



**ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ
ΚΡΗΤΗΣ**

ΣΧΟΛΗ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

**« ΑΔΡΑΝΟΠΟΙΗΣΗ ΠΑΘΟΓΟΝΩΝ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ
ΣΤΑ ΥΓΡΑ ΑΠΟΒΛΗΤΑ ΜΕ ΔΙΑΦΟΡΕΣ
ΜΕΘΟΔΟΥΣ ΑΠΟΛΥΜΑΝΣΗΣ »**

**Διπλωματική Εργασία
Μαντζίκου Μαρία
Α.Μ 2015050096**

**ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ
ΒΕΝΙΕΡΗ ΔΑΝΑΗ (ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ)
ΨΥΛΛΑΚΗ ΕΛΕΥΘΕΡΙΑ
ΣΤΕΦΑΝΑΚΗΣ ΑΛΕΞΑΝΔΡΟΣ**

Χανιά 2021

“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 “.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ένα από τα σημαντικότερα προβλήματα της σημερινής εποχής αποτελεί η υποβάθμιση της ποιότητας των υδάτινων πόρων με αποτέλεσμα να καθίσταται όλο και πιο δύσκολη η εύρεση καθαρού νερού. Το νερό που προορίζεται για ανθρώπινη κατανάλωση πρέπει να είναι απαλλαγμένο από παθογόνους μικροοργανισμούς και για αυτό κρίνεται αναγκαία η απολύμανσή του.

Υπάρχουν διάφοροι τρόποι όπως η απολύμανση με υπεριώδη ακτινοβολία UV, η χλωρίωση και η οζόνωση. Παρά το γεγονός ότι αυτές οι μέθοδοι είναι αποτελεσματικές, έχουν σοβαρά μειονεκτήματα όπως είναι η παραγωγή τοξικών παραπροϊόντων ή το υψηλό κόστος. Στο πλαίσιο αυτό, οι ερευνητές έχουν στρέψει την προσοχή τους στην ανάπτυξη βιώσιμων και αποδοτικών τεχνικών απολύμανσης όπως είναι η αξιοποίηση της ηλιακής ακτινοβολίας μέσω της φωτοκατάλυσης.

Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας ήταν η μελέτη της αδρανοποίησης των παθογόνων βακτηρίων *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* και *Klebsiella pneumoniae* σε λύμα εξόδου δευτεροβάθμιας επεξεργασίας βιολογικού καθαρισμού. Ως μέθοδοι απολύμανσης χρησιμοποιήθηκαν η φωτοκατάλυση με προσομοίωση της ηλιακής ακτινοβολίας, η χλωρίωση και η ακτινοβολία UV-C.

Η πρώτη μέθοδος που εφαρμόστηκε ήταν η φωτοκατάλυση με προσομοίωση ηλιακής ακτινοβολίας και χρήση του καταλύτη $ZnTiO_3$ σε συγκέντρωση 50 mg/L. Η συγκεκριμένη μέθοδος ήταν πιο αποτελεσματική για το βακτήριο *Staphylococcus aureus* καθώς η τάξη μείωσης του πληθυσμού ήταν 6 Logs σε διάρκεια 2h, ενώ για την *Escherichia coli* και *Klebsiella pneumoniae* ήταν 1 και 2 logs αντίστοιχα για την ίδια χρονική διάρκεια.

Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκαν πειράματα απολύμανσης με χρήση ακτινοβολίας UV-C και αποδείχθηκε ως η πιο αποτελεσματική μέθοδος αφού και τα τρία βακτήρια σε χρονικό διάστημα 20 sec παρουσίασαν μείωση της τάξης των 6 Logs.

Τέλος εξετάστηκε η μέθοδος της χλωρίωσης με δύο διαφορετικές συγκεντρώσεις ελεύθερου χλωρίου. Στον πρώτο κύκλο πειραμάτων χρησιμοποιήθηκε NaOCl 1 mg/L ως προς Cl_2 . Η δόση αυτή ήταν αποτελεσματική για τα βακτήρια *Escherichia coli* και *Klebsiella pneumoniae* καθώς υπήρξε μείωση των βακτηριακών πληθυσμών κατά 5 και 4 Logs αντίστοιχα σε χρονικό διάστημα 1 ώρας. Αντιθέτως ο *Staphylococcus aureus* παρουσίασε μικρότερη μείωση συγκέντρωσης, η οποία ήταν της τάξης των 2 Logs έπειτα από 30 min. Στον δεύτερο κύκλο πειραμάτων χρησιμοποιήθηκε NaOCl 5 mg/L ως προς Cl_2 , μηδενίζοντας τις συγκεντρώσεις και των τριών βακτηρίων σε χρονικό διάστημα 2 min.

Από τις τρεις μεθόδους που χρησιμοποιήθηκαν η πιο αποδοτική και για τα τρία βακτήρια που εξετάστηκαν ήταν η UVC, καθώς επιτεύχθηκε πλήρης αδρανοποίηση των μικροοργανισμών σε μικρό χρονικό διάστημα.

ABSTRACT

One of the most important problems nowadays is the quality deterioration of water resources, making it increasingly difficult to find clean water. Water intended for human consumption must be free from pathogenic microorganisms and therefore, the application of appropriate disinfection techniques is imperative should.

Common disinfection methods include UV irradiation, chlorination and ozonation. Although these methods are effective, they have significant disadvantages such as the generation of toxic by-products or high cost. In this context, researchers have turned their attention to the development of alternative sustainable and efficient disinfection techniques like the utilization of solar radiation through photocatalysis.

The purpose of the present study was the inactivation of the pathogenic bacteria *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Klebsiella pneumoniae* secondary treated effluents, applying solar photocatalysis, chlorination and UV-C radiation.

Solar photocatalysis was applied using ZnTiO_3 as catalyst at the concentration of 50 mg/L. This method was more effective for *S. aureus* as the recorded reduction of bacterial population was 6 Logs in 2h. *E. coli* and *K. pneumoniae* were reduced by 1 and 2 Logs, respectively within the same treatment period.

Subsequent disinfection experiments were carried out using UV-C radiation, which proved to be the most effective method since all three bacteria were eliminated over a period of 20 sec.

Finally, chlorination was examined with two different chlorine concentrations, namely 1 and 5 mg/L. In the first cycle of experiments the dose of 1 mg/L was effective for *E. coli* and *K. pneumoniae* as the reduction of bacterial population was 5 and 4 Logs respectively in period of 1 hour. On the contrary, there was only a 2 Log reduction of *S. aureus* population in 30 min. In the second cycle of experiments, the dose of chlorine was 5 mg/L, which resulted in the complete removal of all bacterial load over a period of 2 min.

Of the three methods used the most efficient for all three bacteria examined was UVC, as complete inactivation of microorganisms was achieved in a short period of time.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα διπλωματική εργασία πραγματοποιήθηκε στα πλαίσια του Προγράμματος Προπτυχιακών Σπουδών της Σχολής Μηχανικών Περιβάλλοντος του Πολυτεχνείου Κρήτης και τα πειράματα έλαβαν χώρα στο Εργαστήριο «Περιβαλλοντικής Μικροβιολογίας».

Αρχικά θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την Επιβλέπουσα Καθηγήτρια, κα. Βενιέρη Δανάη, για την ανάθεση του θέματος, την εμπιστοσύνη που μου έδειξε και την εξαιρετική συνεργασία που είχαμε κατά τη διάρκεια της εκπόνησης της εργασίας. Ακόμη ένα τεράστιο ευχαριστώ οφείλω στην κα. Γουνάκη Ιωσηφίνα, ΕΔΙΠ, για όσα μου έμαθε στον εργαστηριακό χώρο, για την υπομονή καθώς και την πολύτιμη καθοδήγησή της.

Επίσης ευχαριστώ πολύ τα μέλη της τριμελούς επιτροπής, την κα. Ψυλλάκη Ελευθερία και τον κ. Στεφανάκη Αλέξανδρο για την παρουσία τους και τον χρόνο που αφιέρωσαν για την αξιολόγηση της εργασίας.

Το μεγαλύτερο ευχαριστώ το οφείλω στους γονείς μου, Ιωάννη και Αναστασία και στην αδερφή μου, Ειρήνη, οι οποίοι με στήριζαν όλα αυτά τα χρόνια με κάθε τρόπο και με βοήθησαν να φτάσω εδώ που είμαι σήμερα.

Τέλος θα ευχαριστήσω τους φίλους μου, σε Αθήνα και Χανιά, για την στήριξη και τα όμορφα φοιτητικά χρόνια που περάσαμε.

Πίνακας περιεχομένων

ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	2
ABSTRACT.....	3
ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ	4
Ευρετήριο εικόνων.....	6
Ευρετήριο πινάκων.....	7
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	8
1.1 Η σημασία του νερού.....	8
1.2 Η αναγκαιότητα της απολύμανσης.....	8
1.2.1 Μηχανισμοί απολύμανσης.....	10
1.2.2 Μέσα και μέθοδοι απολύμανσης.....	10
1.2.3 Παράγοντες που επηρεάζουν τη χρήση απολυμαντικών	11
1.3 Χλωρίωση.....	14
1.3.1 Αντιδράσεις χλωρίου	15
1.3.2 Πλεονεκτήματα χλωρίωσης.....	15
1.3.3 Μειονεκτήματα χλωρίωσης.....	16
1.3.4 Παραπροϊόντα χλωρίωσης.....	16
1.4 Υπεριώδης ακτινοβολία.....	17
1.4.1 Πλεονεκτήματα της υπεριώδους ακτινοβολίας.....	18
1.4.2 Μειονεκτήματα της υπεριώδους ακτινοβολίας.....	19
1.5 Φωτοκατάλυση	19
1.5.1 Ετερογενής φωτοκατάλυση.....	20
1.5.2 Φωτοκατάλυση σε λύμα.....	21
1.5.3 Χρήση TiO_2 ως καταλύτη	21
1.5.4 Περοξοκίτες / doping.....	23
1.6 Βακτηριακοί δείκτες.....	24
1.6.1 <i>Escherichia coli</i>	24
1.6.2 <i>Staphylococcus aureus</i>	25
1.6.3 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	26
2. ΣΚΟΠΟΣ.....	28
3. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ	29
3.1 Υλικά	29
3.2 Πειραματική Διαδικασία.....	31

3.2.1 Παρασκευή θρεπτικών υλικών.....	31
3.2.2 Μέθοδοι	31
4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ - ΣΥΖΗΤΗΣΗ	36
4.1 Αποτελέσματα καταλύτη	36
4.1.1 Τιτανικός Ψευδάργυρος $ZnTiO_3$	36
4.2 Αποτελέσματα φωτοκατάλυσης με προσομοίωση ηλιακής ακτινοβολίας	38
4.3 Αποτελέσματα χλωρίωσης	41
4.4 Αποτελέσματα ακτινοβολίας UV-C.....	44
4.5 Κινητική σταθερά αδρανοποίησης.....	45
4.6 Υπολογισμός γινομένου C^*t	47
4.7 Απόκριση των βακτηριακών στελεχών στις μεθόδους απολύμανσης	49
5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	51
6. ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΕΣ ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ	52
7. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	53

Ευρετήριο εικόνων

Εικόνα 1: Φωτοεπαγόμενος σχηματισμός ζεύγους ηλεκτρονίου - οπής στην επιφάνεια κόκκου (J.M Herrmann, 1999).....	20
Εικόνα 2: α) Κρυσταλλική μορφή ανάτασης καταλύτη διοξειδίου του τιτανίου (https://www.electicallab.gr) β) Σκόνη διοξειδίου του τιτανίου (https://en.wikipedia.org/wiki/Titanium_dioxide)	22
Εικόνα 3: Κύτταρα E. coli (https://www.sigmaaldrich.com/technical-documents/articles/microbiology/escherichia-coli-detection-and-analysis-for-food-safety.html)	25
Εικόνα 4 : Κύτταρα S. aureus (https://www.infectiousdiseaseadvisor.com)	26
Εικόνα 5: Κύτταρα K. pneumoniae (https://www.sciencephoto.com).....	27
Εικόνα 6: Παρασκευή θρεπτικού υλικού Nutrient Agar	31
Εικόνα 7: Καταμέτρηση αποικιών.....	32
Εικόνα 8: Διάγραμμα για το φάσμα περίθλασης ακτίνων-x (XRD) για τον καταλύτη $ZnTiO_3$	36
Εικόνα 9: SEM images για τον καταλύτη $ZnTiO_3$	37
Εικόνα 10: Διάγραμμα απορρόφησης στο υπεριώδες και ορατό φάσμα για τον καταλύτη $ZnTiO_3$	37
Εικόνα 11: Αδρανοποίηση βακτηριακών στελεχών E. coli με φωτοκατάλυση και δόση καταλύτη $ZnTiO_3$ στα 50 mg/L	39

Εικόνα 12: Αδρανοποίηση βακτηριακών στελεχών <i>S. aureus</i> με φωτοκατάλυση και δόση καταλύτη $ZnTiO_3$ στα 50 mg/L	40
Εικόνα 13: Αδρανοποίηση βακτηριακών στελεχών <i>K. pneumoniae</i> με φωτοκατάλυση και δόση καταλύτη $ZnTiO_3$ στα 50 mg/ L.....	41
Εικόνα 14: Αδρανοποίηση παθογόνων βακτηριακών στελεχών <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> και <i>K. pneumoniae</i> με χλωρίωση και δόση χλωρίου 1 mg/L.....	42
Εικόνα 15: Αδρανοποίηση παθογόνων βακτηριακών στελεχών <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> και <i>K. pneumoniae</i> με χλωρίωση και δόση χλωρίου 5 mg/L.....	43
Εικόνα 16: Αδρανοποίηση βακτηριακών στελεχών <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> και <i>K. pneumoniae</i> με χρήση ακτινοβολίας UV-C	44
Εικόνα 17: Απεικόνιση των μεθόδων σε σχέση με την αποτελεσματικότητά τους στην αδρανοποίηση των βακτηρίων	49
Εικόνα 18: Αποτελεσματικότητα μεταξύ των βακτηρίων	50

Ευρετήριο πινάκων

Πίνακας 1: Μηχανισμοί απολύμανσης με χρήση χλωρίου, όζοντος και UV ακτινοβολίας, (Metcalf&Eddy,2007.....	9
Πίνακας 2: Χαρακτηριστικά ενός ιδανικού απολυμαντικού (Metcalf & Eddy, 2007)	14
Πίνακας 3: Οδηγίες για τα παραπροϊόντα της απολύμανσης μέσα στο νερό (Φραγγεδάκη, 2014).....	17
Πίνακας 4 : Κινητική σταθερά αδρανοποίησης βακτηριακών στελεχών χρησιμοποιώντας ως μέθοδο απολύμανσης φωτοκατάλυση με προσομοίωση ηλιακής ακτινοβολίας.....	45
Πίνακας 5: Κινητική σταθερά αδρανοποίησης βακτηριακών στελεχών χρησιμοποιώντας ως μέθοδο απολύμανσης χλωρίωση	45
Πίνακας 6: Κινητική σταθερά αδρανοποίησης βακτηριακών στελεχών χρησιμοποιώντας ως μέθοδο απολύμανσης ακτινοβολία UV-C.....	46
Πίνακας 7: Πίνακας C^*t για 99% μείωση πληθυσμού των βακτηρίων που υποβλήθηκαν σε χλωρίωση 1 και 5 mg/L, χρόνος t (min) ($pH=7$ & θερμοκρασία= $25^{\circ}C$).....	48

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Η σημασία του νερού

Το νερό είναι ένας φυσικός πόρος με τεράστια σημασία καθώς αποτελεί έναν από τους βασικότερους παράγοντες για τη ζωή και την ανάπτυξη. Συνιστά περίπου το 75% κατά βάρος του ανθρώπινου οργανισμού, συμμετέχει στη φωτοσύνθεση και στη διεκπεραίωση των μεταβολικών αντιδράσεων, χρησιμοποιείται στη βιομηχανία και την αγροτική παραγωγή, αποτελώντας πολύτιμο αγαθό για τον άνθρωπο και τα οικοσυστήματα (ec.europa.eu) (www.deyamp.gr).

Έχουν παρατηρηθεί διάφορα γεγονότα σχετιζόμενα με την κατάσταση και την ποιότητα του νερού. Παρόλα αυτά, το νερό βρίσκεται σε ανεπάρκεια καθώς οι ανάγκες του πλανήτη για καθαρό νερό αυξάνονται ενώ τα αποθέματά του μειώνονται σημαντικά παγκοσμίως. Περισσότεροι από 2,2 δισεκατομμύρια άνθρωποι ζουν, επί του παρόντος, χωρίς πρόσβαση σε ασφαλές καθαρό νερό (www.unwater.com). Το 80% των ασθενειών στις αναπτυσσόμενες χώρες συνδέονται με το βρόμικο νερό και τις συνθήκες υγιεινής. Ενώ το 1/3 της ανθρωπότητας είναι μόνιμα άρρωστο, εξαιτίας του ακάθαρτου νερού, και 10 εκατομμύρια άνθρωποι πεθαίνουν τον χρόνο από το νερό που πίνουν. Επιπρόσθετα, κάθε στιγμή οι μισές κλίνες των νοσοκομείων καταλαμβάνονται από ασθενείς, που οι ασθένειες τους σχετίζονται με το νερό (www.naftemporiki.gr). Πάνω από 1 δισεκατομμύριο άνθρωποι ζουν σε περιοχές με φαινόμενα λειψυδρίας. Προβλέπεται ότι έως και 3,5 δισεκατομμύρια άνθρωποι θα μπορούσαν να βιώσουν λειψυδρία στις χώρες τους, μέχρι το έτος 2025 (www.wri.org). Η αυξανόμενη ρύπανση υποβαθμίζει τα υδατικά οικοσυστήματα με αποτέλεσμα να καθίσταται όλο και πιο δύσκολη η εύρεση καθαρού νερού.

Για την άμβλυνση του παραπάνω προβλήματος, κρίνεται αναγκαία η εύρεση νέων μεθόδων επεξεργασίας του νερού ή η βελτιστοποίηση των ήδη υπάρχουσών με σκοπό την εξασφάλιση υδατικών πόρων για τις παρούσες ανάγκες αλλά και τις μελλοντικές.

1.2 Η αναγκαιότητα της απολύμανσης

Η απολύμανση αφορά στην αδρανοποίηση των παθογόνων μικροοργανισμών που προκαλούν ασθένειες. Οι παθογόνοι μικροοργανισμοί που βρίσκονται στα απόβλητα μπορεί να προέρχονται από τις απεκκρίσεις ανθρώπων ή ζώων που έχουν προσβληθεί από κάποια ασθένεια ή είναι φορείς αυτής. Δεν καταστρέφονται όλοι οι μικροοργανισμοί κατά τη διάρκεια της διεργασίας. Η απολύμανση ενός ανοικτού ή κλειστού δικτύου νερού ή αποβλήτου έχει στόχο τη μείωση των παθογόνων σε επίπεδα πληθυσμού και κατάσταση τέτοια που να μην επηρεάζουν την ανθρώπινη υγεία. Ως εκ τούτου δεν πρέπει να συγχέεται με την αποστείρωση, η οποία αφορά σε πλήρη καταστροφή των μικροοργανισμών (Σπύρου, 2014).

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 αδρανοποίησης 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 μπορεί να πραγματοποιηθεί 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 υδάτων είναι οι εξής:

- 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	Επειδή το DNA και το RNA φέρουν γενετικές

Τροποποίηση διαπερατότητας του κυτταρικού τοιχώματος	των νουκλεϊκών οξέων (πουρίνες και πυριμιδίνες)	πληροφορίες αναπαραγωγής, η φθορά αυτών των μορίων μπορεί να επιτύχει την αποδοτική αδρανοποίηση του κυττάρου
Υδρόλυση και μηχανική διάσπαση/σχάση	Διάσπαση των δεσμών άνθρακα-αζώτου που οδηγεί σε απολυμερισμό	

1.2.1 Μηχανισμοί απολύμανσης

Για την επεξεργασία της δράσης των απολυμαντικών μέσων έχουν προταθεί πέντε βασικοί μηχανισμοί. Οι μηχανισμοί αυτοί 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 καθώς και η παρεμπόδιση της ενζυματικής δράσης (Καλέμη, 2015). Η συγκέντρωση του απολυμαντικού που θα χρειαστεί και ο χρόνος επαφής, δεν είναι σταθερά στοιχεία καθώς επηρεάζονται από τη θερμοκρασία, το pH και τη θολερότητα του νερού. Συνεπώς οι μεταβλητές αυτές, επιδρούν στην αποτελεσματικότητα της απολύμανσης. Για την απολύμανση του νερού χρησιμοποιούνται συγκεκριμένες χημικές ουσίες, οι οποίες επιδρούν στους μικροοργανισμούς με αποτέλεσμα την καταστροφή τους (Τσίρου, 2020).

1.2.2 Μέσα και μέθοδοι απολύμανσης

Η απολύμανση συνήθως επιτυγχάνεται με τη χρήση (Metcalf & Eddy, 2007):

- **Χημικών αντιδραστηρίων**, στην κατηγορία αυτή περιλαμβάνονται (1) το χλώριο και οι ενώσεις του, (2) το βρώμιο, (3) το ιώδιο, (4) το όζον, (5) η φαινόλη και φαινολικές ενώσεις, (6) αλκοόλες, (7) βαριά μέταλλα και σχετικές ενώσεις, (8) χρωστικές ενώσεις/ βαφές, (9) σαπούνια και συνθετικά απορρυπαντικά, (10) ενώσεις τεταρτογενούς αμμωνίου, (11) το υπεροξειδίο του υδρογόνου, (12) το υπεροξικό οξύ, (13) διάφορα μέταλλα, (14) διάφορα οξέα.
- **Φυσικών αντιδραστηρίων**, στην κατηγορία αυτή ανήκουν η θερμότητα, το φως και τα ηχητικά κύματα.
- **Μηχανικών μέσων**, η απομάκρυνση των μικροοργανισμών μπορεί να γίνει με διεργασίες όπως :
 1. Χονδρές σχάρες
 2. Λεπτές σχάρες
 3. Εξαμμωτές
 4. Καθίζηση
 5. Χημική καθίζηση
 6. Βιολογικά φίλτρα

7. Ενεργός ιλύ
 8. Χλωρίωση επεξεργασμένων αποβλήτων
- **Ακτινοβολίας**, οι κυριότεροι τύποι ακτινοβολίας είναι η ηλεκτρομαγνητική, η ηχητική και η σωματιδιακή.

1.2.3 Παράγοντες που επηρεάζουν τη χρήση απολυμαντικών

Η αποτελεσματικότητα μετράται με το λογαριθμικό δείκτη απομάκρυνσης των παθογόνων μικροοργανισμών LVR, ο οποίος καθορίζεται από τον λογάριθμο της αναλογίας της συγκέντρωσης των παθογόνων στην εισροή και στην εκροή του αιωρήματος μιας επεξεργασίας και δίνεται από τη σχέση:

$$LVR = \log_{10} \left(\frac{C_{in}}{C_{out}} \right)$$

Συνεπώς, για συγκεκριμένο παθογόνο τιμή LVR ίση με 1 αντιστοιχεί σε 90% απολύμανση, ενώ όταν είναι ίση με 4 αντιστοιχεί σε 99.99% απολύμανση (Φραγγεδάκη, 2014). Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, η αποτελεσματικότητα των απολυμαντικών εξαρτάται από διάφορους μεταβλητούς παράγοντες, μερικοί από τους οποίους αναλύονται στη συνέχεια.

- Είδος του απολυμαντικού

Η απόδοση της απολύμανσης εξαρτάται από το είδος του απολυμαντικού που χρησιμοποιούμε εναντίον συγκεκριμένων μικροοργανισμών. Το χλώριο και οι διάφορες ενώσεις του για παράδειγμα, δεν επιτυγχάνουν τον υψηλό ρυθμό θανάτωσης κάποιων ιών που επιτυγχάνει το όζον (Metcalf & Eddy, 2007).

- Είδος του μικροοργανισμού

Η αποτελεσματικότητα της απολύμανσης επηρεάζεται από τη φύση και την κατάσταση των μικροοργανισμών. Γενικά είναι πιο δύσκολο να καταπολεμηθούν, λόγω της κυτταρικής τους δομής, τα πρωτόζωα και ακολουθούν οι ιοί και τα βακτήρια. Αυξημένη αντίσταση στην απολύμανση παρουσιάζουν οι μικροοργανισμοί που εμφανίζουν ανθεκτικές μορφές όπως κύστες και σπόρια (Ρήγα, 2006).

- Χρόνος επαφής

Ο χρόνος επαφής αποτελεί 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. Αυτό εκφράζεται με τις ακόλουθες μαθηματικές σχέσεις (Metcalf & Eddy, 2007):

$$\frac{dN_t}{dt} = -k * N_t$$

Όπου,

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

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

N, ο αριθμός των μικροοργανισμών σε χρόνο t

Αν N₀ είναι ο αριθμός των οργανισμών όταν t ισούται με το μηδέν, τότε:

$$\frac{N_t}{N_0} = e^{-k*t} \rightarrow \ln \frac{N_t}{N_0} = -k * t$$

Η τιμή της σταθεράς k λαμβάνεται από το διάγραμμα $-\ln \frac{N_t}{N_0}$, ως προς τον χρόνο επαφής t.

- Συγκέντρωση απολυμαντικού

Ο Watson ανέφερε ότι η σταθερά του ρυθμού απενεργοποίησης σχετίζεται με τη συγκέντρωση του απολυμαντικού μέσου C, ως ακολούθως:

$$k = k' * C^n$$

Όπου,

k, η σταθερά ρυθμού απενεργοποίησης,

k', η σταθερά αποδεκατισμού

C, η συγκέντρωση του απολυμαντικού

n, ο συντελεστής διάλυσης

n = 1, σημαίνει ότι η συγκέντρωση του απολυμαντικού και ο χρόνος επαφής είναι εξίσου σημαντικοί παράγοντες.

n > 1, σημαίνει ότι η συγκέντρωση του απολυμαντικού είναι πιο σημαντική από το χρόνο επαφής.

n < 1, σημαίνει ότι ο χρόνος επαφής είναι πιο σημαντικός από τη συγκέντρωση του απολυμαντικού.

- 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:

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

Όπου,

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

E, η ενέργεια ενεργοποίησης J/mole (cal/mole)

R, σταθερά των αερίων, $8.3144 \text{ J/mole} \cdot \text{K} = (1.99 \text{ cal/mole} \cdot \text{K})$

- Θολερότητα

Η θολερότητα αποτελεί μέτρο της συγκέντρωσης των αιωρούμενων σωματιδίων στο νερό. Έχει αποδειχθεί ότι επιδρά αρνητικά στη διαδικασία απολύμανσης, καθώς τα αιωρούμενα σωματίδια μπορεί να περιβάλλουν τους παθογόνους μικροοργανισμούς προστατεύοντάς τους από τη δράση του απολυμαντικού. Επιπρόσθετα, αυξάνεται η απαιτούμενη δόση απολυμαντικού καθώς το υλικό από το οποίο αποτελούνται τα σωματίδια αυτά χρήζει κάποιας ποσότητας απολυμαντικού (Πολίτη, 2012).

- 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 υποβοηθείται ο πολλαπλασιασμός τους λόγω των ευνοϊκών συνθηκών (κατάλληλο pH, θερμοκρασία) που επικρατούν στο υμένιο σε σχέση με το εναίωρημα, καθιστώντας τη διαδικασία της απολύμανσης ακόμη πιο δύσκολη (Φραγγεδάκη, 2014).

- Ισχύς και φύση των φυσικών μέσων απολύμανσης

Η θερμότητα και το φως είναι φυσικά μέσα απολύμανσης που έχουν χρησιμοποιηθεί κατά καιρούς για την απολύμανση των υγρών αποβλήτων. Παρατηρήθηκε ότι η απόδοσή τους εξαρτάται από την ισχύ τους. Για παράδειγμα αν η αποσύνθεση των οργανισμών μπορεί να περιγραφεί με μία πρώτης τάξης αντίδραση, τότε η επίδραση της ισχύος του φυσικού απολυμαντικού αντιπροσωπεύεται με τη σταθερά k μέσω κάποιων συναρτησιακών σχέσεων (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 υποχλωριδίων, των φαινολίων και του ιωδίου (Φραγγεδάκη, 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

1.3 Χλωρίωση

Η χλωρίωση είναι η πιο διαδεδομένη μέθοδος απολύμανσης νερού και υγρών αποβλήτων, καθώς έχει αρκετά καλή βακτηριοκτόνο δράση, χαμηλό λειτουργικό κόστος, εύκολη εγκατάσταση και συντήρηση. Η χλωρίωση επιτυγχάνεται με προσθήκη στο νερό είτε ελεύθερου χλωρίου, είτε χημικών ενώσεων του χλωρίου. Οι βασικές μορφές με τις οποίες χρησιμοποιείται το χλώριο ως απολυμαντικό είναι :

- ελεύθερο χλώριο (Cl_2)
- υποχλωριώδες ασβέστιο ($\text{Ca}(\text{OCl})_2$)
- υποχλωριώδες νάτριο (NaOCl), το οποίο διαλυμένο στο νερό σχηματίζει υποχλωριώδες οξύ (HOCl) και υδροχλωρικό οξύ (HCl)
- διοξείδιο του χλωρίου (ClO_2), που δεν διαλύεται στο νερό

Η ποσότητα του χλωρίου που απαιτείται για απολύμανση, εξαρτάται από την περιεκτικότητα των οργανικών ουσιών στο νερό.

Αν και ο τρόπος με τον οποίο καταστρέφει το χλώριο τους παθογόνους μικροοργανισμούς, δεν έχει εξακριβωθεί, για τα βακτήρια η πιο πιθανή εξήγηση είναι οι βλάβες της φυσιολογικής λειτουργίας τους, που συνδέονται με την κυτταρική τους μεμβράνη. Η αδρανοποίηση των ιών γίνεται μέσω της αντίδρασης του χλωρίου με το πρωτεϊνικό καψίδιο ή/και με τα νουκλεϊκά οξέα των ιών (Metcalf & Eddy, 2007).

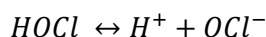
1.3.1 Αντιδράσεις χλωρίου

Όταν το χλώριο στη μορφή αερίου Cl_2 προστίθεται στο νερό, λαμβάνουν χώρα δύο αντιδράσεις, η υδρόλυση και ο ιονισμός.

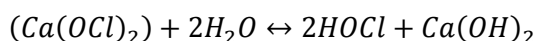
Η υδρόλυση είναι η αντίδραση στην οποία το αέριο χλώριο ενώνεται με το νερό και σχηματίζει υποχλωριώδες οξύ ($HOCl$).



Ο ιονισμός του υποχλωριώδους οξέως σε υποχλωριώδες ιόν OCl^- μπορεί να οριστεί ως:



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



1.3.2 Πλεονεκτήματα χλωρίωσης

Η χλωρίωση, ως μέθοδος απολύμανσης, έχει τα παρακάτω πλεονεκτήματα :

- Είναι εύκολη στην εφαρμογή και στην συντήρηση.
- Έχει χαμηλό κόστος σε σχέση με τις άλλες μεθόδους απολύμανσης.
- Είναι αποτελεσματική για ένα ευρύ φάσμα μικροοργανισμών.

Παρόλα αυτά, πρόσφατα έχουν δημιουργηθεί αμφιβολίες σχετικά με την αξιοπιστία αυτής της μεθόδου, λόγω των δυσάρεστων επακόλουθων που μπορεί να έχει η παρατεταμένη χρήση της.

1.3.3 Μειονεκτήματα χλωρίωσης

- Η χλωρίωση προσδίδει έντονη γεύση και οσμή στο νερό, γεγονός που οφείλεται όχι αποκλειστικά στο χλώριο καθ' αυτό αλλά και στα διάφορα τοξικά παραπροϊόντα λόγω της απολύμανσης.
- Η απολύμανση του νερού με χλώριο δεν συνεπάγεται ότι το νερό είναι καθαρό, καθώς κάποια είδη παθογόνων όπως βακτηριακοί σπόροι, κύστεις πρωτοζώων και ιοί εμφανίζουν μεγάλη ανθεκτικότητα στο χλώριο με αποτέλεσμα να απαιτούν περαιτέρω επεξεργασία (Μακροπούλου, 2018).
- Σε περίπτωση που το νερό προορίζεται για επαναχρησιμοποίηση είναι απαραίτητη η αποχλωρίωσή του προς αποφυγή ζημιών σε οικοσυστήματα λόγω της έντονης δράσης του υπολειμματικού χλωρίου.

1.3.4 Παραπροϊόντα χλωρίωσης

Με τη χλωρίωση έχει παρατηρηθεί και η παραγωγή ανεπιθύμητων παραπροϊόντων (disinfection byproducts, DBPs) (Μακροπούλου, 2017). Το χλώριο αντιδρά με διάφορες οργανικές ενώσεις και παράγει χημικές ενώσεις αντικατάστασης οι οποίες ονομάζονται τριαλογομεθάνια ή τριαλομεθάνια (trihalomethanes, TMH). Τα TMH είναι διαλυτά στο νερό χλωριωμένοι υδρογονάνθρακες πολλοί από τους οποίους δημιουργούν σημαντικά προβλήματα ποιότητας στο νερό γιατί έχουν θεωρηθεί ως επικίνδυνα καρκινογόνα με αρνητικές επιπτώσεις στην υγεία. Τα πλέον συνηθισμένα τριαλομεθάνια που παράγονται είναι : το χλωροφόρμιο (CHCl_3), βρωμοδιχλωρομεθάνιο (CHCl_2Br), χλωροδιβρωμομεθάνιο (CHClBr_2) και το βρωμοφόρμιο (CHBr_3) (Χρυσικόπουλος Κ., 2017). Γενικά, πολλές από τις επιπτώσεις που επιφέρουν τα DBPs είναι ακόμα άγνωστες, κάτι που πρέπει να ερευνηθεί εκτενέστερα για την περίπτωση της κάθε ουσίας ξεχωριστά αλλά και για τη δράση που έχουν τα μίγματα αυτών των ουσιών (Xiao, et al., 2017).

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

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

Υπάρχουν και άλλες ενώσεις ως παραπροϊόντα της χλωρίωσης πέρα των τριαλομεθανίων και θεωρούνται επίσης ως ύποπτα καρκινογόνα. Ακολουθεί πίνακας με ορισμένες από αυτές τις ενώσεις καθώς και οι επιτρεπτές τους συγκεντρώσεις.

Πίνακας 3: Οδηγίες για τα παραπροϊόντα της απολύμανσης μέσα στο νερό (Φραγγεδάκη, 2014)

Κανονισμοί Υπηρεσίας Προστασίας Περιβάλλοντος Ηνωμένων Πολιτειών	Μέγιστο Επίπεδο Ρύπων (mg/L)
Ολικά τριαλομεθάνια (χλωροφόρμιο, βρωμοδιχλωρομεθάνιο, χλωροδιβρωμομεθάνιο, βρωμοφόρμιο	0,080
5 Αλοξικά οξέα (χλωρο-, βρωμο-, διχλωρο-, διβρωμο-, τριχλωροαλοξικό οξύ)	0,060
Βρωμικό ανιόν	0,010
Χλωρικό ανιόν	1,0
Οδηγίες Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας (Π.Ο.Υ)	Τιμές οδηγίας ^a (mg/L)
Χλωροφόρμιο	0,3
Βρωμοδιχλωρομεθάνιο	0,06
Χλωροδιβρωμομεθάνιο	0,1
Βρωμοφόρμιο	0,1
Τετραχλωράνθρακας	0,004
Χλωροξικό οξύ	0,02
Διχλωροοξικό οξύ	0,05 ^b
Τριχλωροοξικό οξύ	0,2
Βρωμικό ανιόν	0,01 ^b
Χλωρικό ανιόν	0,7 ^b
Διχλωροακετονιτρίλιο	0,02 ^b
Διβρωμοακετονιτρίλιο	0,07
Χλωριούχο κυάνιο	0,07
2,4,6 τριχλωροφαινόλη	0,2
N-νιτροσοδιμεθυλαμίνη	0,1
Προδιαγραφές Ευρωπαϊκής Ένωσης	Τιμές προδιαγραφών ^a (mg/L)
Ολικά τριαλομεθάνια	0,1
Βρωμικό ανιόν	0,01 ^c
Άλλοι κανονισμοί	Μέγιστο Επίπεδο Ρύπων (mg/L)
N-νιτροσοδιμεθυλαμίνη	9 ^d , 10 ^e
^a Οδηγίες του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας για τα τριαλομεθάνια αναφέρουν ότι το άθροισμα της αναλογίας της συγκέντρωσης κάθε τριαλομεθανίου προς την αντίστοιχη κατευθυντήρια τιμή του δεν πρέπει να υπερβαίνει την ενότητα. ^b Προσωρινή τιμή οδηγίας ^c Όπου είναι δυνατόν, χωρίς να διακυβεύεται η απολύμανση. Τα κράτη μέλη της ΕΕ θα πρέπει να καταβάλλουν προσπάθειες για χαμηλότερη τιμή ^d Οντάριο, Καναδά ^e Καλιφόρνια, Ηνωμένες Πολιτείες	

1.4 Υπεριώδης ακτινοβολία

Οι μικροβιοκτόνες ιδιότητες της ακτινοβολίας που εκπέμπεται από υπεριώδεις (Ultra Violet, UV) πηγές φωτός, έχουν χρησιμοποιηθεί σε μία 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 (Metcalf & Eddy, 2007).

Το τμήμα του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος στο οποίο λαμβάνει χώρα η υπεριώδης ακτινοβολία είναι μεταξύ των 100 nm και 400 nm και διαχωρίζεται σε 4 περιοχές :

- 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)

Η υπεριώδης ακτινοβολία αποτελεί περισσότερο ένα φυσικό παρά χημικό μέσο απολύμανσης. Η ακτινοβολία διαπερνά το κυτταρικό τοίχωμα των μικροοργανισμών και απορροφάται από τα νουκλεϊκά οξέα, με αποτέλεσμα τη διακοπή της αναπαραγωγής και το θάνατο του κυττάρου (Metcalf & Eddy, 2007). Θα πρέπει να σημειωθεί όμως ότι ορισμένοι μικροοργανισμοί είναι ικανοί να επιδιορθώνουν τις βλάβες (reactivation) που έχει υποστεί το γενετικό τους υλικό και να αναιρέσουν την απολυμαντική δράση της UVC (Χρυσικόπουλος Κ., 2017).

Η αποτελεσματικότητα του υπεριώδους φωτός στα υγρά απόβλητα μειώνεται λόγω χημικών συστατικών και σωματιδίων που επηρεάζουν την μετάδοση της UV στο νερό. Τα αιωρούμενα στερεά σωματίδια μπορεί να αντανakλάσουν, διαθλάσουν και σκεδάσουν την ακτινοβολία UV. Επιπρόσθετα τα κολοβακτηρίδια μπορούν να συνδεθούν με τα σωματίδια σε τέτοιο βαθμό ώστε να προστατευτούν πλήρως από την ακτινοβολία UV.

1.4.1 Πλεονεκτήματα της υπεριώδους ακτινοβολίας

Μερικά από τα πλεονεκτήματα της μεθόδου είναι τα εξής (Metcalf & Eddy, 2007) :

- Μη υπολειμματική τοξικότητα.
- Περισσότερο αποδοτικό από το χλώριο στην αδρανοποίηση των περισσότερων ιών, σπόρων και κυστών.
- Βελτιωμένη ασφάλεια σε σχέση με τη χρήση χημικών απολυμαντικών.
- Αποδοτικό στην καταστροφή των ανθεκτικών οργανικών συστατικών όπως η NDMA (*N*-Nitrosodimethylamine).

1.4.2 Μειονεκτήματα της υπεριώδους ακτινοβολίας

Παρά τα σημαντικά της πλεονεκτήματα, η μέθοδος της υπεριώδους ακτινοβολίας παρουσιάζει και κάποια μειονεκτήματα όπως (Metcalf & Eddy, 2007) :

- Υψηλό κόστος εφαρμογής και συντήρησης (η τιμή πέφτει καθώς νέα και βελτιωμένη τεχνολογία εισέρχεται στην αγορά).
- Δεν παρέχει υπολειμματική συγκέντρωση.
- Λιγότερο αποδοτική στην αδρανοποίησης κάποιων ιών, σπόρων και κυστών στις χαμηλές δοσολογίες που χρησιμοποιούνται για τα κολοβακτηρίδια.
- Μη άμεση μέτρηση για τον έλεγχο της επιτυχίας της απολύμανσης.

1.5 Φωτοκατάλυση

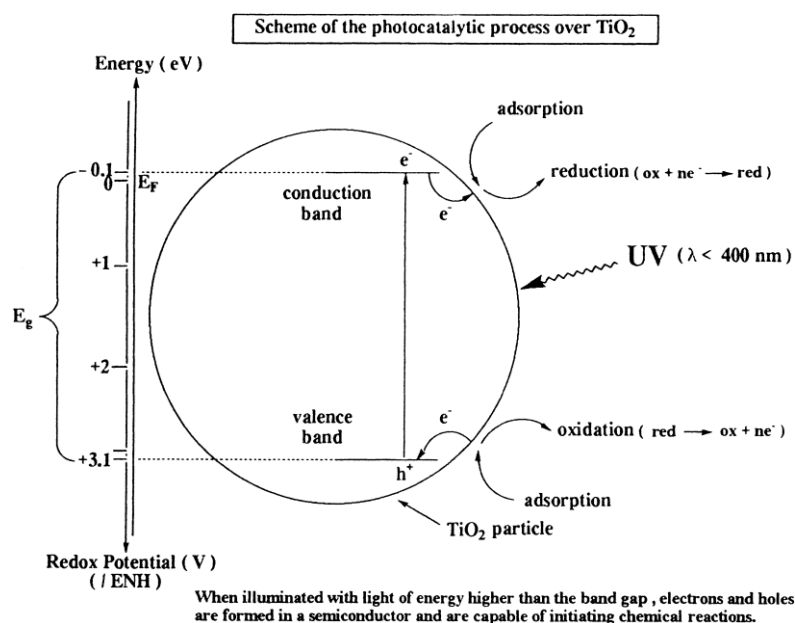
Οι Προηγμένες Διεργασίες Οξειδωσης (Advanced Oxidation Processes - AOPs), έχουν παρουσιάσει ραγδαία ανάπτυξη τα τελευταία χρόνια λόγω της ικανότητάς τους να αδρανοποιούν πολλές τοξικές μη βιοαποδομήσιμων ουσιών που συναντώνται σε υγρή και αέρια φάση αλλά και επειδή οι περιβαλλοντικοί νόμοι γίνονται ολοένα και αυστηρότεροι (Δρούμπαλη, 2010).

Η φωτοκατάλυση διακρίνεται σε δύο κατηγορίες, την ομογενή, δηλαδή ο καταλύτης να είναι της ίδιας μορφής με το διάλυμα (υγρή μορφή) και την ετερογενή, που περιλαμβάνει δύο διαφορετικές φάσεις.

Οι AOPs στηρίζονται στην επί τόπου παραγωγή ενεργών μορφών οξυγόνου (reactive oxygen species, ROS) οι οποίες μπορούν να οξειδώσουν ρύπους και παθογόνους μικροοργανισμούς στο νερό. Πιο αναλυτικά, οι ROS που παράγονται (όπως H_2O_2 , HO^\bullet , $\text{O}_2^{\bullet-}$, O_3) είναι εξαιρετικά ισχυρά μόρια με μη επιλεκτική δράση, τα οποία έχουν την ικανότητα να οξειδώσουν και να ανοργανοποιήσουν σχεδόν όλα τα είδη ρύπων καθώς και να προκαλέσουν σημαντικές καταστροφές στην κυτταρική μεμβράνη και στις ενδοκυτταρικές δομές των μικροβίων. Γενικά, οι AOPs περιλαμβάνουν τεχνολογίες, όπως η φωτόλυση (UV-B,C), η οζονόλυση (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 ($\text{TiO}_2/\text{UV-A}$), η ομογενής κατάλυση και οι διεργασίες Fenton και Photo-Fenton, η υγρή οξείδωση και η ηλεκτροχημική οξείδωση. Κάποιες AOPs, όπως η TiO_2 φωτοκατάλυση χρησιμοποιούν ηλιακή ή τεχνητή ακτινοβολία ως πηγή ενέργειας για την παραγωγή των ROS. Η χρήση της ανανεώσιμης ηλιακής ενέργειας σε τέτοιες διεργασίες μειώνει αισθητά το κόστος και το περιβαλλοντικό τους αποτύπωμα (Tsydenova, et al., 2015). Οι καταλύτες που χρησιμοποιούνται στη φωτοκατάλυση είναι υλικά με βάση το TiO_2 (πρώτη γενιά καταλυτών), με κατάλληλες προσμίξεις (δεύτερη γενιά καταλυτών) και οι περοβσκίτες (τρίτη γενιά καταλυτών) με γενικό τύπο ABO_3 .

1.5.1 Ετερογενής φωτοκατάλυση

Στην ετερογενή φωτοκατάλυση, ένας ημιαγώγιμος 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, η ηλεκτρονιακή δομή των περισσότερων ημιαγώγιμων 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} , Energy band gap) (Φραγγεδάκη, 2014). Όταν ένας ημιαγωγός καταλύτης ακτινοβολείται με φωτόνια των οποίων η ενέργεια είναι ίση ή μεγαλύτερη από το ενεργειακό του χάσμα E_{bg} , τότε αυτά απορροφούνται και δημιουργούν ζεύγη ηλεκτρονίων – οπών, τα οποία διαχωρίζονται και δημιουργούν κενές θέσεις ή θετικές οπές (h^+) στη ζώνη σθένους και την παρουσία ηλεκτρονίων (e^-) στη ζώνη αγωγιμότητας. Τα φωτοδημιουργούμενα σωματίδια δρουν ως ισχυρά αναγωγικά και οξειδωτικά αντίστοιχα και συνεισφέρουν στη μετατροπή του φωτός σε ηλεκτρική ή χημική ενέργεια. 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 τις αντίστοιχες ρίζες υδροξυλίου ($OH\cdot$). Στην ετερογενή φωτοκατάλυση αποβλήτου, οι ρίζες αυτές αποτελούν το κύριο οξειδωτικό μέσο, το οποίο προσβάλλει τα οργανικά μόρια που βρίσκονται στο διάλυμα (Ζουμπούλης και συν., 2015).



Εικόνα 1: Φωτοεπαγόμενος σχηματισμός ζεύγους ηλεκτρονίου - οπής στην επιφάνεια κόκκου (J.M Herrmann, 1999)

1.5.2 Φωτοκατάλυση σε λύμα

Η έρευνα στις απολυμαντικές τεχνικές πραγματοποιείται σε διάφορα υδατικά υλικά, όπως αποστειρωμένο, υπερκάθαρο ή αποιονισμένο νερό για πειραματικούς λόγους, επιφανειακό και υπόγειο νερό, με σκοπό την παραγωγή πόσιμου νερού αλλά και αστικά απόβλητα τα οποία έχουν υποστεί δευτεροβάθμιο βιολογικό καθαρισμό. Η σύνθεση της υδατικής μήτρας επηρεάζει τις κινητικές των αντιδράσεων και τους μηχανισμούς της φωτοκαταλυτικής διαδικασίας λόγω της παρουσίας ή απουσίας οργανικών και ανόργανων διαλυμένων ενώσεων (Venieri and Mantzavinos 2017).

Στα αστικά απόβλητα, υπάρχει υψηλή συγκέντρωση ανόργανων ιόντων, όπως νιτρικά, θειώδη, ανθρακικά άλατα κ.α., οργανικές ενώσεις (Effluent Organic Matter, EfOM) και διαλυμένα στερεά. Γενικά, η αυξημένη συγκέντρωση διαλυμένων ουσιών, μειώνει την απόδοση της φωτοκατάλυσης, επειδή οι ενεργές μορφές οξυγόνου είναι μη επιλεκτικά αντιδραστήρια και καθώς οξειδώνουν διάφορες ενώσεις, μειώνεται η διαθεσιμότητα τους για αντίδραση με τις ενώσεις - στόχους. Ωστόσο, λόγω της μεγάλης ποικιλίας των πιθανών αντιδράσεων που μπορούν να συμβούν σε ένα σύνθετο διάλυμα, η επίδραση των διαλυμένων ιόντων εξαρτάται από τις ειδικές συνθήκες κάθε πειράματος (Venieri and Mantzavinos 2017).

Η θολερότητα και ο φυσικός πληθυσμός των μικροοργανισμών, είναι παράγοντες οι οποίοι επηρεάζουν την απολυμαντική ικανότητα της ακτινοβολίας. Οι οργανικές και ανόργανες ενώσεις, αυξάνουν την θολερότητα του νερού με αποτέλεσμα να εμποδίζεται η διέλευση της ακτινοβολίας και η ενεργοποίηση του φωτοκαταλύτη. Σε πραγματικό δείγμα υγρού αποβλήτου, υπάρχει ποικιλία στελεχών του ίδιου είδους, που έχουν ήδη προσαρμοστεί στις συνθήκες του περιβάλλοντος τους αλλά και μεγάλη ποικιλία διαφορετικών ειδών, μεταξύ των οποίων υπάρχουν ανταγωνιστικές και συμβιωτικές σχέσεις (Κουμάκη, 2017). Όμως κατά τα εργαστηριακά πειράματα, χρησιμοποιούνται απομονωμένα στελέχη μικροοργανισμών. Συνεπώς η απουσία άλλων μικροοργανισμών κατά την πειραματική διαδικασία μπορεί να μεταβάλει την επίδραση της μεθόδου απολύμανσης.

1.5.3 Χρήση TiO_2 ως καταλύτη

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).

Συναντάται σε τρεις κρυσταλλικές μορφές, οι οποίες είναι η ανατάση, το ρουτίλιο και ο μπρουκίτης. 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^+ (Φραγγεδάκη, 2014).

Το διοξείδιο του τιτανίου είναι ευρέως διαθέσιμο, σχετικά φθινό, μη τοξικό και έχει μεγάλη χημική σταθερότητα. Ο καταλύτης TiO_2 έχει μεγάλο $E_{bg} \cong 3.2 - 3.0 \text{ eV}$ και σαν συνέπεια μπορεί να απορροφήσει μόνο το υπεριώδες φως, ειδικά αυτό με μήκος

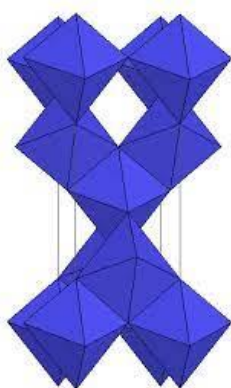
κύματος μικρότερο του 380nm, το οποίο αντιπροσωπεύει ένα μικρό μόνο μέρος του ηλιακού φάσματος (6%) (Parsons et al., 2004). Μία ακόμη αρνητική ιδιότητα είναι ο ταχύς ανασυνδυασμός μεταξύ οπών και ηλεκτρονίων (Venieri and Mantzavinos 2017).

Στα πλεονεκτήματα του συγκεκριμένου καταλύτη αξίζει να αναφερθεί το χαμηλό του κόστος, η εύκολη παραγωγή και χρήση του, η χημική και θερμική του σταθερότητα. Εμφανίζει ισχυρές οξειδωτικές ικανότητες και παρουσιάζει μεγάλη αντίσταση στη φωτοδιάβρωση. Αυτό συμβαίνει καθώς θερμοδυναμικά ευνοείται η οξείδωση του νερού αντί του σχηματισμού μοριακού οξυγόνου από τα ανιόντα οξυγόνου του οξειδίου (Φραγγεδάκη, 2014; Μακροπούλου, 2018).

Παρόλα αυτά, η ύπαρξη τόσων πολλών πλεονεκτημάτων του TiO_2 σαν ημιαγώγιμου φωτοκαταλύτη καθιστά όχι και τόσο σημαντικούς τους περιορισμούς όσον αφορά στο φασματικό προφίλ του και για αυτό αποτελεί τον ιδανικότερο ημιαγώγιμο υλικό για τον καθαρισμό του νερού μέσω ημιαγώγιμης φωτοκατάλυσης (Parsons et al., 2004).

Έχουν μελετηθεί διάφορες τεχνικές για την βελτιστοποίηση των φωτοκαταλυτικών ιδιοτήτων του TiO_2 , όπως (Κουμάκη, 2017) :

- 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).



Εικόνα 2: α) Κρυσταλλική μορφή ανάτασης καταλύτη διοξειδίου του τιτανίου (<https://www.electicallab.gr>) β) Σκόνη διοξειδίου του τιτανίου (https://en.wikipedia.org/wiki/Titanium_dioxide)

1.5.4 Περοβσκίτες / doping

Κατά τη τελευταία δεκαετία, το ερευνητικό ενδιαφέρον έχει επικεντρωθεί στην χρήση της ηλιακής ακτινοβολίας για φωτοκατάλυση και επομένως την εκμετάλλευση της ενέργειας του ορατού φωτός. Για την ενίσχυση των ημιαγωγών συχνά χρησιμοποιούνται μέταλλα ή/ και αμέταλλα. Αυτή η προσθήκη γίνεται με σκοπό να διευρυνθεί το φάσμα απορρόφησης των ημιαγωγών προς την ορατή περιοχή του φωτός, καθώς σχηματίζονται νέα επίπεδα ενέργειας μεταξύ της ζώνης σθένους και αγωγιμότητας.

Ο γενικός χημικός τύπος που χρησιμοποιείται για να περιγράψει τους περοβσκίτες ABX_3 , όπου τα A είναι κατιόντα με μεγάλη ιοντική ακτίνα (έχουν 12 δεσμούς με άτομα οξυγόνου), τα B είναι κατιόντα με μικρότερη ιοντική ακτίνα (έχουν 6 δεσμούς) και τα X είναι το ανιόν (συνήθως οξειδία ή αλογόνα). Οι μοναδικές φυσικές ιδιότητες των περοβσκίτων όπως ο συντελεστής υψηλής απορρόφησης, υψηλή διηλεκτρική σταθερά κλπ., έχουν κερδίσει τεράστιο ενδιαφέρον σε οπτοηλεκτρονικές και φωτοβολταϊκές εφαρμογές (P.C. Reshmi Varma, 2018). Οι περοβσκίτες τιτανικού ντόπινγκ 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).

Εντούτοις, έχουν παρατηρηθεί αρνητικές επιπτώσεις στις ιδιότητες του καταλύτη από την προσθήκη μετάλλων, όπως μειωμένη ανθεκτικότητα στο φως, που οδηγεί σε ταχύτερη ανάλωση του καταλύτη και αύξηση των κέντρων επανασύνδεσης οπών/ηλεκτρονίων (Venieri et al., 2014). Σε πολλές περιπτώσεις πρόσμειξης με κατιόντα μετάλλων, η φωτοκαταλυτική δράση του TiO_2 μειώθηκε ακόμη και στο φάσμα UV. Αυτό οφείλεται στο ότι μειώθηκε η θερμική σταθερότητα ή στην αύξηση των κέντρων επανασύνδεσης οπών/ηλεκτρονίων στην επιφάνεια του (Wang and Lewis, 2006).

1.6 Βακτηριακοί δείκτες

Η κατάταξη των βακτηρίων με την χρώση κατά Gram, γίνεται με βάση τη δομή του κυτταρικού 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 Gram βακτήρια, το κυτταρικό τοίχωμα περιλαμβάνει 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. 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).

Η μικροβιολογική ποιότητα των υδάτων αξιολογείται από την ύπαρξη κοπρανώδους μόλυνσης, δηλαδή από την ανίχνευση σε αυτά ορισμένων μικροοργανισμών – δεικτών. Τέτοιοι μικροοργανισμοί είναι τα κοπρανώδη κολοβακτηριοειδή και οι κοπρανώδεις στρεπτόκοκκοι. Η παρουσία τους σχετίζεται άμεσα με κοπρανώδες υλικό ποικίλης προέλευσης, το οποίο μπορεί να αποτελέσει σημαντικό περιβαλλοντικό πρόβλημα, καθώς μπορεί να περιέχει παθογόνα βακτήρια, πρωτόζωα και ιούς (Βενιέρη Δ., 2016).

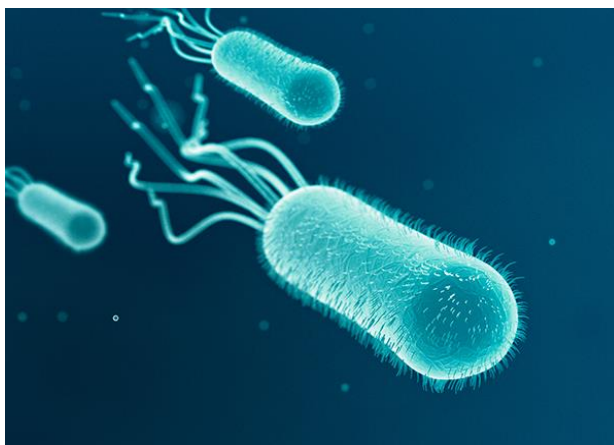
Στη παρούσα διπλωματική εργασία ως βακτηριακοί δείκτες χρησιμοποιήθηκαν η *Escherichia coli*, ο *Staphylococcus aureus* και η *Klebsiella pneumoniae*.

1.6.1 *Escherichia coli*

Η *Escherichia coli* είναι Gram-αρνητικό βακτήριο, ανήκει στην οικογένεια Enterobacteriaceae. Μέχρι σήμερα έχουν γίνει γνωστά τα μορφολογικά του χαρακτηριστικά, η συμπεριφορά του σε διαφορετικά θρεπτικά υποστρώματα, ο μεταβολισμός του, η δομή του, το γονιδίωμα του και άλλα. Επιπρόσθετα, χαρακτηρίζεται από τον εύκολο και φθηνό χειρισμό που απαιτεί για την καλλιέργεια και την αναγνώρισή του. Όλοι οι παραπάνω λόγοι τον καθιστούν ως τον πιο ευρέως χρησιμοποιούμενο δείκτη για τον έλεγχο ποιότητας του νερού και των υγρών αποβλήτων.

Το βακτήριο περιλαμβάνει παθογόνα στελέχη, τα οποία είναι υπεύθυνα για την εμφάνιση ανθρώπινων ασθενειών, προκαλώντας περισσότερους από δύο εκατομμύρια θανάτους ετησίως. Η παρουσία τους στο νερό ή στα τρόφιμα θεωρείται ότι δείχνει την άμεση ή την έμμεση κοπρανώδη μόλυνση από λύματα και την πιθανή παρουσία άλλων παθογόνων. Επειδή η μολυσματική δόση του κολοβακτηριδίου είναι

μεγάλη, η μετάδοση από άτομο σε άτομο δεν είναι συχνή, ενώ θεωρείται σημαντική η μετάδοση διά των τροφών. Η *E. coli* είναι από τους οργανισμούς που έχουν ενοχοποιηθεί για την πρόκληση υδατογενών λοιμώξεων. Γενικά, η συσχέτιση της παρουσίας στο νερό παθογόνων βακτηρίων του γαστρεντερικού συστήματος με τους δείκτες κοπρανώδους μόλυνσης του νερού είναι πολύ καλή (Βενιέρη, 2017).



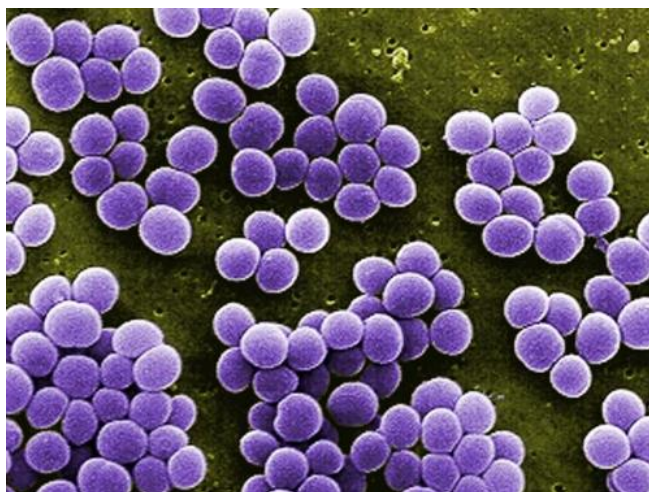
Εικόνα 3:Κύτταρα *E. coli* (<https://www.sigmaaldrich.com/technical-documents/articles/microbiology/escherichia-coli-detection-and-analysis-for-food-safety.html>)

1.6.2 *Staphylococcus aureus*

Ο *Staphylococcus aureus* είναι ένα σημαντικό παθογόνο βακτήριο που προκαλεί μια μεγάλη ποικιλία κλινικών ενδείξεων. Οι λοιμώξεις είναι συχνές τόσο σε κοινόχρηστους χώρους όσο και σε νοσοκομειακό περιβάλλον και η θεραπεία παραμένει δύσκολη στη διαχείριση λόγω της εμφάνισης πολυανθεκτικών στελεχών, όπως ο *MRSA* (*Methicillin Resistant Staphylococcus Aureus*). Ο *S. aureus* υπάρχει στην φυσιολογική ανθρώπινη χλωρίδα, βρίσκεται στο δέρμα και τις βλεννογόνους (κυρίως στην ρινική περιοχή). Ο *S. aureus* δεν προκαλεί συνήθως μόλυνση σε υγιές δέρμα. Ωστόσο, εάν επιτραπεί η είσοδος στην κυκλοφορία του αίματος ή στους εσωτερικούς ιστούς, αυτά τα βακτήρια μπορεί να προκαλέσουν μια ποικιλία δυνητικά σοβαρών λοιμώξεων. Η μετάδοση είναι συνήθως από άμεση επαφή. Ωστόσο, ορισμένες λοιμώξεις περιλαμβάνουν άλλες μεθόδους μετάδοσης (Taylor & Unakal, 2020).

Είναι Gram – θετικό βακτήριο που έχει σχήμα κοκκίου και τείνει να είναι διατεταγμένο σε συστάδες που περιγράφονται ως τσαμπιά σταφυλίων. Αυτοί οι οργανισμοί μπορούν να αναπτυχθούν αερόβια ή αναερόβια (Taylor & Unakal, 2020). Θεωρείται μεσόφιλο καθώς επιβιώνει σε ένα εύρος θερμοκρασιών 7-48°C, ενώ μόνο σε εύρος 37-40°C μπορεί να παράγει την εντεροτοξίνη. Το κυτταρικό τοίχωμα των συγκεκριμένων βακτηρίων αποτελείται κυρίως από στρώμα πεπτιδογλυκάνης σε ποσοστό 90% και άλλες επικαλύψεις όπως τεϊκό οξύ. Όταν το βακτήριο αυτό υπάρξει σε συγκεντρώσεις μεγαλύτερες των 10^5 CFUs/mL, είναι ικανό να προκαλέσει

σοβαρές ασθένειες ακόμα και σε σχετικά χαμηλές τιμές pH. Κατά την αδρανοποίησή του επηρεάζεται αρχικά το κυτταρικό τοίχωμα, στη συνέχεια η κυτταρική μεμβράνη και η διαδικασία μεταφοράς των θρεπτικών ουσιών, τα ένζυμα και τέλος τη σύνθεση των πρωτεϊνών και του λακτικού οξέως (Bakri, 2018).



Εικόνα 4 : Κότταρα *S. aureus* (<https://www.infectiousdiseaseadvisor.com>)

1.6.3 *Klebsiella pneumoniae*

Η *Klebsiella 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 λιπολυσακχαρίτη (αντιγόνο O) συμβάλλει στην παθογονικότητα της *K. pneumoniae*.

Στον άνθρωπο, η *K. pneumoniae*, αποικίζει τον ρινοφάρυγγα και το γαστρεντερικό σωλήνα, ενώ σε ορισμένα άτομα όπως στους αλκοολικούς και τους διαβητικούς αναπτύσσει μεγάλο αριθμό αποικιών στο στοματοφάρυγγα (Φραγγεδάκη, 2014).

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, βακτηριαιμία και μηνιγγίτιδα (www.athenslab.gr).



Εικόνα 5: Κύτταρα *K. pneumoniae* (<https://www.sciencephoto.com>)

2. ΣΚΟΠΟΣ

Ο σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι η αδρανοποίηση παθογόνων βακτηρίων στα υγρά απόβλητα με διάφορες μεθόδους απολύμανσης. Χρησιμοποιήθηκαν τρεις μέθοδοι απολύμανσης οι οποίες ήταν η φωτοκατάλυση με τη χρήση περοβσκιτών ως καταλυτών, η χλωρίωση και η ακτινοβολία UV-C.

Οι στόχοι της συγκεκριμένης εργασίας είναι:

- Η διερεύνηση της απόδοσης της απολύμανσης ως προς την αδρανοποίηση των βακτηρίων *E. coli*, *S. aureus* και *K. pneumoniae* σε υγρό απόβλητο δευτεροβάθμιας επεξεργασίας.
- Η καταγραφή του ρυθμού μείωσης των βακτηριακών πληθυσμών σε συνάρτηση με το χρόνο, μέσω καλλιέργειας και καταμέτρηση των βακτηριακών αποικιών έπειτα από την επώασή τους.
- Η εύρεση των βέλτιστων συνθηκών απολύμανσης έπειτα από σύγκριση της συγκέντρωση του καταλύτη, της συγκέντρωση χλωρίου και του χρόνου εφαρμογής της εκάστοτε μεθόδου.
- Η μελέτη της διαφορετικής συμπεριφοράς και ανθεκτικότητας των επιλεγμένων βακτηριακών δεικτών.
- Η σύγκριση των επιλεγμένων μεθόδων ως προς την αδρανοποίηση παθογόνων βακτηρίων σε υγρό απόβλητο.

3. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

3.1 Υλικά

Εργαστηριακά υλικά

- Αποστειρωμένα τρυβλία Petri διαμέτρου 9cm
- Αποστειρωμένο νερό
- Eppendorfs (όγκου 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
- Πιπέττες μετρήσεως γυάλινες
- Dispencer πιπετών Pipump
- Πιπέττες ρυθμιζόμενες αυτόματες
- Ρύγχη αυτόματων πιπετών πλαστικά Kartell (tips)
- Κρίκος εμβολιασμού

Θρεπτικά υλικά

- Nutrient Agar (Lab M)

Χημικά υλικά

- Οξικό Οξύ (Sigma Aldrich)
- Ιωδιούχο κάλιο (Sigma Aldrich)
- Θειοθειικό νάτριο κανονικότητας 0,1 N (Panreac)
- Χλωριούχο νάτριο (Sigma Aldrich)
- Υποχλωριώδες νάτριο (Sigma Aldrich)

Βακτηριακά στελέχη

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

Διαλύματα που παρασκευάστηκαν

- 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

Λύμα

Το υγρό απόβλητο που χρησιμοποιήθηκε κατά τα πειράματα, προέρχεται από την Εγκατάσταση Λυμάτων Χανίων και πιο συγκεκριμένα από την έξοδο της δευτεροβάθμιας επεξεργασίας, πριν την απολύμανση. Όλα τα δείγματα λύματος που χρησιμοποιήθηκαν, αποστειρώθηκαν σε αυτόκαυστο πριν από κάθε πείραμα.

Καταλύτες

Ο καταλύτης TiO₃ ενισχυμένος με μέταλλα κατασκευάστηκε στο Ινστιτούτο Ηλεκτρονικής Δομής και Λείζερ (IESL) στο ΙΤΕ, Ηράκλειο Κρήτης.

- ZnTiO₃ σε συγκέντρωση 50 mg/L

Εργαστηριακός εξοπλισμός

- Φασματοφωτόμετρο: Η αρχική συγκέντρωση των μικροβιακών κυττάρων στα εναιωρήματα που χρησιμοποιήθηκαν σε όλες τις μεθόδους απολύμανσης εκτιμούνταν με μέτρηση της οπτικής απορρόφησης του διαλύματος σε φασματοφωτόμετρο Shimadzu UV 1240 spectrophotometer.
- SUNTEST CPS+ : Το όργανο που χρησιμοποιήθηκε κατά την διάρκεια της φωτοκατάλυσης με ηλιακή ακτινοβολία, προσομοιώνει το ηλιακό φως με τη χρήση μίας λάμπας Ξένου (Xe) 1500W, η οποία ψύχεται με αέρα. Κατασκευάστηκε από την εταιρεία Atlas Material Testing Solutions.
- Λάμπα UV-C: Η λάμπα που χρησιμοποιήθηκε κατά την διάρκεια της φωτοκατάλυσης με ακτινοβολία UV-C έχει ισχύ 30W και είναι λάμπα χαμηλής πίεσης ατμών υδραργύρου. Κατασκευάστηκε από την εταιρεία OSRAM GmbH ®.

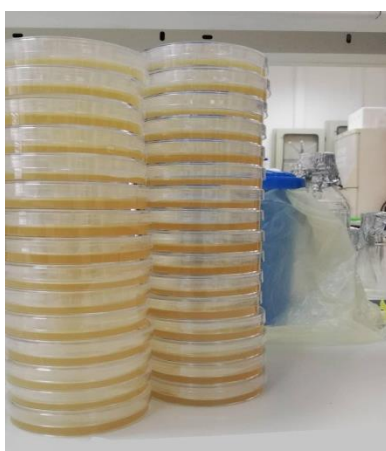
Πρόσθετα όργανα και συσκευές

- 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

- Η παρασκευή του μη εκλεκτικού θρεπτικού υλικού Nutrient Agar, γίνεται σύμφωνα με τις οδηγίες που αναγράφονται στο πίσω μέρος της συσκευασίας.
- Στην περίπτωση των Nutrient agar απαιτούνταν ακολούθως η αποστείρωσή τους σε αυτόκαυτο σε πίεση 1.1 atm και θερμοκρασία 121 °C για 30 min.
- Ακολουθεί η 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.



Εικόνα 6: Παρασκευή θρεπτικού υλικού Nutrient Agar

3.2.2 Μέθοδοι

Φωτοκατάλυση με ηλιακή ακτινοβολία

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

Για κάθε στέλεχος παρασκευάστηκε διάλυμα 300 mL, το οποίο περιείχε αποστειρωμένο υγρό απόβλητο, τον καταλύτη ZnTiO_3 σε συγκέντρωση 50 mg/L και το εναιώρημα των μικροοργανισμών συγκέντρωσης 10^6 CFUs/mL.

- Προετοιμασία

Αρχικά ογκομετρείται το αποστειρωμένο υγρό απόβλητο και τοποθετείται σε αποστειρωμένο δοχείο ζέσεως, το οποίο βρίσκεται πάνω σε μαγνητικό αναδευτήρα. Ζυγίζεται η ποσότητα του καταλύτη και στη συνέχεια προστίθεται στο αποστειρωμένο

υγρό απόβλητο και αναμειγνύεται. Το δοχείο ζέσεως βρίσκεται πάνω στον μαγνητικό αναδευτήρα καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος.

Όταν διαλυθεί ο καταλύτης, προστίθεται στο διάλυμα η κατάλληλη ποσότητα εναιωρήματος.

Η τελική συγκέντρωση του βακτηρίου μέσα στο διάλυμα πρέπει να είναι 10^6 CFUs/mL. Για να επιτευχθεί αυτό θα πρέπει να παρασκευαστεί εναιώρημα, το οποίο αφού φωτομετρηθεί στα 600 nm, θα πρέπει να δίνει οπτική απορρόφηση $A = 0,1$. Η τιμή της απορρόφησης $A = 0,1$, σύμφωνα με την κλίμακα McFarland, αντιστοιχεί σε συγκέντρωση αποικιών 10^8 CFUs/mL, οπότε με κατάλληλη αραιώση επιτυγχάνεται η επιθυμητή συγκέντρωση αποικιών. Οι μετρήσεις λαμβάνονταν μέσω ειδικών πλαστικών κυψελίδων χωρητικότητας 1mL, οι οποίες πληρώνονταν με δείγμα μέχρι την χαρακτηριστική εγκοπή. Έπειτα από την πλήρωσή τους με το δείγμα και πριν από την τοποθέτησή τους στη κατάλληλη θήκη του φασματοφωτόμετρου για την λήψη μέτρησης, καθαρίζονταν εξωτερικά ώστε να αποφευχθούν τυχόν αλλοιώσεις των αποτελεσμάτων.

Μετά την προσθήκη του εναιωρήματος, τοποθετείται το δοχείο μέσα στο όργανο Suntest CPS+.

- Πειραματική διαδικασία

Λίγα λεπτά αφότου το διάλυμα έχει αναμιχθεί καλά λαμβάνεται δείγμα για τον χρόνο 0h και τοποθετείται σε δοκιμαστικό σωλήνα. Στη συνέχεια, τοποθετείται το δοχείο μέσα στο όργανο Suntest CPS+ και γίνεται έναρξη του προγράμματος ώστε να ξεκινήσει η φωτοκατάλυση. Λήφθηκαν δείγματα ανά μισή ώρα και η διάρκεια του πειράματος ήταν 2 ώρες. Στα δείγματα αυτά, έγιναν διαδοχικές αραιώσεις, με σκοπό την επίστρωσή τους σε τριβλία και την εύκολη καταμέτρηση των αποικιών. Τα τριβλία τοποθετούνται στο θάλαμο επώασης στους 37°C για 24 h. Τέλος, γίνεται καταμέτρηση των αποικιών που αναπτύχθηκαν και ο αριθμός καταγράφεται.

Παράλληλα, πραγματοποιήθηκαν πειράματα Dark και Control. Τα πειράματα Dark πραγματοποιούνταν με αποστειρωμένο υγρό απόβλητο, εναιώρημα και καταλύτη. Το δοχείο τυλίγεται με αλουμινόχαρτο και δεν τοποθετείται υπό ηλιακή ακτινοβολία. Τα πειράματα Control πραγματοποιούνταν με αποστειρωμένο υγρό απόβλητο και εναιώρημα με απουσία καταλύτη. Το δοχείο τοποθετείται υπό ηλιακή ακτινοβολία.



Εικόνα 7: Καταμέτρηση αποικιών

Απολύμανση με χλώριο

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

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 χρειαζόταν κάθε φορά στο δείγμα.

Για κάθε στέλεχος παρασκευάστηκε διάλυμα 300 mL το οποίο περιείχε αποστειρωμένο λύμα, εναιώρημα που παρασκευάστηκε από NaOCl συγκέντρωσης 0,8 % w/v και αποικίες του βακτηρίου που πρόκειται να υποβληθεί σε απολύμανση. Οι συγκεντρώσεις χλωρίου (Cl₂) που εξετάστηκαν ήταν 1 mg/L και 5 mg/L.

- 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 μέσα στο διάλυμα πρέπει να είναι 10⁶ CFUs/mL. Για να επιτευχθεί αυτό θα πρέπει να παρασκευαστεί εναιώρημα, το οποίο αφού φωτομετρηθεί στα 600 nm, θα πρέπει να δίνει οπτική απορρόφηση A = 0,1. Η τιμή της απορρόφησης A = 0,1, σύμφωνα με την κλίμακα McFarland, αντιστοιχεί σε συγκέντρωση αποικιών 10⁸ CFUs/mL, οπότε με κατάλληλη αραιώση επιτυγχάνεται η επιθυμητή συγκέντρωση αποικιών. Οι μετρήσεις λαμβάνονταν μέσω ειδικών πλαστικών κυψελίδων χωρητικότητας 1mL, οι οποίες πληρώνονταν με δείγμα μέχρι την χαρακτηριστική εγκοπή. Έπειτα από την πλήρωσή τους με το δείγμα και πριν από την τοποθέτησή τους στη κατάλληλη θήκη του φασματοφωτόμετρου για την λήψη μέτρησης, καθαρίζονταν εξωτερικά ώστε να αποφευχθούν τυχόν αλλοιώσεις των αποτελεσμάτων.

Σε erpendorf όγκου 1,5 mL, τοποθετείται ποσότητα διαλύματος Na₂S₂O₃ ίση με 50μL, ώστε να διακοπεί η δράσης του υπολειμματικού χλωρίου στο δείγμα σε κάθε χρονική στιγμή t της δειγματοληψίας.

- Πειραματική διαδικασία

Τιτλοδότηση

Με την πάροδο του χρόνου η δραστηριότητα του διαλύματος NaOCl συγκέντρωσης 1000 mg/L v/v (ως προς Cl₂) μεταβάλλεται, για το λόγο αυτό πραγματοποιείται τιτλοδότηση μέσω της οποίας υπολογίζεται η συγκέντρωση του ως προς Cl₂.

Σε μία κωνική φιάλη προστίθενται τα εξής:

- 10 mL διαλύματος NaOCl συγκέντρωσης 1000 mg/L ως προς Cl₂
- 5mL CH₃COOH

- 1g KI

Στη συνέχεια, τιτλοδοτείται διάλυμα $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ κανονικότητας 0,1N μέχρι να αποχρωματιστεί το δείγμα και μετράται η ποσότητα $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ που καταναλώθηκε.

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

$$\frac{g}{L} \text{Cl}_2 = \frac{(ml \text{ Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \text{ που καταναλώθηκαν}) \times 0,1N \times 35,5}{10mL}$$

Όπου :

10 mL είναι η ποσότητα διαλύματος που χρησιμοποιήθηκε για την τιτλοδότηση

35.5 είναι το Ar του χλώριου

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 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (τελικής συγκέντρωσης 18mg/L) ίση με 50μL (εκτός από το χρόνο 0h), με σκοπό την διακοπή της δράσης του υπολειμματικού χλώριου στο δείγμα.

Η δειγματοληψία πραγματοποιείται μέχρι και την ολοκλήρωση του χρόνου $t = 60 \text{ min}$ και συνολικά λήφθηκαν 12 δείγματα. Σε μερικά από αυτά τα δείγματα, έγιναν διαδοχικές αραιώσεις, με σκοπό την επίστρωσή τους σε τριβλία και την εύκολη καταμέτρηση των αποικιών. Τα τριβλία τοποθετούνται στο θάλαμο επώασης στους 37°C για 24 h. Τέλος, γίνεται καταμέτρηση των αποικιών που αναπτύχθηκαν και ο αριθμός καταγράφεται.

Απολύμανση με ακτινοβολία UV-C

Πραγματοποιήθηκε απολύμανση σε 3 διαφορετικά βακτήρια. Ως απολυμαντικό μέσο χρησιμοποιήθηκε η ακτινοβολία UV-C. Για κάθε στέλεχος παρασκευάστηκε διάλυμα 300mL, το οποίο περιείχε αποστειρωμένο λύμα και εναιώρημα των μικροοργανισμών συγκέντρωσης 10^6 CFUs/mL .

- Προετοιμασία

Η τελική συγκέντρωση του βακτηρίου μέσα στο διάλυμα πρέπει να είναι 10^6 CFUs/mL . Για να επιτευχθεί αυτό θα πρέπει να παρασκευαστεί εναιώρημα, το οποίο αφού φωτομετρηθεί στα 600 nm, θα πρέπει να δίνει οπτική απορρόφηση $A = 0,1$. Η τιμή της απορρόφησης $A = 0,1$, σύμφωνα με την κλίμακα McFarland, αντιστοιχεί σε συγκέντρωση αποικιών 10^8 CFUs/mL , οπότε με κατάλληλη αραιώση επιτυγχάνεται η επιθυμητή συγκέντρωση αποικιών. Οι μετρήσεις λαμβάνονταν μέσω ειδικών πλαστικών κυψελίδων χωρητικότητας 1mL, οι οποίες πληρώνονταν με

δείγμα μέχρι την χαρακτηριστική εγκοπή. Έπειτα από την πλήρωσή τους με το δείγμα και πριν από την τοποθέτηση τους στη κατάλληλη θήκη του φασματοφωτόμετρου για την λήψη μέτρησης, καθαρίζονταν εξωτερικά ώστε να αποφευχθούν τυχόν αλλοιώσεις των αποτελεσμάτων.

Για το συγκεκριμένο πείραμα χρησιμοποιήθηκε ένα πλατύ γυάλινο σκεύος. Ο λόγος που χρησιμοποιήθηκε το συγκεκριμένο σκεύος είναι γιατί η ακτινοβολία πρέπει να διαχέεται ομοιόμορφα σε όλο το διάλυμα. Το σκεύος ήταν τοποθετημένο πάνω σε μαγνητικό αναδευτήρα ώστε να πραγματοποιείται ανάδευση σε όλη την διάρκεια του πειράματος.

- 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 UV-C(30W), η οποία ενεργοποιείται ταυτόχρονα με το χρονόμετρο.

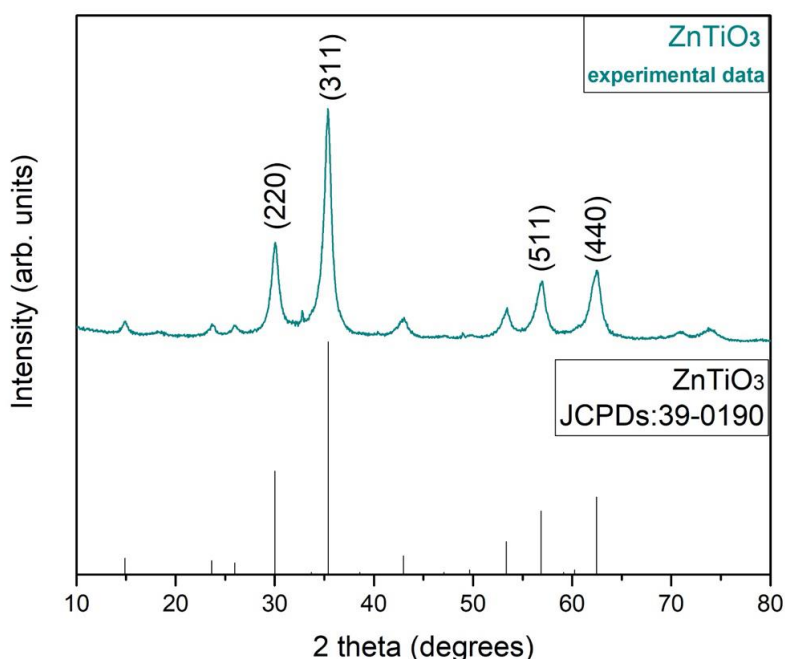
Λήφθηκαν 7 δείγματα και η διάρκεια του πειράματος ήταν 1 min. Σε μερικά από αυτά τα δείγματα, έγιναν διαδοχικές αραιώσεις, με σκοπό την επίστρωσή τους σε τριβλία και την εύκολη καταμέτρηση των αποικιών. Τα τριβλία τοποθετούνται στο θάλαμο επώασης στους 37°C για 24 h. Τέλος, γίνεται καταμέτρηση των αποικιών που αναπτύχθηκαν και ο αριθμός καταγράφεται.

4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ - ΣΥΖΗΤΗΣΗ

4.1 Αποτελέσματα καταλύτη

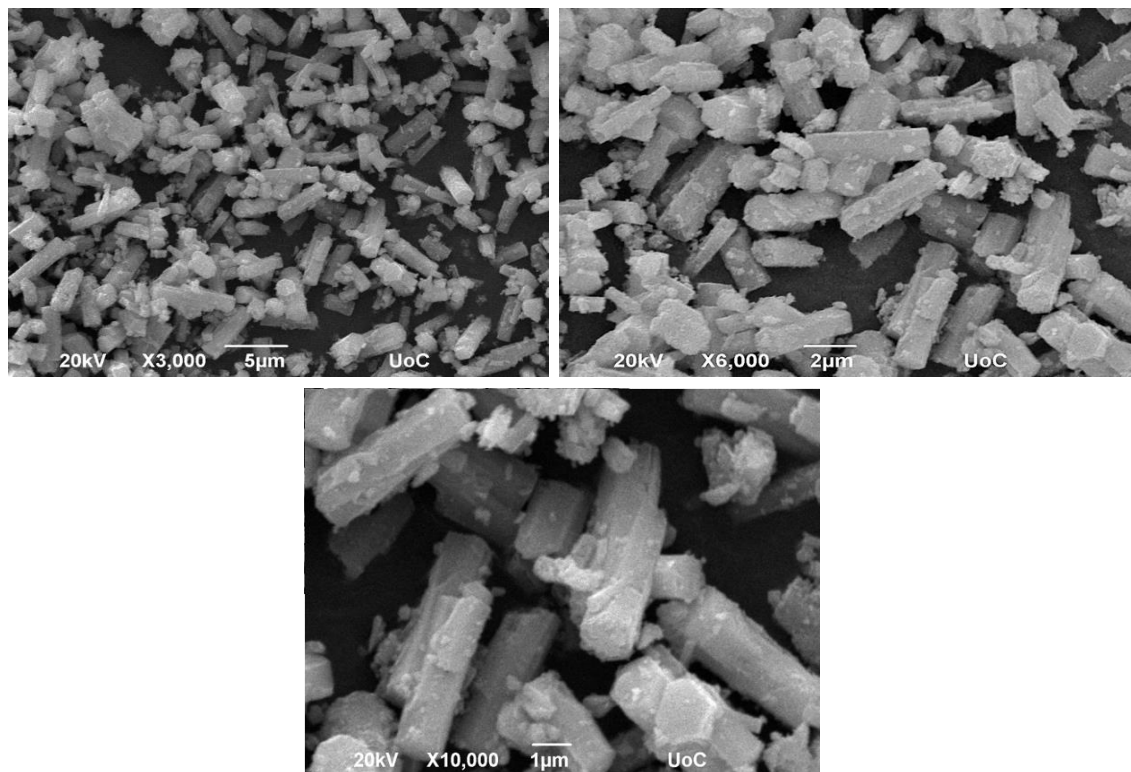
Οι οξειδοαναγωγικοί καταλύτες διαθέτουν κρυσταλλικό πλέγμα που μπορεί να περιέχει κατίοντα και κερδίζουν έδαφος στο πεδίο των προηγμένων διεργασιών οξείδωσης. Ο κατάλληλος σχεδιασμός (δομικός και μορφολογικός) αυτών των υλικών τα καθιστά ικανά να ενεργοποιηθούν κατόπιν έκθεσης σε φυσικό ηλιακό φως. Η 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.

4.1.1 Τιτανικός Ψευδάργυρος ZnTiO_3



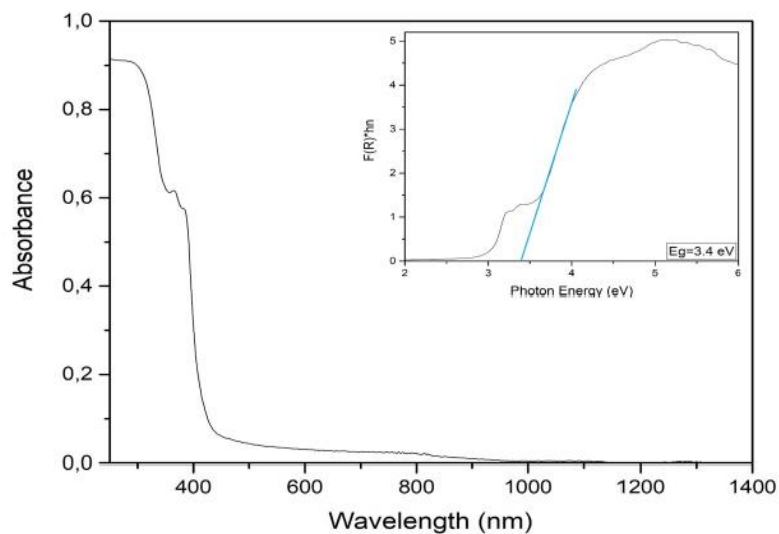
Εικόνα 8: Διάγραμμα για το φάσμα περίθλασης ακτίνων-x (XRD) για τον καταλύτη ZnTiO_3

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 9: SEM images για τον καταλύτη ZnTiO_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 10: Διάγραμμα απορρόφησης στο υπεριώδες και ορατό φάσμα για τον καταλύτη ZnTiO_3

Παρατηρείται ότι, ο καταλύτης ZnTiO_3 παρουσιάζει απορρόφηση περίπου ίση με 0,1 στο ορατό φως. Εφόσον ο καταλύτης απορροφά στο ορατό φως, σημαίνει ότι μπορεί να ενεργοποιηθεί από το ηλιακό φως. Σε σύγκριση με τις σκόνες TiO_2 , οι πρωτονιωμένοι τιτανίτες παρουσιάζουν ισχυρότερη ένταση απορρόφησης, υποδεικνύοντας ότι η εισαγωγή του H^+ και ο σχηματισμός κυλινδρικής δομής μειώνει το ενεργειακό χάσμα και, ως εκ τούτου, επεκτείνεται το εύρος του φάσματος φωτός στο οποίο αποκρίνεται. Λόγω της ισχυρής ηλεκτραρνητικότητας του Zn, το ενεργειακό κενό του ZnTiO_3 είναι πιο μικρό από των πρωτονιωμένων τιτανιτών, με αποτέλεσμα τη βελτίωση της έντασης απορρόφησης στην περιοχή του ορατού φωτός. Για αυτό, η φωτοκαταλυτική δραστηριότητα του ZnTiO_3 ενισχύεται (Yan X et al., 2015). Από την άλλη μεριά, ένα μειονέκτημα, όσον αφορά τους περισσότερους εμπορικά διαθέσιμους καταλύτες TiO_2 , είναι ότι ενεργοποιούνται κυρίως κάτω από τη UV φασματική περιοχή λόγω της υψηλής απαιτούμενης ενέργειας χάσματος (~3.2 eV) για τη διέγερση του ημιαγωγών. Ως εκ τούτου, το βακτηριοκτόνο δυναμικό του TiO_2 έχει μελετηθεί εκτενώς με τη χρήση υπεριώδους φωτός, το οποίο είναι ένα μικρό κλάσμα του συνολικού φάσματος του ηλιακού φωτός, εξαιρώντας την πηγή ηλιακής ενέργειας, η οποία είναι άφθονη και χωρίς κόστος (Venieri et al., 2014). Επίσης από την Εικόνα 10 παρατηρείται ότι απορροφάται ελάχιστα και στο φάσμα της υπέρυθρης ακτινοβολίας (700-850 nm).

4.2 Αποτελέσματα φωτοκατάλυσης με προσομοίωση ηλιακής ακτινοβολίας

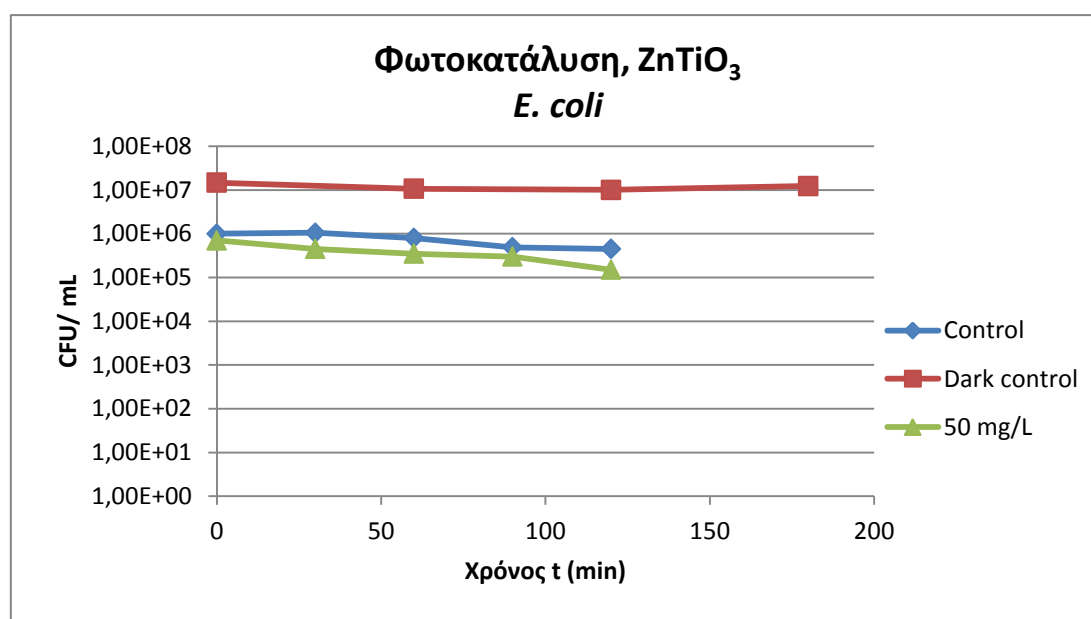
Στα διαγράμματα που ακολουθούν, φαίνεται η μείωση των βακτηριακών αποικιών με την πάροδο του χρόνου και με χρήση ως μεθόδου απολύμανσης την προσομοίωση της ηλιακής φωτοκατάλυσης. Η διάρκεια ενός πειράματος φωτοκατάλυσης με προσομοίωση ηλιακής ακτινοβολίας ήταν 2 ώρες και τα δείγματα λαμβάνονταν ανά 30 min.

Στο παρακάτω διάγραμμα (Εικόνα 11), το πείραμα Dark Control δείχνει ότι ο καταλύτης από μόνος του, δηλαδή χωρίς την παρουσία ηλιακής ακτινοβολίας, δεν έχει καμία βιοκτόνο δράση.

Επίσης παρατηρείται ότι, το πείραμα Control και το πείραμα με καταλύτη συγκέντρωσης 50 mg/L έδωσαν παρόμοια αποτελέσματα. Μείωσαν τον πληθυσμό της *E. coli* κατά 1 Log περίπου στις 2 ώρες που διήρκεσε το πείραμα. Η αρχική συγκέντρωση ήταν 7×10^5 CFU/mL και καταλήγει έπειτα από 2 ώρες στα $1,5 \times 10^5$ CFU/mL. Στο πείραμα Control η αρχική συγκέντρωση της *E. coli* ήταν 1×10^6 CFU/mL και η τελική $4,48 \times 10^5$ CFU/mL. Αντιλαμβανόμαστε ότι ο καταλύτης επιτάχυνε σε μικρό βαθμό την αδρανοποίηση του συγκεκριμένου βακτηρίου με τη μέθοδο της φωτοκατάλυσης.

Στην περίπτωση της *E.coli* παρατηρούμε ότι παραμένουν ζωντανά κύτταρα του βακτηρίου μετά τη διεξαγωγή του πειράματος. Το γεγονός αυτό αυξάνει την επικινδυνότητα του αποβλήτου καθώς υπάρχει η δυνατότητα να πολλαπλασιαστεί ξανά ο μικροοργανισμός.

Οι Argulló – Barceló M. et al., 2013, μελέτησαν μεταξύ άλλων και την αδρανοποίηση της *E. coli* σε απόβλητο με τη μέθοδο της φωτοκατάλυσης, χρησιμοποιώντας για καταλύτη το TiO_2 σε συγκέντρωση 100 mg/L. Σε χρονικό διάστημα 5h, ο μικροοργανισμός είχε αδρανοποιηθεί πλήρως χρησιμοποιώντας ηλιακή ακτινοβολία. Μάλιστα στις πρώτες δύο ώρες του πειράματος η συγκέντρωση του βακτηριακού πληθυσμού είχε μειωθεί κατά 2 Logs. Επίσης θα πρέπει να αναφερθεί ότι η αρχική συγκέντρωση του μικροοργανισμού ήταν περίπου της τάξης 10^5 CFU/mL. Στην δική μας περίπτωση, παρόλο που χρησιμοποιήθηκε ενισχυμένος καταλύτης, έπειτα από δύο ώρες υπήρχε μείωση του πληθυσμού κατά μόλις 1 Log. Πιθανόν να χρειαζόταν περισσότερη ώρα για να αδρανοποιηθεί ο μικροοργανισμός ή μεγαλύτερη ποσότητα καταλύτη.

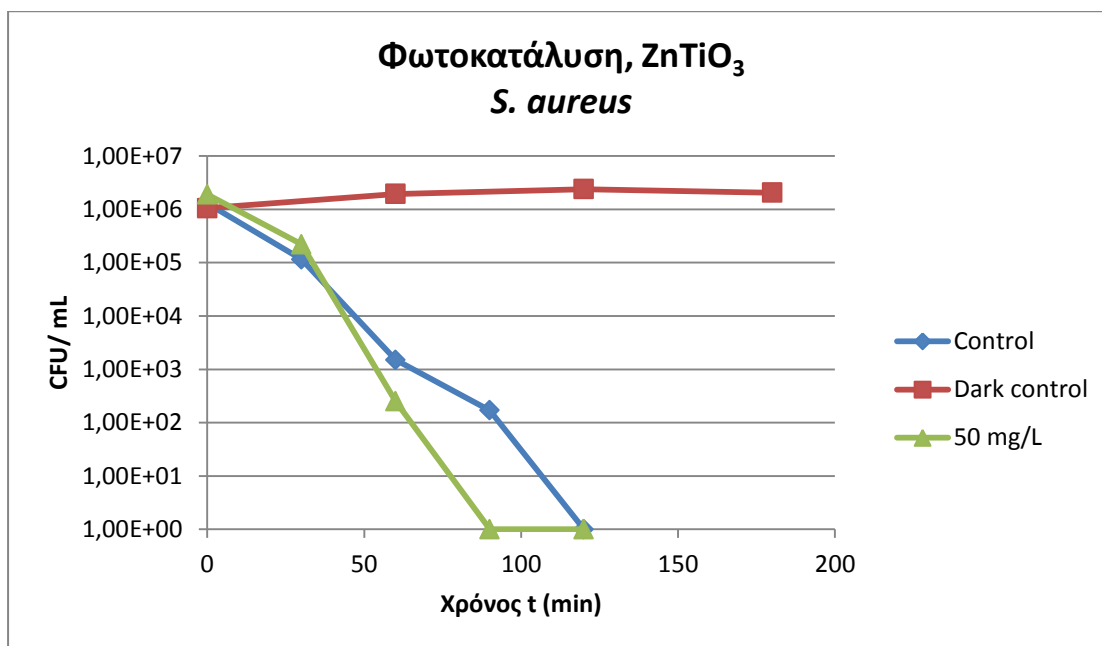


Εικόνα 11: Αδρανοποίηση βακτηριακών στελεχών *E. coli* με φωτοκατάλυση και δόση καταλύτη ZnTiO_3 στα 50 mg/L

Στην Εικόνα 12, αρχικά παρατηρείται πως στο πείραμα Dark control, η συγκέντρωση του μικροοργανισμού παραμένει σταθερή, δηλαδή η τάξη μείωσης είναι 0 Log. Το γεγονός αυτό αποδίδεται στον καταλύτη, ο οποίος δεν έχει απολυμαντική δράση χωρίς την ύπαρξη ηλιακής ακτινοβολίας.

Στην περίπτωση του *S.aureus*, παρατηρείται ότι ο πληθυσμός του μηδενίζεται στο πείραμα Control αλλά και στο πείραμα με τον καταλύτη. Και στις δύο περιπτώσεις υπάρχει μείωση του πληθυσμού κατά 6 Logs. Πιο συγκεκριμένα, η αρχική συγκέντρωση είναι $1,9 \times 10^6$ CFU/mL και έπειτα από 90 min, με την χρήση του καταλύτη 50 mg/L, υπάρχει 100% αδρανοποίηση του βακτηρίου. Με την απουσία καταλύτη και τη χρήση μόνο ηλιακής ακτινοβολίας, η αρχική συγκέντρωση ήταν $1,3 \times 10^6$ CFU/mL και ο μηδενισμός προκύπτει στα 120 min.

Σημαντική πτώση στην συγκέντρωση των αποικιών με την χρήση καταλύτη, παρατηρούμε μεταξύ 30 και 60 min, και είναι της τάξεως των 3 Logs περίπου.

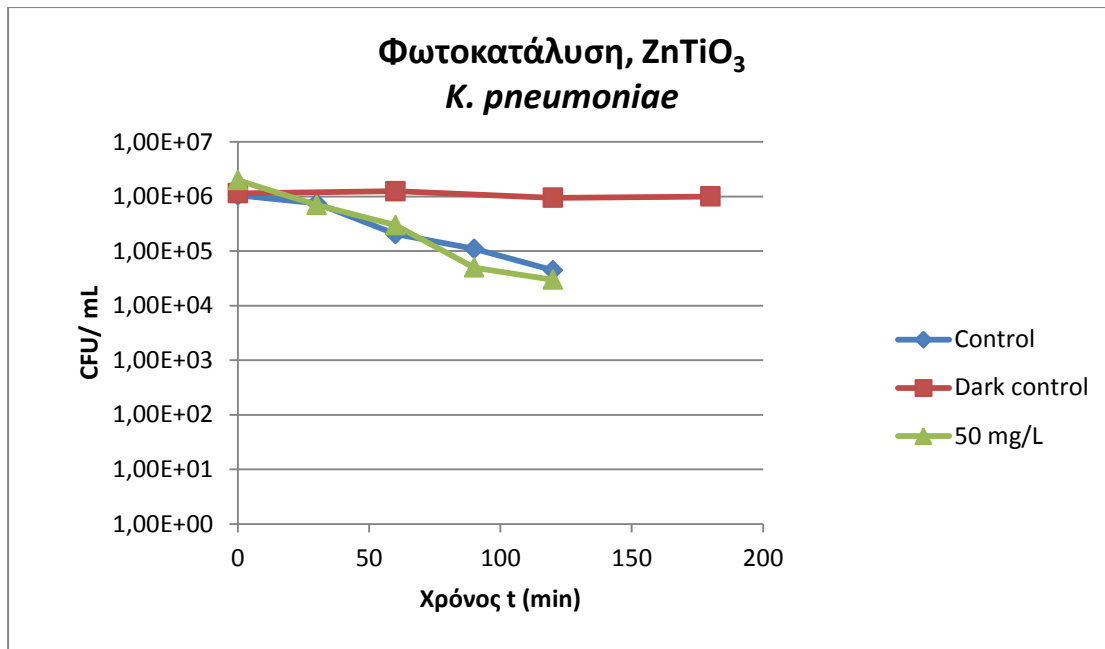


Εικόνα 12: Αδρανοποίηση βακτηριακών στελεχών *S. aureus* με φωτοκατάλυση και δόση καταλύτη ZnTiO_3 στα 50 mg/L

Στο διάγραμμα της Εικόνας 13 παρατηρούμε πως η *Klebsiella pneumoniae* δεν αδρανοποιείται πλήρως. Αρχικά, στο πείραμα Dark control, η συγκέντρωση του βακτηρίου παραμένει σταθερή επιβεβαιώνοντας ότι ο καταλύτης χρειάζεται την ηλιακή ακτινοβολία για να έχει απολυμαντική δράση.

Ο συγκεκριμένος βακτηριακός δείκτης παρουσιάζει παρόμοια συμπεριφορά στο πείραμα Control και στο πείραμα με την ύπαρξη του καταλύτη. Η μείωση στην συγκέντρωσή του είναι της τάξης των 2 Logs. Αναλυτικότερα, στο πείραμα Control, στον χρόνο 0 η συγκέντρωση είναι $1,05 \times 10^6$ CFU/mL και καταλήγει στις 2 ώρες στα 3×10^4 CFU/mL. Σχετικά με το πείραμα με χρήση καταλύτη η αρχική συγκέντρωση του μικροοργανισμού ανέρχεται στα 2×10^6 CFU/mL, καταλήγοντας στα 3×10^4 CFU/mL. Συνεπώς ο καταλύτης δεν συνέβαλλε ιδιαίτερα στην ταχύτερη αδρανοποίηση του βακτηρίου. Με το πέρας του πειράματος υπάρχουν ακόμα ζωντανά κύτταρα του μικροοργανισμού υποδεικνύοντας ότι υπάρχει η δυνατότητα να πολλαπλασιαστεί, καθιστώντας το δείγμα που μελετήθηκε επικίνδυνο.

Σε μελέτη που έχει διεξαχθεί από τους Venieri D. et al., 2016 για την αδρανοποίηση της *K. pneumoniae* σε απόβλητο με την μέθοδο της ηλιακής φωτοκατάλυσης, έγινε χρήση του TiO_2 ενισχυμένο με μαγνήσιο, κοβάλτιο και ο συνδυασμός τους. Παρατηρήθηκε ότι οι καταλύτες που χρησιμοποιήθηκαν με την προσομοίωση της ηλιακής ακτινοβολίας, είχαν ως αποτέλεσμα την μείωση της συγκέντρωσης των αποικιών κατά 4 και 6 Logs έπειτα από 90 min. Στην διπλωματική εργασία έγινε χρήση του καταλύτη ZnTiO_3 χωρίς όμως να είναι τόσο αποτελεσματικός. Πιθανά αίτια θα μπορούσαν να είναι η ποσότητα του καταλύτη ή και η διάρκεια του πειράματος να μην ήταν αρκετή ώστε να αδρανοποιηθεί ο μικροοργανισμός.



Εικόνα 13: Αδρανοποίηση βακτηριακών στελεχών *K. pneumoniae* με φωτοκατάλυση και δόση καταλύτη ZnTiO_3 στα 50 mg/L

4.3 Αποτελέσματα χλωρίωσης

Στο ακόλουθο συγκεντρωτικό διάγραμμα, παρουσιάζεται η αδρανοποίηση των επιλεγμένων βακτηρίων κατά τη διάρκεια της χλωρίωσης. Η διάρκεια των πειραμάτων ήταν 1 ώρα και εφαρμόστηκαν δύο διαφορετικές δόσεις απολυμαντικού. Στην Εικόνα 14 παρατηρούμε την αδρανοποίηση των μικροοργανισμών με δόση χλωρίου 1 mg/L.

Η *E. coli* έχει αρχική συγκέντρωση $1,55 \times 10^6$ CFU/mL και παρουσιάζει μείωση κατά 5 Logs, καταλήγοντας σε συγκέντρωση 2×10^1 CFU/mL έπειτα από 1 ώρα πειράματος. Από τα πρώτα 3 λεπτά του πειράματος, η συγκέντρωση του μικροοργανισμού είχε ήδη μειωθεί κατά 3 Logs.

Η *K. pneumoniae* έχει αρχική συγκέντρωση $1,3 \times 10^6$ CFU/mL και τελική $3,55 \times 10^2$ CFU/mL, δηλαδή εμφανίζει μείωση της τάξης των 4 Logs. Παρόλο που η *K. pneumoniae* είναι και αυτή Gram αρνητικό βακτήριο, δεν παρουσιάζει απότομη πτώση στην συγκέντρωσή της όπως η *E. coli* στα πρώτα λεπτά της απολύμανσης. Το συγκεκριμένο βακτήριο εντάσσεται στα πιο ανθεκτικά βακτήρια. Τα περιβαλλοντικά απομονωθέντα στελέχη της *K. pneumoniae* παρουσιάζουν σημαντική αντοχή στη χλωρίωση λόγω διαφόρων παραγόντων, όπως της εξωκυττάριας παραγωγής πολυμερούς, της αλλοίωσης των λιπιδίων μεμβράνης και της αυξημένης συγκέντρωσης κυττάρων (Venieri D. et al., 2015).

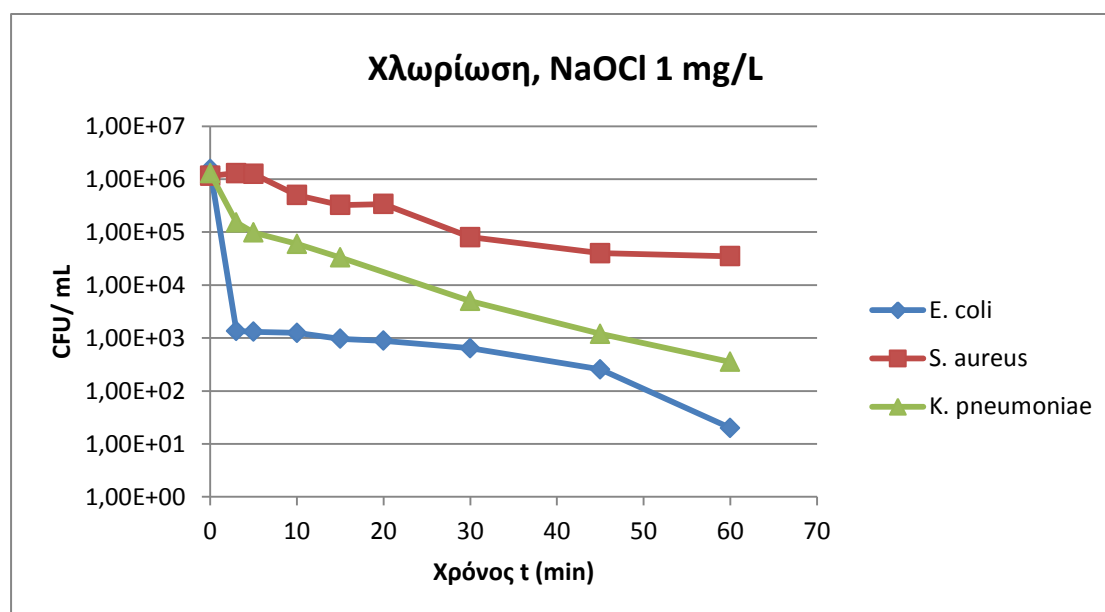
Ο *S. aureus* παρουσίασε την μικρότερη πτώση συγκέντρωσης, η οποία ήταν της τάξης των 2 Logs. Πιο αναλυτικά, το συγκεκριμένο βακτήριο είχε αρχική συγκέντρωση $1,15 \times 10^6$ CFU/mL και καταλήγει έπειτα από μία ώρα σε συγκέντρωση

$3,5 \times 10^4$ CFU/mL. Από τα 30 min μέχρι την ολοκλήρωση της απολύμανσης, η συγκέντρωση του μικροοργανισμού δεν μειώνεται με μεγάλο ρυθμό και δεν αλλάζει τάξη μεγέθους.

Στην έρευνα των Samir S. M. et al., 2019 εξετάστηκαν τα βακτήρια η *Salmonella typhimurium* ως Gram αρνητικό βακτήριο και ο *Staphylococcus aureus* ως Gram θετικό. Στην συγκεκριμένη έρευνα χρησιμοποιήθηκαν διάφορες δόσεις ελεύθερου χλωρίου ξεκινώντας από 0,5 mg/L και φτάνοντας έως 3 mg/L με διάρκεια πειράματος 20 min. Παρατηρήθηκε ότι με δόση 1mg/L ο *S. aureus* είχε απομακρυνθεί κατά 97,142 % και η *Salmonella typhimurium* παρουσίασε απομάκρυνση κατά 98,949%. Παρόμοια ποσοστά απομάκρυνσης βρέθηκαν και στην παρούσα εργασία για την ίδια δόση ελεύθερου χλωρίου, καθώς ο Gram θετικός *S. aureus* απομακρύνθηκε κατά 96,957%, ενώ στα Gram αρνητικά βακτήρια *E. coli* και *K. pneumoniae* κατά 99,998% και 99,972% αντίστοιχα.

Σύμφωνα με το διάγραμμα της Εικόνας 14, με το πέρας της πειραματικής διαδικασίας φαίνεται ότι έχουν εναπομείνει ζωντανά κύτταρα των μικροοργανισμών. Συνεπώς υπάρχει η δυνατότητα να πολλαπλασιαστούν οι μικροοργανισμοί.

Η δόση χλωρίου που χρησιμοποιήθηκε δεν ήταν αρκετή ώστε να επιτευχθεί απολύμανση σε ποσοστό 99,9% και στα τρία βακτήρια καθώς το απόβλητο είναι σύνθετο μίγμα. Η παρουσία ενώσεων που μπορούν να οξειδωθούν όπως τα χουμικά οξέα και ο σίδηρος γίνονται αίτια ώστε το προστιθέμενο χλώριο να αξιοποιείται στην οξείδωση αυτών των συστατικών και να μην είναι διαθέσιμο για την απενεργοποίηση των μικροοργανισμών. Επιπρόσθετα, ένας ανασταλτικός παράγοντας είναι η παρουσία αιωρούμενων στερεών στα απόβλητα, τα οποία μπορεί να παρέχουν προστασία σε άλλους μικροοργανισμούς με αποτέλεσμα τον περιορισμό της διείσδυσης του χλωρίου με διάχυση (Metcalf & Eddy, 2007).

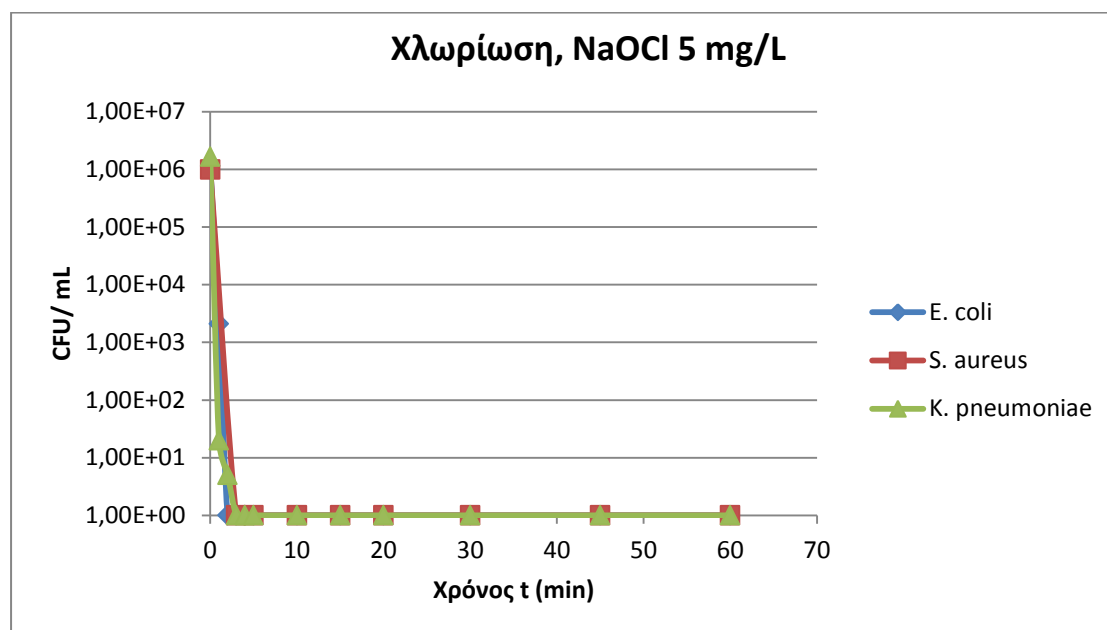


Εικόνα 14: Αδρανοποίηση παθογόνων βακτηριακών στελεχών *E. coli*, *S. aureus* και *K. pneumoniae* με χλωρίωση και δόση χλωρίου 1 mg/L

Στη συνέχεια, έγινε αδρανοποίηση των παθογόνων βακτηρίων με την μέθοδο της χλωρίωσης αυξάνοντας τη δόση στα 5 mg/L. Από την Εικόνα 15 διαπιστώνεται ότι και τα τρία βακτήρια αδρανοποιούνται στο 100%, δηλαδή υπάρχει μείωση στη συγκέντρωσή τους της τάξης των 6 Logs. Η αδρανοποίηση στο βακτήριο *E. coli* παρατηρείται στο 1 min, ενώ των βακτηρίων *K. pneumoniae* και *S. aureus* στα 3 min.

Στην μελέτη των Samir S. M. et al., 2019, όταν εξετάστηκε η δόση των 3 mg/L παρατηρήθηκε πλήρης αδρανοποίηση και των δύο βακτηρίων, όμως υπήρχε διαφορά στον χρόνο που αδρανοποιήθηκαν. Η *Salmonella typhimurium* αδρανοποιήθηκε σε μικρότερο χρόνο σε σχέση με τον *S. aureus*. Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, το Gram αρνητικό βακτήριο *E. coli* αδρανοποιήθηκε κατά 1 min ταχύτερα σε σχέση με το Gram θετικό βακτήριο *S. aureus*. Παρατηρούμε όμως ότι και η *K. pneumoniae* αδρανοποιήθηκε πιο αργά σε σχέση με την *E. coli* παρόλο που είναι και αυτή Gram αρνητική. Για αυτή τη μικρή χρονική καθυστέρηση στην αδρανοποίηση ίσως ευθύνεται το γεγονός ότι η *K. pneumoniae* εντάσσεται στα πιο ανθεκτικά βακτήρια.

Το συμπέρασμα της μελέτης (Samir S. M. et al., 2019) με την οποία έγινε η σύγκριση των αποτελεσμάτων της χλωρίωσης, ήταν ότι τα Gram αρνητικά βακτήρια είναι πιο ευαίσθητα σε σχέση με τα Gram θετικά. Τα αποτελέσματα της παρούσας διπλωματικής συνάδουν με τα αποτελέσματα της προαναφερθείσας μελέτης.



Εικόνα 15: Αδρανοποίηση παθογόνων βακτηριακών στελεχών *E. coli*, *S. aureus* και *K. pneumoniae* με χλωρίωση και δόση χλωρίου 5 mg/L

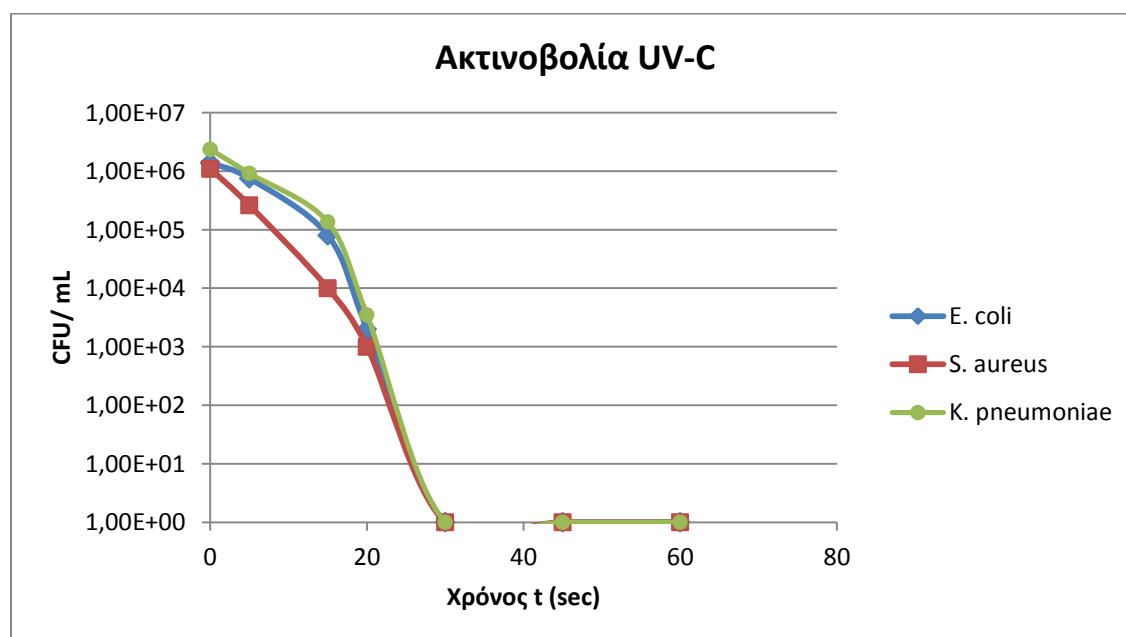
4.4 Αποτελέσματα ακτινοβολίας UV-C

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 αόρατο φως των 254 nm.

Η αδρανοποίηση των μικροοργανισμών επιτυγχάνεται με την απορρόφηση ακτινοβολίας UV-C με μήκος κύματος $\lambda = 254 \text{ nm}$, από ένα μόριο θυμίνης (T) που τυγχάνει να είναι δίπλα σε ένα άλλο μόριο θυμίνης εντός της έλικας DNA με αποτέλεσμα τη δημιουργία ομοιοπολικού δεσμού (διμερούς, dimer). Το διμερές αυτό προκαλεί ουσιαστικό πρόβλημα στην αναπαραγωγή του μικροοργανισμού και έτσι εξουδετερώνεται (Χρυσικόπουλος Κ., 2017).

Στο επόμενο διάγραμμα (Εικόνα 16) παρατηρείται ότι και οι τρεις βακτηριακοί δείκτες αδρανοποιούνται εντελώς, παρουσιάζοντας μείωση συγκέντρωσης της τάξης των 6 Logs. Επιπρόσθετα, η συγκέντρωση και των τριών βακτηρίων μηδενίζεται την ίδια χρονική στιγμή, στα 30 sec.

Στην μελέτη των Malato S. et al., 2009, αναφέρονται στην χρήση ακτινοβολίας UV-C ως μέθοδο αδρανοποίησης παθογόνων. Αναφέρονται σε αυτή τη μέθοδο ως αρκετά αποτελεσματική καθώς το φως της UV-C όταν απορροφάται από το DNA των κυττάρων και καταστρέφει το ακτινοβολημένο DNA. Επίσης αναφέρεται ότι παρόλο που η θολερότητα θεωρείται συχνά ο πιο περιοριστικός παράγοντας αυτής της διαδικασίας, ωστόσο, μερικές φορές λόγω της διάχυσης του φωτός στο υγρό μπορεί να έχει θετική επίδραση στην αποτελεσματικότητα της απολύμανσης. Στην μελέτη των Venieri D. et al., 2016, εξετάστηκε η αδρανοποίηση της *K. Pneumoniae*. Παρατηρήθηκε μείωση της συγκέντρωσης κατά 4 Logs σε χρονικό διάστημα 10min με χρήση λάμπας 11W, ενώ στην παρούσα πειραματική διαδικασία η λάμπα είχε ισχύ 30W.



Εικόνα 16: Αδρανοποίηση βακτηριακών στελεχών *E. coli*, *S. aureus* και *K. pneumoniae* με χρήση ακτινοβολίας UV-C

4.5 Κινητική σταθερά αδρανοποίησης

Πίνακας 4 : Κινητική σταθερά αδρανοποίησης βακτηριακών στελεχών χρησιμοποιώντας ως μέθοδο απολύμανσης φωτοκατάλυση με προσομοίωση ηλιακής ακτινοβολίας

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)
50	<i>Escherichia coli</i>	7*10 ⁵	1,5*10 ⁵	78,57	0,012	0,95
50	<i>Staphylococcus aureus</i>	1,9*10 ⁶	0	100	0,151	0,95
50	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2*10 ⁶	3*10 ⁴	98,5	0,036	0,98

Πίνακας 5: Κινητική σταθερά αδρανοποίησης βακτηριακών στελεχών χρησιμοποιώντας ως μέθοδο απολύμανσης χλωρίωση

Συγκέντρωση 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)
1	<i>Escherichia coli</i>	1,55*10 ⁶	2*10 ¹	99,99	0,202	0,82
1	<i>Staphylococcus aureus</i>	1,15*10 ⁶	3,5*10 ⁴	96,96	0,068	0,93
1	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1,3*10 ⁶	3,55*10 ²	99,97	0,157	0,76

5	<i>Escherichia coli</i>	$1,15 \cdot 10^6$	0	100	6,843	0,99
5	<i>Staphylococcus aureus</i>	$1,6 \cdot 10^6$	0	100	4,605	1
5	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	$2 \cdot 10^6$	0	100	4,772	1

Πίνακας 6: Κινητική σταθερά αδρανοποίησης βακτηριακών στελεχών χρησιμοποιώντας ως μέθοδο απολύμανσης ακτινοβολία UV-C

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>	$1,5 \cdot 10^6$	0	100	23,894	0,88
<i>Staphylococcus aureus</i>	$1,1 \cdot 10^6$	0	100	24,585	0,95
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	$2,35 \cdot 10^6$	0	100	23,917	0,86

Ο συντελεστής k εκφράζει την αποτελεσματικότητα της μεθόδου απολύμανσης. Όσο πιο μεγάλος είναι ο συγκεκριμένος συντελεστής, τόσο πιο αποτελεσματική είναι η μέθοδος απολύμανσης. Αν στους παραπάνω πίνακες παρατηρηθεί το ποσοστό μείωσης πληθυσμού σε σχέση με τον συντελεστή k, οι διακυμάνσεις μεταξύ αυτών των δύο είναι εμφανείς.

Στον Πίνακα 4, μεταξύ των τριών βακτηρίων, ο μεγαλύτερος συντελεστής k συναντάται στον *S. aureus* και είναι ίσος με 0,151. Τον αμέσως μεγαλύτερο συντελεστή k εμφανίζει η *K. pneumoniae* με τιμή 0,036 και τέλος ακολουθεί η *E. coli* με τιμή 0,012. Παρατηρούμε ότι τα δύο Gram αρνητικά βακτήρια έχουν τιμές k με μικρή απόκλιση μεταξύ τους, δείχνοντας πως έχουν την ίδια συμπεριφορά ως προς τη συγκεκριμένη μέθοδο απολύμανσης.

Στον επόμενο πίνακα (Πίνακα 5) παρουσιάζονται οι συντελεστές για την μέθοδο της χλωρίωσης με δύο διαφορετικές συγκεντρώσεις ελεύθερου χλωρίου. Παρατηρείται πως η *E. coli* έχει και για τις δύο συγκεντρώσεις το μεγαλύτερο συντελεστή k. Τον αμέσως μεγαλύτερο συντελεστή τον έχει η *K. pneumoniae*. Ο *S. Aureus* παρουσιάζει

τους μικρότερους συντελεστές όσον αφορά τη χλωρίωση όπως ήταν αναμενόμενο καθώς τα Gram θετικά βακτήρια είναι πιο ανθεκτικά σε περιβαλλοντικό στρες και σε μεθόδους απολύμανσης όπως η χλωρίωση (Βενιέρη Δ., 2016).

Στον Πίνακα 6 παρατηρούμε ότι ο *S. aureus* έχει μεγαλύτερο συντελεστή k ίσο με 24,585. Επίσης οι τιμές των συντελεστών των *E. coli* και *K. pneumoniae* έχουν αμελητέα η απόκλιση μεταξύ τους.

Έπειτα από τις συγκρίσεις των κινητικών σταθερών αδρανοποίησης προκύπτουν τα επακόλουθα αποτελέσματα. Η μέθοδος της φωτοκατάλυσης με προσομοίωση ηλιακής ακτινοβολίας και με δόση καταλύτη 50 mg/L, ήταν πιο αποτελεσματική για την αδρανοποίηση του *S. aureus*. Η χλωρίωση και με τις δύο δόσεις ελεύθερου χλωρίου ήταν αποτελεσματικότερη στην αδρανοποίηση του βακτηρίου *E. coli*. Η UV-C ήταν εξαιρετικά αποτελεσματική και για τα τρία βακτήρια. Παρόλα αυτά, ελάχιστα μεγαλύτερο συντελεστή συναντάμε στην περίπτωση του *S. aureus*.

Αξίζει να αναφερθεί ότι οι μέθοδοι που σχετίζονταν με ακτινοβολία ήταν πιο αποτελεσματικές στην περίπτωση του Gram θετικού βακτηρίου, ενώ η χλωρίωση στα Gram αρνητικά βακτήρια. Άλλη μία παρατήρηση είναι ότι σε καμία από τις τρεις μεθόδους η *K. pneumoniae* δεν εμφανίζει την μεγαλύτερη κινητική σταθερά αδρανοποίησης καθώς εντάσσεται σε κατηγορία πιο ανθεκτικών βακτηρίων.

Παρατηρήθηκαν σημαντικά υψηλότερες τιμές του συντελεστή k στην περίπτωση της απολύμανσης με χρήση ακτινοβολίας UV-C και στα τρία βακτηριακά στελέχη. Αυτό συμβαίνει διότι η συγκεκριμένη μέθοδος απολύμανσης είχε 100% αποτελεσματικότητα σε 30 sec εφαρμογής της. Έπειτα ακολουθεί η μέθοδος της χλωρίωσης με δόση ελεύθερου χλωρίου 5 mg/L και 1 mg/L. Οι μικρότεροι συντελεστές k εμφανίζονται στην μέθοδο της φωτοκατάλυσης με προσομοίωση ηλιακής ακτινοβολίας, καθιστώντας τη συγκεκριμένη μέθοδο ως την πιο ακατάλληλη για την αδρανοποίηση των βακτηρίων συγκριτικά με τις υπόλοιπες.

4.6 Υπολογισμός γινομένου C^*t

Η σχέση C^*t , υπολογίζει την 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, υπό δεδομένες συνθήκες pH και θερμοκρασίας. 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.

Το γινόμενο C^*t , υπολογίζεται μόνο για την μέθοδο χλωρίωσης για δύο βασικούς λόγους. Αρχικά, για τον όρο C δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί η συγκέντρωση του καταλύτη καθώς δεν είναι αυτός το απολυμαντικό μέσο, αλλά δρα ως βοηθητικός παράγοντας για την απολύμανση. Ο δεύτερος λόγος είναι ότι η ακτινοβολία UV-C

μετράται με μονάδες μέτρησης ισχύος (Watt) και όχι με μονάδες μέτρησης συγκέντρωσης.

Πίνακας 7: Πίνακας C*t για 99% μείωση πληθυσμού των βακτηρίων που υποβλήθηκαν σε χλωρίωση 1 και 5 mg/L, χρόνος t (min) (pH=7 & θερμοκρασία=25°C)

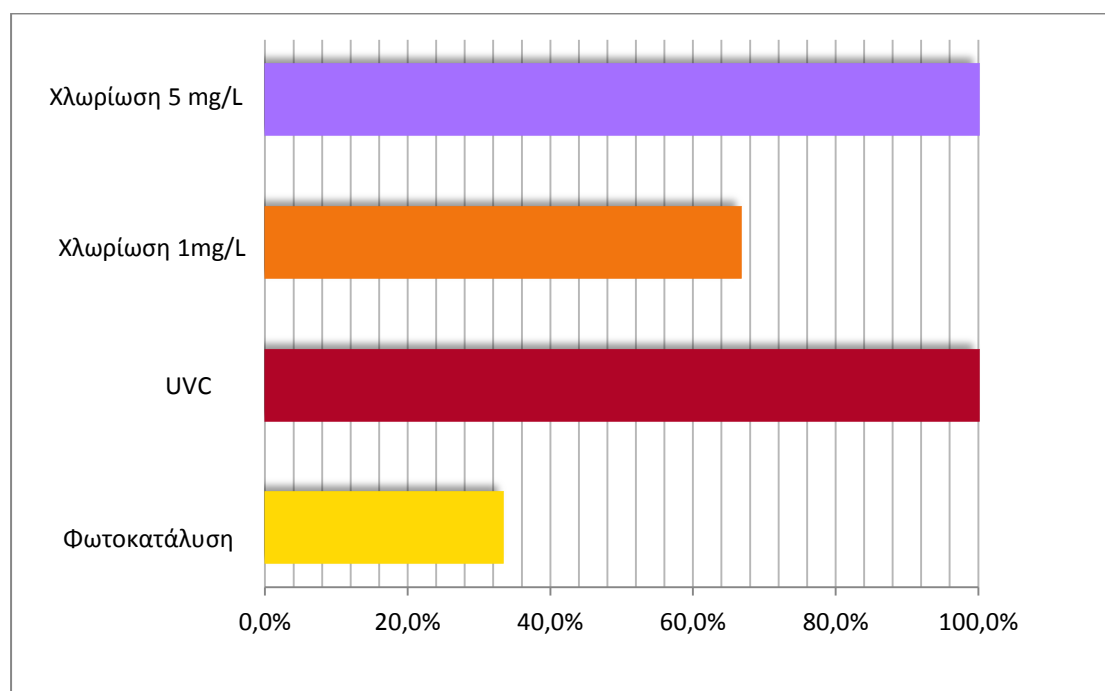
Συγκεντρώσεις (mg/L)	Βακτήριο	C*t
1	<i>Escherichia coli</i>	60
1	<i>Staphylococcus aureus</i>	30
1	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	60
5	<i>Escherichia coli</i>	10
5	<i>Staphylococcus aureus</i>	15
5	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	15

Σύμφωνα με τον Πίνακα 7 η δόση NaOCl 5 mg/L ως προς Cl₂ εμφανίζει το μικρότερο γινόμενο C*t και για τους τρεις μικροοργανισμούς. Πιο αναλυτικά η *E. coli* έχει τιμή γινομένου C*t ίση με 10, δηλαδή χρειάστηκαν μόλις 2 λεπτά για 99% αδρανοποίηση του βακτηριακού πληθυσμού. Ο *S. aureus* και η *K. pneumoniae* έχουν τιμή γινομένου 15 δείχνοντας ότι η αδρανοποίηση του πληθυσμού τους κατά 99%, προέκυψε έπειτα από 3 λεπτά.

Στην δόση NaOCl 1 mg/L ως προς Cl₂ παρατηρήθηκε ότι το γινόμενο C*t παρουσιάζει πολύ μεγαλύτερες τιμές, καθώς χρειάστηκε περισσότερος χρόνος για να επέλθει μείωση του πληθυσμού κατά 99%. Πιο αναλυτικά, στην περίπτωση της *E. coli* και της *K. pneumoniae* χρειάστηκαν 60 min για πλησιάσουν το επιθυμητό ποσοστό αδρανοποίησης, ενώ ο *S. aureus* 30 min.

4.7 Απόκριση των βακτηριακών στελεχών στις μεθόδους απολύμανσης

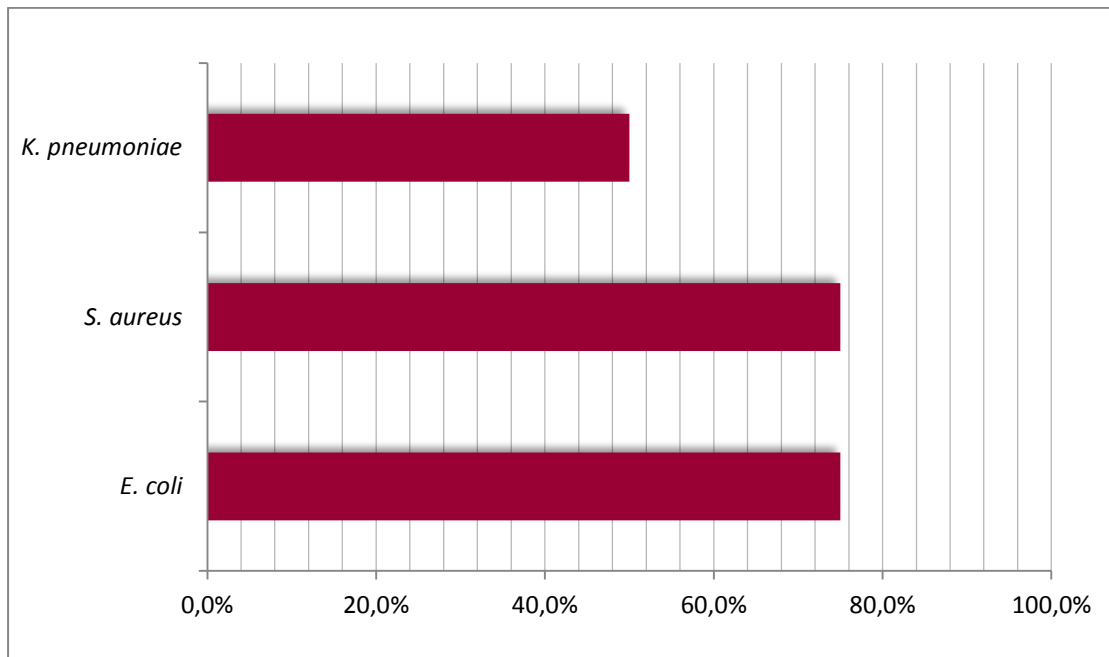
Στο ακόλουθο ραβδόγραμμα (Εικόνα 18) απεικονίζεται η απήχηση της κάθε μεθόδου στην αδρανοποίηση των βακτηρίων *E. coli*, *S. aureus* και *K. pneumoniae*. Για κάθε μέθοδο απολύμανσης, πραγματοποιήθηκαν 3 πειράματα που αναλογούν σε ένα για κάθε βακτήριο. Στην περίπτωση των πειραμάτων με χρήση ακτινοβολίας UV-C και της χλωρίωσης με χρήση NaOCl 5 mg/L ως προς Cl₂, αδρανοποιήθηκαν πλήρως και τα τρία βακτηριακά στελέχη. Με την μέθοδο της φωτοκατάλυσης με προσομοίωση ηλιακής ακτινοβολίας αδρανοποιήθηκε σε ικανοποιητικό βαθμό, δηλαδή σε ποσοστό 99,9%, 1 βακτήριο από τα 3, άρα το ποσοστό επιτυχίας της φωτοκατάλυσης είναι 33%. Τέλος η μέθοδος της χλωρίωσης με χρήση NaOCl 1 mg/L ως προς Cl₂, ήταν επιτυχής στα 2 από τα 3 βακτήρια.



Εικόνα 17: Απεικόνιση των μεθόδων σε σχέση με την αποτελεσματικότητά τους στην αδρανοποίηση των βακτηρίων

Στην εργασία πραγματοποιήθηκαν 12 πειράματα. Για την *E. coli* υπήρξαν συνολικά 3 αποτελεσματικά πειράματα για την αδρανοποίηση της, από τα 4 που διεξάχθηκαν για αυτήν, σημειώνοντας ποσοστό επιτυχίας 75%, όπως παρουσιάζεται στο ραβδόγραμμα της Εικόνας 19. Το ίδιο ποσοστό επιτυχίας εμφανίζει και ο *S. aureus*.

Η *K. pneumoniae* αδρανοποιήθηκε ικανοποιητικά ή πλήρως σε 2 από τα 4 πειράματα που της αναλογούσαν, με αποτέλεσμα να έχει ποσοστό επιτυχούς αδρανοποίησης 50%.



Εικόνα 18: Αποτελεσματικότητα μεταξύ των βακτηρίων

5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η παρούσα διπλωματική εργασία, επικεντρώθηκε στην αδρανοποίηση των τριών βακτηρίων *E. coli*, *S. aureus* και *K. pneumoniae* σε υγρό απόβλητο. Χρησιμοποιήθηκαν τρεις διαφορετικές μέθοδοι απολύμανσης, φωτοκατάλυση με προσομοίωση ηλιακής ακτινοβολίας, χλωρίωση και χρήση ακτινοβολίας UV-C. Στη συνέχεια αναφέρονται τα συμπεράσματα που προέκυψαν έπειτα από την αξιολόγηση των διεξαχθέντων πειραμάτων.

- Σχετικά με τα πειράματα της φωτοκατάλυσης με προσομοίωση της ηλιακής ακτινοβολίας και χρήση καταλύτη ZnTiO_3 50 mg/L, διαπιστώθηκε ότι δεν υπήρξε η επιθυμητή αδρανοποίηση σε όλα τα βακτήρια. Η μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα υπήρξε στην περίπτωση του *S. aureus*, καθώς η συγκέντρωσή του μηδενίστηκε. Οι *E. coli* και *K. pneumoniae* δεν παρουσίασαν ικανοποιητική μείωση στην συγκέντρωσή τους. Συνεπώς η μέθοδος της φωτοκατάλυσης με την συγκεκριμένη συγκέντρωση καταλύτη, κρίνεται κατάλληλη μόνο για την αδρανοποίηση του *S. aureus*.
- Η αδρανοποίηση των βακτηρίων με την μέθοδο της χλωρίωσης είχε καλύτερα αποτελέσματα και για τις δύο συγκεντρώσεις που εξετάστηκαν (1 και 5 mg/L). Αρχικά στην συγκέντρωση 1 mg/L NaOCl ως προς Cl_2 , τα βακτήρια *E. coli* και *K. pneumoniae* μειώθηκαν σημαντικά, χωρίς όμως να μηδενισθεί η συγκέντρωσή τους. Στην περίπτωση του *S. aureus* παρατηρήθηκε ότι η συγκέντρωσή του μειώθηκε ελάχιστα, συνεπώς η χλωρίωση με την δόση 1 mg/L NaOCl ως προς Cl_2 , δεν κρίνεται κατάλληλη για την αδρανοποίησή του. Στην συγκέντρωση των 5 mg/L από τα πρώτα λεπτά των πειραμάτων αδρανοποιήθηκαν πλήρως και οι τρεις μικροοργανισμοί. Συμπερασματικά η συγκέντρωση των 5 mg/L αδρανοποιεί σε μικρότερο χρονικό διάστημα και έχει μεγαλύτερη απολυμαντική δράση, πλεονεκτήματα που την καθιστούν καταλληλότερη από την συγκέντρωση του 1 mg/L.
- Η ακτινοβολία UV-C κατάφερε να αδρανοποιήσει πλήρως και τους τρεις βακτηριακούς δείκτες, αφού οι συγκεντρώσεις τους μηδενίστηκαν σε μόλις μερικά δευτερόλεπτα. Κατά συνέπεια, η συγκεκριμένη μέθοδος απολύμανσης θεωρείται επιτυχής.

6. ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΕΣ ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ

Προκειμένου να υπάρξει μία πιο ολοκληρωμένη εικόνα θα ήταν σημαντικό να εξεταστούν περαιτέρω τα παρακάτω :

- Έλεγχος διαφορετικών συγκεντρώσεων του καταλύτη ZnTiO_3 .
- Η αξιολόγηση των φωτοκαταλυτών ως προς την αδρανοποίηση άλλων βακτηριακών στελεχών και ανθεκτικών ειδών όπως είναι οι ιοί και οι κύστες πρωτοζώων.
- Μελέτη άλλων παραγόντων που επηρεάζουν την απόδοση της φωτοκατάλυσης όπως η θερμοκρασία και το pH.
- Η επίδραση διαφορετικής υδατικής μήτρας όπως νερό θάλασσας, πόσιμο κλπ.
- Χρήση διαφορετικής συγκέντρωσης NaOCl ως προς Cl_2 για την εύρεση της ιδανικής δόσης προς αδρανοποίηση των μικροοργανισμών
- Αδρανοποίηση των βακτηρίων με χρήση διαφορετικών μεθόδων απολύμανσης

7. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Βενιέρη Δ., Γουνάκη Ι., (2016), Πανεπιστημιακές σημειώσεις μαθήματος «Περιβαλλοντικής Μικροβιολογίας», Σχολή Μηχανικών Περιβάλλοντος, Πολυτεχνείο Κρήτης, Χανιά

Γκίκας Π., (2016), Disinfection.pdf, Πανεπιστημιακές σημειώσεις μαθήματος “Σχεδιασμός Περιβαλλοντικών Εγκαταστάσεων και Εκτίμηση Περιβαλλοντικών Επιπτώσεων ΙΙ”, 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

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

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

Κατσίκης Ν., (2014), «Αξιοποίηση της ηλιακής ακτινοβολίας στην απολύμανση παθογόνων μικροοργανισμών με ετερογενή φωτοκατάλυση», Πολυτεχνείο Κρήτης, Χανιά

Κουμάκη Κ., (2017), «Έλεγχος αδρανοποίησης μικροοργανισμών σε υγρά απόβλητα κατά την επεξεργασία τους σε πιλοτική μονάδα φωτοκατάλυσης», Μεταπτυχιακή Διατριβή, Εργαστήριο Περιβαλλοντικής Μικροβιολογίας, Πολυτεχνείο Κρήτης

Λυρώνη Μ., (2016), «Αδρανοποίηση του βακτηριοφάγου MS2 στα απόβλητα με διάφορες τεχνικές απολύμανσης», Διπλωματική εργασία, Πολυτεχνείο Κρήτης, Χανιά

Μακροπούλου Τ., (2018), «Ηλιακή φωτοκατάλυση ως μέθοδος απολύμανσης : Παρασκευή καταλυτών και έλεγχος αδρανοποίησης παθογόνων βακτηρίων», Πολυτεχνείο Κρήτης, Χανιά

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

Πολίτη Α., 2012, «Μελέτη της επίδρασης της θερμοκρασίας και του pH στην καταλυτική δραστηριότητα εμπορικών στελεχών ζύμης *Saccharomyces cerevisiae*», Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Πατρών.

Σπύρου Σ., Τεχνική Επιτροπή Ε.Δ.Ε.Υ.Α., Διερεύνηση εναλλακτικών τρόπων απολύμανσης του πόσιμου νερού, Ρέθυμνο, Νοέμβριος 2014

Τσίρου Μ., (2020), «Έλεγχος αποδοτικότητας μεθόδων απολύμανσης για την αδρανοποίηση παθογόνων βακτηρίων στο νερό», Πολυτεχνείο Κρήτης, Χανιά

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

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

Χρυσικόπουλος, Κ., 2013, Εισαγωγή στις Διεργασίες Καθαρισμού, Νερού και Λυμάτων, Εκδόσεις Τζιόλα

ΔΙΕΘΝΗΣ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

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

Alammar, T., Hamm, I., Wark, M., & Mudring, A. V. (2015). Low-temperature route to metal titanate perovskite nanoparticles for photocatalytic applications. *Applied Catalysis B: Environmental*, 178, 20–28. <https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2014.11.010>

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

Bakri, A., Hariono, B., Utami, M. M. D., & Sutrisno. (2018). Inactivation of Bacteria *S. aureus* ATCC 25923 and *S. Typhimurium* ATCC 14 028 Influence of UV-HPEF. *Journal of Physics: Conference Series*, 953(1). <https://doi.org/10.1088/1742-6596/953/1/012122>

Brown, C., & Seidler, R. J. (1973). Potential Pathogens in the Environment: *Klebsiella pneumoniae*, a Taxonomic and Ecological Enigma1. *Applied Microbiology*, 25(6), 900–904. <https://doi.org/10.1128/am.25.6.900-904.1973>

Chen, Y. di, Duan, X., Zhou, X., Wang, R., Wang, S., Ren, N. qi, & Ho, S. H. (2021). Advanced oxidation processes for water disinfection: Features, mechanisms and prospects. *Chemical Engineering Journal*, 409(August 2020), 128207. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2020.128207>

Das, S., Ranjana, N., Misra, A. J., Suar, M., Mishra, A., Tamhankar, A. J., Lundborg, C. S., & Tripathy, S. K. (2017). Disinfection of the water borne pathogens *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* by solar photocatalysis using sonochemically synthesized reusable Ag@ZnO core-shell nanoparticles. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 14(7). <https://doi.org/10.3390/ijerph14070747>

De la Cruz, N., Dantas, R. F., Giménez, J., & Esplugas, S. (2013). Photolysis and TiO₂ photocatalysis of the pharmaceutical propranolol: Solar and artificial light. *Applied Catalysis B: Environmental*, 130–131, 249–256. <https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2012.10.003>

Du, Y., Lv, X. T., Wu, Q. Y., Zhang, D. Y., Zhou, Y. T., Peng, L., & Hu, H. Y. (2017). Formation and control of disinfection byproducts and toxicity during reclaimed water chlorination: A review. *Journal of Environmental Sciences (China)*, 58, 51–63. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2017.01.013>

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. (2017). Perovskite-type titanate zirconate as photocatalyst for textile wastewater treatment. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(14), 12529–12537. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-7590-4>

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

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. Ben, Zhao, F., Safaei, Z., Babu, I., Ramasamy, D. L., & Sillanpää, M. (2017). Reactivity of novel Ceria–Perovskite composites CeO₂- LaMO₃ (MCu, Fe) in the catalytic wet peroxidative oxidation of the new emergent pollutant ‘Bisphenol F’: Characterization, kinetic and mechanism studies. *Applied Catalysis B: Environmental*, 218, 119-136. <https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2017.06.047>

He, J., Cheng, J., & Lo, I. M. C. (2021). Green photocatalytic disinfection of real sewage: efficiency evaluation and toxicity assessment of eco-friendly TiO₂-based magnetic photocatalyst under solar light. *Water Research*, 190, 116705. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.116705>

Malato, S., Blanco, J., Vidal, A., Alarcón, D., Maldonado, M. I., Cáceres, J., & Gernjak, W. (2003). Applied studies in solar photocatalytic detoxification: An overview. *Solar Energy*, 75(4), 329–336. <https://doi.org/10.1016/j.solener.2003.07.017>

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), 1–59.
<https://doi.org/10.1016/j.cattod.2009.06.018>

Maness P., Smolinski S., Blake D., Huang Z., Wolfrum E., Jacoby W., 1999, Bactericidal activity of photocatalytic TiO₂ 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

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

Parsons S. , Mills A. and Lee S., *Advanced Oxidation Processes for Water and Wastewater Treatment*, IWA Publishing, (2004).

P.C. Reshmi Varma, in *Perovskite Photovoltaics*, 2018

Samir, S. M., Mohamed, S. S., Ahmed, S. M., Shetaia, Y. M., Mohammed, K. M., & El-Taweel, G. E. (2019). Chemical effect of chlorination process on antibiotic resistant bacteria. *Egyptian Journal of Chemistry*, 62(2), 281–290.
<https://doi.org/10.21608/EJCHEM.2018.4959.1441>

Taylor TA, Unakal CG. *Staphylococcus Aureus*. In: StatPearls. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL); 2020.

Tsydenova, O., Batoev, V., & Batoeva, A. (2015). Solar-enhanced advanced oxidation processes for water treatment: Simultaneous removal of pathogens and chemical pollutants. In *International Journal of Environmental Research and Public Health* (Vol. 12, Issue 8, pp. 9542–9561). MDPI AG.
<https://doi.org/10.3390/ijerph120809542>

Unuabonah, E. I., Ugwuja, C. G., Omorogie, M. O., Adewuyi, A., & Oladoja, N. A. (2018). Clays for Efficient Disinfection of Bacteria in Water. *Applied Clay Science*, 151(October 2017), 211–223. <https://doi.org/10.1016/j.clay.2017.10.005>

Venieri, D., Fraggadaki, A., Binas, V., Zachopoulos, A., Kiriakidis, G., & Mantzavinos, D. (2015). Study of the generated genetic polymorphisms during the photocatalytic elimination of *Klebsiella pneumoniae* in water. *Photochemical and Photobiological Sciences*, 14(3), 506–513. <https://doi.org/10.1039/c4pp00291a>

Venieri, D., Fraggadaki, A., Kostadima, M., Chatzisyneon, E., Binas, V., Zachopoulos, A., Kiriakidis, G., & Mantzavinos, D. (2014). Solar light and metal-doped TiO₂ to eliminate water-transmitted bacterial pathogens: Photocatalyst characterization and disinfection performance. *Applied Catalysis B: Environmental*, 154–155, 93–101. <https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2014.02.007>

Venieri, D., Gounaki, I., Bikouvaraki, M., Binas, V., Zachopoulos, A., Kiriakidis, G., & Mantzavinos, D. (2017). Solar photocatalysis as disinfection technique: Inactivation of *Klebsiella pneumoniae* in sewage and investigation of changes in antibiotic resistance profile. *Journal of Environmental Management*, 195, 140–147. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2016.06.009>

Venieri, D., & Mantzavinos, D. (2017). *Disinfection of Waters/Wastewaters by Solar Photocatalysis*. 177–198. https://doi.org/10.1007/978-3-662-53496-0_8

Wang, H., & Lewis, J. P. (2006). Second-generation photocatalytic materials: Anion-doped TiO₂. *Journal of Physics Condensed Matter*, 18(2), 421–434. <https://doi.org/10.1088/0953-8984/18/2/006>

Wang, W., Huang, G., Yu, J. C., & Wong, P. K. (2015). Advances in photocatalytic disinfection of bacteria: Development of photocatalysts and mechanisms. *Journal of Environmental Sciences (China)*, 34, 232–247. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2015.05.003>

Wegelin_Mikrobiologie_1994.Pdf. (n.d.).

Yan, X., Zhao, C. L., Zhou, Y. L., Wu, Z. J., Yuan, J. M., & Li, W. S. (2015). Synthesis and characterization of ZnTiO₃ with high photocatalytic activity. *Transactions of Nonferrous Metals Society of China (English Edition)*, 25(7), 2272–2278. [https://doi.org/10.1016/S1003-6326\(15\)63841-9](https://doi.org/10.1016/S1003-6326(15)63841-9)

Xiao, Y. et al., 2017. Formation and control of disinfection byproducts and toxicity during reclaimed water chlorination: A review. *Journal of Environmental Sciences*, Volume 58, pp. 51-63.

ΙΣΤΟΣΕΛΙΔΕΣ

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

https://ec.europa.eu/environment/water/water-framework/pdf/waterislife_el.pdf

<https://www.wri.org/our-work/topics/water>

<https://www.unwater.org/world-water-development-report-2020-water-and-climate-change/>

<https://www.unicef.org/wash>

<https://www.naftemporiki.gr/printStory/1216059>

<https://athenslab.gr/diagnostikes-exetaseis/klempsiella-klebsiella-pneumoniae-moriaki-anixneusi-1033>