα του ανθρώπου και άλλων θηλαστικών. Ορισμένα στελέχη αποτελούν την αιτία σοβαρών λοιμώξεων για τους ανθρώπους και τα ζώα. Είναι βακτήρια που συνδέονται τόσο με κοινές όσο και με νοσοκομειακές λοιμώξεις. Μερικά από αυτά είναι γνωστό ότι παρουσιάζουν κινητικότητα.

2. Σκοπός

Ο σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι ο έλεγχος αποδοτικότητας δύο μεθόδων απολύμανσης νερού, της χλωρίωσης και της φωτοκατάλυσης, για την αδρανοποίηση δεικτών κοπρανώδους μόλυνσης. Στόχος ήταν να αναδειχθεί η βέλτιστη μέθοδος για την αδρανοποίηση των βακτηρίων *E. coli* και *E. faecalis*, τα οποία όταν βρεθούν στο νερό υποδηλώνουν κοπρανώδη μόλυνση. Οι μέθοδοι που εξετάστηκαν ήταν η χλωρίωση και η φωτοκατάλυση με UV-A ακτινοβολία και χρήση TiO_2 ως καταλύτη.

3. Πειραματικό Μέρος

Στο κεφάλαιο αυτό θα γίνει αναλυτική περιγραφή των πειραμάτων.

3.1. Υλικά

- Nutrient agar (Lab m)
- KI (Sigma)
- NaOCl (Sigma)
- NaCl (Fluka)
- TiO₂ (Degussa AG)

3.2. Διαλύματα

- Διάλυμα NaOCl συγκέντρωσης $1000 \frac{\text{mg}}{\text{L}}$ v/v (ως προς Cl₂)
- Διάλυμα Na₂S₂O₃ συγκέντρωσης $18 \frac{\text{mg}}{\text{L}}$ w/v
- Na₂S₂O₃ 0,1 N (Panreac)
- Διάλυμα NaCl συγκέντρωσης 0,9% w/v

3.3. Συσκευές και όργανα

- Θάλαμος επώασης (Thermo Scientific Heraeus)
- Κλίβανος υγρής αποστείρωσης (Raypa)
- Ζυγός ακριβείας (Adventurer OHAUS Balance)
- Μετρητής αποικιών (Stuart)
- Φασματοφωτόμετρο (Shimadzu)
- Λύχνος Bunsen
- Λάμπα ακτινοβολίας UVA. Η λάμπα που χρησιμοποιήθηκε κατά την διάρκεια της φωτοκατάλυσης με ακτινοβολία UVA έχει ισχύ 9W και είναι τύπου compact low pressure (Radium Lampenwerk GmbH®).
- Τριβλία petri διαμέτρου 9 cm & κρίκοι εμβολιασμού

3.4. Πρότυπα στελέχη *Escherichia coli* & *Enterococcus faecalis*

- Χρησιμοποιήθηκαν ως δείκτες τα βακτηριακά στελέχη *E. coli* ATCC 23716 και *E. faecalis* ATCC 14506 (American Type Culture Collection, Rockville, Md. USA).

3.5. Πειραματική διαδικασία φωτοκατάλυσης

Η πειραματική διαδικασία υλοποιήθηκε τον Μάιο 2017. Πρώτα απ' όλα, όλα τα σκεύη που αξιοποιήθηκαν αποστειρώνονται σε θερμοκρασία 121°C για 30 min. Η διαδικασία του πειράματος τελεσφορείται και για τα δύο βακτήρια με τον ίδιο τρόπο και έχει ως εξής:

Παρασκευάζεται διάλυμα 300mL αποτελούμενο από NaCl 0,9% w/v και εναιώρημα αποικιών του βακτηρίου που πρόκειται να υποβληθεί σε απολύμανση με υπεριώδη ακτινοβολία UVA.

Προτού τοποθετηθεί το εναιώρημα στο NaCl, προστίθεται καταλύτης TiO_2 επιθυμητής συγκέντρωσης και αφήνεται να αναδευτεί για περίπου 20 min προκειμένου να ενσωματωθεί στο διάλυμα. Στη συνέχεια, προστίθεται το εναιώρημα και ξεκινά η εκπομπή της υπεριώδους ακτινοβολίας UVA. Η δειγματοληψία γίνεται σε συγκεκριμένες χρονικές στιγμές.

Βήμα1 : Δημιουργία υγρής καλλιέργειας $10^8 \frac{\text{CFUs}}{\text{mL}}$

Η δημιουργία της υγρής καλλιέργειας $10^8 \frac{\text{CFUs}}{\text{mL}}$ γίνεται με την χρήση των βακτηρίων *Escherichia coli* και *Enterococcus faecalis* φωτομετρώντας στα 600nm μέχρι την επίτευξη οπτικής απορρόφησης 0,1 που αντιστοιχεί στο $10^8 \frac{\text{CFUs}}{\text{mL}}$

Βήμα 2: Βακτηριακό εναιώρημα επιθυμητής συγκέντρωσης

Με βάση την υγρή καλλιέργεια $10^8 \frac{\text{CFUs}}{\text{mL}}$ πραγματοποιούνται κατάλληλες αραιώσεις, ώστε να προκύψει η επιθυμητή συγκέντρωση βακτηρίου για την πραγματοποίηση των επιραμάτων.

Βήμα 3: Πείραμα

Προστίθεται η αναγκαία ποσότητα TiO_2 κι ενεργοποιείται στη συνέχεια ο λαμπτήρας εκπομπής υπεριώδους ακτινοβολίας UVA. Κατόπιν, αρχίζει η δειγματοληψία. Οι συγκεκριμένες χρονικές στιγμές είναι 0, 5, 10, 15, 20, 30, 40 & 60 min. Για κάθε χρονική στιγμή, λαμβάνεται δείγμα και επιστρώνεται σε δύο τριβλία ποσότητα ίση με 300 μL .

Βήμα 4: Επώαση

Αφήνονται τα τριβλία για 20 min προκειμένου να ενσωματωθεί στο θρεπτικό υλικό το δείγμα και στη συνέχεια τοποθετούνται ανεστραμμένα στο θάλαμο επώασης για 24h στους 37°C.

Βήμα 5: Καταμέτρηση του πληθυσμού των αποικιών

Το τελικό βήμα του πειράματος είναι η καταμέτρηση του πληθυσμού των αποικιών σε κάθε τρυβλίο και γίνεται υπολογισμός του αριθμού αποικιών στο mL ($\frac{CFUs}{mL}$).

3.6. Πειραματική διαδικασία χλωρίωσης

- 1) Για την παρασκευή του διαλύματος NaOCl συγκέντρωσης 1000 mg/L ως προς Cl_2 πραγματοποιήθηκε αραίωση πυκνού διαλύματος NaOCl συγκέντρωσης $50 \cdot 10^3$ mg/L ως προς Cl_2 .
- 2) Απαιτείται αρχική συγκέντρωση βακτηρίου στο διάλυμα ίση με 10^7 CFUs/mL. Αρχικά, παρασκευάζεται εναιώρημα το οποίο, βάσει της κλίμακας McFarland, όταν φωτομετρηθεί στα 600nm και έχει απορρόφηση περίπου ίση με $A=0.1$, υπολογίζεται πως περιέχει συγκέντρωση αποικιών ίση με 10^8 CFUs/mL. Έπειτα, με την κατάλληλη αραίωση επιτυγχάνεται η απαιτούμενη αρχική συγκέντρωση στο διάλυμα.
- 3) Προετοιμάζονται σωλήνες erendorf (χωρητικότητας 1,5ml) στους οποίους τοποθετείται ποσότητα διαλύματος $Na_2S_2O_3$ (συγκέντρωσης 18mg/L) ίση με 90μL, με σκοπό την διακοπή της δράσης του υπολειμματικού χλωρίου στο δείγμα, σε κάθε χρονική στιγμή t της δειγματοληψίας.

Τιτλοδότηση

Για τον έλεγχο της δραστηριότητας του διαλύματος NaOCl συγκέντρωσης 1000 mg/L ως προς Cl_2 , πραγματοποιείται τιτλοδότηση με στόχο τον υπολογισμό της συγκέντρωσής του ως προς Cl_2 με την πάροδο του χρόνου.

Έτσι, σε μία κωνική φιάλη προστίθενται τα εξής:

- 10 mL διαλύματος NaOCl συγκέντρωσης 1000 mg/L ως προς Cl_2
- 5mL οξικού οξέος
- 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 :

$$\frac{g}{L} Cl_2 = \frac{(ml Na_2S_2O_3 \text{ που καταναλώθηκαν}) \times 0.1N \times 35.5}{10 mL}$$

Όπου:

10mL είναι η ποσότητα διαλύματος που χρησιμοποιήθηκε για την τιτλοδότηση

35.5 είναι το Ar του χλωρίου

Πειραματική διαδικασία

Χρησιμοποιήθηκε ως απολυμαντικό μέσο NaOCl συγκέντρωσης 1000 mg/L ως προς Cl₂. Για κάθε στέλεχος, παρασκευάστηκε διάλυμα 300 mL. Χρησιμοποιήθηκε NaCl 0,9% w/v ως υδατική μήτρα και εναιώρημα που παρασκευάστηκε από αποστειρωμένο νερό και αποικίες του βακτηρίου που επρόκειτο να υποβληθεί σε απολύμανση. Στη συνέχεια, με την προσθήκη χλωρίου δόσης 0.3 mg/L αρχίζει η πειραματική διαδικασία.

Βήμα 1:

Πριν την έναρξη του χρονόμετρου, απομονώνεται δείγμα ποσότητας 1mL με αυτόματη πιπέτα και τοποθετείται σε σωλήνα erendorf. Το δείγμα μεταφέρεται στο ψυγείο ώστε να σταματήσει η πιθανή ανάπτυξη του βακτηρίου.

Βήμα 2:

Προστίθεται η απαραίτητη δόση χλωρίου, ενώ η ανάδευση συνεχίζει και ενεργοποιείται το χρονόμετρο. Για κάθε χρονική στιγμή t (0, 3, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 & 45 min), λαμβάνεται και τοποθετείται σε erendorf ποσότητα ίση με 1mL.

Βήμα 3:

Αναδεύεται καλά το περιεχόμενο των erendorf και επιστρώνεται στο κάθε τριβλίο ποσότητα ίση με 300μL.

Βήμα 4:

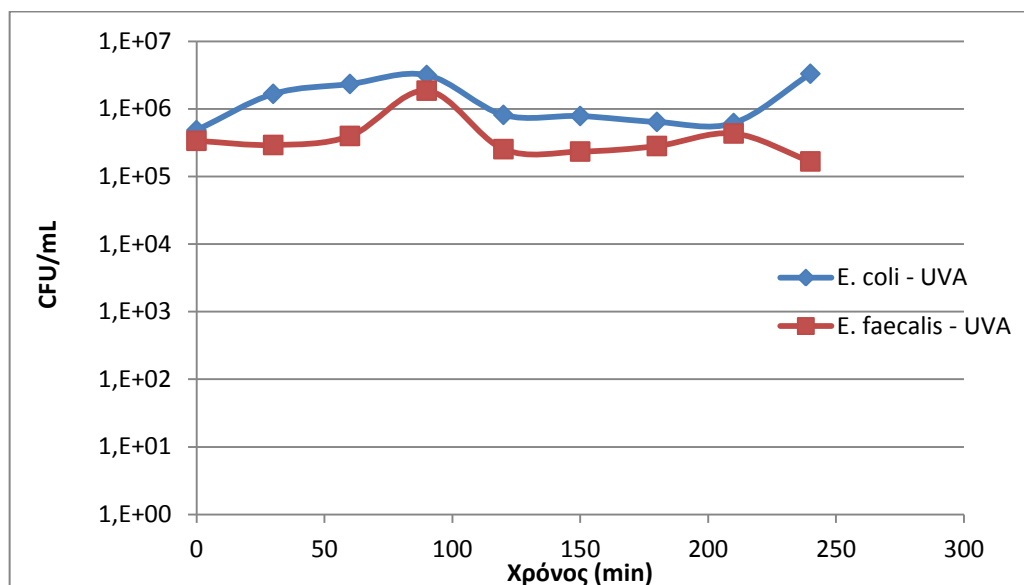
Αφήνονται τα τριβλία για 20 min προκειμένου να ενσωματωθεί στο θρεπτικό υλικό το δείγμα και στη συνέχεια τοποθετούνται ανεστραμμένα στο θάλαμο επώασης για 24h στους 37°C.

Βήμα 5: Το τελικό βήμα του πειράματος είναι η καταμέτρηση του πληθυσμού των αποικιών σε κάθε τριβλίο και γίνεται υπολογισμός του αριθμού αποικιών στο mL ($\frac{CFUs}{mL}$).

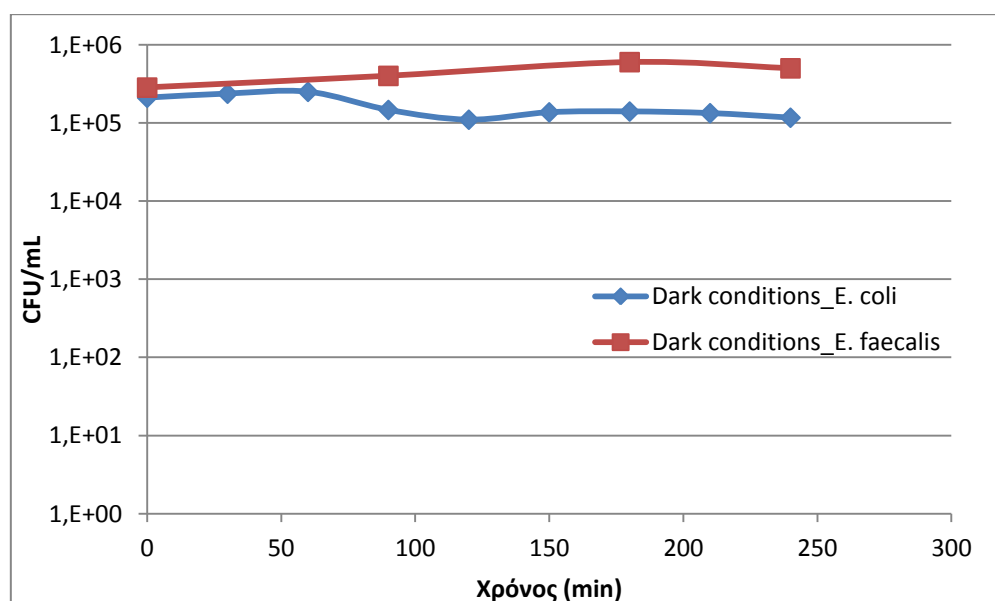
4. Αποτελέσματα – Συζήτηση

4.1 Φωτοκατάλυση

Πραγματοποιήθηκαν προκαταρκτικά πειράματα ποικειμένου να ελεγχθεί η τυχόν αδρανοποίηση των βακτηρίων υπό την επίδραση της ακτινοβολίας UV-A και σε συνθήκες απουσίας φωτός. Όπως φαίνεται στις εικόνες 3 και 4, ο πληθυσμός των βακτηριακών δεικτών δεν επηρεάστηκε και δεν σημειώθηκε κάποια ουσιαστική αδρανοποίηση υπο αυτές τις συνθήκες.



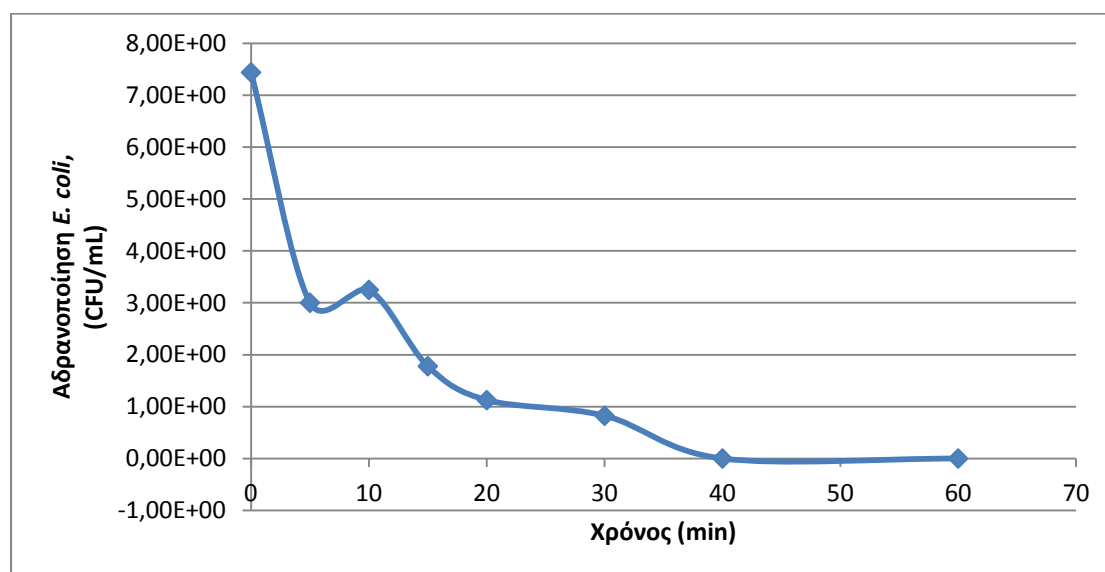
Εικόνα 3: Επίδραση της UV-A ακτινοβολίας στην επιβίωση *E. coli* και *E. faecalis* σε υδατικό διάλυμα.



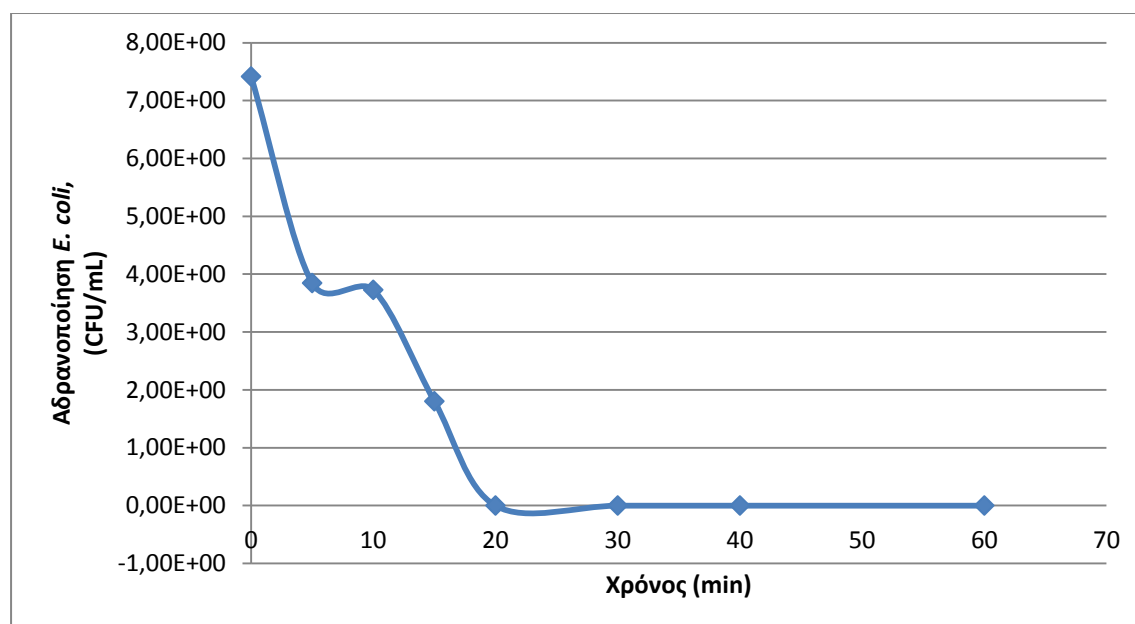
Εικόνα 4: Επιβίωση των *E. coli* και *E. faecalis* σε υδατικό διάλυμα απουσία φωτός.

Επίδραση συγκέντρωσης καταλύτη

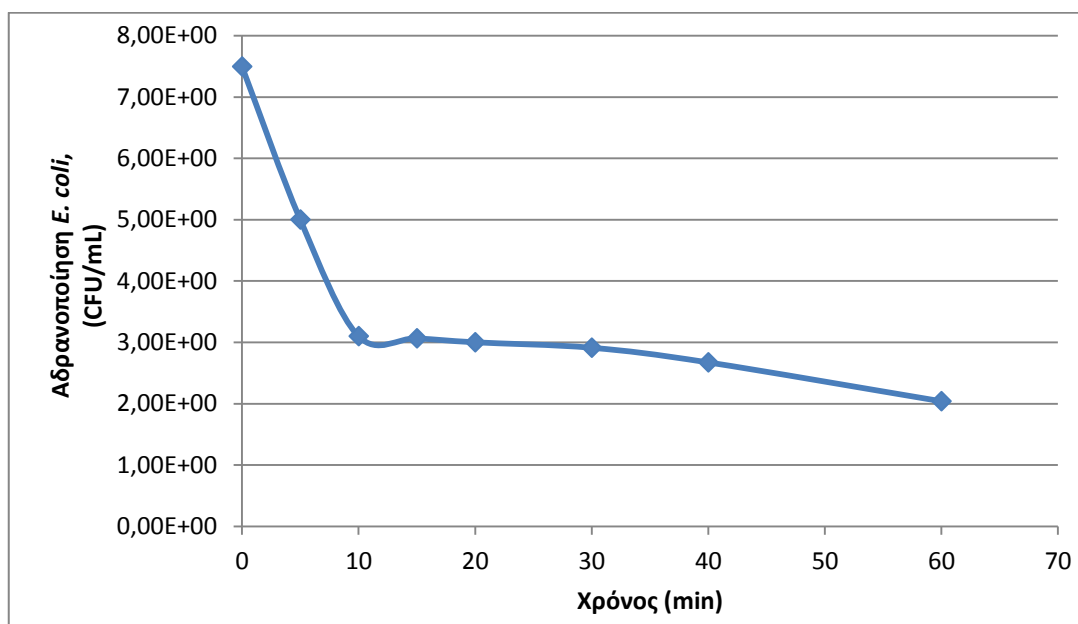
Η εφαρμογή της φωτοκατάλυσης, ως μεθόδου απολύμανσης και η αποτελεσματικότητά της εξαρτάται άμεσα από τη συγκέντρωση του καταλύτη που χρησιμοποιείται σε κάθε περίπτωση. Στο πλαίσιο αυτό πραγματοποιήθηκαν πειράματα με διαφορετικές συγκεντρώσεις TiO_2 για την αδρανοποίηση των βακτηρίων *E. coli* και *E. faecalis*. Συγκεκριμένα, οι συγκεντρώσεις που χρησιμοποιήθηκαν ήταν 20, 25 και 50 mg/L και τα αποτελέσματα φαίνονται στις εικόνες 5-9.



Εικόνα 5: Αδρανοποίηση *E. coli* κατά τη φωτοκατάλυση με UV-A και TiO_2 ($c=20\frac{\text{mg}}{\text{L}}$)



Εικόνα 6: Αδρανοποίηση *E. coli* κατά τη φωτοκατάλυση με UV-A και TiO_2 ($c=25\frac{\text{mg}}{\text{L}}$)



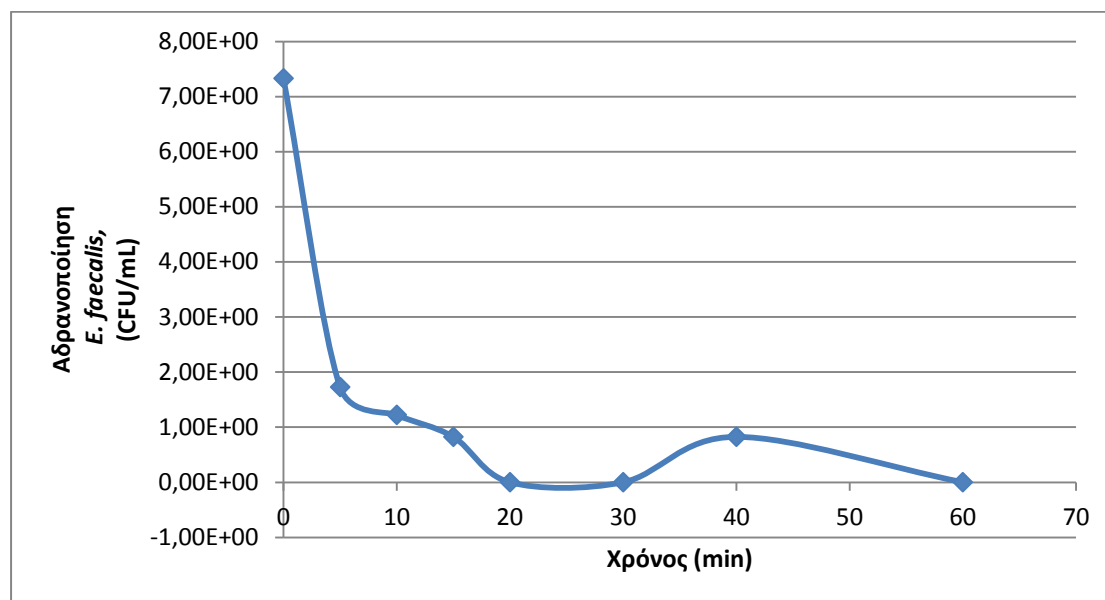
Εικόνα 7: Αδρανοποίηση *E. coli* κατά τη φωτοκατάλυση με UV-A και TiO_2 ($c=50 \frac{\text{mg}}{\text{L}}$)

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα το βακτήριο *E. coli* αδρανοποιείται επιτυχώς σε υδατικό διάλυμα εντός μικρού χρονικού διαστήματος κατόπιν εφαρμογής της μεθόδου. Η συγκέντρωση καταλύτη 25 mg/L είχε τα βέλτιστα αποτελέσματα, καθώς σε 20 min πραγματοποιήθηκε μείωση 7 Log του βακτηριακού πληθυσμού. Η χρήση μικρότερης συγκέντρωσης (20 mg/L) διπλασίασε τον απαιτούμενο χρόνο για την επίτευξη της ίδιας μείωσης του βακτηριακού πληθυσμού. Αντίθετα, αυξάνοντας τη συγκέντρωση του καταλύτη σε 50 mg/L τα αποτελέσματα της απολύμανσης δεν ήταν ικανοποιητικά, δεδομένου ότι σημειώθηκε μείωση 4 Log μετά από 60 min. Το αποτέλεσμα αυτό δεν θεωρείται ικανοποιητικό, καθώς ο συγκεκριμένος βακτηριακός δείκτης, σύμφωνα και με την ισχύουσα νομοθεσία, πρέπει να απουσιάζει πλήρως από το πόσιμο νερό.

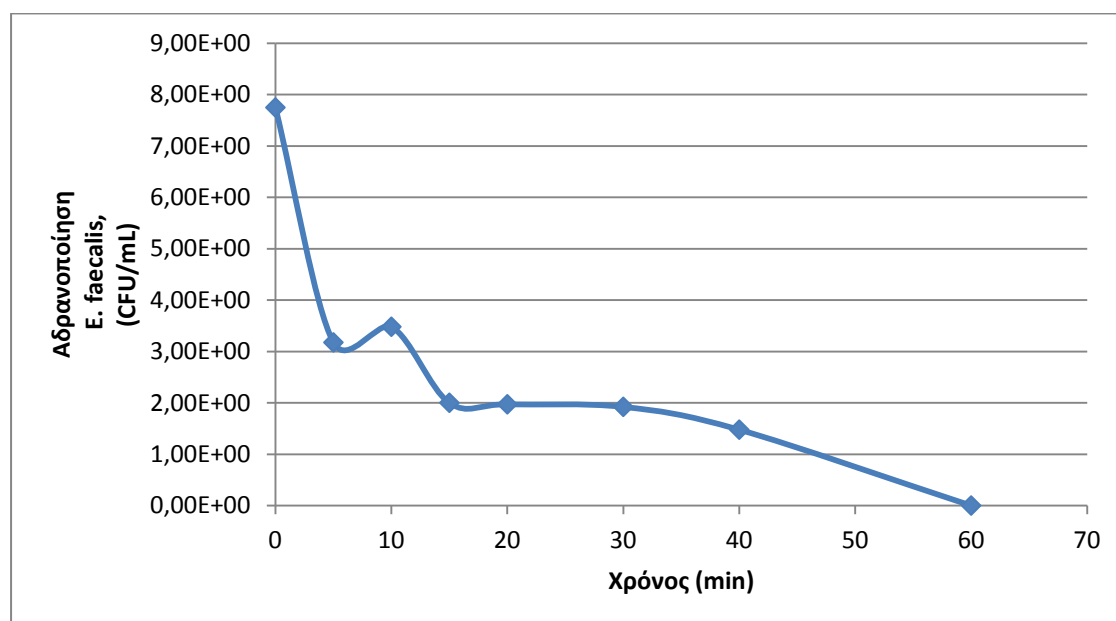
Η αύξηση της συγκέντρωσης του καταλύτη μέχρι μια βέλτιστη τιμή, γενικά επιταχύνει και βελτιστοποιεί τη φωτοκαταλυτική διαδικασία καθώς αυξάνονται τα διαθέσιμα ενεργά κέντρα. Μάλιστα, θεωρείται ότι η συγκέντρωση του TiO_2 είναι ευθέως ανάλογη με το συνολικό ρυθμό της αντίδρασης. Αυτή η γραμμική εξάρτηση υπάρχει μέχρι ενός σημείου έπειτα από το οποίο ο ρυθμός της αντίδρασης αρχίζει να μειώνεται και να γίνεται ανεξάρτητος από τη συγκέντρωση του TiO_2 . Όταν η συγκέντρωση του TiO_2 αυξηθεί πάνω από ένα επίπεδο κορεσμού, η αυξημένη θολερότητα που προκαλείται οδηγεί σε μείωση του συντελεστή απορρόφησης της ακτινοβολίας, κάτι στο οποίο συμβάλλει η γεωμετρία και οι συνθήκες λειτουργίας του

φωτοαντιδραστήρα. Επίσης, σε περίπτωση υπερβολικής φόρτισης έχει παρατηρηθεί καθίζηση του φωτοκαταλύτη.

Παρόμοια αποτελέσματα ελήφθησαν και κατά την αδρανοποίηση του *E. faecalis*, χρησιμοποιώντας συγκεντρώσεις καταλύτη 25 και 50 mg/L, όπως φαίνονται στις εικόνες 8 και 9.



Εικόνα 8: Αδρανοποίηση *E. faecalis* κατά τη φωτοκατάλυση με UV-A και TiO_2 ($c=25\frac{\text{mg}}{\text{L}}$).



Εικόνα 9: Αδρανοποίηση *E. faecalis* κατά τη φωτοκατάλυση με UV-A και TiO_2 ($c=50\frac{\text{mg}}{\text{L}}$).

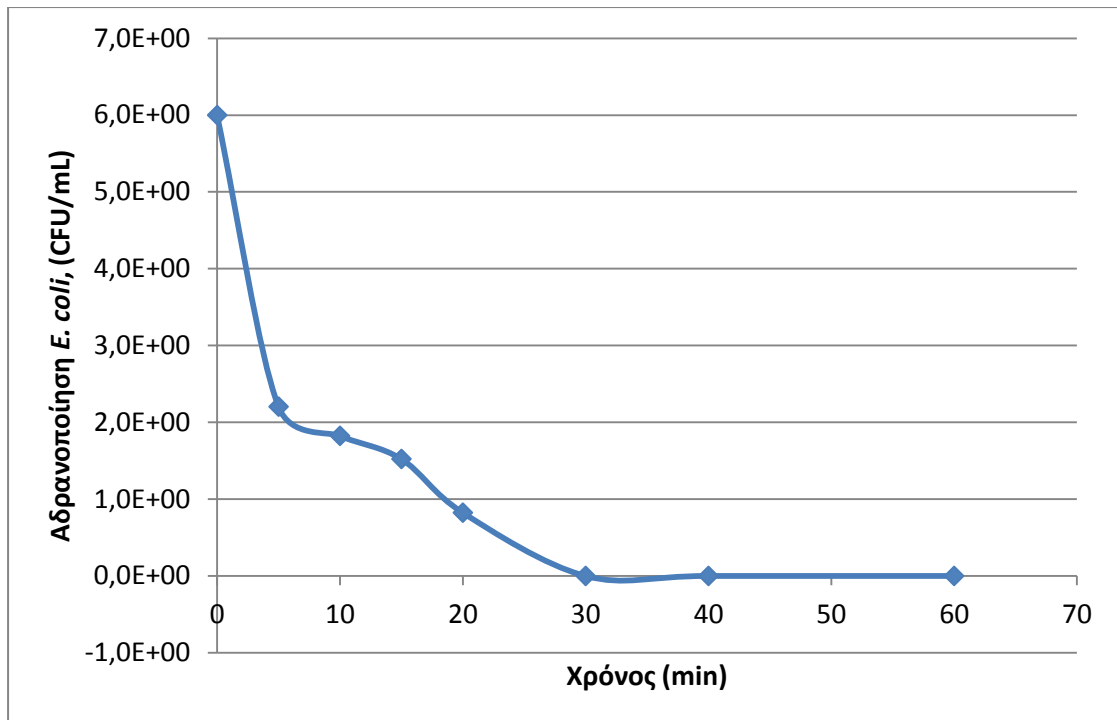
Παρατηρώντας τα διαγράμματα φαίνεται ότι η ιδανική συγκέντρωση καταλύτη για επιτυχή μείωση συγκέντρωσης του *E. faecalis* σε υδατικό διάλυμα σε μικρό χρονικό διάστημα ήταν αυτή των 25 mg/L (μείωση 7 Log σε 20 min). Αντίθετα, αυξάνοντας τη συγκέντρωση του TiO_2 σε 50 mg/L η ίδια μείωση του βακτηριακού πληθυσμού σημειώθηκε σε διάστημα 60 min.

Από τα παραπάνω καθίσταται εμφανές ότι η συγκεκριμένη μέθοδος δύναται να επιτύχει αδρανοποίηση και των δύο βακτηριακών δεικτών κοπρανώδους μόλυνσης με ενδεδειγμένη συγκέντρωση του καταλύτη αυτή των 25 mg/L. Παράλληλα, πρέπει να τονιστεί η πολύ υψηλή αρχική συγκέντρωση και των δύο δεικτών, η οποία δεν συναντάται σε πραγματικές συνθήκες. Η υψηλή αρχική συγκέντρωση επιλέχθηκε για τον έλεγχο αποδοτικότητας της μεθόδου σε ακραίες συνθήκες.

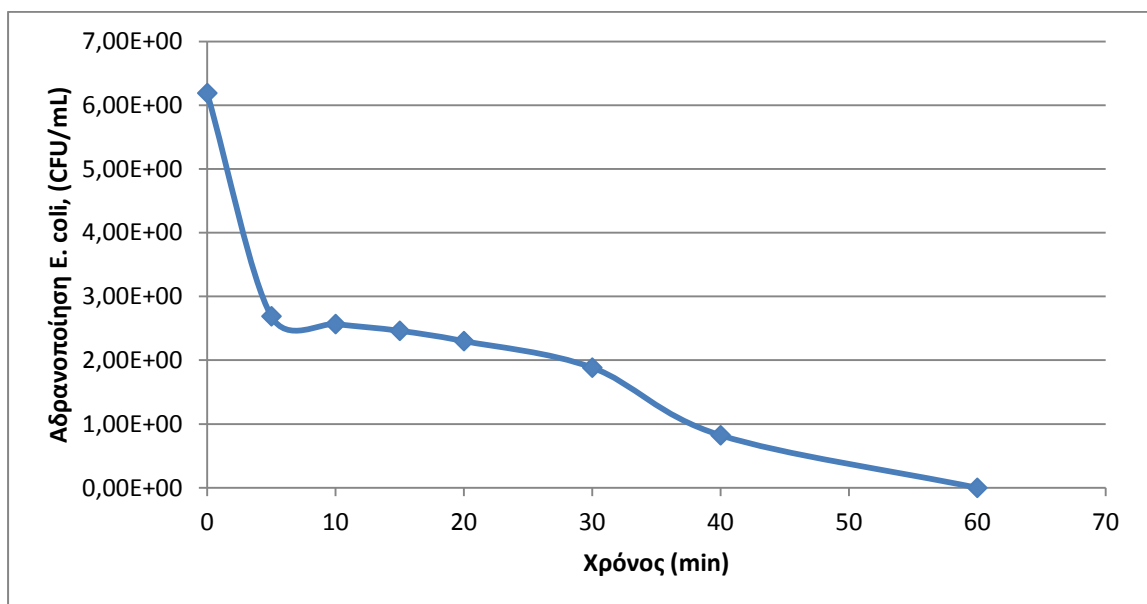
Δοκιμές με μικρότερη αρχική βακτηριακή συγκέντρωση

Η αρχική συγκέντρωση του βακτηριακού πληθυσμού είναι ένας επιπλέον παράγοντας, ο οποίος επηρεάζει την απόδοση μιας μεθόδου απολύμανσης. Στο πλαίσιο της παρούσας εργασίας έγιναν δοκιμές με μικρότερη αρχική συγκέντρωση καθενός δείκτη και συγκεκριμένα με 10^6 CFU/mL. Στις εικόνες 10-13 φαίνονται τα αποτελέσματα αδρανοποίησης των δύο δεικτών κατόπιν της φωτοκατάλυσης. Στα συγκεκριμένα πειράματα επιλέχθηκαν οι συγκεντρώσεις καταλύτη που είχαν την καλύτερη απόδοση, βάσει των αρχικών δοκιμών.

Όσον αφορά στην *E. coli* χρησιμοποιήθηκαν οι συγκεντρώσεις 25 και 50 mg/L. Όπως φαίνεται, χρησιμοποιώντας μικρότερη αρχική συγκέντρωση του βακτηρίου και 25 mg/L καταλύτη, δεν υπήρξε βελτίωση της απόδοσης της μεθόδου. Αντιθέτως, η ολική αδρανοποίηση του βακτηρίου (μείωση 6 Log) σημειώθηκε στα 30 min (εικόνα 10) έναντι των 20 min, που είχαν καταγραφεί με αρχική συγκέντρωση 10^7 CFU/mL (εικόνα 6). Ωστόσο, χρησιμοποιώντας 50 mg/L καταλύτη και αρχική συγκέντρωση βακτηρίων 10^6 CFU/mL, η απόδοση βελτιώθηκε, καθώς πραγματοποιήθηκε ολική αδρανοποίηση του βακτηρίου σε 60 min (εικόνες 7 & 11). Σε αυτήν την περίπτωση η μειωμένη συγκέντρωση του βακτηρίου συνετέλεσε στην απομάκρυνση 100% του πληθυσμού, παρόλο που χρησιμοποιήθηκε η μεγαλύτερη συγκέντρωση του καταλύτη. Εντούτοις, και σε αυτά τα πειράματα είναι εμφανής η καθυστέρηση της διαδικασίας παρουσία υψηλής συγκέντρωσης καταλύτη.

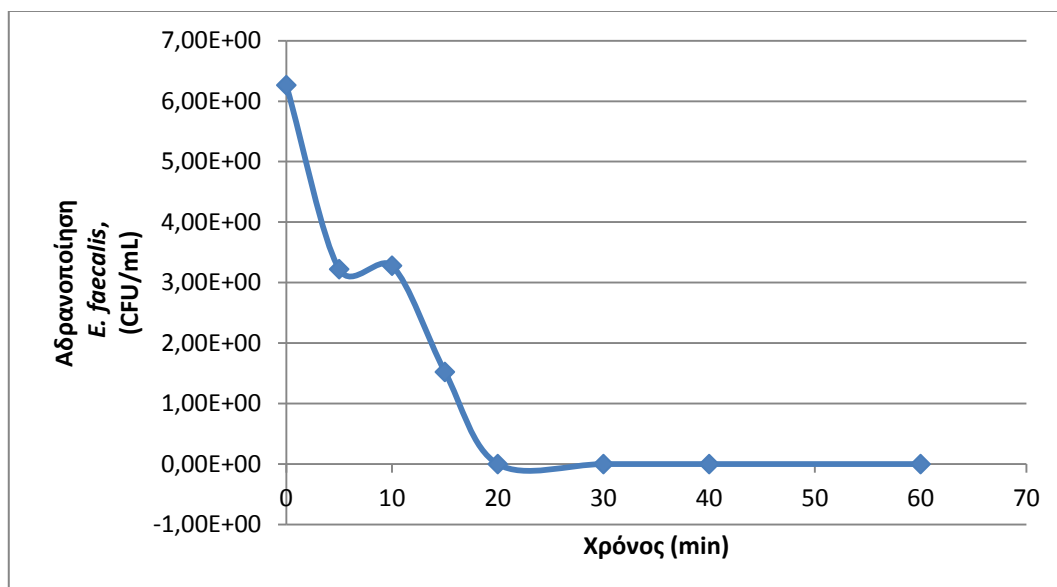


Εικόνα 10: Αδρανοποίηση *E. coli* κατά τη φωτοκατάλυση με UV-A και TiO_2 ($c=25\frac{\text{mg}}{\text{L}}$).

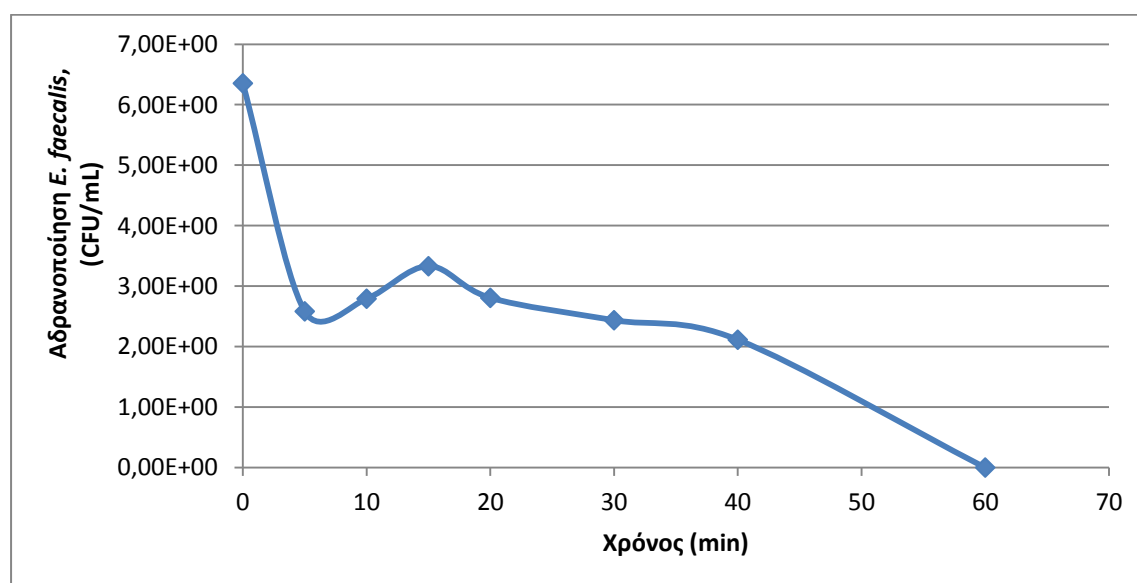


Εικόνα 11: Αδρανοποίηση *E. coli* κατά τη φωτοκατάλυση με UV-A και TiO_2 ($c=50\frac{\text{mg}}{\text{L}}$).

Όσον αφορά στον *E. faecalis*, η μικρότερη αρχική συγκέντρωση του βακτηρίου δεν φάνηκε να επηρεάζει την απόδοση της μεθόδου. Συγκρίνοντας τα διαγράμματα στις εικόνες 8, 9, 12 και 13, φαίνεται ότι ο πληθυσμός αδρανοποιείται στους ίδιους χρόνους. Παράλληλα, παρατηρείται καθυστέρηση της όλης διαδικασίας, παρόλο που εφαρμόστηκε συγκέντρωση βακτηρίου μικρότερη κατά μια τάξη μεγέθους.



Εικόνα 12: Αδρανοποίηση *E. faecalis* κατά τη φωτοκατάλυση με UV-A και TiO_2 ($c=25\frac{\text{mg}}{\text{L}}$).



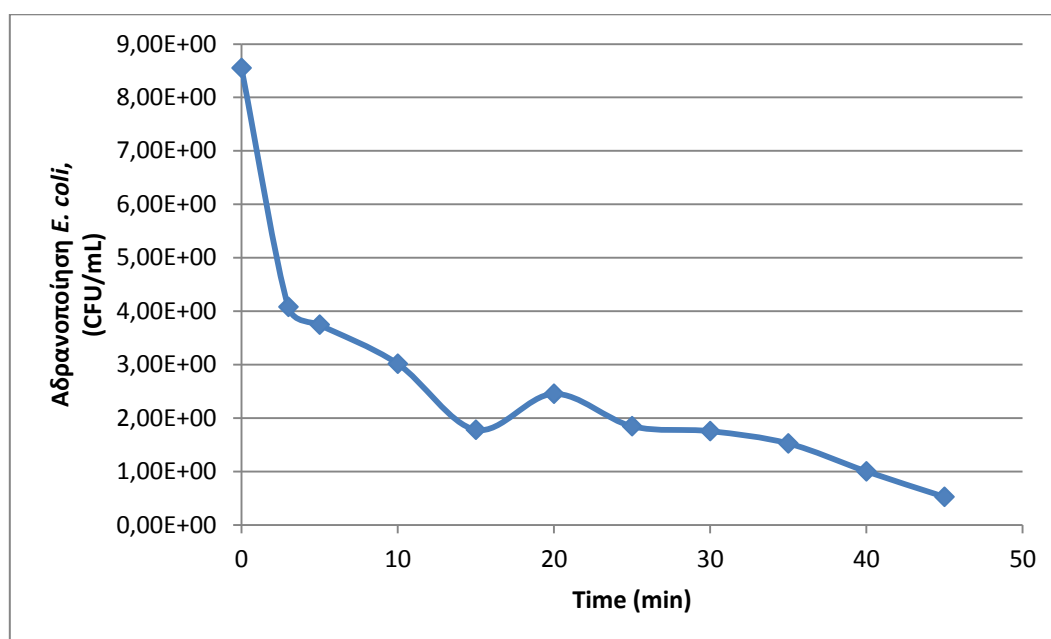
Εικόνα 13: Αδρανοποίηση *E. faecalis* κατά τη φωτοκατάλυση με UV-A και TiO_2 ($c=50\frac{\text{mg}}{\text{L}}$).

Από τα παραπάνω προκύπτει ότι πέρα από τη συγκέντρωση του καταλύτη και την αρχική συγκέντρωση του βακτηριακού πληθυσμού, εξίσου σημαντικό ρόλο παίζει και το είδος του βακτηρίου που εξετάζεται κάθε φορά.

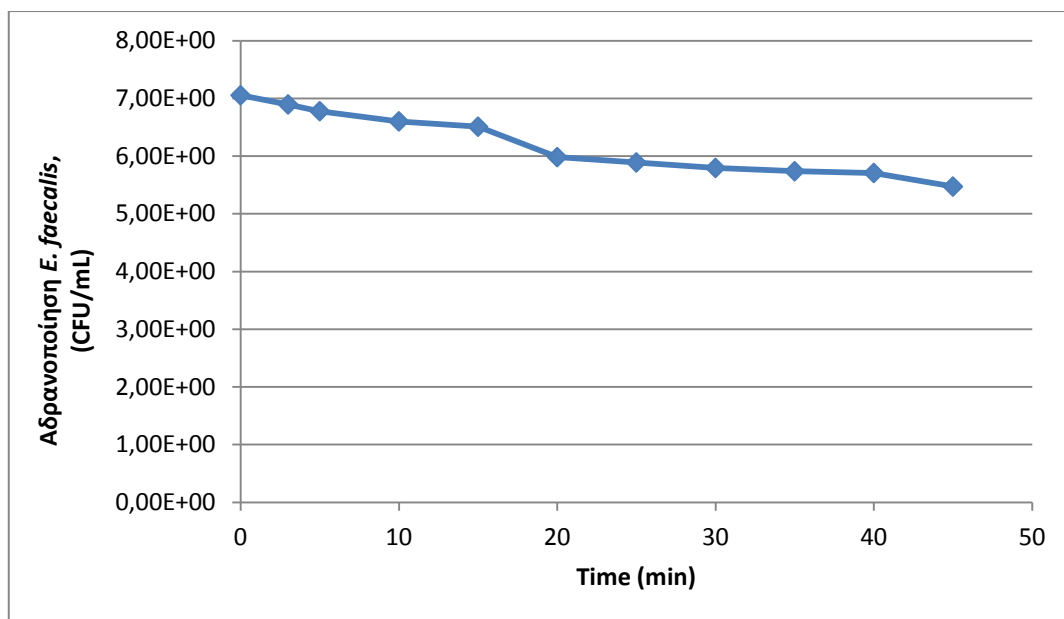
4.2. Χλωρίωση

Στα διαγράμματα που ακολουθούν παρουσιάζονται τα αποτελέσματα που προέκυψαν από την εφαρμογή της χλωρίωσης για την αδρανοποίηση των δύο δεικτών. Επιλέχθηκε συγκέντρωση χλωρίου 0,3 mg/L, η οποία θεωρείται ενδεδειγμένη για την απολύμανση νερού.

Στην περίπτωση της *E. coli* παρατηρήθηκε μείωση 8 Log του βακτηριακού πληθυσμού εντός 45 min (εικόνα 14). Αντίθετα, στην περίπτωση του *E. faecalis*, ο πληθυσμός μειώθηκε περίπου 2 τάξεις μεγέθους στο ίδιο χρονικό διάστημα (εικόνα 15). Πιθανώς, η χρήση μεγαλύτερης συγκέντρωσης του συγκεκριμένου απολυμαντικού να είχε καλύτερη απόδοση, ωστόσο, πρέπει να ληφθεί υπόψη και σε αυτήν την περίπτωση η πολύ υψηλή αρχική συγκέντρωση του Εντερόκοκκου, η οποία δεν ανευρίσκεται στο φυσικό περιβάλλον.



Εικόνα 14: Αδρανοποίηση *E. coli* με NaOCl ($C_{\text{NaOCl}}=0,3 \text{ mg/L}$).



Εικόνα 15: Αδρανοποίηση *E. faecalis* με NaOCl ($C_{NaOCl}=0,3$ mg/L).

Επιπλέον, επισημαίνεται η επίδραση του είδους του μικροοργανισμού στην απόδοση της όλης διαδικασίας, γεγονός που σημειώθηκε και στην περίπτωση της φωτοκατάλυσης. Ο Εντερόκοκκος είναι Gram θετικό βακτήριο σε αντιδιαστολή με την *E. coli* (Gram αρνητικό), το οποίο δηλώνει διαφορετικά δομικά χαρακτηριστικά κι ενδεχομένως διαφορετική συμπεριφορά στις εκάστοτε περιβαλλοντικές συνθήκες. Τα Gram θετικά βακτήρια διαθέτουν παχύ κυτταρικό τοίχωμα, ενώ τα Gram αρνητικά λεπτό κυτταρικό τοίχωμα και μια επιπλέον εξωτερική μεμβράνη. Οι κύριες αυτές διαφορές φαίνεται να επηρεάζουν την ανθεκτικότητα των βακτηρίων στις εκάστοτε αντίξοες συνθήκες, όπως αυτές που επάγονται από μια μέθοδο απολύμανσης. Σε πολλές περιπτώσεις τα Gram θετικά βακτήρια φαίνονται να είναι πιο ανθεκτικά κατά την απολύμανση σε σύγκριση με τα Gram αρνητικά. Αυτό βέβαια δεν αποτελεί κανόνα, ωστόσο έχει παρατηρηθεί σε αρκετές έρευνες. Στην παρούσα εργασία ο *E. faecalis* ήταν πιο ανθεκτικός σε σύγκριση με την *E. coli*, ιδιαίτερα στην περίπτωση της χλωρίωσης. Ο κύριος τρόπος δράσης του χλωρίου είναι η φθορά του κυτταρικού τοιχώματος και η διατάραξη φυσιολογικών λειτουργιών που συνδέονται με την κυτταρική μεμβράνη και γενικά με τα περιβλήματα των βακτηρίων. Το παχύ κυτταρικό τοίχωμα που διαθέτει ο Εντερόκοκκος φαίνεται ότι παρέχει προστασία κατά τη χλωρίωση.

4.2.1. Υπολογισμός C*t

Η αποδοτικότητα ενός απολυμαντικού μπορεί να εκτιμηθεί από το γινόμενο C*t, όπου C η συγκέντρωση του απολυμαντικού και t ο χρόνος που απαιτούνται για την αδρανοποίηση συγκεκριμένου ποσοστού του μικροβιακού πληθυσμού υπό δεδομένες συνθήκες pH & θερμοκρασίας. Συνήθως, το επιθυμητό ποσοστό αδρανοποίησης ενός μικροβιακού πληθυσμού πρέπει να είναι μεγαλύτερο από 99%. Όσο πιο μικρό είναι το γινόμενο C* t τόσο πιο αποτελεσματικό είναι το απολυμαντικό.

Στον παρακάτω πίνακα φαίνονται οι τιμές του γινομένου για τη χλωρίωση, βάσει των οποίων φαίνεται η αναποτελεσματικότητα της χλωρίωσης στις δεδομένες πειραματικές συνθήκες.

Πίνακας 1: Τιμές C·t για 99% μείωση πληθυσμού των βακτηρίων που υποβλήθηκαν σε χλωρίωση με χρήση NaOCl συγκέντρωσης 0,3 mg/L ως προς Cl₂.

Είδος βακτηρίου	C·t	pH	Θερμοκρασία
<i>Escherichia coli</i>	0,6	6,5	25°C
<i>Enterococcus faecalis</i>	5,1	6,5	25 °C

4.3. Κινητική της απολύμανσης

Ο χρόνος επαφής αποτελεί ίσως μία από τις σημαντικότερες μεταβλητές στη διεργασία της απολύμανσης. Η Harriet Chick, εργαζόμενη στην Αγγλία στις αρχές του 1900, παρατήρησε ότι για μία συγκεκριμένη συγκέντρωση απολυμαντικού, όσο μεγαλύτερος είναι ο χρόνος επαφής τόσο μεγαλύτερη είναι η θανάτωση των παθογόνων μικροοργανισμών. Αυτή η παρατήρηση αναφέρθηκε για πρώτη φορά στη βιβλιογραφία το 1908 και σε διαφορετική μορφή ο νόμος της Chick είναι:

$$\frac{dN}{dt} = -kN$$

Όπου :

$\frac{dN}{dt}$ = ο ρυθμός μεταβολής της συγκέντρωσης των μικροοργανισμών με τον χρόνο

k = η σταθερά ταχύτητας αδρανοποίησης των μικροοργανισμών, [T⁻¹]

N = ο αριθμός των μικροοργανισμών σε χρόνο t

t = ο χρόνος

Ο Watson (1908) πρότεινε μια εμπειρική λογαριθμική σχέση που συσχετίζει τη σταθερά ρυθμού αδρανοποίησης k με την συγκέντρωση του απολυμαντικού C :

$$k = C^n t$$

Όπου :

k = η σταθερά ρυθμού αδρανοποίησης των μ/ο

C = η συγκέντρωση του απολυμαντικού

t = ο χρόνος

n = ο συντελεστής αραίωσης του απολυμαντικού

$n > 1$ σημαίνει ότι η συγκέντρωση του απολυμαντικού είναι πιο σημαντική από τον χρόνο επαφής

$n = 1$ σημαίνει ότι η συγκέντρωση και ο χρόνος έχουν την ίδια βαρύτητα

$n < 1$ σημαίνει ότι ο χρόνος είναι πιο σημαντικός από την συγκέντρωση του απολυμαντικού

Συνήθως, χρησιμοποιείται η σταθερά k που αντιστοιχεί σε 99 % αδρανοποίηση των μικροοργανισμών.

Από την παραπάνω εξίσωση προκύπτει ότι για μεγάλες συγκεντρώσεις απολυμαντικού απαιτούνται μικροί χρόνοι επαφής, ενώ για μικρές συγκεντρώσεις μεγάλοι χρόνοι επαφής και συνεπώς μεγάλες δεξαμενές απολύμανσης.

Στην παρούσα εργασία ο ρυθμός απολύμανσης μπορεί να ακολουθήσει ικανοποιητικά μια κινητική πρώτης τάξης. Στον πίνακα 2 φαίνονται σταθερές k , όπως υπολογίστηκαν για κάθε πείραμα που διεξήχθη.

Πίνακας 2: Τιμές της κινητικής σταθεράς αδρανοποίησης k (min^{-1}) των δύο βακτηριακών δεικτών κατά την εφαρμογή φωτοκατάλυσης & χλωρίωσης.

Μέθοδος	Αρχική συγκέντρωση βακτηρίου	Είδος βακτηρίου			
		<i>E. coli</i>		<i>E. faecalis</i>	
		k (min^{-1})	R^2	k (min^{-1})	R^2
Φωτοκατάλυση					
$C_{\text{TiO}_2}=20\text{mg/L}$	10^7CFU/mL	0,6	0,8	-	-
$C_{\text{TiO}_2}=25\text{mg/L}$	10^7CFU/mL	0,72	0,89	0,87	0,72
	10^6CFU/mL	0,52	0,77	0,62	0,87
$C_{\text{TiO}_2}=50\text{mg/L}$	10^7CFU/mL	0,2	0,57	0,27	0,68
	10^6CFU/mL	0,28	0,87	0,2	0,84
Χλωρίωση					
0,3mg/L	10^7CFU/mL	0,23	0,74	0,08	0,94

Συγκρίνοντας τις σταθερές αδρανοποίησης k συμπεραίνουμε ότι η ταχύτερη μείωση των βακτηριακών πληθυσμών πραγματοποιήθηκε με τη φωτοκατάλυση και χρησιμοποιώντας συγκέντρωση καταλύτη 25 mg/L. Σε αυτές τις συνθήκες η αρχική συγκέντρωση καθενός δείκτη επηρέασε σε μικρό βαθμό την ταχύτητα της αντίδρασης. Όσον αφορά στη χλωρίωση, ο πληθυσμός των δύο δεικτών μειώθηκε με πολύ μικρότερη ταχύτητα, γεγονός που επιβάλλει τη χρήση μεγαλύτερης συγκέντρωσης χλωρίου, τουλάχιστον για τόσο υψηλές αρχικές συγκεντρώσεις βακτηρίων.

5. Συμπεράσματα

Στην παρούσα διπλωματική εργασία υλοποιήθηκε η μελέτη της φωτοκατάλυσης (UV-A/ TiO_2) και της χλωρίωσης ως μεθόδων απολύμανσης για την αποτελεσματική αδρανοποίηση των βακτηρίων *E. coli* και *E. faecalis* στο νερό. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα η απόδοση των δύο μεθόδων εξαρτάται άμεσα από τις εκάστοτε λειτουργικές παραμέτρους, καθώς και από το είδος του βακτηρίου. Εντούτοις, και οι δύο κρίνονται αποτελεσματικές για την απολύμανση του νερού υπό ορισμένες συνθήκες.

Όσον αφορά στη φωτοκατάλυση, η συγκέντρωση του καταλύτη παίζει σημαντικό ρόλο. Αυξάνοντας τη συγκέντρωσή του σημειώνεται βελτίωση της απόδοσης αλλά μέχρι ενός σημείου. Η υψηλή συγκέντρωση TiO_2 επιφέρει αρνητικά αποτελέσματα, καθώς παραμένει υψηλό επίπεδο πληθυσμού καθενός βακτηριακού δείκτη μετά το πέρας της διαδικασίας. Υπό τις δεδομένες πειραματικές συνθήκες ενδεδειγμένη συγκέντρωση καταλύτη κρίνεται αυτή των 25 mg/L.

Η αρχική βακτηριακή συγκέντρωση επηρεάζει την αποτελεσματικότητα της απολύμανσης, ωστόσο, αυτό που φαίνεται να επηρεάζει περισσότερο την όλη διαδικασία είναι το είδος του βακτηρίου. Ο Εντερόκοκκος (Gram θετικό βακτήριο) εκδήλωσε μεγαλύτερο βαθμό ανθεκτικότητας σε σύγκριση με την *E. coli* (Gram αρνητικό βακτήριο).

Η χλωρίωση εμφάνισε ικανοποιητική απόδοση για την *E. coli*, ενώ ο Εντερόκοκκος παρέμεινε σε υψηλά επίπεδα μετά από 45 min. Ο συνδυασμός χαμηλής συγκέντρωσης χλωρίου που χρησιμοποιήθηκε και η πολύ υψηλή αρχική συγκέντρωση βακτηρίων είχαν ως αποτέλεσμα τη μέτρια απόδοση της χλωρίωσης. Η χρήση υψηλότερης δόσης χλωρίου πιθανώς να επέφερε αποδοτικότερη αδρανοποίηση του Εντερόκοκκου.

Δεδομένου ότι και οι δύο βακτηριακοί δείκτες πρέπει να απουσιάζουν από το νερό που προορίζεται για ανθρώπινη κατανάλωση, επιβάλλεται η εφαρμογή αποδοτικών μεθόδων απολύμανσης. Καθίσταται απαραίτητος ο σωστός σχεδιασμός της κάθε μεθόδου και η προσεκτική ρύθμιση όλων των λειτουργικών παραμέτρων για την προστασία της δημόσιας υγείας.

6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

-
- ¹ Γκίκας Π. ,2016, Disinfection.pdf, Πανεπιστημιακές σημειώσεις μαθήματος <<Σχεδιασμός Περιβαλλοντικών Εγκαταστάσεων και Εκτίμηση Περιβαλλοντικών Επιπτώσεων II>>, Πολυτεχνείο Κρήτης ,Χανιά
- ² Farrell, Charlotte, et al. "Turbidity composition and the relationship with microbial attachment and UV inactivation efficacy." *Science of the Total Environment* 624 (2018): 638-647
- ³ Καλέμη Ε. ,2015, Αποτελεσματικότητα μεθόδων απολύμανσης όσον αφορά στην αδρανοποίηση βακτηρίων του υδάτινου περιβάλλοντος, Διπλωματική εργασία ,Πολυτεχνείο Κρήτης, Χανιά ,σελίδα 9-11
- ⁴ Λυρώνη Μ. ,2016 ,Αδρανοποίηση του βακτηριοφάγου MS2 στα απόβλητα με διάφορες τεχνικές απολύμανσης, Διπλωματική εργασία , Πολυτεχνείο Κρήτης, Χανιά, σελίδα 11,12
- ⁵ Du, Ye, et al. "Formation and control of disinfection byproducts and toxicity during reclaimed water chlorination: A review." *Journal of Environmental Sciences* 58 (2017): 51-63
- ⁶ Xiang, Huiming, et al. "Degradation of diuron by chlorination and UV/chlorine process: Degradation kinetics and the formation of disinfection by-products." *Separation and Purification Technology* 202 (2018): 365-372.
- ⁷ Du, Ye, et al. "Formation and control of disinfection byproducts and toxicity during reclaimed water chlorination: A review." *Journal of Environmental Sciences* 58 (2017): 51-63
- ⁸ Xiang, Huiming, et al. "Degradation of diuron by chlorination and UV/chlorine process: Degradation kinetics and the formation of disinfection by-products." *Separation and Purification Technology* 202 (2018): 365-372.
- ⁹ Λυρώνη Μ. ,2016 ,Αδρανοποίηση του βακτηριοφάγου MS2 στα απόβλητα με διάφορες τεχνικές απολύμανσης, Διπλωματική εργασία , Πολυτεχνείο Κρήτης, Χανιά, σελίδα 18
- ¹⁰ Καλέμη Ε. ,2015, Αποτελεσματικότητα μεθόδων απολύμανσης όσον αφορά στην αδρανοποίηση βακτηρίων του υδάτινου περιβάλλοντος, Διπλωματική εργασία ,Πολυτεχνείο Κρήτης, Χανιά ,σελίδα 14
- ¹¹ Λυρώνη Μ. ,2016 ,Αδρανοποίηση του βακτηριοφάγου MS2 στα απόβλητα με διάφορες τεχνικές απολύμανσης, Διπλωματική εργασία , Πολυτεχνείο Κρήτης, Χανιά, σελίδα 18

¹² Sharma, Abha, Javed Ahmad, and S. J. S. Flora. "Application of advanced oxidation processes and toxicity assessment of transformation products." *Environmental research* (2018)

¹³ Φραγγεδάκη Α. ,2014, Απολύμανση νερού με τη χρήση φωτοκατάλυσης: Αδρανοποίηση της *Klebsiella pneumoniae* και επίδραση στο γενετικό υλικό της, Μεταπτυχιακή Διατριβή ,Πολυτεχνείο Κρήτης, Χανιά ,σελίδα 25

¹⁴ Λύτρας Χ. , 2016 , Φωτοκαταλυτική επεξεργασία εκροών της εγκατάστασης επεξεργασίας λυμάτων με στόχο την απομάκρυνση ενδοκρινικών διαταρακτών, Διπλωματική εργασία ,Πολυτεχνείο Κρήτης, Χανιά ,σελίδα 14

¹⁵ Παπαδάμ Θ. ,2005, Συνεπεξεργασία οργανικών και μετάλλων με φωτοκατάλυση, Μεταπτυχιακή Διατριβή ,Πολυτεχνείο Κρήτης, Χανιά ,σελίδα 9-11

¹⁶ Φραγγεδάκη Α. ,2014, Απολύμανση νερού με τη χρήση φωτοκατάλυσης: Αδρανοποίηση της *Klebsiella pneumoniae* και επίδραση στο γενετικό υλικό της, Μεταπτυχιακή Διατριβή ,Πολυτεχνείο Κρήτης, Χανιά ,σελίδα 29