



**ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ ΚΡΗΤΗΣ**

**ΣΧΟΛΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΚΑΙ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ**

---

**ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΠΡΟΗΓΜΕΝΩΝ ΔΙΕΡΓΑΣΙΩΝ ΟΞΕΙΔΩΣΗΣ ΓΙΑ  
ΤΗΝ ΑΔΡΑΝΟΠΟΙΗΣΗ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ**

---

**Διπλωματική Εργασία**

**Χατζή Άννα Μαρία**

**ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ**

**Βενιέρη Δανάη (επιβλέπουσα)**

**Παρανυχιανάκης Νικόλαος**

**Ξεκουκουλωτάκης Νικόλαος**

**ΧΑΝΙΑ, ΟΚΤΩΒΡΙΟΣ , 2023**

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

## ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα διπλωματική εργασία πραγματοποιήθηκε στο πλαίσιο του προγράμματος προπτυχιακών σπουδών της σχολής Χημικών Μηχανικών και Μηχανικών Περιβάλλοντος του Πολυτεχνείου Κρήτης και τα πειράματα διεξήχθησαν στο εργαστήριο Περιβαλλοντικής Μικροβιολογίας.

Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την καθηγήτρια μου κ. Βενιέρη Δανάη, για την ανάθεση του θέματος, την εμπιστοσύνη, την γνώση, την καθοδήγηση και το χρόνο που αφιέρωσε για αυτή την διπλωματική εργασία. Επίσης, ιδιαίτερες ευχαριστίες οφείλω στην κ. Γουνάκη Ιωσηφίνα (Ε.ΔΙ.Π) που με την επιμονή και υπομονή της μου υπέδειξε το σωστό τρόπο διεξαγωγής των πειραμάτων μου, βοήθησε να επιτευχθεί το καλύτερο δυνατό αποτέλεσμα και με έκανε να αγαπήσω το εργαστήριο. Ακόμα, θα ήθελα να ευχαριστήσω τα μέλη της εξεταστικής επιτροπής, τον κ. Παρανυχιανάκη Νικόλαο και τον κ. Ξεκουκουλωτάκη Νικόλαο για τον χρόνο που δέθεσαν.

Ευγνώμων είμαι στις φίλες μου, που με γέμισαν εμπειρίες και ήμασταν συνοδοιπόροι σε όλο το ταξίδι της φοιτητικής μας ζωής. Τέλος, το μεγαλύτερο ευχαριστώ το οφείλω στους γονείς μου, Κώστας και Χαρά, που χωρίς την ηθική και οικονομική υποστήριξη τους δεν θα έφτανα ως εδώ.

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το νερό αποτελεί έναν θεμελιώδες και αναπόσπαστο πόρο για όλους τους ζώντες οργανισμούς του πλανήτη. Ο ρόλος του είναι πολύπλευρος, καθώς συμβάλλει στη συντήρηση των οικοσυστημάτων, των ανθρώπινων κοινωνιών και διατηρεί την ισορροπία του πλανήτη. Παρά το γεγονός αυτό, η μόλυνση των υδάτινων πόρων από ρύπους και παθογόνους μικροοργανισμούς είναι ένα πρόβλημα που μαστίζει την σημερινή εποχή και θέτει σε κίνδυνο την δημόσια υγεία. Η έλλειψη πρόσβασης σε καθαρό νερό μπορεί να οδηγήσει σε υδατογενείς ασθένειες οι οποίες είναι εύκολο να μεταδοθούν παγκοσμίως. Για τους λόγους αυτούς, το πρόβλημα χρήζει ιδιαίτερης προσοχής και η ανάπτυξη οικολογικών τεχνικών, όπως των Προηγμένων Διεργασιών Οξειδωσης έχει ιδιαίτερη σημασία για την αδρανοποίηση των παθογόνων μικροοργανισμών. Αναλογίζοντας όλα τα παραπάνω, η παρούσα διπλωματική εργασία, μελετά την δυνατότητα αδρανοποίησης βακτηριακών δεικτών κοπρανώδους μόλυνσης μέσω Προηγμένων Διεργασιών Οξειδωσης σε διάφορες υδατικές μήτρες.

Ειδικότερα, ελέγχθηκε αρχικά η αποτελεσματικότητα ενεργοποίησης του υπερθειϊκού νατρίου ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8$ ) ή του υπεροξειδίου του υδρογόνου ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) με χρήση βιοεξανθρακώματος. Στην συνέχεια, πραγματοποιήθηκαν πειράματα απολύμανσης μέσω ενεργοποίησης των υπερθειϊκών ριζών με διάφορους τύπους βιοεξανθρακώματος/UVA ακτινοβολίας και τέλος, πειράματα ηλιακής φωτοκατάλυσης με τρεις φωτοκαταλύτες. Ως υδατικές μήτρες επιλέχθηκαν το απιονισμένο νερό, το νερό βρύσης, το εμφιαλωμένο νερό και απόβλητο δευτεροβάθμιας εκροής ενώ η απόδοση των μεθόδων απολύμανσης εξετάστηκε στα βακτηριακά στελέχη *Escherichia coli* και *Enterococcus sp.*. Η αρχική συγκέντρωση των βακτηριακών δεικτών σε όλα τα πειράματα ήταν  $10^6$  CFUs/mL.

Σύμφωνα με τα πειραματικά αποτελέσματα γίνεται αντιληπτό πως κάθε είδος Προηγμένης Διεργασίας Οξειδωσης δεν έχει την ίδια επίδραση στα βακτήρια. Συγκεκριμένα, στον πρώτο κύκλο πειραμάτων η ενεργοποίηση του  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8$  ή του  $\text{H}_2\text{O}_2$  μεμονωμένα με βιοεξανθράκωμα δεν κρίνονται ιδιαίτερα αποτελεσματικές μέθοδοι καθώς δεν επέφεραν κάποια μείωση του πληθυσμού των δύο βακτηριακών δεικτών. Η αδρανοποίησή τους σημειώθηκε μόνο παρουσία υπερθειϊκής ρίζας σε συνδυασμό με υπεριώδη ακτινοβολία, κατά τον δεύτερο κύκλο πειραμάτων. Ωστόσο, και σε αυτόν τον κύκλο μόνο συγκεκριμένα βιοεξανθρακώματα συνεισέφεραν στην απολύμανση, αναλόγως του βακτηρίου που χρησιμοποιήθηκε κάθε φορά. Στις περισσότερες περιπτώσεις απαιτήθηκαν διαφορετικές συνθήκες, οι οποίες υπαγορεύονται από τον υπό μελέτη μικροοργανισμό. Παρά το γεγονός αυτό, ιδιαίτερα αποτελεσματική μέθοδος για την απομάκρυνση και των δύο βακτηρίων από απιονισμένο νερό κρίθηκε αυτή όπου έγινε ενεργοποίηση της  $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$  1400mg/L με ακτινοβολία UVA ισχύος 30W και βιοεξανθρακώματος BSG850 (υπολείμματα ζυθοποιίας πυρολυμένα στους 850°C) 1g/L. Αναφορικά με την μέθοδο απολύμανσης μέσω ετερογενούς ηλιακής φωτοκατάλυσης, κατά τον τρίτο κύκλο πειραμάτων, τα ποσοστά θανάτωσης είναι μεγαλύτερα. Ο φωτοκαταλύτης  $\text{TiO}_2$  εμπλουτισμένος με τα μέταλλα μετάπτωσης Mo και W επίδρασε καλύτερα από τον  $\text{BiVO}_4$  στην απολύμανση των βακτηριακών στελεχών σε απιονισμένο νερό. Ειδικότερα, την βέλτιστη φωτοκαταλυτική αποτελεσματικότητα για την αδρανοποίηση της *E. coli* επέδειξε ο W- $\text{TiO}_2$ , ενώ για τον *Enterococcus sp.* ο Mo- $\text{TiO}_2$ . Αποδείχθηκε ότι μειωμένης της έντασης της ηλιακής ακτινοβολίας η φωτοκαταλυτική αποτελεσματικότητα είναι μικρότερη. Κατά την προσπάθεια απομάκρυνσης της *E. coli* από απόβλητο μέσω των μεθόδων  $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$ /UVA/biochar και ηλιακής φωτοκατάλυσης αποδείχθηκε ότι η συγκεκριμένη υδατική μήτρα παρεμποδίζει την απολύμανση και συμβάλλει αρνητικά σε αυτή. Σε γενικές γραμμές, η *E. coli* επέδειξε μεγαλύτερη ευαισθησία κατά την ηλιακή φωτοκατάλυση ενώ ο *Enterococcus sp.* κατά την μέθοδο ενεργοποίησης του υπερθειϊκού με UVA/biochar σε απιονισμένο νερό.

Συνοψίζοντας, οι Προηγμένες Διεργασίες Οξειδωσης και η συγκεκριμένη μεθοδολογία, ως καινοτόμος και φιλική προς το περιβάλλον μέθοδος κρίθηκε αποτελεσματική για την αδρανοποίηση των δύο βακτηριακών δεικτών υπό συγκεκριμένες συνθήκες, οι οποίες εξαρτώνται από την ποικιλία των δομικών τους χαρακτηριστικών και τη φυσιολογία τους.

## ABSTRACT

Water forms a fundamental and integral source for all living organisms on the planet. Its role is versatile as it contributes to the preservation of ecosystems, human societies and it also maintains the planet's balance. Despite this fact, water pollution from pollutants and pathogenic microorganisms is a problem that torments present time and jeopardizes public health. The lack of access to clean water may lead to waterborne diseases which are easy to spread globally. For all the above reasons, the problem asks for special attention and thus the development of ecological techniques, such as Advanced Oxidation Processes (AOPs), is of major importance in order to inactivate pathogenic microorganisms. Considering all of the above, this diploma thesis, examines the potential of inactivating bacterial indicators of fecal contamination via Advanced Oxidation Processes in various water matrices.

More specifically, the activation efficiency of sodium persulfate ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8$ ) or hydrogen peroxide ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) was first tested using biochars of various origins. Subsequently, disinfection experiments were performed by activation of persulfate radicals with different types of biochar/UVA irradiation and finally, solar photocatalysis experiments with three photocatalysts. Deionized water, tap water, bottled water and secondary effluent waste were selected as aqueous matrixes and the performance of the disinfection methods was tested on the bacterial strains *Escherichia coli* and *Enterococcus sp.* The initial concentration of bacterial indicators in all experiments was  $10^6$  CFUs/mL.

According to the experimental results, it can be seen that not every type of Advanced Oxidation Process has the same effect on bacteria. In particular, in the first cycle of experiments, activation of  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8$  or  $\text{H}_2\text{O}_2$  individually by biochar were not considered to be particularly effective methods as they did not bring about any reduction in the population of the two bacterial indicators. Their inactivation occurred only in the presence of persulfate radicals in combination with UV radiation during the second cycle of experiments. However, also in this cycle, only specific type of biochars contributed to the disinfection, depending on the bacterium used each time. In most cases different conditions were required, dictated by the microorganism under study. Despite this, a particularly effective method for the removal of both bacteria from deionized water was found to be the one where  $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$  1400mg/L was activated by 30W UVA radiation and BSG850 biochar (brewery residues pyrolyzed at 850°C) 1g/L. Regarding the method of disinfection by heterogeneous solar photocatalysis, during the third cycle of experiments, the kill rates were higher. The photocatalyst  $\text{TiO}_2$  doped with the transition metals Mo and W had a better effect than that of  $\text{BiVO}_4$  photocatalyst, on the disinfection of bacterial strains in deionized water. In particular, W- $\text{TiO}_2$  showed the best photocatalytic efficiency for the inactivation of *E. coli*, while for *Enterococcus sp.* ,Mo- $\text{TiO}_2$  photocatalyst. It was shown that reduced solar irradiance decreased the photocatalytic efficiency. When attempting to remove *E. coli* from waste by  $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$ /UVA/biochar and solar photocatalysis methods, it was shown that this aqueous matrix contributes negatively to disinfection. In general, *E. coli* showed higher susceptibility during solar photocatalysis while *Enterococcus sp.* during the UVA/biochar activated persulfate method in deionized water.

In summary, Advanced Oxidation Processes and in particular this methodology, as an innovative and environmentally friendly method was found to be effective for the inactivation of the two bacterial indicators under specific conditions, which depends on the variety of their structural characteristics and physiology and the operating conditions in each case.

## Περιεχόμενα

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	1
1.1 Απολύμανση.....	1
1.1.1 Χαρακτηριστικά ενός ιδανικού απολυμαντικού .....	2
1.1.2 Μηχανισμοί δράσης των απολυμαντικών .....	2
1.1.3 Κινητική της απολύμανσης .....	3
1.2 Βακτήρια .....	4
1.2.1 Μικροβιολογική ποιότητα υδάτων .....	5
1.2.2 <i>Escherichia coli</i> .....	6
1.2.3 <i>Enterococcus sp.</i> ....	7
1.3 Προηγμένες διεργασίες οξείδωσης (Advanced Oxidation Processes- AOP's).....	7
1.4 Προηγμένες διεργασίες οξείδωσης με το αντιδραστήριο Fenton (Fenton-Like System).....	9
1.5 Προηγμένες διεργασίες οξείδωσης με βάση τις υπερθειϊκές ρίζες (Persulfate-based AOPs) .....	10
1.6 Υπερθειϊκό άλας - Sodium persulfate ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8$ ) .....	10
1.6.1 Φυσικές και χημικές ιδιότητες .....	10
1.6.2 Μηχανισμοί υπερθειϊκών αντιδράσεων.....	11
1.6.3 Ενεργοποίηση υπερθειϊκού άλατος ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8$ ).....	12
1.7 Προηγμένες διεργασίες οξείδωσης – Ηλιακή φωτοκατάλυση (Solar photocatalysis).....	15
1.7.1 Ετερογενής φωτοκατάλυση .....	16
2. ΣΚΟΠΟΣ.....	18
3. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ .....	19
3.1 Υλικά και συσκευές.....	19
3.2 Πειραματική διαδικασία.....	21
3.2.1 Παρασκευή θρεπτικού υλικού .....	21
3.2.2 Απολύμανση με χρήση βιοεξανθρακώματος για την ενεργοποίηση του υπερθειϊκού νατρίου .....	21
3.2.3 Απολύμανση με χρήση βιοεξανθρακώματος για την ενεργοποίηση του υπεροξειδίου του υδρογόνου.....	24
3.2.4 Απολύμανση με χρήση βιοεξανθρακώματος/UVA για την ενεργοποίηση του υπερθειϊκού νατρίου .....	25
3.2.5 Απολύμανση με ετερογενή ηλιακή φωτοκατάλυση .....	27
4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ .....	29
4.1 Βιοεξανθρακώματα που χρησιμοποιήθηκαν για την ενεργοποίηση του υπερθειϊκού νατρίου και του υπεροξειδίου του υδρογόνου .....	29

4.1.1 Χαρακτηρισμός βιοεξανθρακωμάτων (biochars, BC) .....	29
4.1.2 Φυσικοχημικός χαρακτηρισμός .....	30
4.2 Αποτελέσματα ενεργοποίησης υπερθειϊκού νατρίου με χρήση βιοεξανθρακωμάτων	34
4.3 Αποτελέσματα ενεργοποίησης υπεροξειδίου του υδρογόνου με βιοεξανθρακώματα	39
4.4 Αποτελέσματα ενεργοποίησης υπερθειϊκού νατρίου με ακτινοβολία UVA και χρήση βιοεξανθρακωμάτων .....	42
4.5 Αποτελέσματα ετερογενούς ηλιακής φωτοκατάλυσης .....	49
4.5.1 Φωτοκαταλύτες που χρησιμοποιήθηκαν κατά την ηλιακή φωτοκατάλυση .....	49
4.5.2 Πειράματα ηλιακής φωτοκατάλυσης με το βακτηριακό στέλεχος <i>E. coli</i> .....	50
4.5.3 Πειράματα ηλιακής φωτοκατάλυσης με το βακτηριακό στέλεχος <i>Enterococcus sp.</i> .....	54
4.6 Κινητική σταθερά αδρανοποίησης .....	57
5 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ .....	62
6 ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΕΣ ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ .....	64
7 ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ .....	65
8 ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ .....	71





## 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

---

Στην σημερινή εποχή, η ρύπανση του νερού αποτελεί ένα επίκαιρο πρόβλημα παγκόσμιας κλίμακας που μπορεί να φέρει επιπτώσεις στα οικοσυστήματα, στην ανθρώπινη υγεία και γενικά στο περιβάλλον. Μία ματιά στο παρελθόν, αποτελεί απόδειξη ότι η εμφάνιση της ρύπανσης και των επιπτώσεων της οφείλεται αφενός στο φαινόμενο του υπερπληθυσμού, το οποίο οδήγησε στην ανάγκη εύρεσης περισσότερων πόρων και αφετέρου στην βιομηχανοποίηση και στην αστικοποίηση (Saravanan et al., 2022). Συγκεκριμένα, η παρατεταμένη παρουσία οργανικών ρύπων που προέρχεται από βιομηχανικά χημικά, γεωργικά απόβλητα και φαρμακευτικά υπολείμματα ζωγραφίζει ως ένα βαθμό ένα ανησυχητικό πορτρέτο των υδάτινων πόρων. Παράλληλα με αυτό, ακόμα και στις χώρες με υψηλά πρότυπα υγιεινής, οι επιπτώσεις από ασθένειες που προέρχονται από παθογόνους μικροοργανισμούς των υδάτων, συμπεριλαμβανομένου των βακτηρίων, των μυκήτων, των ιών κ.α., είναι αρκετές. Πολλές παράμετροι της ποιότητας των υδάτων σχετίζονται με την μικροβιακή μόλυνση, γεγονός που απαιτεί την αδρανοποίηση παθογόνων μικροοργανισμών μέσω προηγμένων τεχνολογιών (Chen et al., 2021).

Οι κλασσικές συμβατές μέθοδοι απολύμανσης όπως η χλωρίωση και η οζόνωση παρόλο που είναι ευρέως διαδεδομένες και εφαρμόζονται αρκετά, έχουν ορισμένα μειονεκτήματα. Ειδικότερα, το κυριότερο όλων είναι ότι δημιουργούν παραπροϊόντα απολύμανσης που μπορούν να αποβούν μοιραία για την δημόσια υγεία όπως, το τριαλομεθάνιο και τα αλοξικά οξέα (Guerra-Rodríguez et al., 2022). Επομένως, η ανάπτυξη καινοτόμων και οικολογικών μεθόδων που θα συνδυάζουν την ασφαλή χρήση του νερού με την απαλλαγή του από παθογόνους μικροοργανισμούς και μικρορύπους είναι απαραίτητη. Οι Προηγμένες Διεργασίες Οξειδωσης (AOPs) αποτελούν νέες τεχνολογίες που πληρούν όλα τα παραπάνω κριτήρια και μελετώνται στην παρούσα διπλωματική εργασία. Στις AOPs παράγονται υψηλής δραστηριότητας ελεύθερες ρίζες που έχουν την δυνατότητα να αδρανοποιήσουν μικροοργανισμούς και να αποδομήσουν ρύπους. Οι οξειδωτικοί παράγοντες που χρησιμοποιούνται στις συγκεκριμένες μεθόδους απολύμανσης λόγω του υψηλού οξειδοαναγωγικού τους δυναμικού ( $E_0$ ) είναι οι υδροξυλικές ρίζες ( $\text{OH}$ ,  $E_0 = 1,8\text{-}2,7\text{V}$ ), οι οποίες παράγονται από το υπεροξείδιο του υδρογόνου ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), και οι θειικές ρίζες ( $\text{SO}_4^{2-}$ ) οι οποίες έχουν ακόμα υψηλότερο δυναμικό ( $E_0 = 2,5\text{-}3,1\text{V}$ ). Οι  $\text{SO}_4^-$  παράγονται ενεργοποιώντας διάφορες οξειδωτικές ενώσεις με το υπεροξειμονοσουλφικό ανιόν (PMS) ή με το νάτριο ή κάλιο υπεροξειδισουλφικό ανιόν (PDS).

### 1.1 Απολύμανση

Απολύμανση νοείται η διαδικασία κατά την οποία καταστρέφονται, αδρανοποιούνται και απομακρύνονται οι παθογόνοι μικροοργανισμοί. Συγκεκριμένα, αποτελεί την πιο σημαντική διαδικασία για τον περιορισμό των κινδύνων, που δημιουργούνται από τους παθογόνους μικροοργανισμούς, σε διάφορους τύπους νερού (Wu et al., 2022). Σκοπός της απολύμανσης του νερού είναι η καταστροφή ή αδρανοποίηση των παθογόνων, έτσι ώστε οι συγκεκριμένοι να μην αναπαράγονται και να μην αναπτύσσονται. Η απολύμανση δεν πρέπει να συγχέεται με την αποστείρωση, η οποία σκοτώνει όλους τους παθογόνους και μη παθογόνους μικροοργανισμούς (Saqib Ishaq et al., 2019).

Το νερό που προορίζεται για ανθρώπινη κατανάλωση και ιδιαίτερα το πόσιμο νερό, πρέπει να είναι απαλλαγμένο από παθογόνους μικροοργανισμούς έτσι ώστε να προλαμβάνεται η διάδοση διάφορων ασθενειών. Η απολύμανση του νερού μπορεί να επιτευχθεί είτε με χημικά είτε με φυσικά μέσα. Οι πιο διαδεδομένες και συμβατές μέθοδοι απολύμανσης είναι η χλωρίωση, ο οζονισμός και η ακτινοβολήση με UV, οι οποίες έχουν υψηλή οξειδωτική δράση (S. Liu et al., 2023) .

### **1.1.1 Χαρακτηριστικά ενός ιδανικού απολυμαντικού**

Ένα ιδανικό απολυμαντικό θα πρέπει να παρουσιάζει μια ποικιλία χαρακτηριστικών όπως (Metcalf & Eddy, 2007):

- Διαθεσιμότητα σε μεγάλες ποσότητες και λογικές τιμές
- Μη τοξικότητα τόσο σε ανθρώπους όσο και σε ζώα
- Αποδοτικότητα σε θερμοκρασίες περιβάλλοντος
- Υψηλή σταθερότητα δηλαδή να διατηρεί την μικροβιοκτόνο δράση του για μεγάλο χρονικό διάστημα
- Ασφάλεια κατά την μεταφορά, αποθήκευση, χειρισμό και χρήση του
- Διαλυτότητα αφενός στο νερό και αφετέρου στους κυτταρικούς ιστούς
- Ομοιογένεια
- Απορροφητικότητα μόνο από τα κύτταρα των βακτηρίων και όχι από άλλα οργανικά υλικά
- Μη διαβρωτικό
- Υψηλή τοξικότητα στους μικροοργανισμούς ακόμα και σε υψηλές αραιώσεις
- Διείσδυση διαμέσου επιφανειών

Σημειώνεται ότι, παρόλο που ένα απολυμαντικό είναι αδύνατον να συγκεντρώνει όλα τα παραπάνω χαρακτηριστικά, αυτά πρέπει να εξετάζονται με σκοπό την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας των προτεινόμενων απολυμαντικών.

### **1.1.2 Μηχανισμοί δράσης των απολυμαντικών**

Για την επεξήγηση της δράσης των απολυμαντικών έχουν προταθεί πέντε βασικοί μηχανισμοί (Metcalf & Eddy, 2007):

#### **Φθορά του κυτταρικού τοιχώματος**

Κατά την καταστροφή του κυτταρικού τοιχώματος λύεται και θανατώνεται το κύτταρο του μικροοργανισμού. Ενώσεις όπως η πενικιλίνη παρεμποδίζουν την σύνθεση του κυτταρικού τοιχώματος των βακτηρίων.

#### **Μεταβολή της κυτταρικής διαπερατότητας**

Απολυμαντικά όπως τα απορρυπαντικά και οι φαινολικές ενώσεις έχουν την δυνατότητα να μεταβάλλουν την διαπερατότητα της κυτταροπλάσματικής μεμβράνης. Συγκεκριμένα, αυτές οι ενώσεις καταστρέφουν την διαπερατότητα της μεμβράνης με αποτέλεσμα την διαρροή

κυτταρικών στοιχείων, όπως το άζωτο και ο φώσφορος, και τελικά την καταστροφή των κυττάρων.

### **Μεταβολή της κολλοειδούς φύσης του πρωτοπλάσματος**

Η θερμότητα, η ακτινοβολία και τα ισχυρά οξέα ή τα αλκαλικά μέσα έχουν την δυνατότητα να μεταβάλλουν την κολλοειδή φύση του πρωτοπλάσματος.

### **Μεταβολή του DNA ή RNA των οργανισμών**

Απολυμαντικά όπως η υπεριώδης ακτινοβολία UV μπορεί να προκαλέσει το σχηματισμό διπλών δεσμών στους μικροοργανισμούς και ρήξη ορισμένων κλώνων DNA. Αυτή η ρήξη εμποδίζει τις διαδικασίες της αντιγραφής και της μεταγραφής, καθιστώντας τον μικροοργανισμό ανενεργό καθώς δεν μπορεί να αναπαραχθεί.

### **Παρεμπόδιση της ενζυματικής δράσης**

Ορισμένα απολυμαντικά όπως το χλώριο μεταβάλλουν ή απαγορεύουν τη χημική διευθέτηση των ενζύμων, τα οποία είναι καθοριστικά για την επιβίωση και την αναπαραγωγή των μικροοργανισμών. Παρεμποδίζοντας έτσι την ενζυματική διαδικασία, τα απολυμαντικά απενεργοποιούν τα ένζυμα και αδρανοποιούν τους μικροοργανισμούς.

### **1.1.3 Κινητική της απολύμανσης**

Ο μηχανισμός των μεθόδων απολύμανσης αποτελεί μια πολύπλοκη διαδικασία και επομένως η κινητική ανάλυση της βακτηριακής αδρανοποίησης πραγματοποιείται συνήθως χρησιμοποιώντας εμπειρικές εξισώσεις (Marugán et al., 2008). Η Αγγλίδα ερευνήτρια Harriette Chick παρατήρησε στις αρχές του εικοστού αιώνα ότι για μια συγκεκριμένη συγκέντρωση απολυμαντικού, η απενεργοποίηση των μικροοργανισμών είναι ανάλογη του χρόνου επαφής και τα πειραματικά της δεδομένα περιγράφονται με μια αντίδραση πρώτης τάξης (Metcalf & Eddy, 2007):

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

Όπου  $N_t$  ο αριθμός των μικροοργανισμών κατά την χρονική περίοδο  $t$  και  $k$  η κινητική σταθερά του ρυθμού απενεργοποίησης ή θανάτωσης των μικροοργανισμών.

Η ολοκλήρωση της εξίσωσης με αρχικές συνθήκες:  $t = 0$  και  $N = N_0$  δίνει:

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

Η οποία μπορεί να γραφεί και ως:

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

Όπου  $N_0$  η αρχική συγκέντρωση των μικροοργανισμών

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

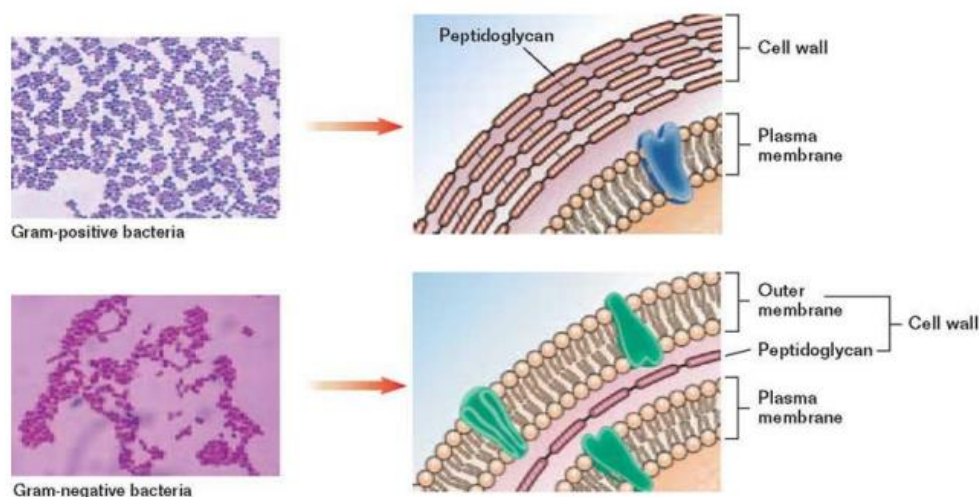
## 1.2 Βακτήρια

Τα βακτήρια είναι μικροί, μονοκύτταροι, προκαρυωτικοί οργανισμοί που δεν διαθέτουν πυρήνα ή μεμβρανώδη οργανίδια πάρα μόνο ριβοσώματα. Ζουν μεμονωμένα ή κοινοβιακά και ανάλογα με τα μορφολογικά τους χαρακτηριστικά μπορούν να διαχωριστούν σε:

- i. Ελικοειδή (σπειρύλλια)
- ii. Σφαιρικά (κόκκοι)
- iii. Ραβδοειδή (βάκιλοι)

Το γενετικό τους υλικό είναι δίκλωνο κυκλικό μόριο DNA ενώ συχνά διαθέτουν και επιπλέον μικρότερα μόρια γενετικού υλικού που ονομάζονται πλασμίδια. Τα βακτήρια αναπαράγονται μονογονικά μέσω της διαδικασίας της απλής διχοτόμησης, όπου ένα κύτταρο διαιρείται σε δύο. Κάθε βακτήριο διπλασιάζεται κάθε 20-30 λεπτά (Βενιέρη Δ. & Γουνάκη Ι., 2017). Η πλασματική μεμβράνη των κυττάρων τους περιβάλλεται από το κυτταρικό τοίχωμα όπου με βάση την δομή αυτού και της τεχνικής της χρώσης κατά Gram τα βακτήρια διακρίνονται σε:

- i. Θετικά κατά Gram (μπλε- ιώδες χρώμα)
- ii. Αρνητικά κατά Gram (ροζ- βιολετί χρώμα)



Εικόνα 1 Απεικόνιση της δομής του κυττάρου των Gram- θετικών και Gram- αρνητικών βακτηρίων (Δομή Βακτηρίων)

Το κυτταρικό τοίχωμα των Gram- θετικών (ή Gram(+)) βακτηρίων αποτελείται κατά ποσοστό έως 90% από ένα πολυμερές που ονομάζεται πεπτιδογλυκάνη σχηματίζοντας ένα ισχυρό παχύ στερεό στρώμα. Επιπλέον περιέχει τειχοϊκά οξέα, τα οποία συμβάλλουν στην σταθερότητα του κυτταρικού τοιχώματος αυτών των βακτηρίων και στην αντοχή του ενάντια σε δυσμενείς συνθήκες όπως υψηλό pH και υψηλή θερμοκρασία.

Το κυτταρικό τοίχωμα των Gram- αρνητικών (ή Gram(-)) βακτηρίων είναι πιο περίπλοκο από αυτό των Gram- θετικών βακτηρίων καθώς αποτελείται από ένα έως δύο λεπτά στρώματα πεπτιδογλυκάνης και μία εξωτερική μεμβράνη, ενώ δεν περιέχει τείχοϊκά οξέα. Η εξωτερική μεμβράνη είναι μία ασύμμετρη διπλοστοιβάδα που διαφέρει μορφολογικά από τις υπόλοιπες βιολογικές μεμβράνες και βρίσκεται εξωτερικά της πεπτιδογλυκάνης (*Δομή Βακτηρίων*).

Μερικά βακτήρια είναι παθογόνα για τον άνθρωπο προκαλώντας του σοβαρές ασθένειες ή διαταραχές στην υγεία του. Ένα παράδειγμα αποτελεί το βακτήριο *Vibrio cholerae* που προκαλεί την χολέρα. Εκτός όμως από τα παθογόνα υπάρχουν και βακτήρια που δεν είναι βλαβερά για τους οργανισμούς (άνθρωποι, ζώα, φυτά) και αποτελούν φυσιολογική μικροχλωρίδα για αυτούς, όπως το βακτήριο *Escherichia coli* που είναι μέλος της μικροχλωρίδας του ανθρώπινου εντέρου και συμβάλλει στην φυσιολογική λειτουργία αυτού.

### **1.2.1 Μικροβιολογική ποιότητα υδάτων**

Η μικροβιολογική ποιότητα των υδάτων ελέγχεται με την χρήση δεικτών κοπρανώδους μόλυνσης, δηλαδή ομάδας μικροοργανισμών όπου, η ανίχνευση τους στα ύδατα αποδεικνύει και την παρουσία κοπράνων ή λυμάτων από τον άνθρωπο ή τα ζώα. Για να θεωρηθούν οι μικροοργανισμοί δείκτες κοπρανώδους μόλυνσης πρέπει να πληρούν τα εξής χαρακτηριστικά (Βαβίζος & Μερτζάνης, 2003):

- Οι συγκεντρώσεις τους στα λύματα να είναι μεγαλύτερες σε σχέση με εκείνες των παθογόνων μικροοργανισμών
- Η ανάπτυξη τους στο εξωτερικό περιβάλλον να είναι ελάχιστη ή μηδενική
- Η ανθεκτικότητα τους στις παραδοσιακές μεθόδους απολύμανσης και στο εξωτερικό περιβάλλον να ξεπερνά εκείνη των παθογόνων μικροοργανισμών
- Η ανίχνευση τους να είναι εφικτή με σχετικά απλές μεθόδους

Με βάση τα παραπάνω χαρακτηριστικά, οι πιο κοινοί δείκτες που χρησιμοποιούνται έως και σήμερα είναι οι ομάδες των ολικών κολοβακτηριδίων, κοπρανωδών κολοβακτηριδίων και των κοπρανωδών στρεπτόκοκκων.

#### **Ολικά κολοβακτηρίδια (Total Coliforms)**

Τα ολικά κολοβακτηρίδια αποτελούν αερόβια ή προαιρετικά αερόβια Gram(-) βακτήρια που είναι ευρέως διαδεδομένα και αναπτύσσονται στο έδαφος, τα επιφανειακά ύδατα και τα τρόφιμα. Απαρτίζονται από τα είδη *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter* και *Escherichia*. Στην ομάδα των ολικών κολοβακτηριδίων περιλαμβάνονται είδη που ζουν φυσικά στο έντερο του ανθρώπου και των θερμόαιμων ζώων επομένως, η παρουσία τους στο νερό δεν υποδηλώνει αποκλειστικά μόλυνση κοπρανώδους προέλευσης. Ωστόσο, η εύρεση ολικών κολοβακτηριδίων στο νερό αποτελεί ένδειξη επιμόλυνσης από εξωγενείς παράγοντες.

#### **Κοπρανώδη κολοβακτηρίδια (Faecal Coliforms)**

Τα κοπρανώδη κολοβακτηρίδια αποτελούν ομάδα βακτηρίων, πολλά είδη της οποίας ζουν αποκλειστικά στο έντερο του ανθρώπου και των θερμόαιμων ζώων. Αναπτύσσονται σε

υψηλές θερμοκρασίες και περιέχονται σε πολύ μεγάλο βαθμό στα περιττώματα, στα λύματα και στα κτηνοτροφικά απόβλητα. Τα κοπρανώδη κολοβακτηρίδια ταξινομούνται στην οικογένεια *Enterobacteriaceae* και το συνηθέστερο είδος της ομάδας είναι το βακτήριο *Escherichia coli*. Η παρουσία τους στο νερό σε συνδυασμό με την ανίχνευση παρουσίας συγκεκριμένων παθογόνων παραγόντων, υποδηλώνει σαφή κοπρανώδη μόλυνση καθιστώντας το νερό υγειονομικά επικίνδυνο.

### **Κοπρανώδης στρεπτόκοκκοι (Faecal Streptococci)**

Οι κοπρανώδη στρεπτόκοκκοι αποτελούν ομάδα βακτηρίων στην οποία περιλαμβάνονται είδη και ποικιλίες όπως *Streptococcus faecalis*, *S. faecium*, *S. bovis* και *S. equinus* που συνήθως ζουν στο έντερο του ανθρώπου και των θερμόαιμων ζώων (βοοειδή, χοίροι, ιπποειδή κ.λπ.). Ανάλογα με το είδος και την ποικιλία του γένους *Streptococcus* που χρησιμοποιείται, προσδιορίζεται και η πηγή μόλυνσης των υδάτων. Για παράδειγμα, σε περίπτωση υπεροχής των ειδών *S. bovis* και *S. equinus* έναντι άλλων ειδών σε δείγμα νερού, υποδηλώνει μόλυνση των υδάτων από ζωικά απόβλητα.

### **1.2.2 *Escherichia coli***

Η *Escherichia coli* είναι ένα Gram-αρνητικό ραβδόμορφο βακτήριο, ανήκει στην οικογένεια *Enterobacteriaceae* και είναι ένας προαιρετικά αναερόβιος βάκιλος που εντοπίζεται στο έντερο των θερμόαιμων ζώων (Offenbaume et al., 2020). Συνήθως αποικίζει στην εντερική κοιλότητα του ξενιστή χωρίς να προκαλεί βλάβη και αποτελεί μέρος της φυσικής χλωρίδας του ανθρώπινου παχέος εντέρου (Nataro & Kaper, 1998). Παρόλο που πολλά στελέχη του βακτηρίου *E. coli* δεν είναι μολυσματικά, λοιμογόνα στελέχη είναι πιθανό να προκαλέσουν νεογνική μηνιγγίτιδα, σηψαιμία ή ουρολοίμωξη.

Η παρουσία της σε διάφορους τύπους νερού ή στα τρόφιμα αποτελεί άμεση ή έμμεση ένδειξη κοπρανώδους μόλυνσης καθώς και πιθανής παρουσίας άλλων παθογόνων (Βενιέρη Δ. & Γουνάκη Ι., 2017).

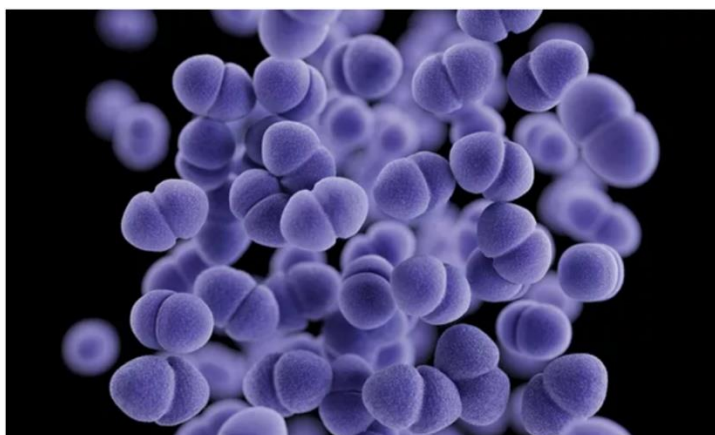




### 1.2.3 *Enterococcus sp.*

Οι εντερόκοκκοι (ή *Enterococcus sp.*) είναι Gram-θετικά, προαιρετικά αναερόβια βακτήρια με ωοειδές σχήμα. Μπορούν να εμφανιστούν ως μεμονωμένα κύτταρα, ζεύγη ή αλυσίδες. Αποτελούν μέλος του γένους *Enterococcus*, ενώ παλαιότερα λόγω των τεχνολογικών εργαλείων τις εποχής θεωρούνταν μέλος του γένους *Streptococcus*.

Τουλάχιστον πέντε είδη εντερόκοκκων αποτελούν μέρος της φυσιολογικής εντερικής χλωρίδας πολλών θερμόαιμων ζώων. Αναλυτικότερα, στον άνθρωπο τα πιο κοινά είδη που μπορούν να εντοπιστούν είναι ο *Enterococcus faecalis* και ο *Enterococcus faecium*. Έχουν ένα μεγάλο αριθμό εγγενών και επίκτητων χαρακτηριστικών αντοχής σε διάφορα αντιβιοτικά και αποτελούν έναν από τους πιο κοινούς οργανισμούς που είναι υπεύθυνος για νοσοκομειακές λοιμώξεις (Murray, 1990). Συγκεκριμένα, ο *Enterococcus faecalis* ευθύνεται για το 80-90% των εντεροκοκκικών λοιμώξεων στον άνθρωπο και αποτελεί το κυρίαρχο είδος εντερόκοκκων (Love, 2001).



Εικόνα 3 Απεικόνιση βακτηρίου *Enterococcus sp.* (Multidrug-Resistant Enterococcal Infections / Clinician's Brief, n.d.)

Όσον αφορά στη δημόσια υγεία, τα βακτήρια αυτά αποτελούν αξιόπιστο δείκτη κοπρανώδους μόλυνσης διάφορων τύπων νερών (Offenbaume et al., 2020).

### 1.3 Προηγμένες διεργασίες οξείδωσης (Advanced Oxidation Processes-AOP's)

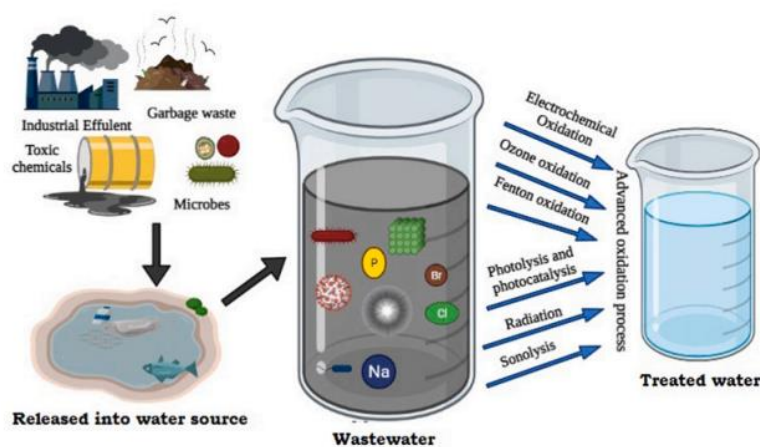
Οι παραδοσιακές και συμβατικές μέθοδοι απολύμανσης, όπως η χλωρίωση ο οζονισμός και η έκθεση σε ακτινοβολία UV, παρά το γεγονός ότι είναι αποτελεσματικές, ως ένα βαθμό, δημιουργούν κάποια προβλήματα (Saravanan et al., 2022). Συγκεκριμένα, απαιτούν υψηλό κόστος για την μετέπειτα επεξεργασία των δευτερογενών ρύπων καθώς αυτοί μετασχηματίζονται ή δεν καταστρέφονται πλήρως (Faheem et al., 2020). Παράλληλα με αυτό, στην περίπτωση της χλωρίωσης δημιουργούνται καρκινογόνα παραπροϊόντα που



είναι επιβλαβή τόσο για την ανθρώπινη υγεία όσο και για το περιβάλλον. Για τους παραπάνω λόγους έχουν γίνει μελέτες για την εύρεση καινοτόμων και ασφαλέστερων μεθόδων απολύμανσης, οι οποίες θα απομακρύνουν αποτελεσματικά τους υψηλής τοξικότητας ρύπους και δεν θα δημιουργούν προβλήματα υγείας στον άνθρωπο.

Οι προηγμένες διεργασίες οξείδωσης είναι αποτελεσματικές τεχνολογίες για την επεξεργασία του πόσιμου νερού και των αποβλήτων με σκοπό τόσο την αποδόμηση των οργανικών και ανόργανων μικρό-ρύπων όσο και την αδρανοποίηση των παθογόνων μικροοργανισμών. Προτάθηκαν για πρώτη φορά το 1987 και αντιπροσωπεύουν μια ομάδα χημικών διεργασιών. Στις τεχνολογίες αυτές τα υπεροξειδία συμβάλλουν στην επί τόπου (*in-situ*) δημιουργία πολύ αντιδραστικών ειδών οξυγόνου (ROS) όπως οι ρίζες υδροξυλίου ( $\text{OH}^\cdot$ ), το υπεροξείδιο ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), το όζων ( $\text{O}_3$ ), το οξυγόνο ( $\text{O}_2$ ), οι θειικές ρίζες ( $\text{SO}_4^{2-}$ ) και οι υπεροξειδικές ρίζες ( $\text{O}_2^\cdot$ ) έτσι ώστε να ξεκινήσουν οξειδωτικές αντιδράσεις στο νερό για την αδρανοποίηση παθογόνων μικροοργανισμών και την αποδόμηση οργανικών ενώσεων και παραπροϊόντων απολύμανσης. Τα αντιδραστικά είδη οξυγόνου είναι μη-επιλεκτικά και έχουν στην κατοχή τους τουλάχιστον ένα μονό ηλεκτρόνιο που είναι υπεύθυνο για την εκκίνηση τη διαδικασίας της οξείδωσης (Deng & Zhao, 2015; Chen et al., 2021).

Είδη προηγμένων διεργασιών οξείδωσης είναι η οξείδωση του όζοντος ( $\text{O}_3$ ), η ηλεκτροχημική οξείδωση, το αντιδραστήριο Fenton και Photo-Fenton, η φωτόλυση και φωτοκατάλυση, η ακτινοβολία UV, οι υπέρηχοι (sonolysis), η οξείδωση με χρήση βιοεξανθρακώματος, η οξείδωση με  $\text{TiO}_2$ , η UV/ $\text{H}_2\text{O}_2$ , η UV/HOCl, η οξείδωση που είναι βασισμένη στην ρίζα υδροξυλίου και τέλος η οξείδωση που είναι βασισμένη στην ρίζα θειικού άλατος (Saravanan et al., 2022).



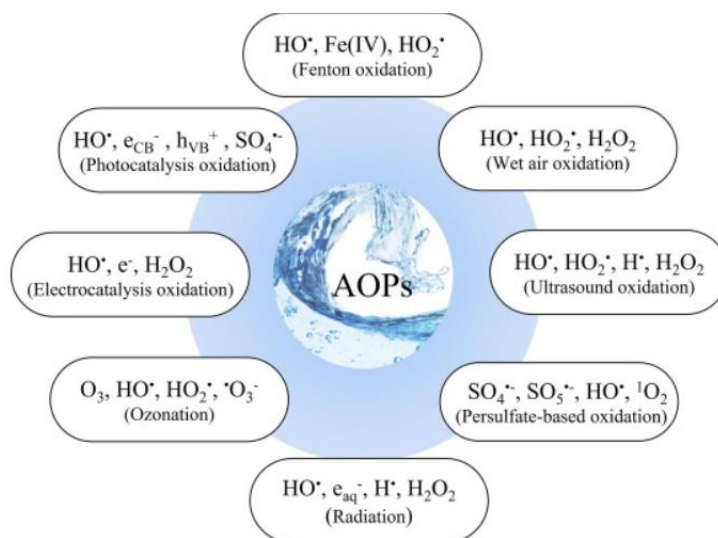
**Εικόνα 4 Προηγμένες διεργασίες οξείδωσης για απολύμανση αποβλήτων, τύποι τεχνολογιών**  
(Saravanan et al., 2022)

Όπως προαναφέρθηκε, ο μηχανισμός των τεχνολογιών αυτών βασίζεται στην διαδικασία οξείδωσης κατά την οποία απελευθερώνονται δραστικά είδη οξυγόνου, δηλαδή ελεύθερες ρίζες με υψηλό οξειδοαναγωγικό δυναμικό, όπως ιόντα υδροξυλίου, σε επαρκής ποσότητες έτσι ώστε να επιτευχθεί απολύμανση των αποβλήτων και του νερού. Οι ρίζες αυτές ανάγουν τους πολύπλοκους τοξικούς ρύπους σε απλές μη-τοξικές ουσίες και αδρανοποιούν διάφορους μικροοργανισμούς. Έχει γνωστό ότι, το υδροξύλιο είναι ένα εκ των δραστικότερων ριζών. Η αντίδραση των ριζών υδροξυλίου με τους οργανικούς ρύπους περιλαμβάνει τρεις βασικές κατηγορίες:

- αντιδράσεις απόσπασης υδρογόνου (από την ομάδα OH ή C-H N-H)

- αντιδράσεις μεταφοράς ηλεκτρονίων λόγω της αλληλεπίδρασης μεταξύ των ριζών
- αντιδράσεις προσθήκης ελεύθερων ριζών

Είναι σημαντικό να τονιστεί ότι οι ρύποι με παρουσία οξυγόνου καταστρέφονται αφού συνδεθούν με ενώσεις άνθρακα, σχηματίζοντας ρίζες άνθρακα-υδροξυλίου (R-HO). Στην συνέχεια η αντίδραση συνεχίζεται δημιουργώντας ακόμα πιο δραστικά είδη τα οποία τελικά αποδομούν τους ρύπους (Saravanan et al., 2022; Venieri, Karara, et al., 2020).



Εικόνα 5 Πιθανά είδη δραστικών ριζών που παράγονται από διάφορες προηγμένες διεργασίες οξείδωσης (Saravanan et al., 2022)

#### 1.4 Προηγμένες διεργασίες οξείδωσης με το αντιδραστήριο Fenton (Fenton-Like System)

Η αντίδραση τύπου Fenton είναι το πιο διαδεδομένο είδος προηγμένων διεργασιών οξείδωσης. Στην συγκεκριμένη αντίδραση οι ρίζες υδροξυλίου παράγονται από υπεροξείδιο του υδρογόνου ( $H_2O_2$ ) από διάφορους ετερογενείς καταλύτες. Τα παραγόμενα ανιόντα υδροξυλίου διακρίνονται από υψηλή ικανότητα οξείδωσης καθώς μπορούν να μεταλλοποιήσουν οργανικούς ρύπους ή να αδρανοποιήσουν παθογόνους μικροοργανισμούς αποδοτικά και μη επιλεκτικά (Cao et al., 2023).

Η παραδοσιακή αντίδραση Fenton πραγματοποιείται αξιοποιώντας καταλύτες με βάση τον σίδηρο (π.χ.  $Fe^{2+}$ ,  $Fe^{3+}$  και ZVI) οι οποίοι στην συνέχεια αντιδρούν με το υπεροξείδιο, παράγουν δραστικές υδροξυλικές ρίζες και αποδομούν διάφορους ρύπους σύμφωνα με την αντίδραση:



Επισημαίνεται πως η αντίδραση εξαρτάται από την τιμή του pH του διαλύματος. Η μέθοδος είναι αποτελεσματικότερη όταν οι τιμές του pH κυμαίνονται στην όξινη περιοχή και συγκεκριμένα από 2,8-3. Για τον παραπάνω λόγο, προκειμένου να ξεπεραστεί αυτός ο περιορισμός γίνεται απόπειρα χρήσης διαφορετικών ετερογενών καταλυτών που θα

αντικαταστήσουν τον  $\text{Fe}^{2+}$  ή διαφορετικών ετερογενών καταλυτών και προσθήκη εξωτερικής ενέργειας. Παραδείγματα τέτοιων περιπτώσεων είναι (Asghar et al., 2015; Oturan & Oturan, 2018) :

- Υπεροξειδίο του υδρογόνου σε συνδυασμό με υπεριώδης UV ( $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ )
- Οζόνωση με  $\text{H}_2\text{O}_2$
- $\text{TiO}_2$  φωτοκατάλυση με  $\text{H}_2\text{O}_2$
- Υπεροξειδίο του υδρογόνου σε συνδυασμό με ενεργό άνθρακα
- Υπεροξειδίο του υδρογόνου σε συνδυασμό με βιοεξανθράκωμα

Στην παρούσα διπλωματική εργασία ελέγχεται κατά πόσο τα βιοεξανθράκωμα μπορούν να ενεργοποιήσουν το υπεροξειδίο έτσι ώστε, να οδηγήσει στην αδρανοποίηση βακτηριακών στελεχών και γενικότερα στην απολύμανση νερών. Ειδικότερα, όταν χρησιμοποιούμενοι καταλύτες είναι τα βιοεξανθράκωμα τότε αυτά παρέχουν ενεργές θέσεις που προέρχονται από την ανθρακική μήτρα, όπως λειτουργικές ομάδες επιφάνειας, που μπορούν να αποσυνθέσουν το υπεροξειδίο.

## 1.5 Προηγμένες διεργασίες οξείδωσης με βάση τις υπερθειικές ρίζες (Persulfate-based AOPs)

Οι υπερθειικές ρίζες ( $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$ ) είναι ένα ισχυρό οξειδωτικό μέσω που χρησιμοποιείται στις προηγμένες διεργασίες οξείδωσης, αποτελώντας μία νέα και αποτελεσματική τεχνολογία απολύμανσης νερών και αποβλήτων. Οι υπερθειικές ρίζες, ως οξειδωτικό μέσω, έχουν στην κατοχή τους ένα δεσμό  $\text{O} - \text{O}$ , γνωστό ως υπεροξειδίο ή υπερόξο-ομάδα, που σχηματίζει ελεύθερες ρίζες οι οποίες αποδομούν τους υψηλής τοξικότητας ρύπους και αδρανοποιούν τους παθογόνους μικροοργανισμούς με τρόπο τόσο οικονομικό όσο και αποτελεσματικό.

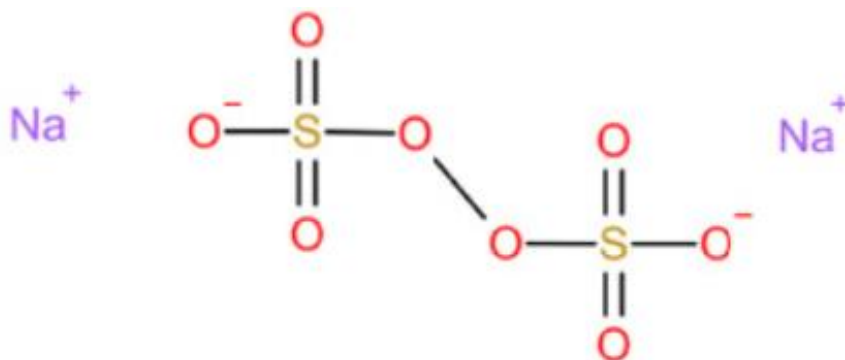
Οι προηγμένες διεργασίες οξείδωσης με βάση τις θειικές ρίζες ( $\text{SO}_4^{2-}$ ) μοιάζουν με την οξείδωση Fenton, η οποία βασίζεται στις ρίζες υδροξυλίου ( $\text{OH}^\cdot$ ), αλλά εφαρμόζονται σε μεγαλύτερο εύρος pH. Οι θειικές ρίζες ( $\text{SO}_4^{2-}$ ) έχουν το πλεονέκτημα ότι έχουν ισχυρό οξειδοαναγωγικό δυναμικό (2.5-3.1 V), σχετικά μεγάλο χρόνο ημιζωής σε σύγκριση με τις υπόλοιπες AOPs (30-40  $\mu\text{s}$ ), δυνατότητα απολύμανσης σε ένα ευρύ φάσμα pH. Επιπλέον, συγκριτικά με την ρίζα υδροξυλίου ( $\text{OH}^\cdot$ ) έχουν υψηλότερο οξειδωτικό δυναμικό και επιλεκτικότητα και μπορούν να σκοτώσουν αποτελεσματικά παθογόνους μικροοργανισμούς (Chen et al., 2021; Wacławek et al., 2017).

## 1.6 Υπερθειικό άλας - Sodium persulfate ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8$ )

### 1.6.1 Φυσικές και χημικές ιδιότητες

Το υπερθειικό νάτριο (Sodium persulfate) περιλαμβάνει υπερθειικά ιόντα  $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$ , και χρησιμοποιήθηκε στο συγκεκριμένο πείραμα. Το υπερθειικό νάτριο αποτελεί μία ανόργανη ένωση, ο μοριακός τύπος της οποίας είναι  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8$  ή  $\text{Na}_2\text{O}_8\text{S}_2$ . Ειδικότερα, είναι το άλας του νατρίου του υπεροξυδισουλφιδικού οξέος,  $\text{H}_2\text{S}_2\text{O}_8$ , ενός οξειδωτικού

παράγοντα. Η φυσική του σύσταση είναι ένα άσπρο, κρυσταλλικό στερεό με υψηλή σταθερότητα που είναι αρκετά ευδιάλυτο στο νερό. Το υδατικό του διάλυμα είναι όξινο. Είναι σχεδόν μη υγροσκοπικό και έχει καλή διάρκεια ζωής. Πρόκειται για ένα ισχυρό οξειδωτικό, που όταν έρθει σε επαφή με εύφλεκτο υλικό υπάρχει πιθανότητα πρόκλησης πυρκαγιάς. Επίσης, δεν είναι συμβατό με εύφλεκτα υλικά, ισχυρούς αναγωγικούς παράγοντες και ισχυρές βάσεις, αλκοόλες, αλουμίνια και το μαγνήσιο.



Εικόνα 6: Χημική ένωση υπερθειικού νατρίου (B. Wang & Wang, 2022a)

Πίνακας 1: Φυσικές και χημικές ιδιότητες υπερθειικού νατρίου (Sodium Persulfate | 7775-27-1, n.d.)

Χημική ονομασία	Υπερθειικό νάτριο
Μοριακός τύπος	$Na_2S_2O_8$ ή $Na_2O_8S_2$
Χρώμα	Άσπρο προς κίτρινο
Οσμή	Άοσμο
Μοριακό βάρος	$238.1 \frac{g}{mol}$
Σημείο τήξης	$100^{\circ}C$
Πυκνότητα	$2.4 \frac{g}{cm^3}$
Υδατοδιαλυτότητα	$550 \frac{g}{L}$ ( $20^{\circ}C$ )
Εύρος pH	2.5 – 4.0

Τέλος, μπορεί να προκαλέσει ερεθισμό όταν έρθει σε επαφή με το δέρμα ή τα μάτια και ίσως είναι τοξικό σε περίπτωση απορρόφησης από το δέρμα.

### 1.6.2 Μηχανισμοί υπερθειικών αντιδράσεων

Τα υπερθειικά άλατα όταν βρίσκονται στο νερό διασπώνται προς υπερθειικό ανιόν ( $S_2O_8^{2-}$ ), το οποίο πρόκειται για έναν ισχυρό οξειδωτικό παράγοντα. Η αντίδραση αποσύνθεσης του υπερθειικού νατρίου στο νερό είναι:



Το υπερθειικό ανιόν επειδή είναι κατά βάση σταθερό με αργό ρυθμό αντίδρασης, πρέπει να ενεργοποιηθεί θερμικά ή χημικά ή να δοθεί εξωτερική πηγή ενέργειας για να

επιταχυνθεί η αντίδραση και να σπάσει ο υπεροξειδικός δεσμός O – O που έχει στην κατοχή του έτσι ώστε να παραχθούν θεικές ρίζες ( $SO_4^{\cdot-}$ ) (Waclawek et al., 2017; Hou et al., 2023). Οι αντιδράσεις αποσύνθεσης του υπερθειικού ανιόντος, υπεροξειδισουλφικού και υπεροξειμονοσουλφιδικού ανιόντος αντίστοιχα, στο νερό συνοψίζονται ως:



Οι θεικές ρίζες που παράγονται είναι πολύ πιο δραστικές και έχουν ισχυρό δυναμικό οξείδωσης (2.5-3.1 V) επομένως, μπορούν να αποδομήσουν αποτελεσματικά περιβαλλοντικούς ρύπους, να αδρανοποιήσουν βακτήρια καταστρέφοντας οριστικά τις λειτουργίες και την δομή των κυττάρων τους και να οδηγήσουν στην απολύμανση νερών και αποβλήτων.

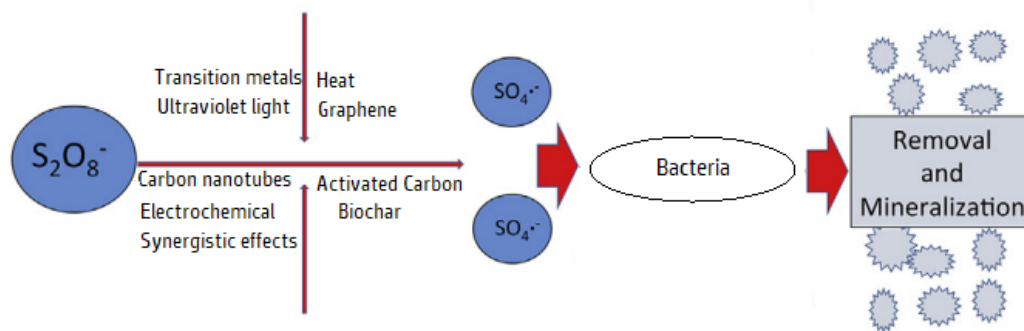
Στην συνέχεια, οι θεικές ρίζες αντιδρούν με το νερό σε κάθε εύρος pH και σχηματίζουν ρίζες υδροξυλίου. Σε όξινα διαλύματα (pH<7) οι θεικές ρίζες είναι το κυρίαρχο δραστικό είδος ενώ, σε ουδέτερα διαλύματα (pH=7) οι θεικές ρίζες και οι ρίζες υδροξυλίου συμμετέχουν ισότιμα (Matzek & Carter, 2016).



### 1.6.3 Ενεργοποίηση υπερθειικού άλατος ( $Na_2S_2O_8$ )

Το υπερθειικό νάτριο έχει την δυνατότητα να αντιδρά και να αδρανοποιεί βακτήρια σε βαθμό τόσο μικρότερο όσο και βραδύτερο από αυτόν που μπορεί να επιτευχθεί με την χρήση ενεργοποιημένου υπερθειικού νατρίου. Το γεγονός αυτό οφείλεται στο χαμηλότερο δυναμικό οξείδωσης του υπερθειικού νατρίου ( $E_0=2,01V$ ) και στην υψηλή σταθερότητα του. Το υπερθειικό νάτριο μπορεί να ενεργοποιηθεί με διάφορες μεθόδους όπως με θερμότητα, ακτινοβολία, αλκαλικά, μεταλλικά ιόντα και βασισμένους σε άνθρακα καταλύτες (J. Wang & Wang, 2018). Η διαδικασία ενεργοποίησης του υπερθειικού μπορεί να διακριθεί σε ομογενή και ετερογενή κατάλυση. Η ομογενής κατάλυση είναι η πιο αποτελεσματική όταν πρόκειται για όξινο pH και περιλαμβάνει την φυσική και χημική ενεργοποίηση ενώ, η ετερογενής κατάλυση μπορεί να αποδώσει αποτελεσματικά σε μεγαλύτερο εύρος pH και περιλαμβάνει τους μεταλλικούς καταλύτες (πχ. Κοβάλτιο) και τους καταλύτες άνθρακα (Waclawek et al., 2017).

Κάθε μέθοδος ενεργοποίησης του υπερθειικού νατρίου έχει διαφορετικό βαθμό αποτελεσματικότητας ως προς την αδρανοποίηση των βακτηρίων. Στην παρούσα έρευνα μελετήθηκε η ενεργοποίηση με χρήση ακτινοβολίας UVA, με χρήση υλικών που έχουν ως βάση τον άνθρακα και συγκεκριμένα βιοεξανθρακώματος και τέλος με συνδυασμό των δύο μεθόδων.



Εικόνα 7: Μέθοδοι ενεργοποίησης του υπερθειικού ανιόντος προς αδρανοποίηση βακτηρίων (Matzek & Carter, 2016)

#### 1.6.3.1 Ενεργοποίηση με ακτινοβολία UVA

Η υπεριώδης ακτινοβολία αποτελεί μια αποδοτική και οικονομικά συμφέρουσα μέθοδο ενεργοποίησης του υπερθειικού ανιόντος για την αποδόμηση ρύπων και την αδρανοποίηση βακτηρίων στο νερό (J. Wang & Wang, 2017).

Το υπερθειικό νάτριο μπορεί να ενεργοποιηθεί μέσω της υπεριώδους ακτινοβολίας και να παράγει δραστικές θειικές ρίζες σύμφωνα με την αντίδραση:



Συγκεκριμένα, η ενεργοποίηση του υπερθειικού ανιόντος με ακτινοβολία καταλήγει, όπως και η ενεργοποίηση του με θερμότητα, στην ομολυτική διάσπαση του υπεροξειδικού δεσμού O – O και στον σχηματισμό δύο δραστικών θειικών ριζών.

Το μήκος κύματος και ο ρυθμός ροής της υπεριώδους ακτινοβολίας είναι δύο παράγοντες που παίζουν σημαντικό ρόλο στην αποτελεσματικότητα της ενεργοποίησης του υπερθειικού. Αναλυτικότερα, η παραγωγή των θειικών ριζών αυξάνεται σε μικρότερα μήκη κύματος επομένως, το μήκος κύματος που χρησιμοποιείται περισσότερο κατά τις διεργασίες οξείδωσης, που ενεργοποιούνται μέσω υπεριώδους ακτινοβολίας, είναι τα 254nm και εκτελείται μέσω της UVC ακτινοβολίας.

Η χρήση της ακτινοβολίας UVC για την ενεργοποίηση του υπερθειικού έχει πολλά μειονεκτήματα παρά το γεγονός ότι στο συγκεκριμένο εύρος ακτινοβολίας το υπερθειικό εμφανίζει τον υψηλότερο ρυθμό απορρόφησης. Συγκεκριμένα, το φως της ακτινοβολίας UVC έχει χαμηλή διείσδυση, η οποία επηρεάζεται από τις παρεμβολές με άλλα συστατικά των διάφορων υδατικών μητρών. Επίσης, οι περισσότερες λάμπες UVC ακτινοβολίας εμπεριέχουν υδράργυρο ο οποίος δεν είναι φιλικός προς το περιβάλλον. Για τους παραπάνω λόγους επιτρέπεται η εφαρμογή της UVA ακτινοβολίας, όπως εφαρμόστηκε και στην παρούσα διπλωματική εργασία, προς ενεργοποίηση του υπερθειικού, καθώς αυτό μπορεί να ενεργοποιηθεί και σε μήκη κύματος από 193 έως 351nm. Η εφαρμογή της γίνεται μέσω λαμπών LED που εκπέμπουν UVA ακτινοβολία, έχουν μεγάλη διάρκεια ζωής (10.000- 100.000 h), υψηλή αποδοτικότητα, δεν περιέχουν τοξικά μέταλλα και δεν καταναλώνουν υψηλά ποσοστά ενέργειας. (Ferreira et al., 2020; Matzek & Carter, 2016; Ioannidi et al., 2018) .



#### 1.6.3.2 Ενεργοποίηση με χρήση υλικών που έχουν βάση τον άνθρακα

Η ενεργοποίηση του υπερθειικού άλατος μπορεί να πραγματοποιηθεί με την εφαρμογή διάφορων υλικών που έχουν ως βάση τον άνθρακα. Τα ανθρακούχα υλικά διαθέτουν μεγάλη ειδική επιφάνεια, υψηλό όγκο πόρων, συμφέρουν οικονομικά και σε αυτά περιλαμβάνονται ο ενεργός άνθρακας, το βιοεξανθράκωμα, το γραφένιο και ο νανοσωλήνας από άνθρακα. Επίσης χρησιμοποιούνται ως καταλύτες και ως προσροφητικά (Honarmandrad et al., 2023). Η ενεργοποίηση του υπερθειικού με την συγκεκριμένη μέθοδο βασίζεται κυρίως στον μηχανισμό μεταφοράς ηλεκτρονίων και δευτερευόντως στο μηχανισμό ελεύθερων ριζών και στον μηχανισμό ενός ατόμου οξυγόνου. Τα ηλεκτρόνια από τα υλικά που έχουν ως βάση τον άνθρακα, μεταφέρονται στο υπερθειικό ανιόν και στην συνέχεια σχηματίζονται δραστικές θειικές ρίζες σύμφωνα με την αντίδραση (B. Wang & Wang, 2022b):



Στην παρούσα διπλωματική εργασία μελετήθηκε και ελέγχθηκε η αποτελεσματικότητα ενεργοποίησης του υπερθειικού νατρίου με χρήση διάφορων τύπων βιοεξανθρακώματος ως ανθρακούχο υλικό.

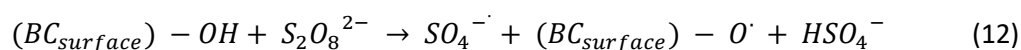
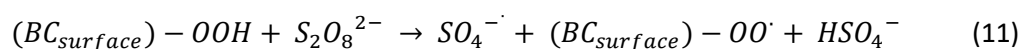
#### 1.6.3.2.1 Ενεργοποίηση με χρήση βιοεξανθρακώματος

Το βιοεξανθράκωμα (Biochar ή BC) είναι ένα πλούσιο σε άνθρακα και χαμηλού κόστους υλικό το οποίο παράγεται από απόβλητα βιομάζας μέσω της διαδικασίας της πυρόλυσης. Η πυρόλυση περιλαμβάνει την θέρμανση της βιομάζας, όπως θραύσματα ξύλου, γεωργικά απόβλητα ή και άλλα οργανικά υλικά, στους 300-850 °C και σε συνθήκες περιορισμένης ή πλήρους έλλειψης οξυγόνου (Honarmandrad et al., 2023).

Το βιοεξανθράκωμα αποτελεί έναν χαμηλού κόστους και φιλικό προς το περιβάλλον ανθρακούχο υλικό, στις προηγμένες διεργασίες οξείδωσης χρησιμοποιείται ως καταλύτης και έχει την δυνατότητα να ενεργοποιεί το υπερθειικό ανιόν λόγω των εγγενών χαρακτηριστικών του. Στα χαρακτηριστικά αυτά περιλαμβάνονται (Suh et al., 2023):

- Η ηλεκτρική αγωγιμότητα
- Η αφθονία των επιφανειακών λειτουργικών του ομάδων που περιέχουν οξυγόνο (πχ. οι καρβοξυλικές -COOH ομάδες και οι υδροξυλικές -OH ομάδες).
- Η μεγάλη ειδική επιφάνεια
- Η ιδιαίτερα πορώδης δομή

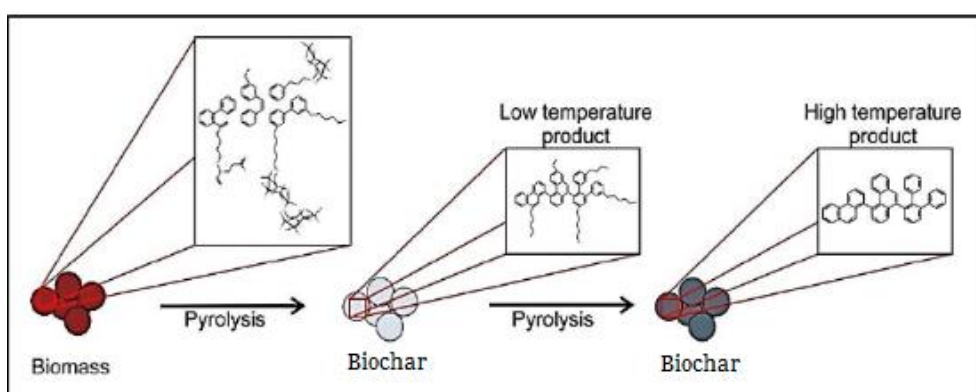
Ειδικότερα, οι επίμονες ελεύθερες ρίζες που υπάρχουν στην ειδική επιφάνεια του βιοεξανθρακώματος και οι διαθέσιμες λειτουργικές ομάδες οξυγόνου του, μπορούν να λειτουργήσουν ως ενεργές θέσεις για την ενεργοποίηση του υπερθειικού άλατος. Η ενεργοποίηση του υπερθειικού ανιόντος με χρήση βιοεξανθρακώματος περιγράφεται από τις αντιδράσεις (F. Li et al., 2020):



Επίσης, το ανθρακούχο αυτό υλικό μπορεί να λειτουργήσει ως μέσο μεταφοράς ηλεκτρονίων στο υπερθειϊκό ανιόν, καθώς μπορεί να παρέχει ηλεκτρόνια. Η διαδικασία μεταφοράς ηλεκτρονίων οδηγεί στην ενεργοποίηση του υπερθειϊκού ανιόντος και στην μετέπειτα δημιουργία δραστικών θειικών ριζών ( $SO_4^{2-}$ ) (Zhao et al., 2021).

Για τους παραπάνω λόγους, το βιοεξανθράκωμα μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την ενεργοποίηση του υπερθειϊκού έτσι ώστε να επιτευχθεί αποδόμηση των οργανικών ρύπων και αδρανοποίηση των βακτηρίων στο νερό και στα απόβλητα.

Σημειώνεται ότι η αποτελεσματικότητα αυτής της μεθόδου ενεργοποίησης προς αδρανοποίηση των βακτηρίων εξαρτάται από το είδος του βακτηρίου, τις ιδιότητες του βιοεξανθράκωματος που χρησιμοποιείται, την συγκέντρωση του υπερθειϊκού νατρίου και τις περιβαλλοντικές συνθήκες.



Εικόνα 8: Αλλαγές στην χημική σύσταση του βιοεξανθράκωματος λόγω υψηλότερης θερμοκρασίας πυρόλυσης (Giulia Cimò & Alonzo COORDINATORE DEL DOTTORATO Sebastiano Calvo, 2014)

## 1.7 Προηγμένες διεργασίες οξείδωσης – Ηλιακή φωτοκατάλυση (Solar photocatalysis)

Η ηλιακή φωτοκατάλυση είναι ένα είδος προηγμένων διεργασιών οξείδωσης, μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την απολύμανση νερών και αποβλήτων και περιλαμβάνει αντιδράσεις που πραγματοποιούνται αξιοποιώντας το ηλιακό φως και έναν ημιαγωγό, γνωστό ως φωτοκαταλύτη. Το υπόστρωμα που απορροφά φωτόνια από το ηλιακό φως και δρα ως καταλύτης για τις χημικές αντιδράσεις πάνω στην επιφάνεια του χαρακτηρίζεται ως φωτοκαταλύτης.

Ο βασικός μηχανισμός της φωτοκατάλυσης είναι: όταν το φως συγκεκριμένου μήκους κύματος απορροφάται από έναν φωτοκαταλύτη, τότε εκείνος διεγείρει ηλεκτρόνια μέσα στο υλικό δημιουργώντας ζεύγη ηλεκτρονίων-οπών. Τα διεγερμένα ηλεκτρόνια και οπές που σχηματίζονται μπορούν να συμμετάσχουν σε διάφορες χημικές αντιδράσεις στην επιφάνεια του φωτοκαταλύτη. Οι φωτοκαταλυτικές αντιδράσεις μπορούν να κατηγοριοποιηθούν σε δύο τύπους (Dobson & Burgess, 2007):



- Ομογενής φωτοκατάλυση: Ονομάζεται η φωτοκατάλυση κατά την οποία ο ημιαγωγός και το φωτοκαταλυόμενο σύστημα βρίσκονται στην ίδια φάση (π.χ. αέριο, διάλυμα).
- Ετερογενής φωτοκατάλυση: Ονομάζεται η φωτοκατάλυση η οποία περιλαμβάνει την χρήση στερεού ημιαγωγού, που είναι σε διαφορετική φάση από το φωτοκαταλυόμενο σύστημα.

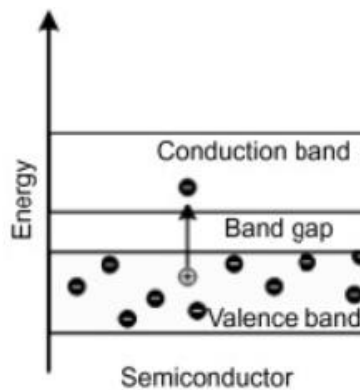
### 1.7.1 Ετερογενής φωτοκατάλυση

Η ετερογενής ηλιακή φωτοκατάλυση αξιοποιεί την ζώνη ηλιακής ακτινοβολίας (ορατής και σχεδόν υπεριώδους) του ηλιακού φάσματος με σκοπό της φωτο-διέγερση ενός φωτοκαταλύτη ( $TiO_2$ ,  $ZnO$ ,  $Fe_2O_3$ ,  $BiVO_4$ ,  $ZnS$  κ. α) , σε επαφή με το νερό και παρουσία οξυγόνου. Υπό αυτές τις συνθήκες δημιουργούνται αντιδραστικά οξειδωτικά είδη (ρίζες υδροξυλίου,  $OH^\cdot$ ) τα οποία παράγουν  $CO_2$  ,  $H_2O$  και αραιωμένα ανόργανα οξέα λόγω της διάσπασης των μορίων τους, οδηγώντας τελικά στην φωτοκαταλυτική αποδόμηση των ρύπων και στην αδρανοποίηση παθογόνων μικροοργανισμών. (Malato et al., 2016). Τα πιο σημαντικά πλεονεκτήματα αυτής της διαδικασίας που την καθιστούν εφαρμόσιμη στην απολύμανση νερών και αποβλήτων είναι (Malato et al., 2009):

- Η διαδικασία λαμβάνει χώρα σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και χωρίς υπερπίεση
- Υπάρχει πλήρης οξείδωση των ουσιών σε  $CO_2$  και άλλα ανόργανα είδη
- Το οξυγόνο που απαιτείται για την πραγματοποίηση της αντίδρασης μπορεί να ληφθεί απευθείας από την ατμόσφαιρα
- Ο φωτοκαταλύτης είναι φθηνός και αβλαβής
- Η ενέργεια που απαιτείται για την φωτοδιέγερση του καταλύτη μπορεί να ληφθεί από τον ήλιο

#### 1.7.1.1 Μηχανισμός ετερογενούς φωτοκατάλυσης

Η μέθοδος της ετερογενούς φωτοκατάλυσης έπεται από κάποιες βασικές αρχές. Ειδικότερα, όταν ένας φωτο-ημιαγωγός εκτεθεί στο ηλιακό φως με ενέργεια που να είναι ίση ή μεγαλύτερη από την ενέργεια της απαγορευμένης ζώνης του (band gap energy,  $E_g$ ), τότε ένα ηλεκτρόνιο ( $e^-$ ) σε μία ζώνη σθένους (valence band, VB) ,που είναι γεμάτη από ηλεκτρόνια, διεγείρεται σε μία κενή ζώνη αγωγιμότητας (conduction band, CB), αφήνοντας μία θετική οπή ( $h^+$ ) στην ζώνη σθένους. Κατά αυτό τον τρόπο σχηματίζονται ζευγάρια ηλεκτρονίων- οπών. Πρέπει να σημειωθεί ότι με την έννοια απαγορευμένη ζώνη, γνωστή και ως ενεργειακό χάσμα, νοείται η διαφορά ενέργειας μεταξύ της ζώνης σθένους και της ζώνης αγωγιμότητας.



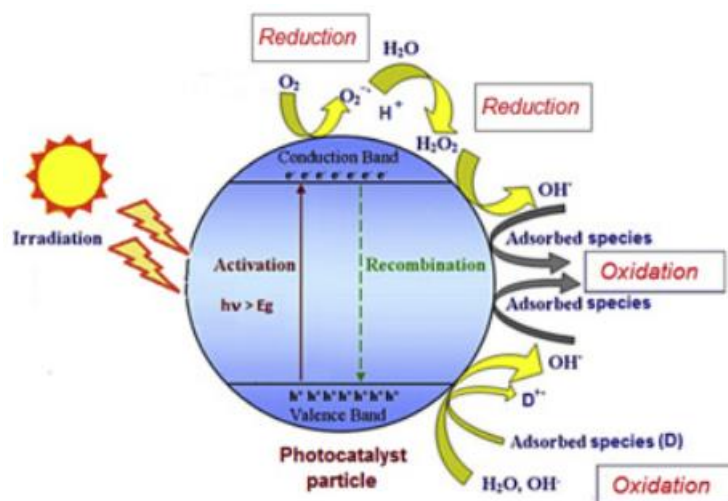
Εικόνα 9: Διαγραμματική απεικόνιση ημιαγωγού/φωτο-ημιαγωγού με βάση το ενεργειακό χάσμα (Dobson & Burgess, 2007)

Τα διαχωρισμένα ηλεκτρόνια και θετικές οπές μπορούν να συμμετάσχουν σε διάφορες οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις στην επιφάνεια του φωτοκαταλύτη προκειμένου να υπάρξει επιτυχημένη παραγωγή αντιδραστικών οξειδωτικών ειδών που τελικά θα οδηγήσει στην απολύμανση νερών και αποβλήτων. Ειδικότερα, οι θετικές οπές της ζώνης σθένους αποτελούν ισχυρά οξειδωτικά, συμπεριφέρονται ως δέκτες ηλεκτρονίων και επιτρέπουν αντιδράσεις οξείδωσης, όπως την οξείδωση του διασπαστικά προσροφημένου νερού προς παραγωγή ριζών υδροξυλίου ( $OH^{\cdot-}$ ), οι οποίες είναι ισχυρά αντιδραστικά είδη που μπορούν να αδρανοποιήσουν βακτήρια και να οξειδώσουν οργανικά μόρια (Spasiano et al., 2015):



Τα διεγερμένα ηλεκτρόνια της ζώνης αγωγιμότητας αποτελούν αναγωγικά και επιτρέπουν αντιδράσεις αναγωγής, καθώς μπορούν να ανάγουν οξειδωτικά είδη ή παρουσία οξυγόνου, το οξυγόνο δρα ως δέκτης ηλεκτρονίων και ανάγεται από αυτά παράγοντας υπεροξειδικές ανιοντικές ρίζες ( $O_2^{\cdot-}$ ). Σε περίπτωση απουσίας κατάλληλων δεσμευτών, η αποθηκευμένη ενέργεια διαχέεται σε λίγα νανοδευτερόλεπτα ως θερμότητα λόγω του επανασυνδιασμού των ζευγών ηλεκτρονίων-οπών (Byrne et al., 2015; Malato et al., 2009).

Η σημασία της ετερογενούς φωτοκατάλυσης έγκειται στο γεγονός ότι οι αντιδράσεις οξείδωσης και αναγωγής γίνονται ταυτόχρονα στην επιφάνεια του φωτοκαταλύτη (Dobson & Burgess, 2007). Παράλληλα με αυτό οφείλει να τονιστεί ότι, οι συγκεκριμένοι μηχανισμοί και κινητικές ποικίλουν ανάλογα με τον καταλύτη που χρησιμοποιείται και την φύση των αντιδρώντων. Τέλος, παράγοντες όπως οι ιδιότητες της επιφάνειας του φωτοκαταλύτη και η απορρόφηση των αντιδρώντων μπορούν να επηρεάσουν αφενός την φωτοκαταλυτική αποτελεσματικότητα και αφετέρου την αποτελεσματικότητα της συγκεκριμένης μεθόδου ως μέσω αδρανοποίησης βακτηρίων με σκοπό την απολύμανση νερών και αποβλήτων.



Εικόνα 10: Διαγραμματική απεικόνιση του βασικού μηχανισμού της μεθόδου της ετερογενούς ηλιακής φωτοκατάλυσης (Spasiano et al., 2015)

## 2. ΣΚΟΠΟΣ

Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι ο έλεγχος των φιλικών προς το περιβάλλον Προηγμένων Διεργασιών Οξειδωσης ως προς την δυνατότητά τους να αδρανοποιούν βακτηριακούς δείκτες σε διάφορες υδατικές μήτρες. Στο πλαίσιο αυτό, ελέγχθηκε η ενεργοποίηση του υπερθειικού νατρίου με χρήση βιοεξανθρακώματος ή/και ακτινοβολία UVA, η ενεργοποίηση του υπεροξειδίου του υδρογόνου με χρήση βιοεξανθρακώματος και η ηλιακή φωτοκατάλυση για την απομάκρυνση βακτηρίων κοπρανώδους μόλυνσης χρησιμοποιώντας υδατικές μήτρες απιονισμένου νερού, νερού βρύσης, εμφιαλωμένου νερού και αποβλήτου δευτεροβάθμιας εκροής.

Ειδικότερα εξετάστηκαν τα παρακάτω:

- Έλεγχος αδρανοποίησης του Gram(-) βακτηρίου *E. coli* σε ποικίλες υδατικές μήτρες με ενεργοποίηση του υπερθειικού νατρίου, ενεργοποίηση του υπεροξειδίου του υδρογόνου και με ηλιακή φωτοκατάλυση
- Έλεγχος αδρανοποίησης του Gram(+) βακτηρίου *Enterococcus sp.* σε ποικίλες υδατικές μήτρες με ενεργοποίηση του υπερθειικού νατρίου, ενεργοποίηση του υπεροξειδίου του υδρογόνου και με ηλιακή φωτοκατάλυση
- Σύγκριση της ανθεκτικότητας των Gram(-) και Gram(+) βακτηρίων ως προς την μέθοδο απολύμανσης
- Έλεγχος της αποδοτικότητας της κάθε μεθόδου απολύμανσης

### 3. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

---

#### 3.1 Υλικά και συσκευές

##### ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΑ ΥΛΙΚΑ

- Αποστειρωμένο νερό
- Απιονισμένο νερό
- Δοκιμαστικοί σωλήνες
- Κωνικές φιάλες (διαφόρων χωρητικότητων)
- Ποτήρια ζέσεως (διαφόρων χωρητικότητων)
- Ογκομετρικοί κύλινδροι (διαφόρων χωρητικότητων)
- Γυάλινες φιάλες με βιδωτό πώμα
- Αυτόματες πιπέτες (Errendorf χωρητικότητας 1000μL και 200μL)
- Φιαλίδια (Tubes, χωρητικότητας 1.5 mL)
- Μαγνήτες ανάδευσης
- Αποστειρωμένα τρυβλία Petri διαμέτρου 9cm
- Κρίκοι εμβολιασμού

##### ΣΥΣΚΕΥΕΣ & ΟΡΓΑΝΑ

- Αυτόκαυστο (Συσκευή υγρής αποστείρωσης, TRADE Raypa)
- Κλίβανος ξηρής αποστείρωσης (Elvem)
- Θάλαμος επώασης (Thermo scientific)
- Ζυγαριά (KERN 440-21A)
- Ζυγαριά ακριβείας (Adventure OHAUS Balance)
- Υδατόλουτρο (GFL)
- Φασματοφωτόμετρο (Shimadzu UV mini-1240)
- Μαγνητικός αναδευτήρας (VELP Scientific)
- Λαμπτήρες UVA (SYLVANIA BLACKLIGHT 368, F15W/T8/BL368)
- Συσκευή μέτρησης pH (Crison)
- Συσκευή μέτρησης ηλιακής ακτινοβολίας (Newport 91150V)

##### ΘΡΕΠΤΙΚΑ ΥΛΙΚΑ

- Nutrient Agar (NEOGEN)
- Nutrient Broth (NEOGEN)

#### ΧΗΜΙΚΑ ΥΛΙΚΑ

- Υπερθειϊκό νάτριο  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8$  (Sigma-Aldrich)
- Χλωριούχο νάτριο  $\text{NaCl}$  (Sigma-Aldrich)
- Υπεροξείδιο του υδρογόνου  $\text{H}_2\text{O}_2$  (30% w/w Sigma-Aldrich)

#### ΔΙΑΛΥΜΑΤΑ ΠΟΥ ΠΑΡΑΣΚΕΥΑΣΤΗΚΑΝ

- Διάλυμα  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8$  διαφόρων συγκεντρώσεων ως προς  $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$
- Διάλυμα  $\text{H}_2\text{O}_2$  διαφόρων συγκεντρώσεων

#### ΒΙΟΞΑΝΘΡΑΚΩΜΑΤΑ

- Φύλλα από λεμονιά πυρολυμένα στους  $850^\circ\text{C}$  (Lemon leaves 850)
- Κοτσάνια λεμονιάς πυρολυμένα στους  $850^\circ\text{C}$  (Lemon stalks 850)
- Υπολείμματα ζυθοποιίας πυρολυμένα στους  $850^\circ\text{C}$  (BSG 850)
- Κελύφη αυγού πυρολυμένα στους  $400^\circ\text{C}$  (Αυγό 400)
- Φλοιός ρυζιού πυρολυμένος στους  $850^\circ\text{C}$  (Rice husk 850)

#### ΦΩΤΟΚΑΤΑΛΥΤΕΣ

- $\text{Mo-TiO}_2$  (φωτοκαταλύτης  $\text{TiO}_2$  εμπλουτισμένος με το μέταλλο μετάπτωσης Μολυβδαίνιο- Mo)
- $\text{W-TiO}_2$  (φωτοκαταλύτης  $\text{TiO}_2$  εμπλουτισμένος με το μέταλλο μετάπτωσης Βολφράμιο- W)
- $\text{BiVO}_4$  (φωτοκαταλύτης βαναδικό βισμούθιο)

#### ΒΑΚΤΗΡΙΑΚΑ ΣΤΕΛΕΧΗ

- *Escherichia coli*
- *Enterococcus sp.*

#### ΥΔΑΤΙΚΕΣ ΜΗΤΡΕΣ

- Απιονισμένο νερό
- Εμφιαλωμένο νερό «Σαμαριά»
- Νερό βρύσης (Πολυτεχνείο Κρήτης)
- Απόβλητο δευτεροβάθμιας εκροής

### 3.2 Πειραματική διαδικασία

Η πειραματική διαδικασία έλαβε χώρα κατά το χρονικό διάστημα του Οκτωβρίου 2022 έως τα τέλη Ιουλίου του 2023. Σημειώνεται ότι όλα τα υλικά, ο εργαστηριακός εξοπλισμός και τα διαλύματα που χρησιμοποιήθηκαν κατά την διάρκεια των πειραμάτων, αποστειρώθηκαν στο αυτόκαυστο σε θερμοκρασία  $T=121^{\circ}C$  και σε πίεση  $P=1atm$  για 30min. Στην συνέχεια, ακολούθησαν τα πειράματα σε θερμοκρασία περιβάλλοντος.

#### 3.2.1 Παρασκευή θρεπτικού υλικού

Αρχικά, γίνεται η παρασκευή του μη εκλεκτικού θρεπτικού υλικού, Nutrient Agar, ακολουθώντας τα παρακάτω βήματα:

- Παρασκευή του σε μία κωνική φιάλη, με βάση τις οδηγίες που αναγράφονται στην ετικέτα της συσκευασίας.
- Αποστείρωση του θρεπτικού υλικού στον κλίβανο υγρής αποστείρωσης, στο αυτόκαυστο.
- Ακολουθεί τοποθέτηση του αποστειρωμένου θρεπτικού υλικού στο υδατόλουτρο μέχρι να έρθει σε θερμοκρασία  $50^{\circ}C$ . Σημειώνεται ότι στερεοποιείται κάτω από τους  $44^{\circ}C$ .
- Επίστρωση του θρεπτικού υλικού, που είναι ακόμη σε υγρή μορφή, σε τρυβλία διαμέτρου 9cm. Στην συνέχεια, τα τρυβλία παραμένουν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος έως την στερεοποίηση τους.

#### 3.2.2 Απολύμανση με χρήση βιοεξανθρακώματος για την ενεργοποίηση του υπερθειικού νατρίου

Πραγματοποιήθηκε απολύμανση με δύο διαφορετικά βακτηριακά στελέχη σε τέσσερις διαφορετικές υδατικές μήτρες. Για την επίτευξη της ενεργοποίησης του υπερθειικού νατρίου χρησιμοποιήθηκαν δύο είδη βιοεξανθρακώματος. Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν με διαφορετικές συγκεντρώσεις βιοεξανθρακώματος και υπερθειικού νατρίου ( $Na_2S_2O_8$ ) ως προς την υπερθειική ρίζα ( $S_2O_8^{2-}$ ).



Εικόνα 11: Διεξαγωγή πειράματος

### 3.2.2.1 Προετοιμασία

- Αποστείρωση υγρού υδατικής μήτρας
- Παρασκευάζονται πυκνά διαλύματα  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8$  ως προς  $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$  σε γυάλινες φιάλες με καπάκι.
- Παρασκευάζεται εναιώρημα που αποτελείται από αποστειρωμένο νερό και τις αποικίες του βακτηρίου. Αρχικά, γίνεται φωτομέτρηση τυφλού (αποστειρωμένο νερό) στα 600nm έτσι ώστε να μηδενιστεί το φωτόμετρο. Στην συνέχεια, παρασκευάζεται το εναιώρημα με το επιθυμητό βακτήριο φωτομετρώντας το στα 600nm με οπτική απορρόφηση  $A=0,1$  η οποία αντιστοιχεί σε  $10^8$  CFUs/mL.
- Ζύγισμα βιοεξανθρακώματος στην ζυγαριά ακριβείας με σκοπό να έχει την επιθυμητή συγκέντρωση στο πείραμα
- Ο συνολικός όγκος για κάθε πείραμα είναι  $V=300\text{mL}$ .

### 3.2.2.2 Πειραματική διαδικασία

Για την διεξαγωγή των πειραμάτων ακολουθήθηκαν τα εξής βήματα:

1. Ογκομέτρηση του κατάλληλου όγκου υδατικής μήτρας και τοποθέτηση του σε μία κωνική φιάλη
2. Τοποθέτηση την κωνικής φιάλης πάνω σε μαγνητικό αναδευτήρα
3. Στην ίδια κωνική φιάλη τοποθετείται το ζυγισμένο βιοεξανθράκωμα και ξεκινάει η ανάδευση

4. Στην συνέχεια, τοποθετείται ο επιθυμητός όγκος από το πυκνό διάλυμα υπερθεϊκού, με μία γυάλινη πιπέτα, προκειμένου να δημιουργηθεί η κατάλληλη συγκέντρωση στο πείραμα, με βάση τον νόμο  $C_1 V_1 = C_2 V_2$ .
5. Από το εναιώρημα που παρασκευάστηκε, συγκέντρωσης  $10^8$  CFUs/mL ογκομετρούνται με μία αυτόματη πιπέτα 3mL και τοποθετούνται στην κωνική φιάλη προκειμένου να δημιουργηθεί αρχική συγκέντρωση βακτηρίων στο πείραμα  $10^6$  CFUs/mL και το πείραμα ξεκινά.
6. Ανά 30min συλλέγεται από την κωνική φιάλη μια μικρή ποσότητα δείγματος και τοποθετείται σε φιαλίδια (Tubes, χωρητικότητας 1.5 mL). Η διάρκεια του κάθε πειράματος είναι 3h
7. Μετά το πέρας του πειράματος ακολουθούν οι κατάλληλες δεκαδικές διαδοχικές αραιώσεις των δειγμάτων σε δοκιμαστικούς σωλήνες, με σκοπό να είναι εύκολη η καταμέτρηση των αποικιών του εκάστοτε βακτηρίου
8. Έπειτα, γίνεται μεταφορά 100μL δείγματος με αυτόματη πιπέτα σε τρυβλία με το θρεπτικό υλικό και επίστρωση τους με κρίκο εμβολιασμού.
9. Τα τρυβλία αφήνονται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος για 20min έτσι ώστε να ενσωματωθεί το δείγμα στο θρεπτικό υλικό.
10. Στην συνέχεια, τοποθετούνται ανεστραμμένα στον θάλαμο επώασης στους  $37^\circ\text{C}$  για 24h.
11. Τέλος, την επόμενη μέρα γίνεται καταμέτρηση των αποικιών των τρυβλίων που επωάστηκαν



Εικόνα 12: Καταμέτρηση αποικιών



### 3.2.3 Απολύμανση με χρήση βιοεξανθρακώματος για την ενεργοποίηση του υπεροξειδίου του υδρογόνου

Πραγματοποιήθηκε απολύμανση με ένα βακτηριακό στέλεχος σε υδατική μήτρα απιονισμένου νερού. Για την επίτευξη της ενεργοποίησης του υπεροξειδίου χρησιμοποιήθηκε ένα είδος βιοεξανθρακώματος. Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν με διαφορετικές συγκεντρώσεις διαλύματος υπεροξειδίου του υδρογόνου ( $H_2O_2$ ), συγκέντρωση βιοεξανθρακώματος 500mg/L και στο τέλος των πειραμάτων λαμβάνονταν μέτρηση του pH με ειδικό όργανο μέτρησης της τιμής του.

#### 3.2.3.1 Προετοιμασία

- Αποστείρωση υγρού υδατικής μήτρας
- Παρασκευάζεται εναιώρημα που αποτελείται από αποστειρωμένο νερό και τις αποικίες του βακτηρίου. Αρχικά, γίνεται φωτομέτρηση τυφλού (αποστειρωμένο νερό) στα 600nm έτσι ώστε να μηδενιστεί το φωτόμετρο. Στην συνέχεια, παρασκευάζεται το εναιώρημα με το επιθυμητό βακτήριο φωτομετρώντας το στα 600nm με οπτική απορρόφηση  $A=0,1$  η οποία αντιστοιχεί σε  $10^8$  CFUs/mL.
- Ζύγισμα 150mg βιοεξανθρακώματος στην ζυγαριά ακριβείας με σκοπό να προκύψει συγκέντρωση βιοεξανθρακώματος  $C=500\text{mg/L}$  στο πείραμα
- Ο συνολικός όγκος για κάθε πείραμα είναι  $V=300\text{mL}$ .

#### 3.2.3.2 Πειραματική διαδικασία

Για την διεξαγωγή των πειραμάτων ακολουθήθηκαν τα εξής βήματα:

1. Ογκομέτρηση του κατάλληλου όγκου υδατικής μήτρας και τοποθέτηση του σε μία κωνική φιάλη
2. Τοποθέτηση την κωνικής φιάλης πάνω σε μαγνητικό αναδευτήρα
3. Στην ίδια κωνική φιάλη τοποθετείται το ζυγισμένο βιοεξανθράκωμα και ξεκινάει η ανάδευση
4. Στην συνέχεια, τοποθετείται ο επιθυμητός όγκος  $H_2O_2$ , με μία αυτόματη πιπέτα, από 30%w/w αρχικού, προκειμένου να δημιουργηθεί η κατάλληλη συγκέντρωση στο πείραμα, με βάση τον νόμο  $C_1 V_1 = C_2 V_2$ .
5. Από το εναιώρημα που παρασκευάστηκε, συγκέντρωσης  $10^8$  CFUs/mL ογκομετρούνται με μία αυτόματη πιπέτα 3mL και τοποθετούνται στην κωνική φιάλη προκειμένου να δημιουργηθεί αρχική συγκέντρωση βακτηρίων στο πείραμα  $10^6$  CFUs/mL και το πείραμα ξεκινά.
6. Έπειτα, γίνεται συλλογή μιας μικρής ποσότητας δείγματος από την κωνική φιάλη και τοποθέτηση του σε φιαλίδια (Tubes, χωρητικότητας 1.5 mL). Η διάρκεια του κάθε πειράματος είναι 2h ή 3h
7. Μετά το πέρας του πειράματος μετρίεται με όργανο μέτρησης του pH, το pH του διαλύματος προκειμένου να ελεγχθεί ότι βρίσκεται στην βασική περιοχή
8. Έπειτα, γίνονται οι κατάλληλες δεκαδικές διαδοχικές αραιώσεις των δειγμάτων σε δοκιμαστικούς σωλήνες, με σκοπό να είναι εύκολη η καταμέτρηση των αποικιών του βακτηρίου

9. Στην συνέχεια, γίνεται μεταφορά 100μL δείγματος με αυτόματη πιπέτα σε τρυβλία με το θρεπτικό υλικό και επίστρωση τους με κρίκο εμβολιασμού.
10. Τα τρυβλία αφήνονται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος για 20min έτσι ώστε να ενσωματωθεί το δείγμα στο θρεπτικό υλικό.
11. Στην συνέχεια, τοποθετούνται ανεστραμμένα στον θάλαμο επώασης στους 37°C για 24h
12. Τέλος, την επόμενη μέρα γίνεται καταμέτρηση των αποικιών των τρυβλίων που επωάστηκαν

### 3.2.4 Απολύμανση με χρήση βιοεξανθρακώματος/UVA για την ενεργοποίηση του υπερθειικού νατρίου

Πραγματοποιήθηκε απολύμανση με δύο διαφορετικά βακτηριακά στελέχη σε δύο διαφορετικές υδατικές μήτρες. Για την επίτευξη της ενεργοποίησης του υπερθειικού νατρίου χρησιμοποιήθηκε συνδυασμός δύο μεθόδων ενεργοποίησης και συγκεκριμένα, χρήση τριών ειδών βιοεξανθρακώματος και ακτινοβολία UVA με μια και δύο λάμπες αντίστοιχα. Οι λαμπτήρες UVA είναι SYLVANIA με ισχύ P=15W ο κάθε ένας. Σημειώνεται ότι, τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν με συγκέντρωση βιοεξανθρακώματος στο πείραμα 1g/L και συγκέντρωση διαλύματος υπερθειικού νατρίου ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8$ ) ως προς την υπερθειική ρίζα ( $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$ ) ίση με 500mg/L και 1400mg/L αντίστοιχα.



#### 3.2.4.1 Προετοιμασία

- Στην υδατική μήτρα του απιονισμένου νερού προστέθηκε 0.9% NaCl
- Αποστείρωση υγρού υδατικής μήτρας
- Παρασκευάζονται πυκνά διαλύματα  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8$  ως προς  $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$  σε γυάλινες φιάλες με καπάκι.
- Παρασκευάζεται εναιώρημα που αποτελείται από αποστειρωμένο νερό και τις αποικίες του βακτηρίου. Αρχικά, γίνεται φωτομέτρηση τυφλού (αποστειρωμένο νερό) στα 600nm έτσι ώστε να μηδενιστεί το φωτόμετρο. Στην συνέχεια, παρασκευάζεται το εναιώρημα με το επιθυμητό βακτήριο φωτομετρώντας το στα 600nm με οπτική απορρόφηση  $A=0,1$  η οποία αντιστοιχεί σε  $10^8$  CFUs/mL.
- Ζύγισμα 300mg βιοεξανθρακώματος στην ζυγαριά ακριβείας έτσι ώστε να προκύψει συγκέντρωση βιοεξανθρακώματος  $C=1\text{g/L}$  στο πείραμα
- Ο συνολικός όγκος για κάθε πείραμα είναι  $V=300\text{mL}$ .

#### 3.2.4.2 Πειραματική διαδικασία

Για την διεξαγωγή των πειραμάτων ακολουθήθηκαν τα παρακάτω βήματα:

1. Ογκομέτρηση του κατάλληλου όγκου υδατικής μήτρας και τοποθέτηση του σε ένα ποτήρι ζέσεως
2. Το ποτήρι ζέσεως τοποθετείται πάνω σε μαγνητικό αναδευτήρα
3. Στην ίδιο ποτήρι ζέσεως τοποθετείται το ζυγισμένο βιοεξανθράκωμα και ξεκινάει η ανάδευση
4. Στην συνέχεια, τοποθετείται ο επιθυμητός όγκος από το πυκνό διάλυμα υπερθειικού, με μία γυάλινη πιπέτα, προκειμένου να δημιουργηθεί η κατάλληλη συγκέντρωση στο πείραμα, με βάση τον νόμο  $C_1 V_1 = C_2 V_2$ .
5. Από το εναιώρημα που παρασκευάστηκε, συγκέντρωσης  $10^8$  CFUs/mL ογκομετρούνται με μία αυτόματη πιπέτα 3mL και τοποθετούνται στην κωνική φιάλη προκειμένου να δημιουργηθεί αρχική συγκέντρωση βακτηρίων στο πείραμα  $10^6$  CFUs/mL
6. Το ποτήρι ζέσεως μεταφέρεται πάνω σε ένα μαγνητικό αναδευτήρα σε κλειστό χώρο, ενεργοποιούνται αντίστοιχα ο ένας ή και οι δύο λαμπτήρες UVA και η ανάδευση και συνεπώς το πείραμα ξεκινά
7. Κάθε 30min ξεκινώντας από τον χρόνο 0min λαμβάνεται μία μικρή ποσότητα δείγματός από το πείραμα και τοποθετείται σε φιαλίδια (Tubes, χωρητικότητας 1.5 mL). Κάθε πείραμα διαρκεί 3h
8. Μετά το τέλος του πειράματος γίνονται δεκαδικές διαδοχικές αραιώσεις των δειγμάτων που λήφθηκαν σε δοκιμαστικούς σωλήνες, έτσι ώστε να είναι εύκολη η καταμέτρηση των αποικιών στα τρυβλία που πρόκειται να επιστρωθούν
9. Στην συνέχεια, γίνεται μεταφορά 100μL δείγματος με αυτόματη πιπέτα σε τρυβλία με το θρεπτικό υλικό και επίστρωση τους με κρίκο εμβολιασμού.

10. Τα επιστρωμένα τρυβλία αφήνονται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος για 20min έτσι ώστε να ενσωματωθεί το δείγμα στο θρεπτικό υλικό
12. Έπειτα, τα τρυβλία τοποθετούνται αναποδογυρισμένα στον θάλαμο επώασης στους  $37^{\circ}\text{C}$  για 24h
13. Μετά το πέρας των 24h γίνεται καταμέτρηση αποικιών των τρυβλίων που επώαστηκαν



Εικόνα 14: Διεξαγωγή πειράματος με δύο UVA λαμπτήρες να βρίσκονται σε λειτουργία

### 3.2.5 Απολύμανση με ετερογενή ηλιακή φωτοκατάλυση

Πραγματοποιήθηκε απολύμανση με δύο διαφορετικά βακτηριακά στελέχη σε δύο διαφορετικές υδατικές μήτρες. Όλα τα πειράματα έγιναν παρουσία τριών διαφορετικών φωτοκαταλυτών. Τα πειράματα διεξήχθησαν με συγκέντρωση φωτοκαταλύτη  $100\text{mg/L}$ . Κατά την διάρκεια τους λαμβάνονταν με την συσκευή μέτρησης της ηλιακής ακτινοβολίας τρεις διαφορετικές μετρήσεις της ισχύος του ηλιακού φωτός σε  $\text{W/m}^2$  (οι μετρήσεις λαμβάνονταν στην αρχή, μέση και τέλος της πειραματικής διαδικασίας).



Εικόνα 15: Ταυτόχρονη διεξαγωγή πειράματος control και κύριου πειράματος

#### 3.2.5.1 Προετοιμασία

- Αποστείρωση υγρού υδατικής μήτρας
- Παρασκευάζεται εναιώρημα που αποτελείται από αποστειρωμένο νερό και τις αποικίες του βακτηρίου. Αρχικά, γίνεται φωτομέτρηση τυφλού (αποστειρωμένο νερό) στα 600nm έτσι ώστε να μηδενιστεί το φωτόμετρο. Στην συνέχεια, παρασκευάζεται το εναιώρημα με το επιθυμητό βακτήριο φωτομετρώντας το στα 600nm με οπτική απορρόφηση  $A=0,1$  η οποία αντιστοιχεί σε  $10^8$  CFUs/mL.
- Ζύγισμα 30mg του επιθυμητού φωτοκαταλύτη στην ζυγαριά ακριβείας έτσι ώστε να προκύψει συγκέντρωση  $C=100\text{mg/L}$  στο πείραμα
- Ο συνολικός όγκος για κάθε πείραμα είναι  $V=300\text{mL}$ . Ογκομέτρηση του κατάλληλου όγκου υδατικής μήτρας και τοποθέτηση του στο ποτήρι ζέσεως υπό ανάδευση σε μαγνητικό αναδευτήρα. Στην συνέχεια, προστίθεται στο ποτήρι ζέσεως ο φωτοκαταλύτης
- Προσρόφηση του φωτοκαταλύτη για περίπου 20min
- Τέλος, από το εναιώρημα που παρασκευάστηκε, συγκέντρωσης  $10^8$  CFUs/mL ογκομετρούνται με μία αυτόματη πιπέτα 3mL και τοποθετούνται στο ποτήρι ζέσεως προκειμένου να δημιουργηθεί αρχική συγκέντρωση βακτηρίων στο πείραμα  $10^6$  CFUs/mL.

#### 3.2.5.2 Πειραματική διαδικασία

Για την διεξαγωγή των πειραμάτων ακολουθήθηκαν τα παρακάτω βήματα:

1. Το ποτήρι ζέσεως με το διάλυμα μεταφέρεται υπό το ηλιακό φως και το πείραμα ξεκινά
2. Με την εκκίνηση του πειράματος λαμβάνονται με όργανο, μετρήσεις της έντασης της ηλιακής ακτινοβολίας
3. Στην συνέχεια, γίνεται λήψη δειγμάτων σε χρόνους 0,30,60,90,120,150,180 min
4. Μετά το τέλος του πειράματος γίνονται δεκαδικές διαδοχικές αραιώσεις σε δοκιμαστικούς σωλήνες
5. Έπειτα μεταφέρονται 100μL δείγματος με αυτόματη πιπέτα σε τρυβλία με το θρεπτικό υλικό και επιστρώνονται με κρίκους εμβολιασμού
6. Επώαση των τρυβλίων στον επωαστικό θάλαμο στους 37°C για 24h
7. Τέλος, γίνεται καταμέτρηση των αποικιών

## 4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

### 4.1 Βιοεξανθρακώματα που χρησιμοποιήθηκαν για την ενεργοποίηση του υπερθειϊκού νατρίου και του υπεροξειδίου του υδρογόνου

Τα βιοεξανθρακώματα παρασκευάστηκαν από την ερευνητική ομάδα προχωρημένων διεργασιών του καθηγητή Διονύσιου Μαντζαβίνου, τμήμα Χημικών Μηχανικών του Πανεπιστημίου Πατρών.

#### 4.1.1 Χαρακτηρισμός βιοεξανθρακωμάτων (biochars, BC)

Στα πειράματα χρησιμοποιήθηκαν τα ακόλουθα biochars. Η ονομασία τους προκύπτει από την αρχική βιομάζα όπου προέρχονται και την θερμοκρασία που έχουν πυρολυθεί.

Πίνακας 2: Χαρακτηρισμός BC

BC	Αρχική βιομάζα	T πυρόλυσης (°C)
<b>RH-850</b>	Φλοιός ρυζιού (Rice Husk)	850
<b>LL-850</b>	Φύλλα λεμονιάς (Lemon Leaves)	850
<b>LS-850</b>	Κοτσάνια λεμονιάς (Lemon Stalks)	850
<b>BSG-850</b>	Υπολείμματα ζυθοποιίας	850
<b>EGS-400</b>	(Eggshell)	400

Η παρασκευή των BC πραγματοποιήθηκε μέσω της διαδικασίας της πυρόλυσης σε συνθήκες έλλειψης οξυγόνου. Ειδικότερα, η προ ζυγισμένη βιομάζα και οξυγόνο, αντιστοιχίας περίπου 20% της ποσότητας που απαιτείται για την καύση της βιομάζας, τοποθετήθηκε σε ένα κεραμικό δοχείο. Έπειτα, το κεραμικό δοχείο σφραγίστηκε και πυρολύθηκε σε ένα φούρνο επιλεγμένης θερμοκρασίας για 1h. Επισημαίνεται πως, η



βιομάζα πριν χρησιμοποιηθεί ξηράθηκε στους 110 °C για 24h έτσι ώστε να αφαιρεθεί η υγρασία της. Η απόδοση σε BC, στην υψηλή θερμοκρασία πυρόλυσης υπολογίζονταν μεταξύ 15-20% της αρχικής βιομάζας ανάλογα με το είδος της βιομάζας.

Τα έτοιμα πλέον δείγματα χαρακτηρίστηκαν με διάφορες φυσικοχημικές τεχνικές, όπως φαίνεται παρακάτω.

#### 4.1.2 Φυσικοχημικός χαρακτηρισμός

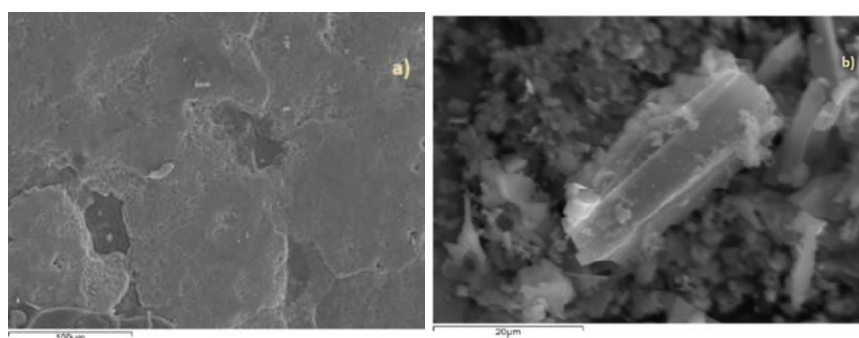
##### 4.1.2.1 Χαρακτηρισμός ειδικής επιφάνειας

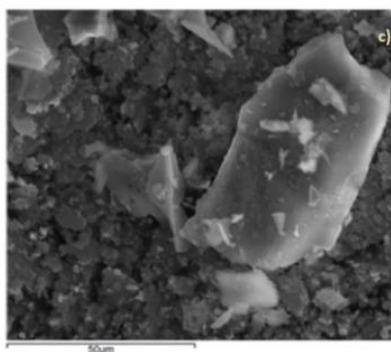
Η ειδική επιφάνεια (Specific Surface Area – SSA) των δειγμάτων μετρήθηκε μέσω προσρόφησης N<sub>2</sub> σε θερμοκρασία υγρού αζώτου, προσδιορίστηκε με την μέθοδο BET και η επιφάνεια των μικροπόρων υπολογίστηκε με την μέθοδο t-plot.

Πίνακας 3: Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των εξεταζόμενων BC

BC	SSA( $\frac{m^2}{g}$ )	SSA Μικροπόρων( $\frac{m^2}{g}$ )	Όγκος πόρων( $\frac{mL}{g}$ )	Μέση διάμετρος πόρων (mm)	Σημείο μηδενικού φορτίου, pzc
<b>RH-850</b>	334	231	0,18	2,6	7,8
<b>LL-850</b>	69	34	0,047	2,7	10,3
<b>LS-850</b>	154	108	0,08	1,9	9,2
<b>BSG-850</b>					
<b>EGS-400</b>	0,95	-	0,0027	11,3	10,0

##### 4.1.2.2 Φωτογραφίες ηλεκτρονικής σάρωσης SEM (Scanning Electron Microscopy)



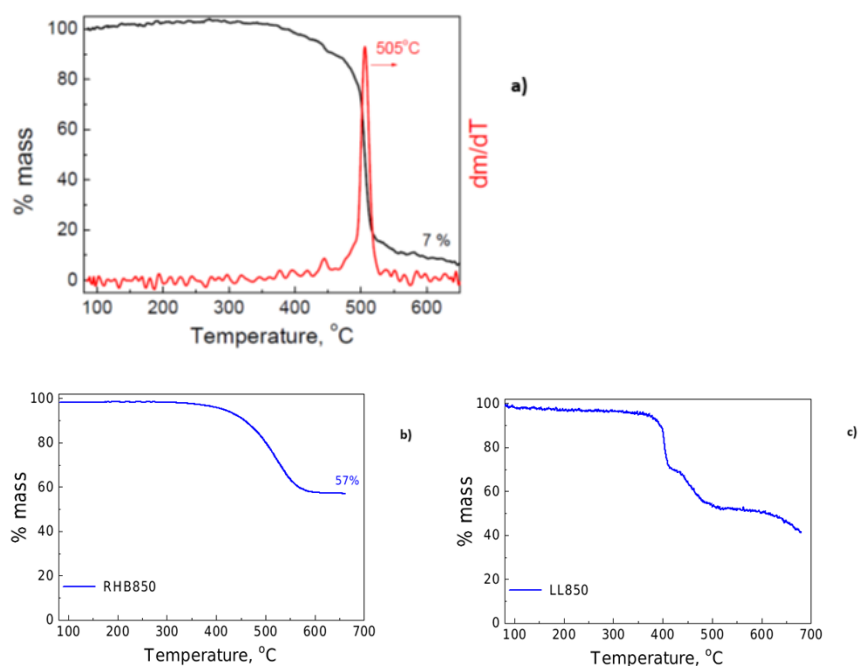


Εικόνα 16: Εικόνες SEM για α) EGS-400 β) LS-850 γ) RH-850

Βάση των φωτογραφιών ηλεκτρονικής σάρωσης, SEM, διαφαίνεται πως η ανθρακούχα φάση είναι τραχιά με πόρους, ενώ σε πολλά βιοεξανθρακώματα συναντάμε ανόργανα συστατικά σημαντικών διαστάσεων. Με την παρούσα τεχνική δεν μπορεί να ανιχνευτεί το μικροπορώδες.

#### 4.1.2.3 Θερμοσταθμική ανάλυση (TGA)

Μέσω της θερμοσταθμικής ανάλυσης δίνονται πληροφορίες σχετικά με την οργανική ανθρακούχα φάση και το ποσοστό των ανόργανων προσμίξεων που περιέχονται στα παρακάτω βιοεξανθρακώματα.



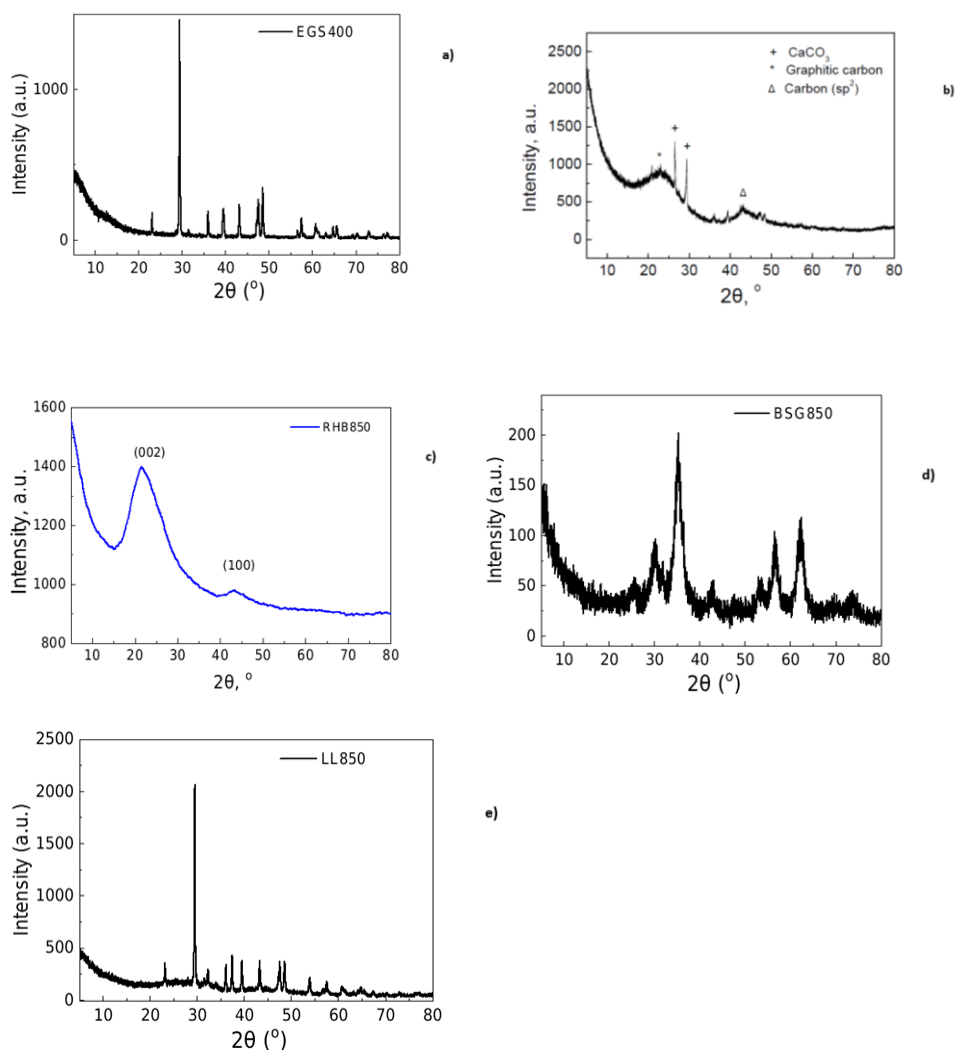
Εικόνα 17: Θερμοσταθμική ανάλυση (TGA) για α) LS-850 β) RH-850 γ) LL-850

Στην αρχή της θερμικής επεξεργασίας εφαρμόζεται ένα ισοθερμικό βήμα με σκοπό την απομάκρυνση της ποσότητας της υγρασίας που έχουν τα βιοεξανθρακώματα στην επιφάνεια τους ή στους πόρους τους. Παρατηρείται πως και στα τρία biochars η ελάττωση



της μάζας τους ήταν μικρή, ενώ την μεγαλύτερη ελάττωση την είχε το LL-850. Στην συνέχεια, ακολουθεί η πτωτική φάση όπου τα BC καίγονται στον αέρα, επομένως μειώνεται η μάζα τους λόγω της καύσης της οργανικής φάσης και της απομάκρυνσης του C. Κατά την διάρκεια αυτής της φάσης παρατηρείται κατακόρυφη μείωση της μάζας των τριών biochars, η οποία ξεκινά στις περισσότερες περιπτώσεις από την ίδια θερμοκρασία και ειδικότερα από τους 450 °C, γεγονός που είναι λογικό καθώς η θερμοκρασία όπου συμβαίνει η αποσύνθεση είναι παρόμοια λόγω της ίδιας θερμοκρασίας πυρόλυσης. Στο biochar LL-850 όμως, φαίνεται πως η αποσύνθεση ξεκινά από μικρότερη θερμοκρασία, 400 °C, το οποίο δείχνει ότι η καύση της ανθρακικής φάσης χρειάστηκε μικρότερη ποσότητα θερμότητας από τα υπόλοιπα biochars. Τέλος, στα διαγράμματα έπεται ακόμα ένα οριζόντιο τμήμα όπου δείχνει το ποσοστό των ανόργανων συστατικών που περιέχονται στα biochars μετά την θερμοσταθμική ανάλυση TGA. Το μικρότερο ποσοστό ανόργανων το κατέχει το LS-850 με 7%, ενώ στο RH-850 το περισσότερο του μισού του βάρους του είναι ανόργανα συστατικά. Όσον αφορά το βιοεξανθράκωμα LL-850, στο τελικό οριζόντιο τμήμα διακρίνονται πολλά σκαλοπάτια γεγονός που σημαίνει ότι τα ανόργανά που εμπεριέχονται σε αυτό μπορούν να διασπαστούν με αποβολή αέριων ενώσεων π.χ. ανθρακικά άλατα.

#### 4.1.2.4 Περίθλαση ακτινών X (XRD)

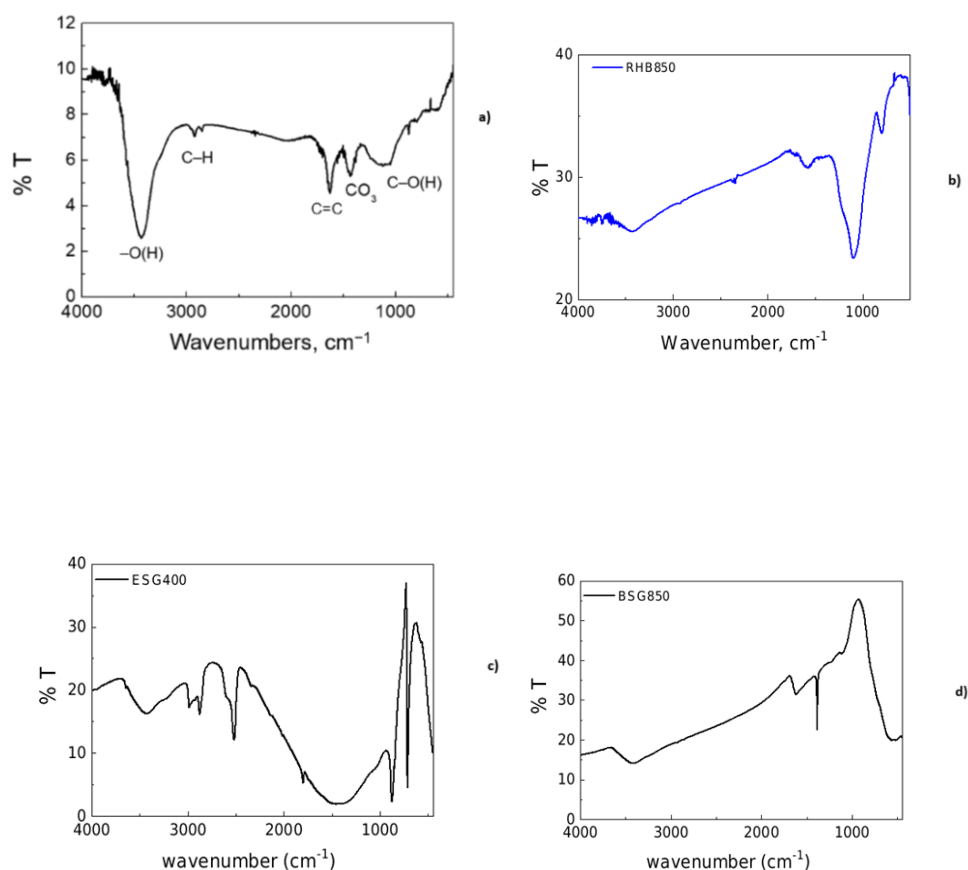


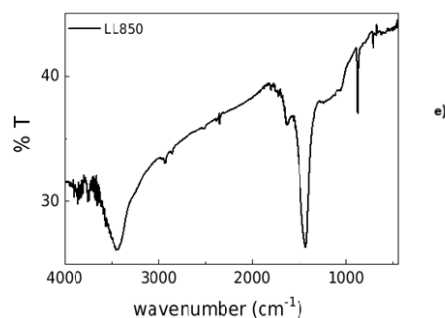
Εικόνα 18: Περίθλαση ακτίνων Χ για a) EGS-400 b) LS-850 c) RH-850 d) BSG-850 e) LL-850

Γενικά, το διάγραμμα περίθλασης ακτίνων Χ ενός καθαρού biochar, δηλαδή ενός biochar χωρίς σημαντική ποσότητα ανόργανων συστατικών ή αν υπάρχουν αυτά να είναι άμορφα αποτελείται από δύο ευρείες κορυφές που αντιστοιχούν σε γραφίτικό άνθρακα και σε άνθρακα με υβριδισμό  $sp^2$ . Τέτοια περίπτωση είναι το διάγραμμα του RH-850 όπου η πρώτη του κορυφή (002) που αντιστοιχεί σε γραφίτικό άνθρακα εμφανίζεται στα  $2\theta=23^\circ$  και η δεύτερη (100) που αντιστοιχεί σε άνθρακα με υβριδισμό  $sp^2$  εμφανίζεται στα  $2\theta = 40^\circ$ . Η παρουσία ανόργανων συστατικών αυξάνει τις κορυφές που εμφανίζονται δίνοντας ανάλογα το υλικό οξείες κορυφές. Τέτοιες είναι όλες οι υπόλοιπες περιπτώσεις των βιοεξανθρακωμάτων.

#### 4.1.2.5 Φασματοσκοπία Υπέρυθρου με μετασχηματισμό Fourier (FTIR)

Η φασματοσκοπία FTIR βοηθά στην αναγνώριση χαρακτηριστικών ομάδων που εμφανίζονται στα biochars.





**Εικόνα 19: Φάσμα FTIR για a) LS-850 b) RH-850 c) EGS-400 d) BSG-850 e) LL-850**

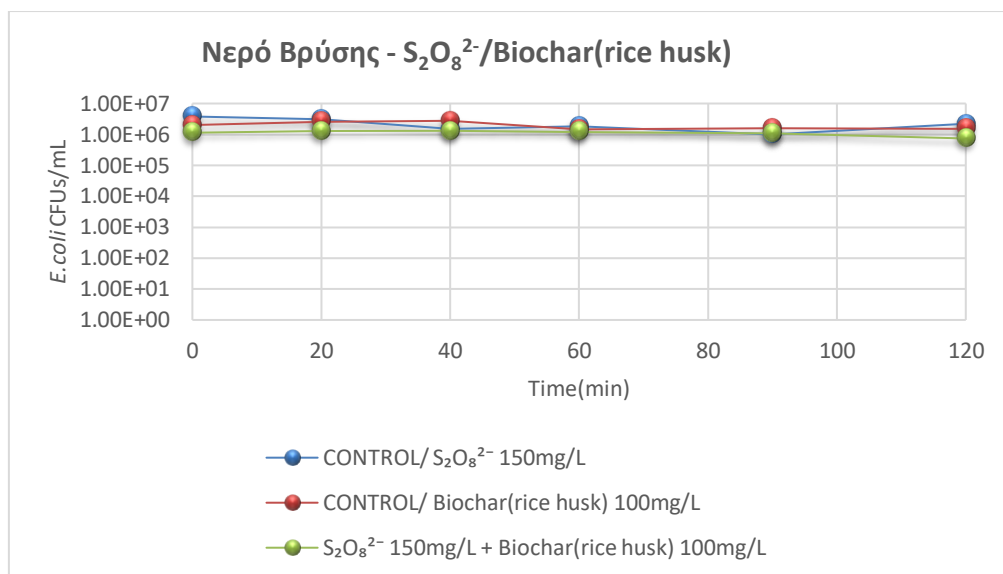
Από την παραπάνω εικόνα παρατηρείται πως σχεδόν όλα τα BC εμφανίζουν μία χαρακτηριστική ευρεία κορυφή στα περίπου  $3300\text{cm}^{-1}$ , που περιγράφει τους δεσμούς -OH από τις επιφανειακές ομάδες ή από τα προσροφημένα μόρια νερού, με την μεγαλύτερη να εμφανίζεται στο βιοεξανθράκωμα LS-850. Επιπλέον, η έντονη κορυφή στα περίπου  $1100\text{cm}^{-1}$  περιγράφει τους δεσμούς C-O που υπάρχουν σχεδόν σε όλα τα υλικά. Ανάλογα με τις συνθήκες πυρόλυσης και την αρχική βιομάζα μπορεί να συναντηθούν ανθρακικά είδη που εμφανίζουν κορυφή στα περίπου  $1450\text{cm}^{-1}$ .

#### **4.2 Αποτελέσματα ενεργοποίησης υπερθειικού νατρίου με χρήση βιοεξανθρακωμάτων**

Η πρώτη σειρά πειραμάτων αφορά προκαταρκτικά πειράματα που πραγματοποιήθηκαν για να ελεγχθεί η αποτελεσματικότητα αδρανοποίησης των βακτηριακών δεικτών *E.coli* και *Enterococcus sp.* μέσω μίας νέας μεθόδου απολύμανσης. Η μέθοδος αυτή υπάγεται στην κατηγορία των προηγμένων διεργασιών οξείδωσης και συγκεκριμένα μελετάται η ενεργοποίηση του υπερθειικού νατρίου ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8$ ) με χρήση δύο διαφορετικών ειδών βιοεξανθρακώματος.

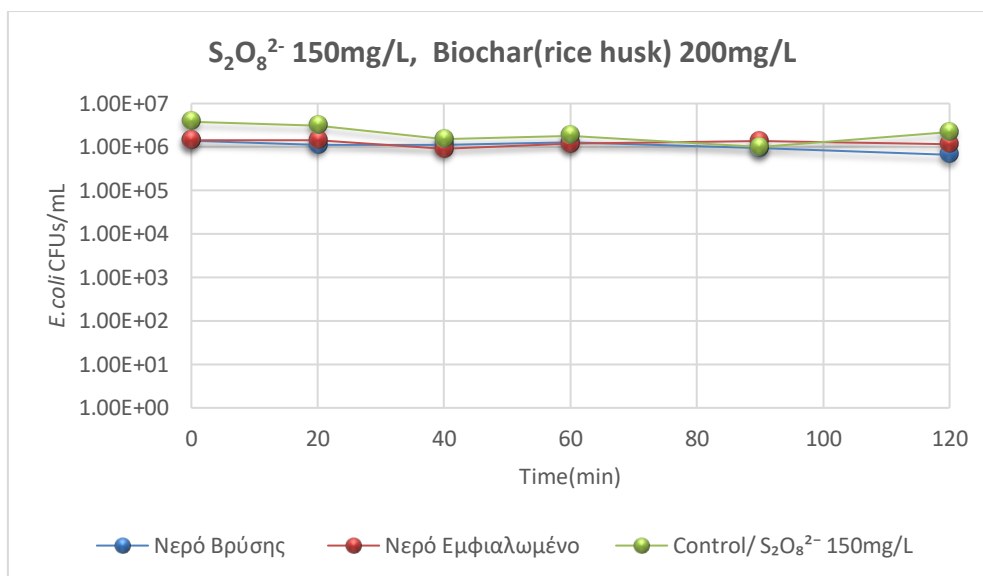
Εκτός από τα κύρια πειράματα πραγματοποιήθηκαν και πειράματα control, έτσι ώστε να εξεταστεί εάν ο κάθε παράγοντας ξεχωριστά (υπερθειικό νάτριο και βιοεξανθράκωμα) επιδρά στην μείωση ή αδρανοποίηση του βακτηριακού πληθυσμού. Τα αποτελέσματα που αναμένονται είναι η μη μείωση του πληθυσμού ή ελάχιστη πτώση αυτού, όπως και διαφαίνεται στο παρακάτω γράφημα. Τα πειράματα control δεν φαίνονται σε όλα τα γραφήματα καθώς ο βακτηριακός πληθυσμός δεν μειώνονταν σε κανένα από αυτά, και η ευθεία συνέπιπτε με την ευθεία του κύριων πειραμάτων.

Στο *Γράφημα 1* παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των πειραμάτων control ξεχωριστά με συγκέντρωση υπερθειικού νατρίου  $150\text{mg/L}$  και συγκέντρωση βιοεξανθρακώματος από φλοιό ρυζιού  $100\text{mg/L}$  καθώς και το κύριο πείραμα σε υδατική μήτρα νερού βρύσης.



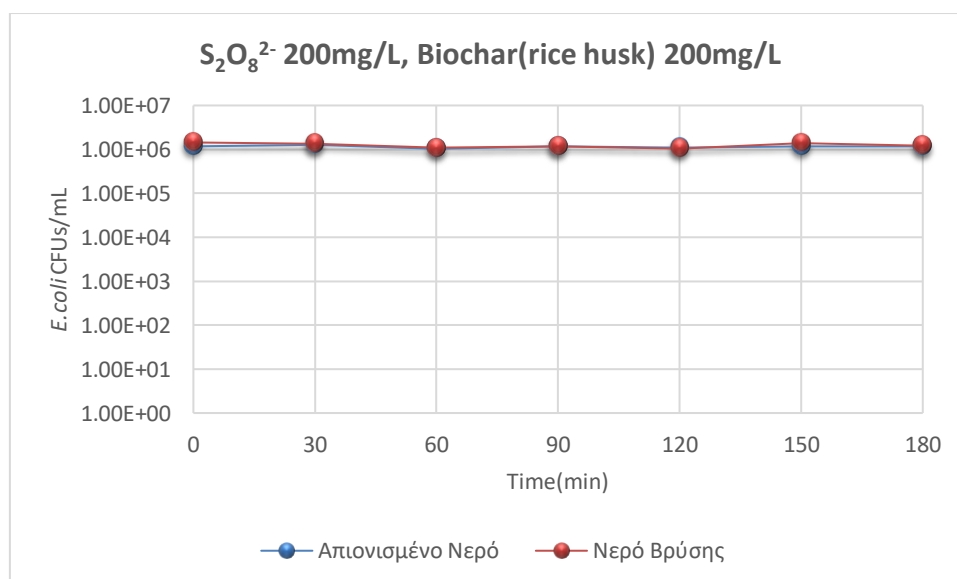
**Γράφημα 1:** Αδρανοποίηση βακτηριακού στελέχους *E.coli* μέσω ενεργοποίησης  $S_2O_8^{2-}$  με βιοεξανθράκωμα φλοιού ρυζιού. Συγκέντρωση  $S_2O_8^{2-}$  150mg/L

Παρατηρείται πως για το χρονικό διάστημα των 2h και στις τρεις περιπτώσεις δεν υπάρχει μείωση του βακτηριακού πληθυσμού. Αναλυτικότερα, στα πειράματα control η αρχική συγκέντρωση του βακτηρίου είναι της τάξης  $10^6$  CFU/mL ενώ η τελική συγκέντρωση αυτού μετά το πέρας των 2h παραμένει της τάξης  $10^6$  CFU/mL. Στο κύριο πείραμα, όπου το υπερθειϊκό νάτριο ενεργοποιείται με το βιοεξανθράκωμα διαφαίνεται μία αμελητέα πτώση του πληθυσμού με τελική συγκέντρωση  $7,4 \cdot 10^5$  CFU/mL (Γράφημα 1). Επομένως, φαίνεται πως η χρήση του βιοεξανθρακώματος από φλοιό ρυζιού ως ενεργοποιητής του υπερθειϊκού νατρίου δεν συντελεί στην αδρανοποίηση του βακτηριακού στελέχους *E.coli*. Αντίθετα, αυτό παραμένει σταθερό.



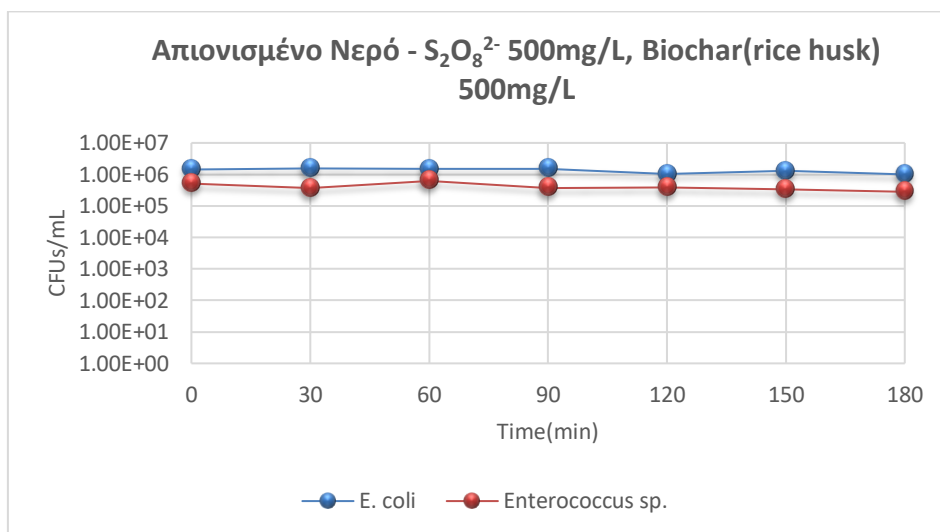
**Γράφημα 2:** Αδρανοποίηση βακτηριακού στελέχους *E.coli* μέσω ενεργοποίησης S<sub>2</sub>O<sub>8</sub><sup>2-</sup> με βιοεξανθράκωμα σε νερό βρύσης και εμφιαλωμένο νερό. Συγκέντρωση S<sub>2</sub>O<sub>8</sub><sup>2-</sup> 150mg/L

Παρατηρείται πως αυξάνοντας την συγκέντρωση του βιοεξανθράκωματος από φλοιό ρυζιού στα 200mg/L και χρησιμοποιώντας ως υδατικές μήτρες το νερό βρύσης και το εμφιαλωμένο νερό, ο πληθυσμός του βακτηριακού στελέχους *E.coli* δεν μειώνεται κατά το χρονικό διάστημα των 2h (Γράφημα 2). Παράλληλα με αυτό, διαφαίνεται πως η ενεργοποίηση του υπερθειικού με βιοεξανθράκωμα από φλοιό ρυζιού έχει την ίδια επίδραση στην αδρανοποίηση του πληθυσμού και στις δύο υδατικές μήτρες.



**Γράφημα 3:** Αδρανοποίηση βακτηριακού στελέχους *E.coli* μέσω ενεργοποίησης S<sub>2</sub>O<sub>8</sub><sup>2-</sup> με βιοεξανθράκωμα σε αποστειρωμένο νερό και νερό βρύσης. Συγκέντρωση S<sub>2</sub>O<sub>8</sub><sup>2-</sup> 200mg/L

Αυξάνοντας τόσο την συγκέντρωση του υπερθειϊκού στα 200mg/L όσο και την διάρκεια διεξαγωγής του πειράματος στις 3h δεν παρατηρείται καμία πτώση στον πληθυσμό του βακτηριακού στελέχους *E.coli*. Επίσης, διαφαίνεται πως η μέθοδος επιδρά το ίδιο και στις δύο υδατικές μήτρες (Γράφημα 3).



**Γράφημα 4:** Αδρανοποίηση βακτηριακών στελεχών *E.coli* και *Enterococcus sp.* μέσω ενεργοποίησης  $S_2O_8^{2-}$  με βιοεξανθράκωμα σε απιονισμένο νερό. Συγκέντρωση  $S_2O_8^{2-}$  500mg/L

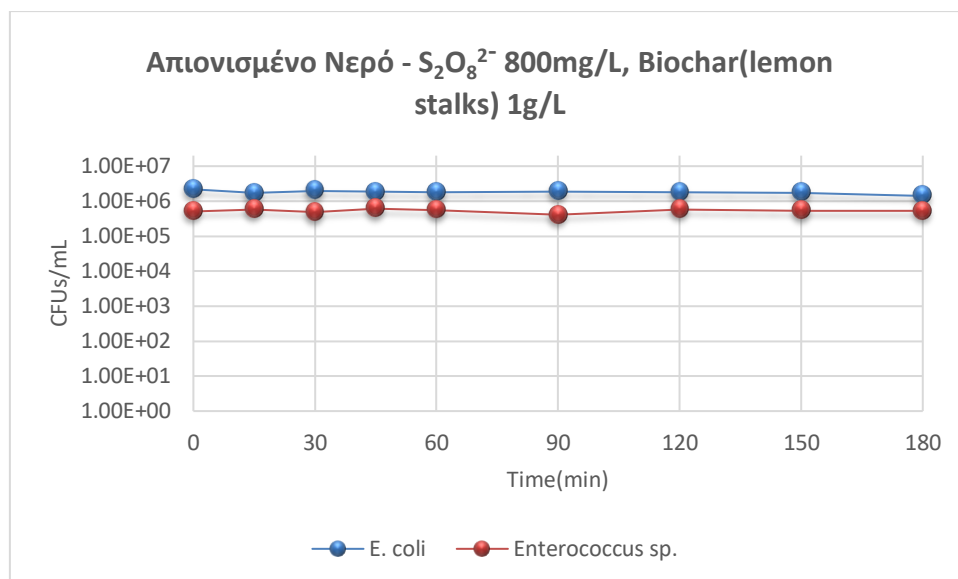
Παραπάνω συγκρίνεται πώς επιδρά η ενεργοποίηση του υπερθειϊκού με βιοεξανθράκωμα φλοιού ρυζιού στην αδρανοποίηση δύο διαφορετικών βακτηριακών στελεχών και συγκεκριμένα της *E.coli* και του *Enterococcus sp.* Αυτή την φορά χρησιμοποιήθηκε ως υδατική μήτρα το απιονισμένο νερό και αυξήθηκε η συγκέντρωση τόσο του υπερθειϊκού όσο και του βιοεξανθράκωματος στα 500mg/L. Μετά το πέρας των 3h η μείωση στην συγκέντρωση των δύο βακτηριακών στελεχών ήταν αμελητέα (Γράφημα 4).

Συνοψίζοντας, γίνεται αντιληπτό πως παρά τις δοκιμές που έγιναν αυξάνοντας την συγκέντρωση του υπερθειϊκού νατρίου ή αυτή του ενεργοποιητή του στις τρεις υδατικές μήτρες, η μείωση στον πληθυσμό των βακτηρίων ήταν μικρότερη από 1 Log. Επομένως, το βιοεξανθράκωμα από φλοιό ρυζιού δεν μπορεί να ενεργοποιήσει αποτελεσματικά το υπερθειϊκό έτσι ώστε αυτό να αδρανοποιήσει τα βακτήρια. Η μέθοδος αυτή λοιπόν δεν κρίνεται αποδοτική.

Με βάση την φασματοσκοπία FTIR που πραγματοποιήθηκε για το βιοεξανθράκωμα rice husk παρατηρείται πως έχει λίγες χαρακτηριστικές ομάδες στην διεπιφάνεια του επομένως η ικανότητα του να ενεργοποιήσει τις υπερθειϊκές ρίζες προς παραγωγή δραστικών θειικών ριζών ελαττώνεται, καθώς παρέχονται λίγες θέσεις, και συνεπώς δεν επιτυγχάνεται αδρανοποίηση των βακτηριακών στελεχών.

Οι F. Li et al., 2020 αναφέρουν πως το βιοεξανθράκωμα από φλοιό ρυζιού δεν διαθέτει μεγάλο αριθμό λειτουργικών ομάδων οξυγόνου οι οποίες παίζουν καθοριστικό

ρόλο στην καταλυτική του ικανότητα. Παράλληλα με αυτό, οι λίγες καρβοξυλικές και υδροξυλικές ομάδες του φλοιού ρυζιού μειώνουν την ικανότητα προσρόφησης των βακτηρίων στην διεπιφάνεια τους και την ικανότητα τους να ενεργοποιήσουν το υπερθειϊκό ανιόν  $S_2O_8^{2-}$  προς παραγωγή δραστικών θειικών ριζών  $SO_4^{2-}$  οδηγώντας έτσι στην μη αδρανοποίηση των βακτηρίων. Επομένως, για τους παραπάνω λόγους η συγκέντρωση του πληθυσμού των βακτηρίων παραμένει σταθερή όπως αποδείχθηκε και από τα παραπάνω πειράματα.



**Γράφημα 5:** Αδρανοποίηση βακτηριακών στελεχών *E.coli* και *Enterococcus sp.* μέσω ενεργοποίησης  $S_2O_8^{2-}$  με βιοεξανθράκωμα από κορμό λεμονιάς σε απιονισμένο νερό. Συγκέντρωση  $S_2O_8^{2-}$  800mg/L

Στην συνέχεια των πειραμάτων control της αποτελεσματικότητας της μεθόδου ενεργοποίησης του υπερθειϊκού με βιοεξανθράκωμα, χρησιμοποιήθηκε βιοεξανθράκωμα από κοτσάνια λεμονιάς. Στην περίπτωση αυτή, η υδατική μήτρα είναι απιονισμένο νερό και εξετάστηκε κατά πόσο μπορούν να αδρανοποιηθούν δύο βακτηριακά στελέχη τα οποία είχαν αρχική συγκέντρωση  $10^6$  CFU/mL (Γράφημα 5). Παρατηρείται πως για ακόμα μία φορά παρά την αυξημένη συγκέντρωση του υπερθειϊκού 800mg/L και του βιοεξανθρακώματος 1g/L στο διάλυμα, η μείωση στον πληθυσμό και των δύο βακτηρίων δεν ξεπερνά το 1 Log. Επομένως, το βιοεξανθράκωμα από κοτσάνια λεμονιάς δεν είναι καλός ενεργοποιητής του υπερθειϊκού και η μέθοδος δεν θεωρείται αποτελεσματική για την απολύμανση νερών.

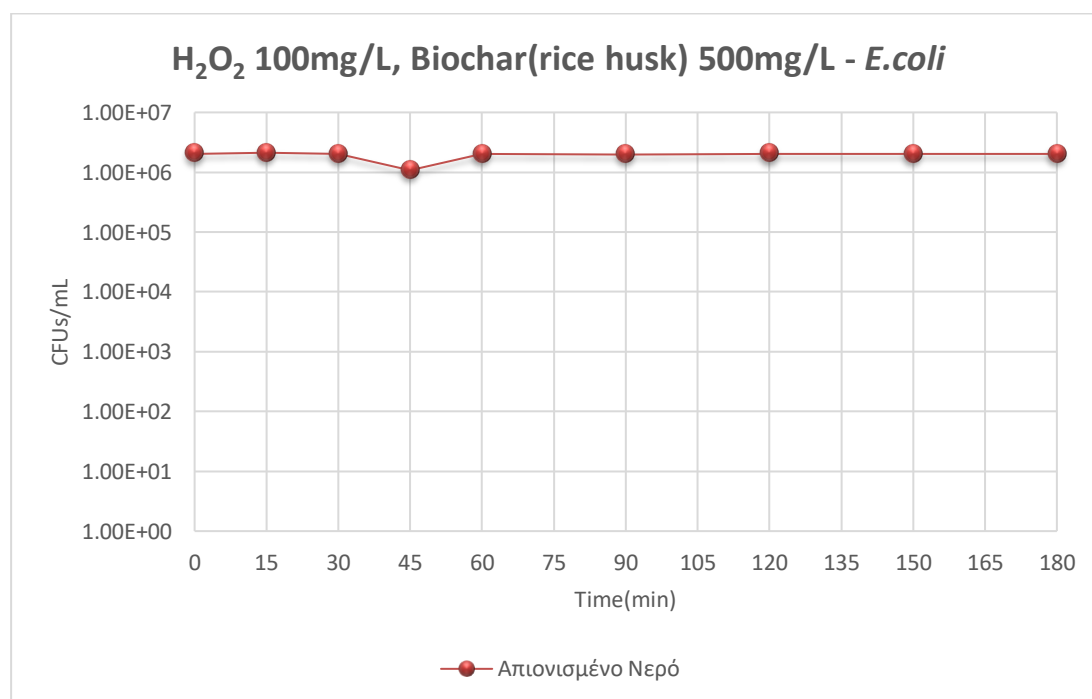
Με βάση τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του βιοεξανθρακώματος lemon stalks από το διάγραμμα XRD παρατηρείται ότι εμπεριέχει μικρή ποσότητα άμορφων ανόργανων συστατικών τα οποία ίσως να μην βοήθησαν στην μεταφορά ηλεκτρονίων στο υπερθειϊκό ανιόν και συνεπώς στην ενεργοποίηση του υπερθειϊκού ανιόντος προς παραγωγή δραστικών θειικών ριζών  $SO_4^{2-}$  για την αδρανοποίηση του βακτηρίου. Παράλληλα με αυτό, από το διάγραμμα FTIR διαφαίνεται πως παρά το γεγονός ότι έχει στην επιφάνεια του πολλές χαρακτηριστικές λειτουργικές ομάδες αυτές δεν λειτούργησαν σαν ενεργές θέσεις για την ενεργοποίηση του υπερθειϊκού.

Οι Giannakopoulos et al., 2023 επίτευξαν την αποδόμηση του αντιβιοτικού σουλφαμεθοξαζόλη μέσω της ενεργοποίησης του υπερθειικού με βιοεξανθράκωμα από διάφορα μέρη του δένδρου λεμονιάς. Σε γενικές γραμμές, παρατήρησαν πως αυξάνοντας την συγκέντρωση του υπερθειικού μεταξύ του εύρους 0-500mg/L το αντιβιοτικό αποδομείται αποτελεσματικά. Αναφέρουν όμως πως η υπερβολική δόση οξειδωτικού μπορεί να αποβεί επιζήμια στην διαδικασία, μετατρέποντας τις θειικές ρίζες σε λιγότερο δραστικά είδη όπως  $S_2O_8^{2-}$  και  $O_2$ . Το γεγονός αυτό ίσως να συμβαίνει στο παραπάνω πείραμα, καθώς η ενεργοποίηση του υψηλής συγκέντρωσης υπερθειικού με βιοεξανθράκωμα από κοτσάνια λεμονιάς φαίνεται να μην επιδρά στην μείωση των βακτηριακών πληθυσμών.

#### 4.3 Αποτελέσματα ενεργοποίησης υπεροξειδίου του υδρογόνου με βιοεξανθράκωμα

Η δεύτερη σειρά πειραμάτων αφορά σε πειράματα που πραγματοποιήθηκαν για να ελεγχθεί η ικανότητα αδρανοποίησης του βακτηριακού στελέχους *E.coli* μέσω της ενεργοποίησης του υπεροξειδίου του υδρογόνου  $H_2O_2$  με βιοεξανθράκωμα από φλοιό ρυζιού.

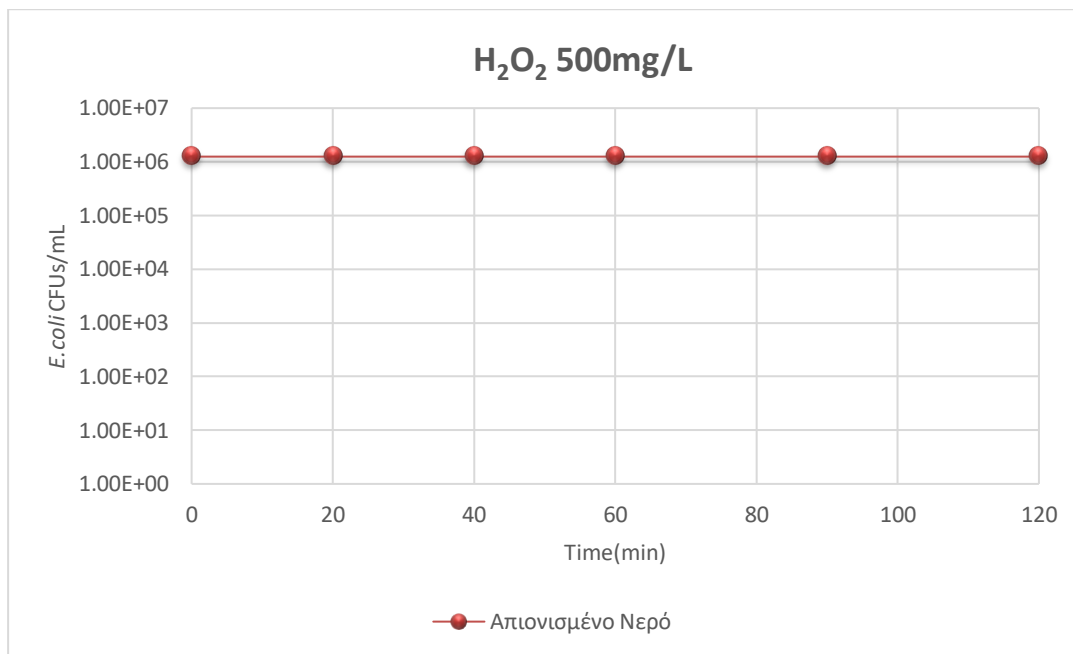
Εκτός από τα κύρια πειράματα πραγματοποιήθηκε και ένα πείραμα ελέγχου προκειμένου να εξεταστεί αν το υπεροξείδιο ως μόνος παράγοντας επιδρά στην μείωση του βακτηριακού πληθυσμού.



**Γράφημα 6:** Αδρανοποίηση βακτηριακού στελέχους *E.coli* μέσω ενεργοποίησης  $H_2O_2$  με βιοεξανθράκωμα από φλοιό ρυζιού σε απιονισμένο νερό. Συγκέντρωση υπεροξειδίου 100mg/L

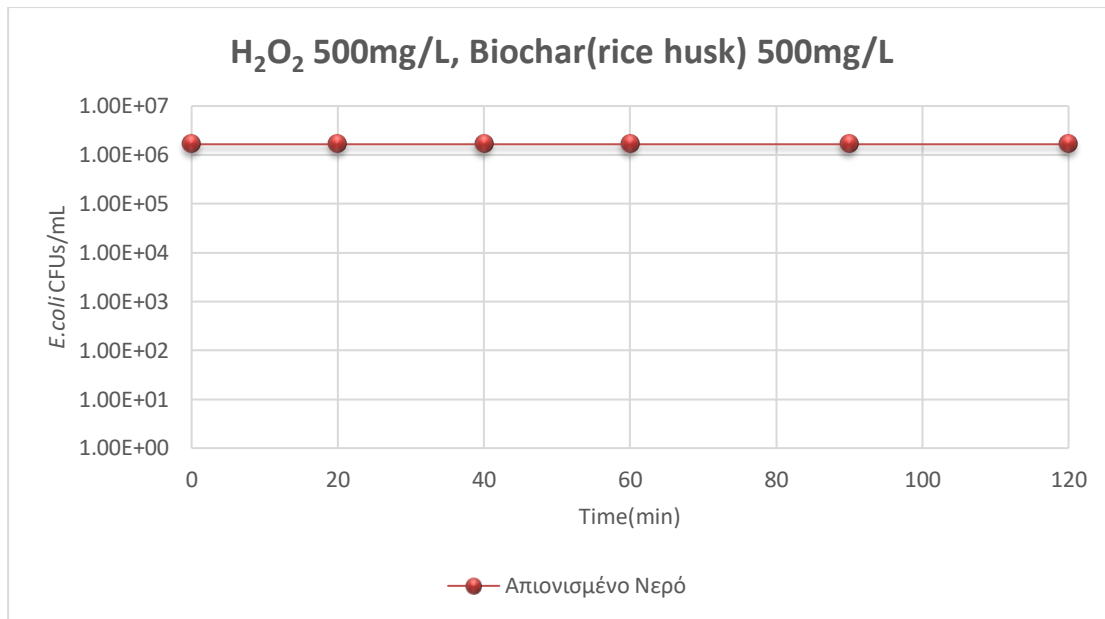


Με βάση το *Γράφημα 6* φαίνεται πως σε υδατική μήτρα απιονισμένου νερού ο πληθυσμός του βακτηρίου *E.coli* υφίσταται μία αμελητέα πτώση η οποία δεν ισοδυναμεί ούτε σε 1Log.



Γράφημα 7: Αδρανοποίηση βακτηριακού στελέχους *E.coli* με H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> σε απιονισμένο νερό. Συγκέντρωση υπεροξειδίου 500mg/L

Από το *Γράφημα 7*, όπου χρησιμοποιείται μόνο υπεροξείδιο του υδρογόνου μεγαλύτερης συγκέντρωσης (500mg/L), παρατηρείται πως δεν υπάρχει καμία μείωση στον βακτηριακό πληθυσμό, αντιθέτως παραμένει σταθερός σε όλη την διάρκεια του πειράματος control με συγκέντρωση βακτηρίου ίση με 1,25·10<sup>6</sup> CFU/mL.



Γράφημα 8: Αδρανοποίηση βακτηριακού στελέχους *E.coli* μέσω ενεργοποίησης  $H_2O_2$  με βιοεξανθράκωμα από φλοιό ρυζιού σε απιονισμένο νερό. Συγκέντρωση υπεροξειδίου 500mg/L

Από το παραπάνω γράφημα διαφαίνεται πως παρά την αύξηση τόσο της συγκέντρωσης του υπεροξειδίου όσο και του βιοεξανθράκωματος στα 500mg/L, η προσθήκη του βιοεξανθράκωματος δεν ενεργοποίησε το υπεροξείδιο και η βακτηριακή συγκέντρωση του πληθυσμού παραμένει σταθερή και ίση με  $1,65 \cdot 10^6$  CFU/mL και τα 120min του πειράματος.

Επισημαίνεται πως σε όλα τα πειράματα το pH διατηρούταν σταθερό και βασικό παίρνοντας τιμές  $pH = 8,1 - 9,8$ .

Εν κατακλείδι, γίνεται αντιληπτό πως η συγκεκριμένη μέθοδος δεν είναι ιδιαίτερα αποδοτική για την αδρανοποίηση της *E.coli* σε απιονισμένο νερό. Η βακτηριακή συγκέντρωση παραμένει σταθερή παρά την αύξηση της δόσης του υπεροξειδίου και του βιοεξανθράκωματος.

Για ακόμα μία φορά, διαφαίνεται πως οι περιορισμένες λειτουργικές επιφανειακές ομάδες του βιοεξανθράκωματος rice husk μειώνουν την καταλυτική του ικανότητα και συνεπώς δεν ενεργοποιούν το υπερθεϊκό έτσι ώστε να επέλθει αδρανοποίηση της *E.coli* παρά το γεγονός ότι έχει μεγάλη ειδική επιφάνεια

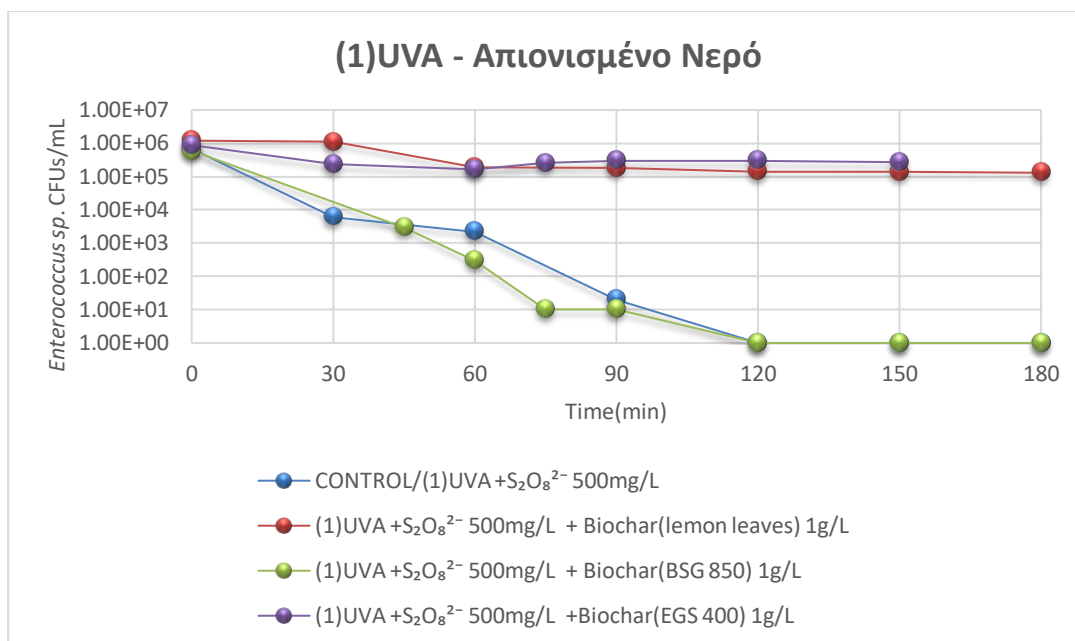
Οι L. Li et al., 2019 αναφέρουν πως η απόδοση του βιοεξανθράκωματος για την ενεργοποίηση του  $H_2O_2$  δεν είναι αντάξια πραγματικών εφαρμογών απολύμανσης νερών καθώς οι επίμονες ελεύθερες ρίζες που έχει στην επιφάνεια του μειώνονται σημαντικά έπειτα από την ενεργοποίηση του υπεροξειδίου. Για τον λόγο αυτό τα τροποποιημένα βιοεξανθράκωματα με οξείδια Fe και Mn αποτελούν μια αποτελεσματικότερη λύση. Παράλληλα με αυτό, οι García-Fernández et al., 2012 παρατήρησε πως το  $H_2O_2$  συγκέντρωσης 10mg/L σε μήτρα απιονισμένου νερού δεν επηρέασε την βιωσιμότητα της *E.coli*.

#### 4.4 Αποτελέσματα ενεργοποίησης υπερθειϊκού νατρίου με ακτινοβολία UVA και χρήση βιοεξανθρακωμάτων

Στην συγκεκριμένη ενότητα παρατίθενται αναλυτικά οι γραφικές απεικονίσεις των αποτελεσμάτων που αφορούν την ενεργοποίηση του υπερθειϊκού νατρίου με συνδυασμό δύο μεθόδων και αναλυτικότερα την ενεργοποίηση του με ακτινοβολία UVA και χρήση βιοεξανθρακωμάτων. Η ενεργοποίηση των υπερθειϊκών ριζών αποτελούν ένα είδος προηγμένων διεργασιών οξείδωσης το οποίο εξετάζεται στην παρούσα διπλωματική εργασία ως προς την δυνατότητα του να αδρανοποιήσει βακτήρια και συνεπώς να οδηγήσει στην απολύμανση νερών και αποβλήτων.

Εκτός από τα κύρια πειράματα πραγματοποιήθηκαν και πειράματα control έτσι ώστε να εξεταστεί κατά πόσο η ακτινοβολία UVA μπορεί να επιτελέσει στην μείωση ή αδρανοποίηση των πληθυσμών των βακτηρίων. Επιπλέον πειράματα control πραγματοποιήθηκαν, ξεχωριστά με υπερθειϊκό νάτριο και βιοεξανθράκωμα. Τα συγκεκριμένα πειράματα control δεν φαίνονται στα παρακάτω γραφήματα καθώς ο βακτηριακός πληθυσμός δεν μειώνονταν σε κανένα από αυτά, και η ευθεία συνέπιπτε με την ευθεία του κύριων πειραμάτων.

Στο *Γράφημα 9* παρουσιάζονται τα αποτελέσματα του πειράματος ελέγχου και των κύριων πειραμάτων για το βακτηριακού στέλεχος *Enterococcus sp.* χρησιμοποιώντας μία λάμπα ακτινοβολίας UVA με ισχύ  $P=15W$ . Η συγκέντρωση του υπερθειϊκού νατρίου ως προς την υπερθειϊκή ρίζα  $S_2O_8^-$  είναι  $500mg/L$  ενώ η συγκέντρωση των τριών διαφορετικών βιοεξανθρακωμάτων που χρησιμοποιήθηκαν είναι  $1g/L$ . Όλα τα πειράματα είχαν αρχική συγκέντρωση βακτηριακού πληθυσμού  $10^6 CFU/mL$  και έγιναν σε αποστειρωμένο  $0.9\%NaCl$  νερό.



**Γράφημα 9:** Αδρανοποίηση βακτηριακού στελέχους *Enterococcus sp.* με ακτινοβολία (1)UVA και συγκέντρωση βιοεξανθρακωμάτων 1g/L σε απιονισμένο νερό. Συγκέντρωση S<sub>2</sub>O<sub>8</sub><sup>2-</sup>: 500mg/L.

Αρχικά, παρατηρείται πως η ενεργοποίηση του υπερθειικού ανιόντος συγκέντρωσης 500mg/L μόνο με υπεριώδη ακτινοβολία ενός λαμπτήρα UVA μπορεί να προκαλέσει την αδρανοποίηση του βακτηριακού στελέχους *Enterococcus sp.* όπως αυτό φαίνεται από το πείραμα control. Ειδικότερα, διαφαίνεται πως στην συγκεκριμένη υδατική μήτρα ο πληθυσμός του βακτηρίου μηδενίζεται από τα 120min.

Οι Ferreira et al., 2020 μάλιστα αναφέρουν πως η ενεργοποίηση του υπερθειικού νατρίου με ηλιακή ακτινοβολία UVA χρησιμοποιώντας ισοτονικό νερό και συνθετικό αστικό λύμα σε πιλοτική κλίμακα επιτέλεσε στην αποτελεσματική απομάκρυνση του Gram(+) βακτηριακού δείκτη κοπρανώδους μόλυνσης *Enterococcus faecalis*. Ειδικότερα, η ακτινοβολία UVA μπορεί να δράσει τόσο εσωτερικά όσο και εξωτερικά του βακτηριακού τοιχώματος οδηγώντας στην αδρανοποίηση του βακτηρίου. Παράλληλα με αυτό, η έκθεση στην ακτινοβολία βοηθά στην ενεργοποίηση του υπερθειικού λόγω της απορρόφησης της UV ακτινοβολίας από τον υπεροξειδικό δεσμό O – O που έχει στην κατοχή του το υπερθειικό.

Στην συνέχεια της ανάλυσης του *Γραφήματος 9* παρατηρείται πως στα πειράματα της ενεργοποίησης του υπερθειικού με έναν λαμπτήρα ακτινοβολίας UVA και χρήση βιοεξανθρακώματος lemon leaves και EGS400 αντίστοιχα δεν υπάρχει σημαντική μείωση του βακτηριακού πληθυσμού. Αναλυτικότερα, στο πείραμα όπου χρησιμοποιείται το βιοεξανθράκωμα lemon leaves ο πληθυσμός του *Enterococcus sp.* από  $1,2 \cdot 10^6$  CFU/mL πέφτει στα  $1,3 \cdot 10^5$  CFU/mL κατά τον χρόνο 180min. Στην περίπτωση του πειράματος που χρησιμοποιείται το βιοεξανθράκωμα EGS400, η πτώση του πληθυσμού είναι πάλι ελάχιστη και περίπου ίση με 1 Log. Επομένως, διαφαίνεται πως η χρήση μόνο της ακτινοβολίας UVA είναι αποδοτικότερη μέθοδος αδρανοποίησης του Gram(+) *Enterococcus sp.* σε σχέση με τον συνδυασμό αυτής με το βιοεξανθράκωμα lemon leaves ή EGS400. Εκτός από αυτό,

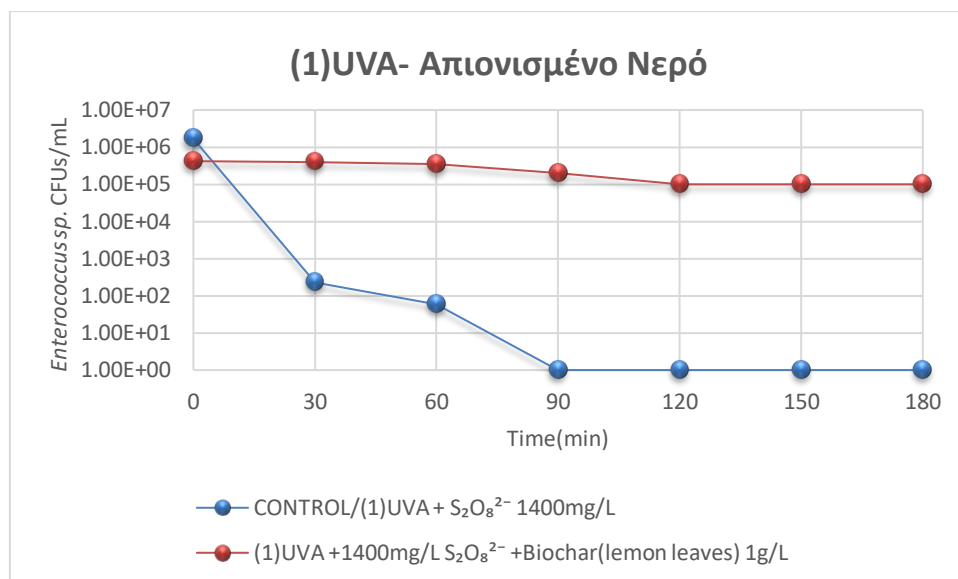
συμπεραίνεται πως τα συγκεκριμένα βιοεξανθρακώματα δεν ενισχύουν την αδρανοποίηση του βακτηρίου.

Με βάση τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των βιοεξανθρακωμάτων lemon leaves και EGS400 παρατηρείται πως οι τιμές τόσο της συνολικής ειδικής τους επιφάνειας, όσο και της επιφάνειας ή του όγκου των μικροπόρων τους είναι αρκετά χαμηλές και συνεπώς δεν παρέχουν την δυνατότητα στα μόρια του υπερθειϊκού να αλληλοεπιδράσουν με τις ενεργές θέσεις των βιοεξανθρακωμάτων έτσι ώστε να παραγάγουν δραστικές θεικές ρίζες για την αδρανοποίηση του βακτηριακού στελέχους.

Οι H. Liu et al., 2020 αναφέρουν πως έλεγξαν κατά πόσο αφαιρείται ο οργανικός ρύπος 2,4- Διχλωροφαινόλη μέσω ενεργοποίησης του υπερθειϊκού με βιοεξανθράκωμα από κελύφη αυγού πυρολυμένα στους 800°C. Παρατήρησαν πως μετά την αντίδραση η επιφάνεια του βιοεξανθρακώματος ελαττώθηκε κατά πολύ, γεγονός που μάλλον είναι αποτέλεσμα της απορρόφησης της 2,4- Διχλωροφαινόλη και των υποπροϊόντων της πάνω σε αυτή. Συμπέραναν λοιπόν, πως η προσροφημένη ύλη στο βιοεξανθράκωμα μπορεί να σφραγίσει τις ενεργές θέσεις ή να εμποδίσει την διαδικασία μεταφοράς ηλεκτρονίων επηρεάζοντας έτσι την συνολική προσρόφηση και την απόδοση της κατάλυσης.

Οι Nidheesh et al., 2021 τονίζουν πως αυξάνοντας την θερμοκρασία την οποία πυρολύεται το βιοεξανθράκωμα αυξάνεται η ειδική επιφάνεια αυτού. Η συγκεκριμένη μπορεί να παρέχει ενεργές θέσεις για την ενεργοποίηση του υπερθειϊκού η οποία θα οδηγήσει στην αδρανοποίηση του βακτηριακού στελέχους *Enterococcus sp.*. Παράλληλα με αυτό, οι Giannakopoulos et al., 2023 αναφέρουν πως η θερμοκρασία της πυρόλυσης τους βιοεξανθρακώματος εκτός από την ειδική τους επιφάνεια και την επιφάνεια των μικροπόρων αυξάνει και τον βαθμό προσρόφησης. Συνεπώς, στην περίπτωση του βιοεξανθρακώματος από φύλλα λεμονιάς ,που είναι πυρολυμένα σε υψηλή θερμοκρασία (850° C), προσροφώνται σε αυτό εκτός από το υπερθειϊκό και οι αποικίες του βακτηριακού στελέχους. Κατά αυτό τον τρόπο ίσως προστατεύονται και η μείωση στην συγκέντρωση του βακτηρίου είναι ελάχιστη παρόλο που στην ενεργοποίηση του υπερθειϊκού επιτελεί και η ακτινοβολία UVA.

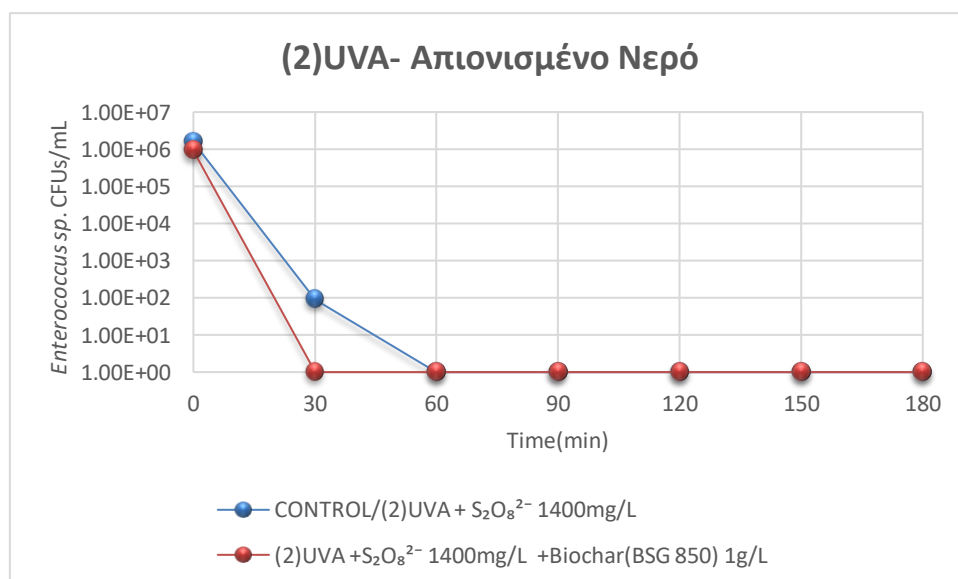
Τέλος, όπως αποδεικνύεται από το διάγραμμα ο συνδυασμός της ακτινοβολίας UVA ισχύος 15W και του βιοεξανθρακώματος BSG850 ενεργοποιούν αποτελεσματικά το υπερθειϊκό έτσι ώστε να επέλθει αδρανοποίηση του βακτηρίου *Enterococcus sp.*. Συγκεκριμένα, ο πληθυσμός αδρανοποιείται από τα 120min. Συνεπώς, αυτή την φορά η υψηλή θερμοκρασία της πυρόλυσης επέδρασε θετικά και η συγκεκριμένη μέθοδος θεωρείται αποτελεσματική.



**Γράφημα 10:** Αδρανοποίηση βακτηριακού στελέχους *Enterococcus sp.* με ακτινοβολία (1)UVA και συγκέντρωση βιοεξανθρακώματος 1g/L σε απιονισμένο νερό. Συγκέντρωση  $S_2O_8^{2-}$ : 1400mg/L.

Στο **Γράφημα 10** παρουσιάζονται τα αποτελέσματα από το πείραμα control και το κύριο πείραμα για το βακτήριο *Enterococcus sp.* σε υδατική μήτρα απιονισμένου νερού και με χρήση ενός λαμπτήρα ακτινοβολίας UVA με ισχύ  $P=15W$ . Η συγκέντρωση του υπερθειικού νατρίου της προς την υπερθειική ρίζα  $S_2O_8^{2-}$  αυξήθηκε στα 1400mg/L και για το πείραμα χρησιμοποιήθηκαν 1g/L βιοεξανθρακώματος lemon leaves.

Συγκριτικά με το **Γράφημα 9** φαίνεται πως η αύξηση της συγκέντρωσης του υπερθειικού στα 1400mg/L επέφερε ταχύτερη αδρανοποίηση του πληθυσμού του βακτηρίου στο πείραμα control, ο οποίος μηδενίζεται από τα 90min. Αντίθετα, η συγκεκριμένη συνθήκη δεν επιφέρει μείωση του πληθυσμού στο πείραμα, η οποία είναι μικρότερη από 1Log. Άρα, αποδεικνύεται πως το βιοεξανθράκωμα από φύλλα λεμονιάς δεν είναι καλός ενεργοποιητής του υπερθειικού και διατηρεί την συγκέντρωση του βακτηρίου σταθερή παρόλο που στην ενεργοποίηση συνδράμει και η ακτινοβολία UVA.



Γράφημα 11: Αδρανοποίηση βακτηριακού στελέχους *Enterococcus sp.* με ακτινοβολία (2)UVA και συγκέντρωση βιοεξανθρακώματος 1g/L σε απιονισμένο νερό. Συγκέντρωση  $S_2O_8^{2-}$ : 1400mg/L.

Στο *Γράφημα 11* γίνεται χρήση δύο λαμπτήρων ακτινοβολίας UVA με συνολική ισχύ  $P=30W$ . Διαφαίνεται πως αυξάνοντας την συγκέντρωση του υπερθειικού στα 1400mg/L και την ισχύ της υπεριώδους ακτινοβολίας UVA η θανάτωση του πληθυσμού του βακτηρίου γίνεται ταχύτερα και συγκεκριμένα από τα 60min. Επίσης, αποδεικνύεται πως η μέθοδος ενεργοποίησης του υπερθειικού με συνδυασμό της ακτινοβολίας UVA και χρήσης του βιοεξανθρακώματος BSG850 είναι εξαιρετικά αποτελεσματική μέθοδος καθώς ο *Enterococcus sp.* αδρανοποιείται πλήρως σε μόλις 30min από την έναρξη του πειράματος.

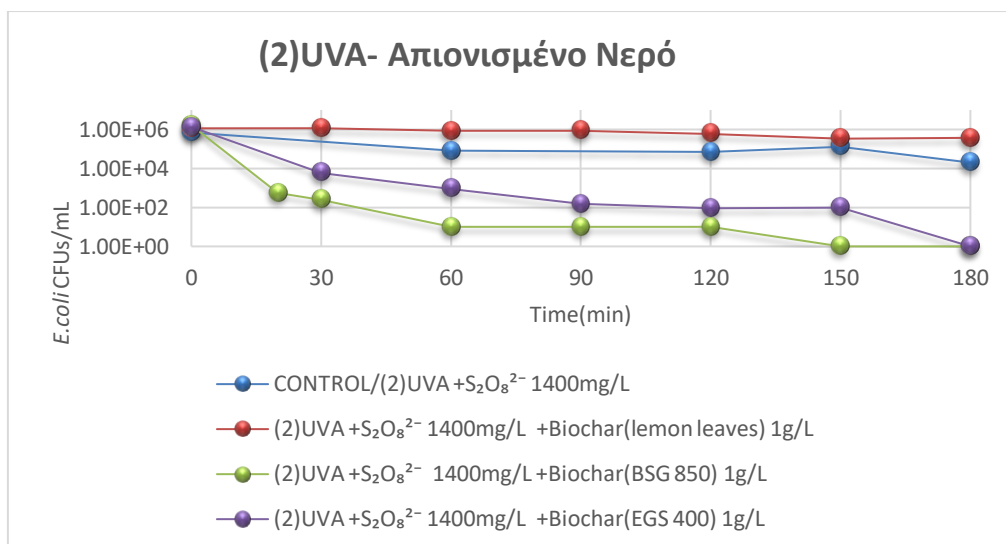
Το BSG850 με βάση την περίθλαση ακτίνων X (XRD) παρατηρείται ότι έχει στην επιφάνεια του μεγάλο αριθμό ανόργανων κρυσταλλικών συστατικών που του προσδίδουν ηλεκτρική αγωγιμότητα. Για τον λόγω αυτό το βιοεξανθράκωμα αυτό μπορεί να λειτουργήσει ως μέσο μεταφοράς ηλεκτρονίων στο υπερθειικό ανιόν, καθώς μπορεί να παρέχει ηλεκτρόνια. Η διαδικασία μεταφοράς ηλεκτρονίων οδηγεί στην ενεργοποίηση του υπερθειικού ανιόντος και στην μετέπειτα δημιουργία δραστικών θειικών ριζών  $SO_4^{2-}$  η οποία επισπεύδεται από την δόση ακτινοβολίας UVA και επομένως, αδρανοποιεί αποτελεσματικά τον *Enterococcus sp.*. Παράλληλα με αυτό, η καταλυτική του ικανότητα μπορεί να αποδοθεί στην ύπαρξη υδροξυλικών και καρβοξυλικών ομάδων της επιφάνειάς του, που παρά το γεγονός ότι είναι περιορισμένες, φαίνεται να παρέχουν ενεργές θέσεις στο υπερθειικό ανιόν έτσι ώστε αυτό να ενεργοποιηθεί.

Οι Xiao et al., 2019 αναφέρουν πως η έκθεση των υπερθειικών ριζών στην ακτινοβολία ορατού φωτός έχει ως αποτέλεσμα την καταστροφή των κυττάρων και του χρωμοσωμικού DNA των μικροοργανισμών. Παράλληλα με αυτό, οι Ortega-Gómez et al., 2012 διεξήγαν πείραμα σε φωτο-αντιδραστήρα με σκοπό να ελέγξουν κατά πόσο επιδρά από μόνη της η UVA ακτινοβολία στα κύτταρα του βακτηρίου *E.faecalis*. Το πείραμα έγινε σε υδατική μήτρα απιονισμένου νερού με 0.9% NaCl, με 20mg/DOCL ρεσορκινόλης και η συγκέντρωση του βακτηρίου ήταν  $\sim 10^6$  CFU/mL. Μετά από 120min έκθεσης σε  $32W/m^2$  ακτινοβολίας UVA η μείωση του βακτηριακού πληθυσμού ήταν ίση με 2.5 Log.

Παρακάτω παρατίθενται τα αποτελέσματα από τα πειράματα control και τα κύρια πειράματα με το βακτήριο *E.coli* σε υδατική μήτρα απιονισμένου νερού.

Σημειώνεται πως στην περίπτωση της *E.coli* για την προσπάθεια απομάκρυνσης της από απιονισμένο νερό οι συνθήκες που απαιτήθηκαν ήταν δριμύτερες.

Σε όλα τα πειράματα η συγκέντρωση του υπερθειικού είναι 1400mg/L, η συγκέντρωση των τριών βιοεξανθρακωμάτων είναι 1g/L και χρησιμοποιήθηκαν δύο λαμπτήρες ακτινοβολίας UVA με συνολική ισχύ  $P=30W$ .



**Γράφημα 12:** Αδρανοποίηση βακτηριακού στελέχους *E.coli* με ακτινοβολία (2)UVA και συγκέντρωση βιοεξανθρακώματος 1g/L σε απιονισμένο νερό. Συγκέντρωση S<sub>2</sub>O<sub>8</sub><sup>2-</sup> 1400mg/L.

Από το πείραμα control του *Γραφήματος 12* δεν διακρίνεται κάποια σημαντική μείωση στον πληθυσμό του βακτηρίου *E.coli*. Ειδικότερα, η συγκέντρωση του βακτηρίου από 10<sup>6</sup> CFU/mL πέφτει κατά περίπου 2 Log φτάνοντας στην συγκέντρωση 2,0·10<sup>4</sup> CFU/mL στον χρόνο 180min.

Παρατηρείται πως σε σύγκριση με το πείραμα control του *Γραφήματος 11*, ο *Enterococcus* *sp.* είναι λιγότερο ανθεκτικός από την *E.coli* κάτω από τις συγκεκριμένες συνθήκες παρά το γεγονός ότι πρόκειται για ένα Gram (+) βακτήριο όπου το κυτταρικό του τοίχωμα είναι πολυπλοκότερο από εκείνο των Gram (-) βακτηρίων στο οποίο κατατάσσεται η *E.coli*. Φαίνεται πως αδρανοποιείται πλήρως από τα 60min ενώ ο πληθυσμός της *E.coli* υπέστη μία μικρή μείωση. Οι Ferreira et al., 2020 αναφέρουν πως ο χρόνος που χρειάστηκε για να μειωθεί ο πληθυσμός του βακτηρίου *E.faecalis* με ηλιακή UVA ακτινοβολία και υπερθειϊκό συγκέντρωσης 0.7mM ήταν σχεδόν ο διπλάσιος από εκείνον που χρειάστηκε για να ελαττωθεί ο βακτηριακός πληθυσμός της *E.coli*. Επίσης, γίνεται λόγος για την μεγαλύτερη ανθεκτικότητα του *E.faecalis* έναντι αυτής της *E.coli* η οποία οφείλεται στην διαφορετική σύνθεση του κυτταρικού τους τοιχώματος και στην ωσμωτική διαπερατότητα των εξωτερικών μεμβρανών τους.

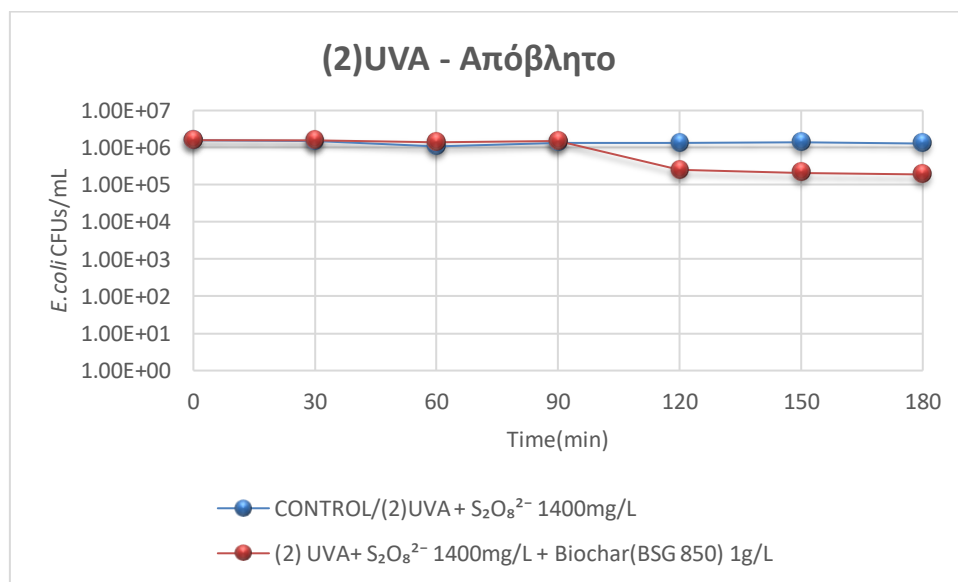
Στην συνέχεια, από το *Γράφημα 12* φαίνεται πως και στην περίπτωση της *E.coli* ο συνδυασμός της ακτινοβολίας UVA και του βιοεξανθρακώματος lemon leaves επιφέρουν μία ασήμαντη μείωση στον βακτηριακό πληθυσμό η οποία είναι περίπου της τάξης του 0.5 Log. Αντιθέτως, το βιοεξανθράκωμα EGS400 παρόλο που είναι πυρολυμένο σε μικρή θερμοκρασία (400°C) φαίνεται πως σε συνδυασμό με την ακτινοβολία δύο λαμπτήρων UVA ενεργοποιούν αποτελεσματικά το υπερθειϊκό για την απομάκρυνση του βακτηρίου καθώς ο πληθυσμός μηδενίζεται στα 180min. Ακόμα αποτελεσματικότερη τεχνική φαίνεται να είναι εκείνη όπου χρησιμοποιείται το βιοεξανθράκωμα BSG850 πυρολυμένο στους 850°C καθώς, σε μόλις 30min από την έναρξη του πειράματος η πτώση της βακτηριακής συγκέντρωσης είναι 4 Log και κατά τον χρόνο 150min μηδενίζεται. Τα συγκεκριμένα αποτελέσματα



πιστοποιούν την απαίτηση διαφορετικών συνθηκών κάθε φορά, οι οποίες βασίζονται στους υπό μελέτη μικροοργανισμούς.

Στην περίπτωση του βακτηρίου *E.coli* φαίνεται πως για ακόμα μία φορά η μικρή ειδική επιφάνεια και επιφάνεια των μικροπόρων του βιοεξανθρακώματος lemon leaves είχε ως αποτέλεσμα την μη μείωση του βακτηριακού πληθυσμού καθώς δεν ενεργοποίησε αποτελεσματικά το  $S_2O_8^{2-}$ , η ενεργοποίηση του οποίου δεν επισπεύστηκε από την δόση ακτινοβολίας UVA. Από την άλλη πλευρά, το βιοεξανθράκωμα EGS400 αδρανοποίησε το βακτηριακό στέλεχος πάρα το γεγονός ότι η ειδική του επιφάνεια είναι εξαιρετικά μικρή. Αυτό μπορεί να οφείλεται στο ότι η μέση διάμετρος των μικροπόρων του είναι αρκετά μεγάλη (11,3nm), παρά την μικρή θερμοκρασία πυρόλυσης του (400°C), στο ότι έχει στην επιφάνεια του πολλά ανόργανα κρυσταλλικά συστατικά που του προσδίδουν ηλεκτρική αγωγιμότητα και πολλές χαρακτηριστικές ομάδες επιφανείας που συντελούν στην αποτελεσματική ενεργοποίηση του υπερθεϊκού αδρανοποιώντας έτσι το βακτήριο. Τέλος, διακρίνεται πως το BSG850 απέδωσε πάλι καθώς συντέλεσε στην αποτελεσματική ενεργοποίηση του  $S_2O_8^{2-}$  για την αδρανοποίηση της *E. coli* για τους λόγους που προαναφέρθηκαν.

Σύμφωνα με τους Xi et al., 2014 η απορροφητική ικανότητα του βιοεξανθρακώματος από υπολείμματα ζυθοποιίας (BSG) επηρεάζεται από την δόση του απορροφητικού, την θερμοκρασία της πυρόλυσης και το χρόνο παραμονής. Στην συγκεκριμένη περίπτωση όπου η θερμοκρασία πυρόλυσης του βιοεξανθρακώματος είναι 850 °C φαίνεται πως ευνόησε την απορροφητική του ικανότητα καθώς σε συνδυασμό με την ακτινοβολία UVA ενεργοποίησε το υπερθεϊκό και επήλθε αδρανοποίηση του βακτηρίου.



**Γράφημα 13:** Αδρανοποίηση βακτηριακού στελέχους *E.coli* με ακτινοβολία (2)UVA και συγκέντρωση βιοεξανθρακώματος 1g/L σε απόβλητο δευτεροβάθμιας εκροής. Συγκέντρωση  $S_2O_8^{2-}$  1400mg/L.

Στο παραπάνω γράφημα το απόβλητο της δευτεροβάθμιας εκροής ως υδατική μήτρα δεν έχει τα επιθυμητά αποτελέσματα, καθώς η μείωση του βακτηριακού πληθυσμού

της *E.coli* είναι ελάχιστη και στις δύο περιπτώσεις ενεργοποίησης του υπερθειικού (Γράφημα 13).

Οι Guerra-Rodríguez et al., 2022 τονίζουν πως η υψηλή πολυπλοκότητα της υδατικής μήτρας πολλές φορές οδηγεί σε χαμηλότερα επίπεδα αποδόμησης ή αδρανοποίησης. Η οργανική ύλη η οποία εμπεριέχεται σε πολύπλοκες υδατικές μήτρες όπως αυτή του αποβλήτου της δευτεροβάθμιας εκροής μπορεί να απορροφήσει ακτινοβολία στην περιοχή της υπεριώδους UVA και έτσι να εμποδίσει την ενεργοποίηση του οξειδωτικού.

#### **4.5 Αποτελέσματα ετερογενούς ηλιακής φωτοκατάλυσης**

Στην συγκεκριμένη ενότητα παρατίθενται αναλυτικά οι γραφικές απεικονίσεις των αποτελεσμάτων που αφορούν τον έλεγχο της αδρανοποίησης των βακτηριακών στελεχών *E.coli* και *Enterococcus* sp. μέσω της ηλιακής φωτοκατάλυσης. Για την επίτευξη του στόχου αυτού έγινε χρήση τριών διαφορετικών φωτοκαταλυτών.

Εκτός από τα κύρια πειράματα πραγματοποιήθηκαν και πειράματα control, έτσι ώστε να εξεταστεί εάν η ηλιακή ακτινοβολία από μόνη της επιδρά στην μείωση ή αδρανοποίηση του βακτηριακού πληθυσμού. Τα πειράματα control πραγματοποιήθηκαν ταυτόχρονα με τα κύρια, έτσι ώστε οι περιβαλλοντικές συνθήκες, όπως η ένταση της ηλιακής ακτινοβολίας να παραμένουν ίδιες και στα δύο πειράματα. Τα αποτελέσματα που αναμένονται είναι η μικρότερη μείωση του βακτηριακού πληθυσμού στην περίπτωση των πειραμάτων control όπου δεν γίνεται προσθήκη των φωτοκαταλυτών.

##### **4.5.1 Φωτοκαταλύτες που χρησιμοποιήθηκαν κατά την ηλιακή φωτοκατάλυση**

Οι καταλύτες παρασκευάστηκαν από την ερευνητική ομάδα προχωρημένων διεργασιών του καθηγητή Διονύσιου Μαντζαβίνου, τμήμα Χημικών Μηχανικών του Πανεπιστημίου Πατρών.

###### **4.4.1.1 Ειδική επιφάνεια καταλυτών**

###### **Φωτοκαταλύτες Mo-TiO<sub>2</sub>, W-TiO<sub>2</sub>**

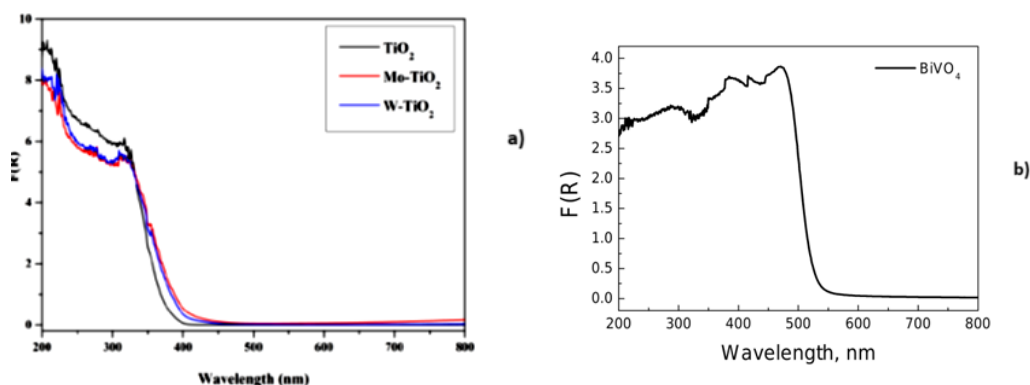
Η ειδική επιφάνεια των δειγμάτων μετρήθηκε μέσω προσρόφησης N<sub>2</sub> σε θερμοκρασία υγρού N<sub>2</sub> και προσδιορίστηκε με τη μέθοδο BET. Βρέθηκε ίση με 53 m<sup>2</sup>/g, για το δείγμα Mo-TiO<sub>2</sub> ενώ για το W-TiO<sub>2</sub> προσδιορίστηκε ίση με 47 m<sup>2</sup>/g. Η ειδική επιφάνεια της καθαρής TiO<sub>2</sub> είναι 54 m<sup>2</sup>/g.

###### **Φωτοκαταλύτης BiVO<sub>4</sub>**

Η ειδική επιφάνεια του δείγματος μετρήθηκε μέσω προσρόφησης N<sub>2</sub> σε θερμοκρασία υγρού N<sub>2</sub> και προσδιορίστηκε με τη μέθοδο BET. Βρέθηκε ίση με 1,9 m<sup>2</sup>/g, ενώ ο όγκος των πόρων ήταν 0,025 mL/g.

#### 4.5.1.2 Φασματοσκοπία Διάχυτης Ανάκλασης

Στην παρακάτω εικόνα φαίνονται τα φάσματα διάχυτης ανάκλασης των καταλυτών. Η επέκταση της φασματικής απόκρισης του  $\text{TiO}_2$  στην περιοχή του ορατού φωτός (400nm – 800nm) μετά την απόθεση των μετάλλων μετάπτωσης βελτιώνει γενικά την συνολική φωτοκαταλυτική δράση. Γενικά διαπιστώνεται ότι η εναπόθεση μικρής ποσότητας μετάλλων μετάπτωσης στην επιφάνεια του  $\text{TiO}_2$  οδηγεί σε μικρή αύξηση της απόκρισης του  $\text{TiO}_2$  στο ορατό.



Εικόνα 20: Φάσματα διάχυτης ανάκλασης φωτοκαταλυτών a)  $\text{TiO}_2$ ,  $\text{Mo-TiO}_2$ ,  $\text{W-TiO}_2$  b)  $\text{BiVO}_4$

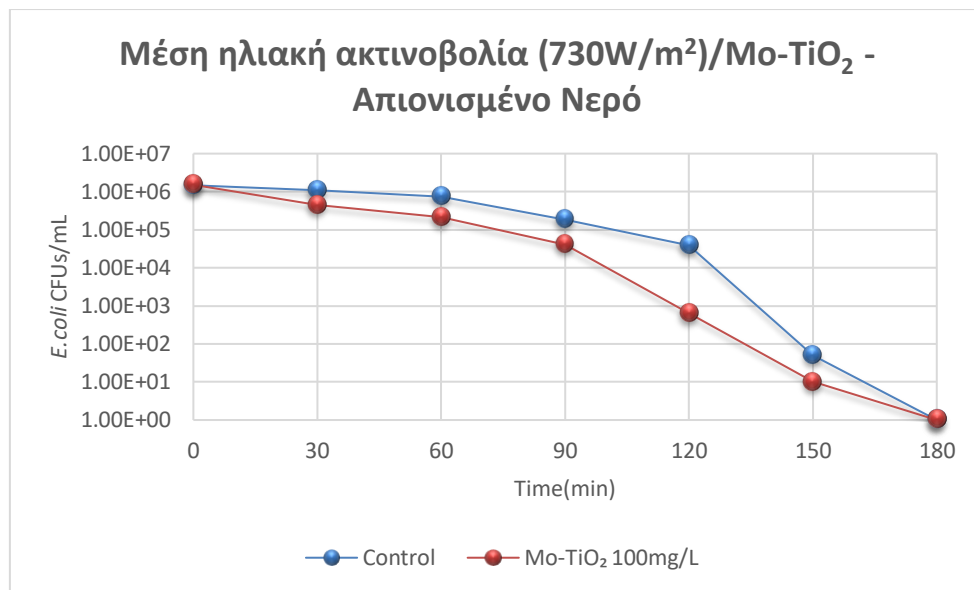
#### 4.5.1.3 Ενεργειακό χάσμα των φωτοκαταλυτών $\text{Mo-TiO}_2$ και $\text{W-TiO}_2$

Το ενεργειακό χάσμα  $E_g$  (Energy gap) του καταλύτη μειώνεται με την εναπόθεση  $\text{Mo}$  ή  $\text{W}$  από 3,09 eV στην καθάρη  $\text{TiO}_2$  σε 2,92 eV στον  $\text{Mo-TiO}_2$  και σε 2,87 eV στον  $\text{W-TiO}_2$ . Τα χαμηλότερα αυτά χάσματα συνεπάγονται σε καλύτερη φωτο-δραστικότητα των ενισχυμένων καταλυτών όπου έχουν την δυνατότητα απολύμανσης υδατικών μητρών.

#### 4.5.2 Πειράματα ηλιακής φωτοκατάλυσης με το βακτηριακό στέλεχος *E. coli*

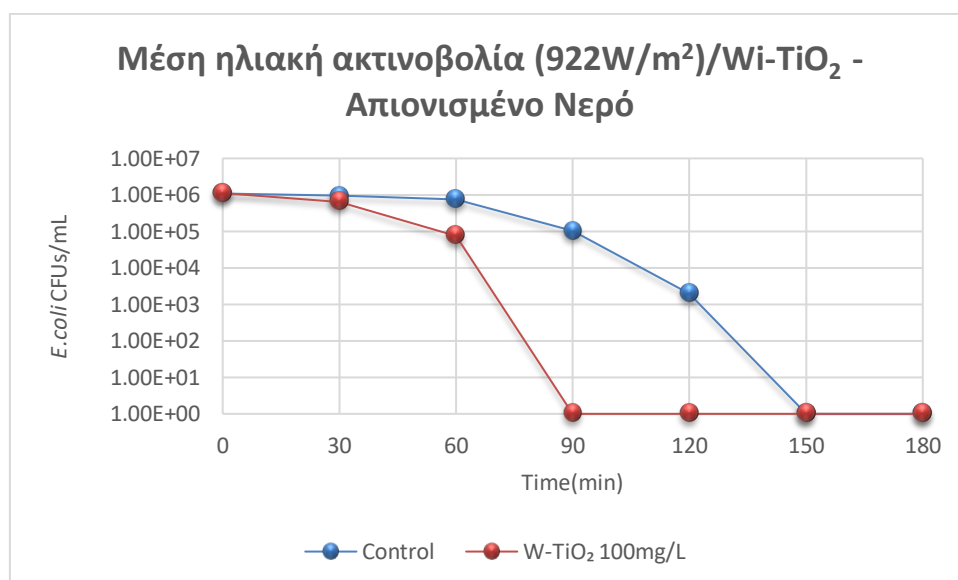
Παρακάτω παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των πειραμάτων ελέγχου και των κύριων πειραμάτων της ηλιακής φωτοκατάλυσης.

Αξίζει να σημειωθεί πως στα κύρια πειράματα χρησιμοποιήθηκαν 100mg/L από τους φωτοκαταλύτες  $\text{Mo-TiO}_2$ ,  $\text{W-TiO}_2$  και  $\text{Bi-VO}_4$ . Κατά την διάρκεια των πειραμάτων λαμβάνονταν μέτρηση της έντασης της ηλιακής ακτινοβολίας με την βοήθεια του οργάνου μέτρησης αυτής.



**Γράφημα 14:** Αδρανοποίηση βακτηριακού στελέχους *E.coli* με ηλιακή φωτοκατάλυση σε απιονισμένο νερό. Συγκέντρωση καταλύτη 100mg/L.

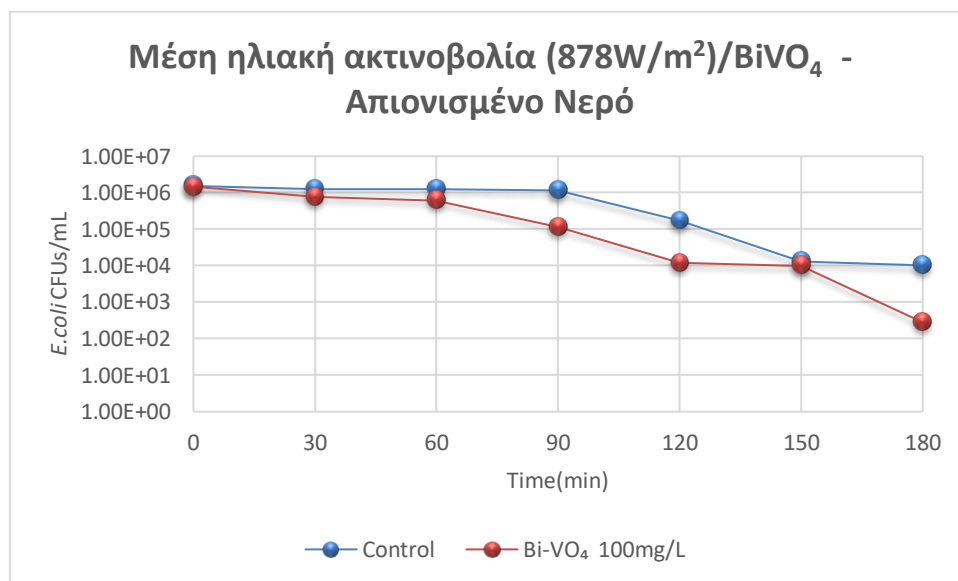
Σύμφωνα με το *Γράφημα 14* παρατηρείται πως τόσο στο control (αξιοποίηση μόνο της ηλιακή ακτινοβολίας) όσο και πείραμα παρουσία φωτοκαταλύτη, υπάρχει πτώση του βακτηριακού πληθυσμού της *E.coli*. Συγκεκριμένα, φαίνεται πως η ηλιακή ακτινοβολία από μόνη της μπορεί να συντελέσει στην μείωση του πληθυσμού καθώς αδρανοποιείται πλήρως στα 180min. Η πτώση της συγκέντρωσης του βακτηρίου είναι ακόμα μεγαλύτερη όταν χρησιμοποιείται ο καταλύτης Mo-TiO<sub>2</sub> καθώς, από τα 90min του πειράματος ξεκινά η απότομη μείωση και στα 180min μηδενίζεται.



**Γράφημα 15:** Αδρανοποίηση βακτηριακού στελέχους *E.coli* με ηλιακή φωτοκατάλυση σε απιονισμένο νερό. Συγκέντρωση καταλύτη 100mg/L.

Με βάση το *Γράφημα 15* παρατηρείται πως η παρουσία μόνο της υψηλής ηλιακής ακτινοβολίας από 870W/m<sup>2</sup> έως 996W/m<sup>2</sup> (Παράρτημα, Π1) αδρανοποιεί πλήρως την *E.coli* από τα 150min. Στο κύριο πείραμα όπου χρησιμοποιείται ο καταλύτης W-TiO<sub>2</sub>, ο πληθυσμός μειώνεται απότομα κατά 6 Logs από τα 90min του πειράματος, δηλαδή αρκετά ταχύτερα από το πείραμα control.

Επομένως, διαφαίνεται πως ο καταλύτης W-TiO<sub>2</sub> επιδρά θετικά στην απόδοση της συγκεκριμένης μεθόδου απολύμανσης σε απιονισμένο νερό.



**Γράφημα 16:** Αδρανοποίηση βακτηριακού στελέχους *E.coli* με ηλιακή φωτοκατάλυση σε απιονισμένο νερό. Συγκέντρωση καταλύτη 100mg/L.

Από το *Γράφημα 16* δεν διακρίνεται σημαντική πτώση του πληθυσμού του βακτηρίου. Ειδικότερα, στο control ο πληθυσμός από 1,46·10<sup>6</sup> CFU/mL μειώνεται σε 1,02·10<sup>4</sup> CFU/mL μετά από 180min. Ο βακτηριακός πληθυσμός όταν γίνεται χρήση του φωτοκαταλύτη Bi-VO<sub>4</sub> μειώνεται ταχύτερα και συγκεκριμένα κατά 4 Logs.

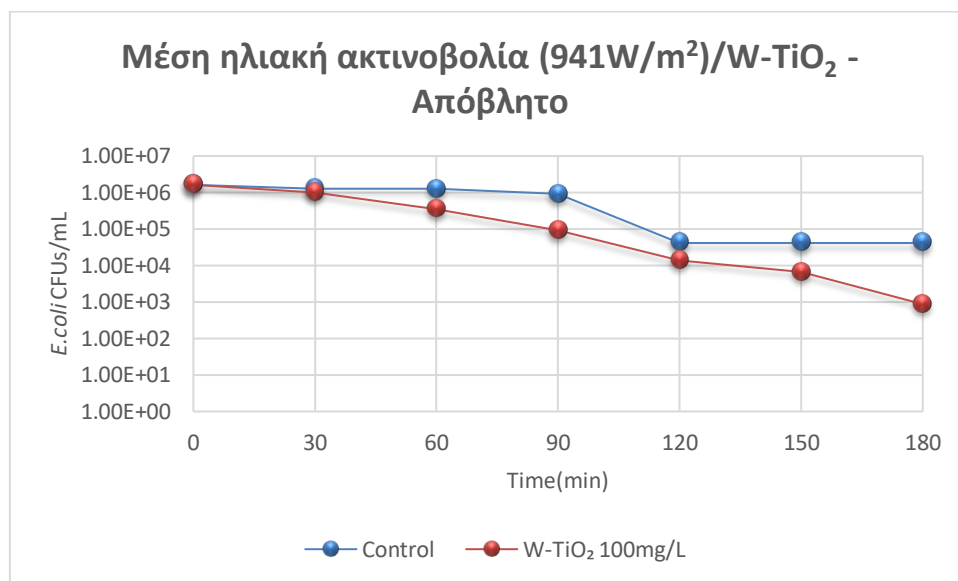
Σημειώνεται πως από τα 60min ως τα 90min των πειραμάτων του *Γραφήματος 16* υπήρχε συνεπιά επομένως, όχι απευθείας έκθεση του καταλύτη ή του βακτηριακού πληθυσμού στην ηλιακή ακτινοβολία. Από την στιγμή που ο φωτοκαταλύτης δεν εκτίθεται απευθείας στο ηλιακό φως δεν απορροφά φωτόνια και δεν εκτελούνται στην επιφάνεια του χημικές αντιδράσεις που θα βοηθήσουν στην αδρανοποίηση του βακτηριακού στελέχους.

Οι Sichel et al., 2007 διεξήγαγαν πειράματα ηλιακής φωτοκατάλυσης με τον καταλύτη TiO<sub>2</sub> σε πιλοτική κλίμακα σε διαφορετικές εποχές και διαφορετικές ώρες της ημέρας με συνεπιά ή χωρίς. Όλα τα αποτελέσματα έδειξαν ότι, η αδρανοποίηση του βακτηρίου *E.coli* και ορισμένων μυκήτων του γένους *Fusarium* δεν εξαρτάται από την ηλιακή UV ακτινοβολία εφόσον έχουν ληφθεί αρκετά φωτόνια για την απολύμανση. Από την άλλη πλευρά, η απολύμανση απουσία καταλύτη και αξιοποίησης μόνο του ηλιακού φωτός είναι πιο ευάλωτη στις αλλαγές της έντασης της ηλιακής ακτινοβολίας.

Οι Laxma Reddy et al., 2017 αναφέρουν πως ο καταλύτης  $\text{TiO}_2$  που έχει ενισχυμένη κρυσταλλική δομή και μικρότερο μέγεθος σωματιδίων ήταν αποτελεσματικότερος στην απολύμανση των μικροβίων και ειδικότερα της *E.coli* σε σχέση με τον εμπορικά διαθέσιμο  $\text{TiO}_2$ . Παράλληλα με αυτό, έχει αποδειχθεί ότι ο καταλύτης  $\text{TiO}_2$  που είναι εμπλουτισμένος με μέταλλα μπορεί να βελτιώσει την φωτοκαταλυτική αποδοτικότητα σχηματίζοντας ενδιάμεσες ζώνες. Η φωτοκαταλυτική αποδοτικότητα αποδεικνύεται και από τα παραπάνω γραφήματα όπου χρησιμοποιείται ο καταλύτης  $\text{TiO}_2$  ενισχυμένος με δύο διαφορετικά μέταλλα μετάπτωσης, Mo και W αντίστοιχα.

Όσον αφορά τον καταλύτη  $\text{BiVO}_4$  όπου χρησιμοποιείται στα πειράματα του Γραφήματος 12 οι Malathi et al., 2018 τονίζουν πως όταν δεν είναι ενισχυμένος ανασυνδέεται αρκετά γρήγορα λόγω της περιορισμένης ενέργειας της απαγορευμένης ζώνης του. Με βάση τους Sharma et al., 2016 η χρήση συνθετικού οκταεδρικού σχήματος καταλύτη  $\text{BiVO}_4$  ανέστειλε το 96% της ανάπτυξης της *E.coli* όταν βρισκόταν υπό φωτισμό δύο ωρών.

Καθώς η ηλιακή φωτοκατάλυση με χρήση του καταλύτη W- $\text{TiO}_2$  φάνηκε πως αδρανοποιεί αποτελεσματικά το βακτήριο *E.coli* σε απιονισμένο νερό, παρακάτω εξετάστηκε η αποτελεσματικότητα της μεθόδου σε απόβλητο δευτεροβάθμιας επεξεργασίας.



**Γράφημα 17:** Αδρανοποίηση βακτηριακού στελέχους *E.coli* με ηλιακή φωτοκατάλυση σε απόβλητο δευτεροβάθμιας εκροής. Συγκέντρωση καταλύτη 100mg/L.

Με βάση το Γράφημα 17 παρατηρείται μικρότερη μείωση στον βακτηριακό πληθυσμό της *E.coli* όταν υδατική μήτρα είναι το απόβλητο της δευτεροβάθμιας. Ειδικότερα, στο πείραμα control η συγκέντρωση του βακτηριακού πληθυσμού κατά την έναρξη του πειράματος είναι ίση με  $1,62 \cdot 10^6$  CFU/mL και παραμένει σταθερή έως τα 90min ενώ έπειτα μειώνεται κατά περίπου 2 Logs φτάνοντας τελικά στα  $4,13 \cdot 10^4$  CFU/mL. Ο

πληθυσμός του βακτηρίου στην περίπτωση που χρησιμοποιείται ο καταλύτης W-TiO<sub>2</sub>, από 1,62·10<sup>6</sup> CFU/mL ελαττώνεται κατά τον χρόνο 180min στα 8,7·10<sup>2</sup> CFU/mL.

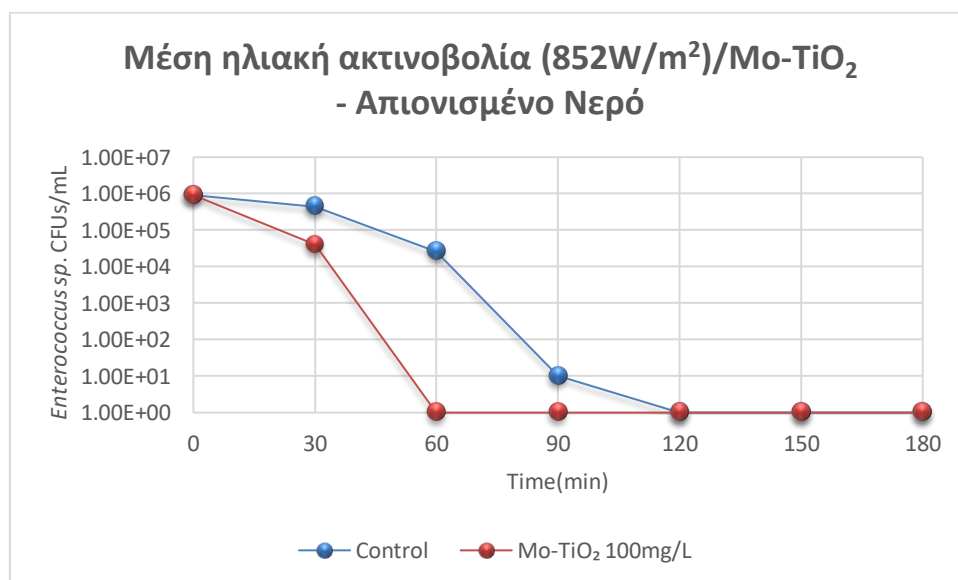
Εν κατακλείδι, η υδατική μήτρα που δίνει καλύτερα αποτελέσματα κατά την φωτοκατάλυση με τον καταλύτη W-TiO<sub>2</sub> είναι το απιονισμένο νερό καθώς επιτελεί στην πλήρη αδρανοποίηση του βακτηριακού στελέχους.

Οι Venieri, Mantzavinou, et al., 2020 τονίζουν πως όσο πιο πολύπλοκη είναι η υδατική μήτρα τόσο λιγότερο αποτελεσματική είναι η προηγμένη διεργασία οξείδωσης και στην προκειμένη περίπτωση η ηλιακή φωτοκατάλυση. Το γεγονός αυτό οφείλεται στο ότι οι μικροοργανισμοί και τα συστατικά της υδατικής μήτρας (διαλυμένη οργανική ύλη, ανόργανα συστατικά κ.ά.) αναπτύσσουν ανταγωνιστική δράση προς τις ενεργές θέσεις των καταλυτών όταν εφαρμόζονται ετερογενείς διεργασίες.

#### 4.5.3 Πειράματα ηλιακής φωτοκατάλυσης με το βακτηριακό στέλεχος *Enterococcus sp.*

Παρακάτω παρουσιάζονται τα αποτελέσματα ελέγχου αδρανοποίησης του βακτηριακού στελέχους *Enterococcus sp.* με την μέθοδο της ηλιακής φωτοκατάλυσης.

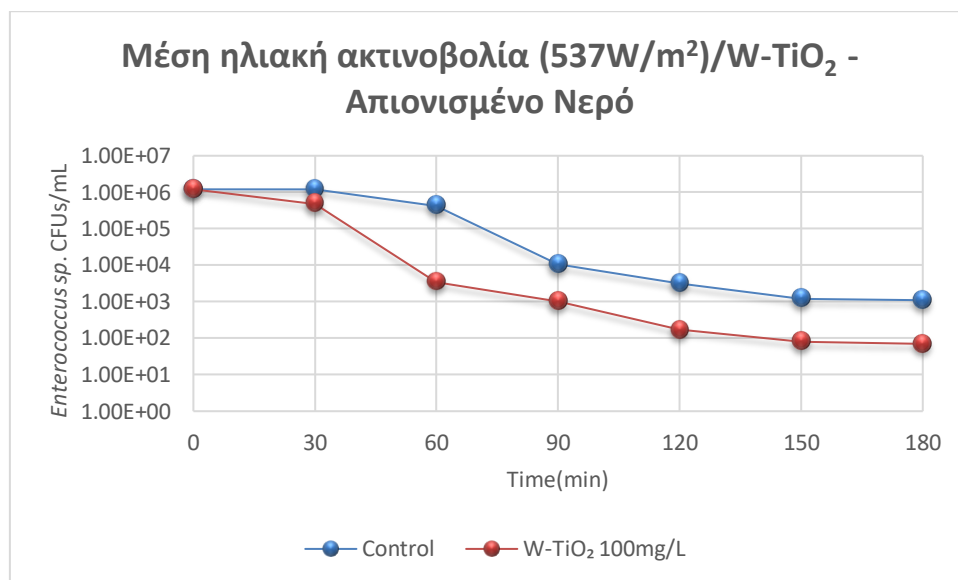
Αξίζει να σημειωθεί πως και σε αυτή την σειρά πειραμάτων, στα κύρια πειράματα χρησιμοποιήθηκαν 100mg/L από τους καταλύτες Mo-TiO<sub>2</sub>, W-TiO<sub>2</sub> Bi-VO<sub>4</sub>. Επιπλέον, κατά την διάρκεια τους λαμβάνονταν μετρήσεις της έντασης της ηλιακής ακτινοβολίας με την βοήθεια του οργάνου μέτρησης αυτής.



**Γράφημα 18:** Αδρανοποίηση βακτηριακού στελέχους *Enterococcus sp.* με ηλιακή φωτοκατάλυση σε απιονισμένο νερό. Συγκέντρωση καταλύτη 100mg/L.

Από το **Γράφημα 18** διακρίνεται πως στο control η ηλιακή ακτινοβολία 827 W/m<sup>2</sup> έως 890 W/m<sup>2</sup> (Παράρτημα, Π2) αδρανοποιεί πλήρως τον *Enterococcus sp.* από τα 120min του

πειράματος. Όσον αφορά το κύριο πείραμα φαίνεται πως ο φωτοκαταλύτης Mo-TiO<sub>2</sub> είναι ιδιαίτερα αποδοτικός για την αδρανοποίηση του συγκεκριμένου βακτηριακού στελέχους καθώς εκείνη απήλθε σε μόλις 60min από την έναρξη του πειράματος.



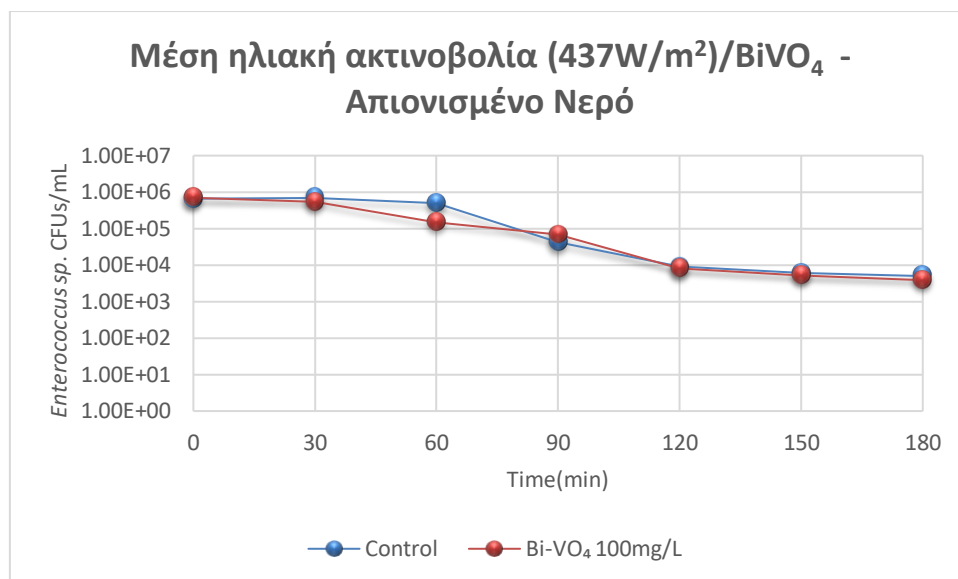
**Γράφημα 19:** Αδρανοποίηση βακτηριακού στελέχους *Enterococcus sp.* με ηλιακή φωτοκατάλυση σε απιονισμένο νερό. Συγκέντρωση καταλύτη 100mg/L.

Από το παραπάνω γράφημα γίνεται αντιληπτό ότι ο καταλύτης W-TiO<sub>2</sub> δεν φέρει το επιθυμητό αποτέλεσμα. Συγκεκριμένα, παρατηρείται ότι η συγκέντρωση του βακτηριακού πληθυσμού μειώνεται κατά 4.9 Logs και δεν αδρανοποιείται πλήρως. Στην περίπτωση του πειράματος control η μείωση του πληθυσμού είναι ακόμα μικρότερη και ίση με περίπου 3 Logs (Γράφημα 19).

Αξίζει να τονιστεί πως από τα 90min των πειραμάτων και έπειτα υπήρχε συννεφιά και η ένταση της ηλιακής ακτινοβολίας ενώ αρχικά ήταν έντονη και ίση με 930 W/m<sup>2</sup> έπεσε αρκετά φτάνοντας στα 345 W/m<sup>2</sup> (Παράρτημα, Π2). Όπως προαναφέρθηκε, τόσο στο πείραμα που χρησιμοποιείται ο φωτοκαταλύτης όσο και στο control (αξιοποίηση μόνο ηλιακής ακτινοβολίας), δεν υπάρχει ιδιαίτερη μείωση στον πληθυσμό του βακτηρίου επομένως, συμπεραίνεται πως η αδρανοποίηση του *Enterococcus sp.* εξαρτάται εκτός από την αποδοτικότητα του φωτοκαταλύτη και από τις καιρικές συνθήκες και ειδικότερα από την ένταση της ηλιακής ακτινοβολίας.

Οι Lonnen et al., 2005 αναφέρουν πως μετά από οχτάωρη έκθεση σε τεχνητό ηλιακό φως (870 W/m<sup>2</sup> στο εύρος 300nm-10μm, 200 W/m<sup>2</sup> στο εύρος UV 300-400nm) τόσο η ηλιακή ακτινοβολία από μόνη της όσο και η ηλιακή φωτοκατάλυση με τον TiO<sub>2</sub> επιφέρουν τουλάχιστον 4 Logs μείωση των βακτηριακών πληθυσμών *Pseudomonas aeruginosa* (Gram (+) βακτήριο) και *E.coli* (Gram (-) βακτήριο) σε πόσιμο νερό.





Γράφημα 20: Αδρανοποίηση βακτηριακού στελέχους *Enterococcus sp.* με ηλιακή φωτοκατάλυση σε απιονισμένο νερό. Συγκέντρωση καταλύτη 100mg/L.

Με βάση το *Γράφημα 20* μπορεί να γίνει διακριτό ότι η ηλιακή φωτοκατάλυση με τον καταλύτη  $\text{Bi-VO}_4$  δεν είναι αποτελεσματική μέθοδος για την αδρανοποίηση του βακτηριακού στελέχους *Enterococcus sp.* Ειδικότερα, ο πληθυσμός από  $10^6$  CFU/mL μειώνεται κατά 2.8 Logs μετά από 120min από την έναρξη του πειράματος και έπειτα παραμένει μέχρι τα 180min σε γενικές γραμμές σταθερός. Η χρήση μόνο της ηλιακής ακτινοβολίας φαίνεται πως έχει παρόμοια επίδραση στο βακτηριακό στέλεχος καθώς η μείωση του πληθυσμού του είναι και σε αυτή την περίπτωση κοντά στα 3 Logs.

Επισημαίνεται πως και σε αυτή την περίπτωση για το χρονικό διάστημα των 90min έως των 120min των πειραμάτων επικρατούσε συννεφιά και η ένταση της ηλιακής ακτινοβολίας έπεσε από  $870\text{ W/m}^2$  σε  $90\text{ W/m}^2$  (Παράρτημα, Π2). Μετά το πέρας όμως του συγκεκριμένου διαστήματος, η ένταση της επανήλθε σε υψηλά επίπεδα φτάνοντας κατά τα 150min των πειραμάτων μέχρι και τα  $940\text{ W/m}^2$ . Συνεπώς, από το πείραμα control φαίνεται πως για ακόμα μία φορά η μικρή ένταση της ηλιακής ακτινοβολίας εμποδίζει την αδρανοποίηση του βακτηριακού στελέχους η οποία δεν επισπεύδεται από την χρήση του φωτοκαταλύτη  $\text{Bi-VO}_4$ .

Αναφορικά με τους φωτοκαταλύτες που χρησιμοποιήθηκαν κατά την ηλιακή φωτοκατάλυση προκειμένου να ελεγχθεί η δυνατότητα αδρανοποίησης των δύο βακτηριακών στελεχών διαφάνεται πως και στα δύο βακτήρια καλύτερα αποτελέσματα έδωσαν οι φωτοκαταλύτες  $\text{Mo-TiO}_2$  και  $\text{W-TiO}_2$ . Με βάση τα χαρακτηριστικά των φωτοκαταλυτών διακρίνεται πως οι φωτοκαταλύτες  $\text{Mo-TiO}_2$  και  $\text{W-TiO}_2$  έχουν πολύ μεγαλύτερη ειδική επιφάνεια ( $53\text{m}^2/\text{g}$  και  $47\text{m}^2/\text{g}$  αντίστοιχα) από τον φωτοκαταλύτη  $\text{BiVO}_4$  στην οποία μπορεί να προσροφηθεί μεγάλος αριθμός φωτονίων όπου θα οδηγήσει σε οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις στην επιφάνεια του φωτοκαταλύτη και συνεπώς στην επιτυχημένη παραγωγή αντιδραστικών οξειδωτικών ειδών που τελικά θα αδρανοποιήσουν τα βακτηριακά στελέχη. Επιπλέον, η βελτιωμένη φωτοκαταλυτική δραστηριότητα αυτών των δύο φωτοκαταλυτών μπορεί να οφείλεται στο γεγονός ότι, το φάσμα απορρόφησης

τους έχει επεκταθεί στην περιοχή του ορατού φωτός και στο ότι έχουν χαμηλό ενεργειακό χάσμα άρα ενισχυμένη φωτοδραστηριότητα.

Οι Lu et al., 2003 αναφέρουν πως η ενισχυμένη αποτελεσματικότητα των εμπλουτισμένων φωτοκαταλυτών ίσως ερμηνεύεται από πιθανή δράση των ενισχυτών πάνω στην επιφάνεια του ως παγίδα ηλεκτρονίων, επισπεύδοντας έτσι τη μεταφορά φορτίων στην διεπιφάνεια και καθυστερώντας την επανασύνδεση του ζεύγους ηλεκτρονίου-οπής.

Συμπερασματικά, παρατηρείται πως ο καταλύτης  $\text{TiO}_2$  που είναι ενισχυμένος με το μέταλλο μετάπτωσης μολυβδαίνιο (Mo) δίνει καλύτερα αποτελέσματα, όσον αφορά την αδρανοποίηση του βακτηρίου *Enterococcus sp.* σε υδατική μήτρα απιονισμένου νερού, από εκείνον που είναι ενισχυμένος με το βολφράμιο (W). Σε γενικές γραμμές οι Venieri, Mantzavinos et al. αναφέρουν πως η βελτιωμένη δραστηριότητα του ενισχυμένου με μέταλλα καταλύτη  $\text{TiO}_2$  αποδίδεται σε δύο λόγους. Ο πρώτος είναι ότι η οπτική απορρόφηση μετατοπίζεται προς την ορατή περιοχή και ο δεύτερος ότι τα ζεύγη ηλεκτρονίων-οπών καθυστερούν να ανασυνδιαστούν (Venieri, Mantzavinos, et al., 2020).

Τέλος, η *E.coli* φαίνεται να είναι πιο ευαίσθητη από τον *Enterococcus sp.* καθώς αδρανοποιείται πλήρως μέσω της ηλιακής φωτοκατάλυσης με τους δύο εκ των τριών καταλυτών που χρησιμοποιήθηκαν ενώ με τον  $\text{BiVO}_4$  η μείωση του πληθυσμού της ήταν μεγαλύτερης τάξεως από εκείνη του *Enterococcus sp.*. Το αποτέλεσμα αυτό είναι το αναμενόμενο καθώς με βάση τους Venieri et al., 2017 ο *Enterococcus sp.*, όντας ένα Gram (+) βακτήριο, έχει στην κατοχή του ένα παχύ κυτταρικό τοίχωμα που περιέχει πολλά στρώματα πεπτιδογλυκάνης και τειχοϊκών οξέων τα οποία προσδίδουν στο βακτήριο ανθεκτικότητα έναντι της φωτοκατάλυσης και της παραγωγής αντιδραστικών ριζών οξυγόνου. Παρά το γεγονός αυτό, ο *Enterococcus sp.* φαίνεται να αδρανοποιείται ταχύτερα από την *E.coli* μέσω φωτοκατάλυσης με τον Mo- $\text{TiO}_2$ .

Οι van Grieken et al., 2010 δεν είδαν διαφορά στον χρόνο απολύμανσης, μέσω της φωτοκατάλυσης με καταλύτη  $\text{TiO}_2$ , των βακτηρίων *E.coli* και *E.faecalis* σε φυσικά νερά, ενώ ο *E.faecalis* ήταν πιο ανθεκτικός στο αποσταγμένο νερό. Ακόμα, οι Kiwi & Nadtochenko, 2005 έδειξαν πως διαφορετικά συστατικά του κυτταρικού τοιχώματος της *E.coli* μπορούν εύκολα να φωτοαποδομηθούν μέσω της φωτοκατάλυσης με τον καταλύτη  $\text{TiO}_2$ .

#### 4.6 Κινητική σταθερά αδρανοποίησης

Στην συγκεκριμένη ενότητα παρουσιάζονται αναλυτικά οι μεταβλητές της κινητικής των αντιδράσεων των μεθόδων απολύμανσης που πραγματοποιήθηκαν στα πειράματα που προηγήθηκαν, ξεχωριστά για κάθε μέθοδο, υδατική μήτρα και βακτηριακό στέλεχος.

Είναι απαραίτητο να τονιστεί ότι, οι αντιδράσεις των μεθόδων απολύμανσης περιγράφονται από κινητικές πρώτης τάξεως. Ο συντελεστής  $k$  αποτελεί την κινητική σταθερά απενεργοποίησης ή αδρανοποίησης και εκφράζει την ταχύτητα και την αποτελεσματικότητα της μεθόδου απολύμανσης. Ειδικότερα, όσο μεγαλύτερος είναι ο

συντελεστής  $k$  τόσο αποτελεσματικότερη είναι η μέθοδος απολύμανσης και τόσο ταχύτερα αυτή εκτελείται.

Εκτός από τον συντελεστή  $k$ , στους παρακάτω πίνακες αναγράφονται η αρχική και τελική συγκέντρωση των βακτηριακών στελεχών και ο συντελεστής προσδιορισμού  $R^2$ , ο οποίος εκφράζει την ανταπόκριση των τιμών στην απλή γραμμική παλινδρόμηση. Ο συντελεστής  $R^2$  κυμαίνεται μεταξύ των τιμών 0 και 1 και όταν βρίσκεται κοντά στην μονάδα τότε τα αποτελέσματα είναι βέλτιστα.

Πίνακας 4: Κινητική σταθερά αδρανοποίησης βακτηριακού στελέχους *Enterococcus sp.* της μεθόδου (1)UVA/S<sub>2</sub>O<sub>8</sub><sup>2-</sup>/Biochar σε απιονισμένο νερό

ΑΠΙΟΝΙΣΜΕΝΟ ΝΕΡΟ						
Βακτηριακό στελέχος	Δεδομένα πειράματος ((1)UVA, S <sub>2</sub> O <sub>8</sub> <sup>2-</sup> 500mg/L ή 1400mg/L, Biochar 1g/L)	$C_{αρχ}$ (CFUs/mL)	$C_{τελ}$ (CFUs/mL)	Μείωση πληθυσμού (%)	$k(s^{-1})$	$R^2$
<i>Enterococcus sp.</i>	Control ((1)UVA, S <sub>2</sub> O <sub>8</sub> <sup>2-</sup> 500mg/L)	$6,90 \cdot 10^5$	0	100	0,1086	0,96
	Lemon leaves	$1,20 \cdot 10^6$	$1,30 \cdot 10^5$	89,17	0,0155	0,92
	BSG850	$6,00 \cdot 10^5$	0	100	0,1085	0,97
	EGS 400	$8,80 \cdot 10^5$	$2,69 \cdot 10^5$	69,43	0,0116	0,75
	Control ((1)UVA, S <sub>2</sub> O <sub>8</sub> <sup>2-</sup> 1400mg/L)	$1,67 \cdot 10^6$	0	100	0,1052	0,90
	Lemon leaves	$4,20 \cdot 10^5$	$1,00 \cdot 10^5$	76,19	0,0089	0,95

Από τον παραπάνω πίνακα παρατηρείται πως οι αποτελεσματικότερες μέθοδοι, με τον μεγαλύτερο συντελεστή  $k$ , για την αδρανοποίηση του *Enterococcus sp.* σε υδατική μήτρα απιονισμένου νερού είναι το control (αδρανοποίηση παρουσία υπερθειικής ρίζας συγκέντρωσης 500 mg/L και UVA) και ο συνδυασμός της ακτινοβολίας με την ενεργοποίηση του μέσω BSG850. Επίσης, η μέθοδος όπου ενεργοποιήθηκε το υπερθειικό συγκέντρωσης 1400mg/L με ισχύς ακτινοβολίας UVA 15W φαίνεται πως απέδωσε καλά καθώς, η μείωση του πληθυσμού του βακτηριακού στελέχους ήταν 100%

Πίνακας 5: Κινητική σταθερά αδρανοποίησης βακτηριακών στελεχών της μεθόδου (2)UVA/ S<sub>2</sub>O<sub>8</sub><sup>2-</sup> /Biochar σε απιονισμένο νερό

ΑΠΙΟΝΙΣΜΕΝΟ ΝΕΡΟ						
Βακτηριακό στέλεχος	Δεδομένα πειράματος((2)UVA, S <sub>2</sub> O <sub>8</sub> <sup>2-</sup> 1400mg/L, Biochar 1g/L)	C <sub>αρχ</sub> (CFUs/mL)	C <sub>τελ</sub> (CFUs/mL)	Μείωση πληθυσμού (%)	k(s <sup>-1</sup> )	R <sup>2</sup>
<i>E.coli</i>	Control	6,90·10 <sup>5</sup>	2,00· 10 <sup>4</sup>	97,10	0,0177	0,91
	Lemon leaves	1,15 ·10 <sup>6</sup>	3,64· 10 <sup>5</sup>	68,35	0,0063	0,94
	BSG850	1,64 ·10 <sup>6</sup>	0	100	0,1019	0,87
	EGS 400	1,3·5 10 <sup>6</sup>	0	100	0,0799	0,95
<i>Enterococcus sp.</i>	Control	1,55 ·10 <sup>6</sup>	0	100	0,108	0,86
	BSG850	9,10 ·10 <sup>5</sup>	0	100	0,1055	0,81

Πίνακας 6: Κινητική σταθερά αδρανοποίησης βακτηριακού στελέχους *E.coli* της μεθόδου (2)UVA/ S<sub>2</sub>O<sub>8</sub><sup>2-</sup>/Biochar σε απόβλητο δευτεροβάθμιας

ΑΠΟΒΛΗΤΟ						
Βακτηριακό στέλεχος	Δεδομένα πειράματος((2)UVA, S <sub>2</sub> O <sub>8</sub> <sup>2-</sup> 1400mg/L, Biochar 1g/L)	C <sub>αρχ</sub> (CFUs/mL)	C <sub>τελ</sub> (CFUs/mL)	Μείωση πληθυσμού (%)	k(s <sup>-1</sup> )	R <sup>2</sup>
<i>E.coli</i>	Control	1,58 ·10 <sup>6</sup>	1,31· 10 <sup>6</sup>	17,10	0,0014	0,62
	BSG850	1,59 ·10 <sup>6</sup>	1,90· 10 <sup>5</sup>	88,05	0,0112	0,86

Με βάση τους παραπάνω πίνακες διαφαίνεται η συσχέτιση του ποσοστού μείωσης των βακτηριακών πληθυσμών με τον συντελεστή k καθώς, οι διακυμάνσεις του είναι ανάλογες του ποσοστού μείωσης του εκάστοτε βακτηριακού πληθυσμού.

Στην περίπτωση των μεθόδων απολύμανσης με υπερθειικό νάτριο που ενεργοποιείται μέσω ισχύος ακτινοβολίας UVA 30W ή/και μέσω βιοεξανθρακωμάτων σε υδατική μήτρα απιονισμένου νερού οι συντελεστές k και τα ποσοστά μείωσης των πληθυσμών των βακτηρίων είναι μεγαλύτεροι από αυτούς της ενεργοποίησης του υπερθειικού με μία λάμπα ακτινοβολίας UVA. Ειδικότερα, η αποτελεσματικότερη μέθοδος για την αδρανοποίηση της *E.coli* σε απιονισμένο νερό κρίνεται αυτή όπου χρησιμοποιείται το BSG850 και χρειάστηκε 150min για την θανάτωση του βακτηριακού πληθυσμού. Στην αντίστοιχη περίπτωση όπου, υδατική μήτρα είναι το απόβλητο φαίνεται πως αυτό δεν βοηθά την πλήρη αδρανοποίηση της *E.coli* καθώς η μείωση του πληθυσμού της ανέρχεται στο 88,05%. Από την άλλη πλευρά, ο *Enterococcus sp.* έχει μεγαλύτερο συντελεστή k από την *E.coli* κατά την απολύμανση με υπερθειικό νάτριο που ενεργοποιείται με ακτινοβολία UVA ισχύος 30W και BSG850 καθώς η αδρανοποίηση του επέρχεται από τα 30min.

Πίνακας 7: Κινητική σταθερά αδρανοποίησης βακτηριακών στελεχών *E.coli* και *Enterococcus sp.* της μεθόδου ηλιακής φωτοκατάλυσης σε απιονισμένο νερό

ΑΠΙΟΝΙΣΜΕΝΟ ΝΕΡΟ							
Βακτηριακό στέλεχος	Δεδομένα πειράματος	Μέση ηλιακή ακτινοβολία( $W/m^2$ )	$C_{αρχ}(CFUs/mL)$	$C_{τελ}(CFUs/mL)$	Μείωση πληθυσμού (%)	$k(s^{-1})$	$R^2$
<i>E.coli</i>	Control (Ηλιακή ακτινοβολία)	730	$1,47 \cdot 10^6$	0	100	0,0582	0,85
	Ηλιακή ακτινοβολία& Mo-TiO <sub>2</sub> 100mg/L		$1,51 \cdot 10^6$	0	100	0,0703	0,96
	Control (Ηλιακή ακτινοβολία)	922	$1,09 \cdot 10^6$	0	100	0,0682	0,88
	Ηλιακή ακτινοβολία& W-TiO <sub>2</sub> 100mg/L		$1,12 \cdot 10^6$	0	100	0,094	0,92
	Control (Ηλιακή ακτινοβολία)	878	$1,53 \cdot 10^6$	$1,02 \cdot 10^4$	99,33	0,0235	0,86
	Ηλιακή ακτινοβολία& Bi-VO <sub>4</sub> 100mg/L		$1,46 \cdot 10^6$	$2,80 \cdot 10^2$	99,98	0,0387	0,95
<i>Enterococcus sp.</i>	Control (Ηλιακή ακτινοβολία)	852	$9,10 \cdot 10^5$	0	100	0,0908	0,95
	Ηλιακή ακτινοβολία& Mo-TiO <sub>2</sub> 100mg/L		$9,10 \cdot 10^5$	0	100	0,1017	0,89
	Control (Ηλιακή ακτινοβολία)	537	$1,20 \cdot 10^6$	$1,10 \cdot 10^3$	99,91	0,0427	0,96
	Ηλιακή ακτινοβολία& W-TiO <sub>2</sub> 100mg/L		$1,20 \cdot 10^6$	$7,00 \cdot 10^1$	100	0,0644	0,97
	Control (Ηλιακή ακτινοβολία)	437	$6,50 \cdot 10^5$	$5,00 \cdot 10^3$	99,23	0,0287	0,95
	Ηλιακή ακτινοβολία& Bi-VO <sub>4</sub> 100mg/L		$7,00 \cdot 10^5$	$3,86 \cdot 10^3$	99,45	0,0307	0,98

Πίνακας 8: Κινητική σταθερά αδρανοποίησης βακτηριακού στελέχους *E.coli* της μεθόδου ηλιακής φωτοκατάλυσης σε απόβλητο

ΑΠΟΒΛΗΤΟ							
Βακτηριακό στελέχος	Δεδομένα πειράματος	Μέση ηλιακή ακτινοβολία( $W/m^2$ )	$C_{αρχ}(CFUs/mL)$	$C_{τελ}(CFUs/mL)$	Μείωση πληθυσμού (%)	$k(s^{-1})$	$R^2$
<i>E.coli</i>	Control (Ηλιακή ακτινοβολία)	941	$1,62 \cdot 10^6$	$4,13 \cdot 10^4$	97,45	0,0211	0,89
	Ηλιακή ακτινοβολία& W-TiO <sub>2</sub> 100mg/L		$1,62 \cdot 10^6$	$8,70 \cdot 10^2$	99,95	0,0381	0,86

Όσον αφορά στη μέθοδο απολύμανσης με ηλιακή φωτοκατάλυση το ποσοστό μείωσης των δύο βακτηριακών πληθυσμών στις περισσότερες περιπτώσεις ήταν 100%. Παρά το γεγονός αυτό, ο συντελεστής  $k$  αυξομειώνεται ανεξάρτητα του ποσοστού θνησιμότητας λόγο του διαφορετικού χρόνου μείωσης των πληθυσμών των βακτηρίων. Η *E.coli* αδρανοποιήθηκε ταχύτερα στο απιονισμένο νερό μέσω της μεθόδου της ηλιακής φωτοκατάλυσης όπου χρησιμοποιείται ο φωτοκαταλύτης W-TiO<sub>2</sub>. Αντίθετα, όταν υδατική μήτρα ήταν το απόβλητο ο πληθυσμός της *E.coli* υφίσταται μικρότερη και πιο αργή μείωση καθώς το απόβλητο εμποδίζει την πλήρη αδρανοποίηση της. Ο *Enterococcus sp.* εμφανίζει τον μεγαλύτερο συντελεστή  $k$  στο απιονισμένο νερό κατά την ηλιακή φωτοκατάλυση με τον καταλύτη Mo-TiO<sub>2</sub> ενώ στις υπόλοιπες περιπτώσεις οι συντελεστές του είναι μικρότεροι από της *E.coli*.

Συγκρίνοντας τις δύο μεθόδους απολύμανσης γίνεται αντιληπτό πως η ηλιακή φωτοκατάλυση δίνει καλύτερα αποτελέσματα από την απολύμανση με υπερθεϊκό νάτριο ενεργοποιημένο με ακτινοβολία UVA ή/και βιοεξανθράκωμα καθώς το ποσοστό θνησιμότητας των βακτηριακών στελεχών στην πλειονότητα των περιπτώσεων είναι 100% και οι συντελεστές σε γενικές γραμμές μεγαλύτεροι. Το συγκεκριμένο μπορεί να αποδειχθεί και από τα διαγράμματα καθώς κατά την ηλιακή φωτοκατάλυση ο πληθυσμός των βακτηρίων μηδενίζεται σε λιγότερα λεπτά από ότι με την μέθοδο με το υπερθεϊκό νάτριο.

Συγκεντρωτικά, οι καλύτερες μέθοδοι για την αδρανοποίηση της *E.coli* είναι η ενεργοποίηση των 1400mg/L S<sub>2</sub>O<sub>8</sub><sup>2-</sup> μέσω ακτινοβολίας UVA ισχύος 30W/BSG850 και η ηλιακή φωτοκατάλυση με 100mg/L W-TiO<sub>2</sub>. Ο *Enterococcus sp.* φαίνεται να αδρανοποιείται αποτελεσματικότερα με την μέθοδο ενεργοποίησης των 1400 mg/L S<sub>2</sub>O<sub>8</sub><sup>2-</sup> μέσω 30W ακτινοβολίας UVA/BSG850.

## 5 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

---

Η διασφάλιση ενός υγιούς και βιωσιμότερου μέλλοντος για το περιβάλλον και τους κατοίκους του κρίνει την εφαρμογή αποτελεσματικών πρακτικών απολύμανσης νερού. Για τον λόγο αυτό, η παρούσα διπλωματική εργασία επικεντρώνεται στην αδρανοποίηση βακτηριακών δεικτών μέσω καινοτόμων μεθόδων και συγκεκριμένα, προηγμένων διεργασιών οξείδωσης σε διάφορες υδατικές μήτρες. Ελέγχθηκε λοιπόν η επιρροή υδατικών μητρών (απιονισμένο νερό, νερό βρύσης, εμφιαλωμένο νερό, απόβλητο εξόδου δευτεροβάθμιας καθίζησης) στην ενεργοποίηση του υπερθειϊκού με βιοεξανθρακώματα ή/και με δόση ακτινοβολίας UVA και στην ηλιακή φωτοκατάλυση στα βακτηριακά στελέχη *E.coli* (Gram-αρνητικό βακτήριο) και *Enterococcus sp.* (Gram-θετικό βακτήριο). Τα κύρια συμπεράσματα που εξάγονται από την εργασία συνοψίζονται ως:

- Η απολυμαντική δράση του ενεργοποιημένου υπερθειϊκού με βιοεξανθρακώματα από φλοιό ρυζιού δεν κρίθηκε ιδιαίτερα αποτελεσματική καθώς δεν επέφερε την αδρανοποίηση των δύο βακτηρίων. Ακόμα και αυξανόμενης της συγκέντρωσης του υπερθειϊκού και του βιοεξανθρακώματος δεν υπήρχε μείωση στους βακτηριακούς πληθυσμούς.
- Η απολύμανση μέσω ενεργοποίησης του υπεροξειδίου του υδρογόνου ( $H_2O_2$ ) με βιοεξανθράκωμα από φλοιό ρυζιού δεν ήταν αποτελεσματική μέθοδος για την αδρανοποίηση του βακτηρίου *E.coli*. Οι βασικές συνθήκες pH καθώς και η αύξηση της συγκέντρωσης του οξειδωτικού δεν οδήγησαν στην θανάτωση του πληθυσμού του βακτηριακού στελέχους.
- Η απολύμανση με ενεργοποίηση του υπερθειϊκού μέσω συνδυασμού χρήσης βιοεξανθρακώματος από υπολείμματα ζυθοποιίας και ακτινοβολίας UVA αποδείχθηκε αποτελεσματική μέθοδος για την αδρανοποίηση και των δύο βακτηριακών στελεχών. Η αυξημένη συγκέντρωση υπερθειϊκού και δόσης ακτινοβολίας UVA επέφερε ταχύτερο μηδενισμό του πληθυσμού του *Enterococcus sp.*.
- Η χρήση βιοεξανθρακώματος από κελύφη αυγού και UVA για την ενεργοποίηση του υπερθειϊκού ήταν αποτελεσματική μέθοδος μόνο για την αδρανοποίηση του βακτηρίου *E.coli*.
- Όσον αφορά την μέθοδο απολύμανσης με ενεργοποίηση του υπερθειϊκού μέσω βιοεξανθρακώματος από φύλλα λεμονιάς και UVA, ο πληθυσμός των δύο βακτηρίων παρέμεινε σταθερός και η μέθοδος δεν θεωρήθηκε αποδοτική.

- Στην περίπτωση του *Enterococcus sp.* η χρήση μόνο ακτινοβολίας UVA για την ενεργοποίηση του υπερθειϊκού επέφερε πλήρη μηδενισμό του πληθυσμού του, καθιστώντας το βακτήριο ευαίσθητο στην συγκεκριμένη μέθοδο. Με την αύξηση της συγκέντρωσης του υπερθειϊκού και της ακτινοβολίας η αδρανοποίηση επήλθε γρηγορότερα.
- Για την επίτευξη της απομάκρυνσης των υπό μελέτη βακτηρίων μέσω ενεργοποίησης του υπερθειϊκού με βιοεξανθράκωμα/UVA απαιτήθηκε χρήση διαφορετικών συνθηκών/υλικών λόγω των διαφορετικών δομικών χαρακτηριστικών τους και της διαφορετικής φυσιολογίας τους.
- Η απολυμαντική δράση της ηλιακής φωτοκατάλυσης ήταν αποτελεσματική στην αδρανοποίηση των δύο βακτηρίων όταν χρησιμοποιούμενοι καταλύτες ήταν ο  $\text{TiO}_2$  εμπλουτισμένος με δύο διαφορετικά μέταλλα μετάπτωσης, ενώ κατά την χρήση του καταλύτη  $\text{BiVO}_4$  οι πληθυσμοί ελαττώνονταν αλλά δεν μηδενίζονταν.
- Η επίδραση της έντασης της ηλιακής ακτινοβολίας ήταν εμφανής μέχρι ένα ορισμένο σημείο. Μεγαλύτερη ένταση δεν σήμανε υποχρεωτικά την πλήρη αδρανοποίηση των βακτηρίων.
- Η ύπαρξη συννεφιάς δεν συνεπάγονταν απαραίτητα με μικρότερη ένταση ηλιακής ακτινοβολίας.
- Η απολύμανση μόνο με αξιοποίηση του ηλιακού φωτός και απουσία καταλύτη φάνηκε να είναι πιο ευάλωτη στις διακυμάνσεις της έντασης της ηλιακής ακτινοβολίας.
- Η ένταση της ηλιακής ακτινοβολίας ίσως επηρεάζει την φωτοκαταλυτική αποδοτικότητα
- Στο απόβλητο της δευτεροβάθμιας εκροής φάνηκε πως δεν αδρανοποιούνταν αποτελεσματικά η *E.coli* και στις δύο μεθόδους απολύμανσης.



## 6 ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΕΣ ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ

---

- ❖ Περαιτέρω διερεύνηση του μηχανισμού δράσης των μεθόδων απολύμανσης.
- ❖ Αλλαγή ορισμένων συνθηκών, όπως αύξηση του χρόνου διεξαγωγής των πειραμάτων και έλεγχος διαφορετικών συγκεντρώσεων των βιοεξανθρακωμάτων ή των καταλυτών.
- ❖ Χρήση περισσότερων ειδών βιοεξανθρακωμάτων πχ. τροποποιημένων βιοεξανθρακωμάτων
- ❖ Δοκιμή αδρανοποίησης άλλων βακτηριακών δεικτών που υπάρχουν στα υδάτινα περιβάλλοντα όπως αυτά που ανήκουν στα γένη *Klebsiella*, *Clostridium*.
- ❖ Δοκιμή αδρανοποίησης βακτηρίων μέσω άλλων μεθόδων προηγμένων διεργασιών οξείδωσης (π.χ. υπέρηχοι, χρήση UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>).
- ❖ Διενέργεια πειραμάτων σε πολυπλοκότερες υδατικές μήτρες (π.χ. νερό ποταμού, νερό λίμνης, θαλασσινό νερό).

## 7. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

---

- Asghar, A., Raman, A. A. A., & Daud, W. M. A. W. (2015). Advanced oxidation processes for in-situ production of hydrogen peroxide/hydroxyl radical for textile wastewater treatment: a review. *Journal of Cleaner Production*, 87(1), 826–838.  
<https://doi.org/10.1016/J.JCLEPRO.2014.09.010>
- Byrne, J. A., Dunlop, P. S. M., Hamilton, J. W. J., Fernández-Ibáñez, P., Polo-López, I., Sharma, P. K., & Vennard, A. S. M. (2015). A Review of Heterogeneous Photocatalysis for Water and Surface Disinfection. *Molecules* 2015, Vol. 20, Pages 5574-5615, 20(4), 5574–5615.  
<https://doi.org/10.3390/MOLECULES20045574>
- Cao, Y., Zhang, Q., Sun, Y., & Tsang, Daniel C. W. (2023). Peroxide-Based Biochar-Assisted Advanced Oxidation. *Biochar Applications for Wastewater Treatment*, 193–211.  
<https://doi.org/10.1002/9781119764403.CH12>
- 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. In *Chemical Engineering Journal* (Vol. 409). Elsevier B.V.  
<https://doi.org/10.1016/j.cej.2020.128207>
- Deng, Y., & Zhao, R. (2015). Advanced Oxidation Processes (AOPs) in Wastewater Treatment. In *Current Pollution Reports* (Vol. 1, Issue 3, pp. 167–176). Springer.  
<https://doi.org/10.1007/s40726-015-0015-z>
- Dobson, R. S., & Burgess, J. E. (2007). Biological treatment of precious metal refinery wastewater: A review. *Minerals Engineering*, 20(6), 519–532.  
<https://doi.org/10.1016/j.mineng.2006.10.011>

- Ferreira, L. C., Castro-Alférez, M., Nahim-Granados, S., Polo-López, M. I., Lucas, M. S., Li Puma, G., & Fernández-Ibáñez, P. (2020). Inactivation of water pathogens with solar photo-activated persulfate oxidation. *Chemical Engineering Journal*, 381, 122275. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2019.122275>
- García-Fernández, I., Polo-López, M. I., Oller, I., & Fernández-Ibáñez, P. (2012). Bacteria and fungi inactivation using Fe<sup>3+</sup>/sunlight, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/sunlight and near neutral photo-Fenton: A comparative study. *Applied Catalysis B: Environmental*, 121–122, 20–29. <https://doi.org/10.1016/J.APCATB.2012.03.012>
- Giannakopoulos, S., Vakros, J., Frontistis, Z., Manariotis, I. D., Venieri, D., Pouloupoulos, S. G., & Mantzavinos, D. (2023). Biochar from Lemon Stalks: A Highly Active and Selective Carbocatalyst for the Oxidation of Sulfamethoxazole with Persulfate. *Catalysts* 2023, Vol. 13, Page 233, 13(2), 233. <https://doi.org/10.3390/CATAL13020233>
- Giulia Cimò, T. DI, & Alonzo COORDINATORE DEL DOTTORATO Sebastiano Calvo, G. (2014). CHARACTERIZATION OF CHEMICAL AND PHYSICAL PROPERTIES OF BIOCHAR FOR ENERGY PURPOSES AND ENVIRONMENTAL RESTORATION CHARACTERIZATION OF CHEMICAL AND PHYSICAL PROPERTIES OF BIOCHAR FOR ENERGY PURPOSES AND ENVIRONMENTAL RESTORATION View project Giulia cimò CHARACTERIZATION OF CHEMICAL AND PHYSICAL PROPERTIES OF BIOCHAR FOR ENERGY PURPOSES AND ENVIRONMENTAL RESTORATION. <https://www.researchgate.net/publication/259901709>
- Guerra-Rodríguez, S., Rodríguez, E., Moreno-Andrés, J., & Rodríguez-Chueca, J. (2022). Effect of the water matrix and reactor configuration on Enterococcus sp. inactivation by UV-A activated PMS or H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. *Journal of Water Process Engineering*, 47, 102740. <https://doi.org/10.1016/J.JWPE.2022.102740>
- Honarmandrad, Z., Sun, X., Wang, Z., Naushad, M., & Boczkaj, G. (2023). Activated persulfate and peroxymonosulfate based advanced oxidation processes (AOPs) for antibiotics degradation – A review. *Water Resources and Industry*, 29, 100194. <https://doi.org/10.1016/J.WRI.2022.100194>
- Hou, X., Dong, H., Li, Y., Xiao, J., Dong, Q., Xiang, S., & Chu, D. (2023). Activation of persulfate by graphene/biochar composites for phenol degradation: Performance and nonradical dominated reaction mechanism. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 11(2), 109348. <https://doi.org/10.1016/J.JECE.2023.109348>
- Kiwi, J., & Nadochenko, V. (2005). Evidence for the Mechanism of Photocatalytic Degradation of the Bacterial Wall Membrane at the TiO<sub>2</sub> Interface by ATR-FTIR and Laser Kinetic Spectroscopy. *Langmuir*, 21(10), 4631–4641. <https://doi.org/10.1021/la046983l>
- Laxma Reddy, P. V., Kavitha, B., Kumar Reddy, P. A., & Kim, K. H. (2017). TiO<sub>2</sub>-based photocatalytic disinfection of microbes in aqueous media: A review. *Environmental Research*, 154, 296–303. <https://doi.org/10.1016/J.ENVRES.2017.01.018>

- Li, F., Duan, F., Ji, W., & Gui, X. (2020). Biochar-activated persulfate for organic contaminants removal: Efficiency, mechanisms and influencing factors. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 198, 110653. <https://doi.org/10.1016/J.ECOENV.2020.110653>
- Li, L., Lai, C., Huang, F., Cheng, M., Zeng, G., Huang, D., Li, B., Liu, S., Zhang, M. M., Qin, L., Li, M., He, J., Zhang, Y., & Chen, L. (2019). Degradation of naphthalene with magnetic bio-char activate hydrogen peroxide: Synergism of bio-char and Fe–Mn binary oxides. *Water Research*, 160, 238–248. <https://doi.org/10.1016/J.WATRES.2019.05.081>
- Liu, H., Liu, Y., Tang, L., Wang, J., Yu, J., Zhang, H., Yu, M., Zou, J., & Xie, Q. (2020). Egg shell biochar-based green catalysts for the removal of organic pollutants by activating persulfate. *Science of The Total Environment*, 745, 141095. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2020.141095>
- Liu, S., Ding, H., Song, Y., Xue, Y., Bi, M., Wu, M., Zhao, C., Wang, M., Shi, J., & Deng, H. (2023). The potential risks posed by micro-nanoplastics to the safety of disinfected drinking water. *Journal of Hazardous Materials*, 450, 131089. <https://doi.org/10.1016/J.JHAZMAT.2023.131089>
- Lonnen, J., Kilvington, S., Kehoe, S. C., Al-Touati, F., & McGuigan, K. G. (2005). Solar and photocatalytic disinfection of protozoan, fungal and bacterial microbes in drinking water. *Water Research*, 39(5), 877–883. <https://doi.org/10.1016/J.WATRES.2004.11.023>
- Love, R. M. (2001). *Enterococcus faecalis*-a mechanism for its role in endodontic failure. In *International Endodontic Journal* (Vol. 34).
- Lu, Z. X., Zhou, L., Zhang, Z. L., Shi, W. L., Xie, Z. X., Xie, H. Y., Pang, D. W., & Shen, P. (2003). Cell Damage Induced by Photocatalysis of TiO<sub>2</sub> Thin Films. *Langmuir*, 19(21), 8765–8768. <https://doi.org/10.1021/la034807r>
- Malathi, A., Madhavan, J., Ashokkumar, M., & Arunachalam, P. (2018). A review on BiVO<sub>4</sub> photocatalyst: Activity enhancement methods for solar photocatalytic applications. *Applied Catalysis A: General*, 555, 47–74. <https://doi.org/10.1016/J.APCATA.2018.02.010>
- 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>
- Malato, S., Maldonado, M. I., Fernández-Ibáñez, P., Oller, I., Polo, I., & Sánchez-Moreno, R. (2016). Decontamination and disinfection of water by solar photocatalysis: The pilot plants of the Plataforma Solar de Almeria. *Materials Science in Semiconductor Processing*, 42, 15–23. <https://doi.org/10.1016/J.MSSP.2015.07.017>

- Marugán, J., van Grieken, R., Sordo, C., & Cruz, C. (2008). Kinetics of the photocatalytic disinfection of *Escherichia coli* suspensions. *Applied Catalysis B: Environmental*, 82(1–2), 27–36. <https://doi.org/10.1016/J.APCATB.2008.01.002>
- Matzek, L. W., & Carter, K. E. (2016). Activated persulfate for organic chemical degradation: A review. *Chemosphere*, 151, 178–188. <https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2016.02.055>
- Maule, A. (2000). Survival of verocytotoxigenic *Escherichia coli* O157 in soil, water and on surfaces. *Journal of Applied Microbiology*, 88(S1), 71S–78S. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2672.2000.TB05334.X>
- Metcalf, & Eddy. (2007). *Wastewater Engineering Treatment and Reuse* (G. Tchobanoglous, F. L. Burton, & H. D. Stensel, Eds.; Fourth).
- Multidrug-Resistant Enterococcal Infections | Clinician's Brief*. (n.d.). Retrieved April 13, 2023, from <https://www.cliniciansbrief.com/article/multidrug-resistant-enterococcal-infections>
- Murray, B. E. (1990). The life and times of the enterococcus. *Clinical Microbiology Reviews*, 3(1), 46–65. <https://doi.org/10.1128/CMR.3.1.46>
- Nataro, J. P., & Kaper, J. B. (1998). *Diarrheagenic Escherichia coli* (Vol. 11, Issue 1). <http://cmr.asm.org/>
- Nidheesh, P. V., Gopinath, A., Ranjith, N., Praveen Akre, A., Sreedharan, V., & Suresh Kumar, M. (2021). Potential role of biochar in advanced oxidation processes: A sustainable approach. *Chemical Engineering Journal*, 405, 126582. <https://doi.org/10.1016/J.CEJ.2020.126582>
- Offenbaume, K. L., Bertone, E., & Stewart, R. A. (2020). Monitoring approaches for faecal indicator bacteria in water: Visioning a remote real-time sensor for e. coli and enterococci. In *Water (Switzerland)* (Vol. 12, Issue 9). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/w12092591>
- Ortega-Gómez, E., Fernández-Ibáñez, P., Ballesteros Martín, M. M., Polo-López, M. I., Esteban García, B., & Sánchez Pérez, J. A. (2012). Water disinfection using photo-Fenton: Effect of temperature on *Enterococcus faecalis* survival. *Water Research*, 46(18), 6154–6162. <https://doi.org/10.1016/J.WATRES.2012.09.007>
- Oturan, N., & Oturan, M. A. (2018). Electro-fenton process: Background, new developments, and applications. *Electrochemical Water and Wastewater Treatment*, 193–221. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813160-2.00008-0>
- Saqib Ishaq, M., Afsheen, Z., Khan, A., & Khan, A. (2019). Disinfection Methods. *Photocatalysts - Applications and Attributes*. <https://doi.org/10.5772/INTECHOPEN.80999>

- Saravanan, A., Deivayanai, V. C., Kumar, P. S., Rangasamy, G., Hemavathy, R. V., Harshana, T., Gayathri, N., & Alagumalai, K. (2022). A detailed review on advanced oxidation process in treatment of wastewater: Mechanism, challenges and future outlook. *Chemosphere*, 308. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.136524>
- Sharma, R., Singh, S., Verma, A., & Khanuja, M. (2016). *Visible light induced bactericidal and photocatalytic activity of hydrothermally synthesized BiVO<sub>4</sub> nano-octahedrals*. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2016.06.035>
- Sichel, C., Tello, J., de Cara, M., & Fernández-Ibáñez, P. (2007). Effect of UV solar intensity and dose on the photocatalytic disinfection of bacteria and fungi. *Catalysis Today*, 129(1–2), 152–160. <https://doi.org/10.1016/J.CATTOD.2007.06.061>
- Sodium persulfate | 7775-27-1. (n.d.). Retrieved April 20, 2023, from [https://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty\\_EN\\_CB2286013.htm](https://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty_EN_CB2286013.htm)
- Spasiano, D., Marotta, R., Malato, S., Fernandez-Ibañez, P., & Di Somma, I. (2015). Solar photocatalysis: Materials, reactors, some commercial, and pre-industrialized applications. A comprehensive approach. *Applied Catalysis B: Environmental*, 170–171, 90–123. <https://doi.org/10.1016/J.APCATB.2014.12.050>
- Suh, S. I., Woo, H., Song, S.-Y., Park, D., Ahn, Y.-Y., Kim, E., Lee, H., Kim, D.-W., Lee, C., Ok, Y. S., & Lee, J. (2023). Comparative assessment of biochars from multiple sources based on persulfate activation capability: Role of iron component in enhancing thermal treatment effect on carbocatalytic performance. *Applied Catalysis B: Environmental*, 330, 122647. <https://doi.org/10.1016/J.APCATB.2023.122647>
- van Grieken, R., Marugán, J., Pablos, C., Furones, L., & López, A. (2010). Comparison between the photocatalytic inactivation of Gram-positive *E. faecalis* and Gram-negative *E. coli* faecal contamination indicator microorganisms. *Applied Catalysis B: Environmental*, 100(1–2), 212–220. <https://doi.org/10.1016/J.APCATB.2010.07.034>
- Venieri, D., Karapa, A., Panagiotopoulou, M., & Gounaki, I. (2020). Application of activated persulfate for the inactivation of fecal bacterial indicators in water. *Journal of Environmental Management*, 261. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.110223>
- Venieri, D., Mantzavinos, D., & Binas, V. (2020). Solar Photocatalysis for Emerging Micro-Pollutants Abatement and Water Disinfection: A Mini-Review. *Sustainability* 2020, Vol. 12, Page 10047, 12(23), 10047. <https://doi.org/10.3390/SU122310047>
- Venieri, D., Tournas, F., Gounaki, I., Binas, V., Zachopoulos, A., Kiriakidis, G., & Mantzavinos, D. (2017). Inactivation of *Staphylococcus aureus* in water by means of solar photocatalysis using metal doped TiO<sub>2</sub> semiconductors. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 92(1), 43–51. <https://doi.org/10.1002/jctb.5085>
- Wacławek, S., Lutze, H. V., Grübel, K., Padil, V. V. T., Černík, M., & Dionysiou, D. D. (2017). Chemistry of persulfates in water and wastewater treatment: A review. In *Chemical*

- Engineering Journal* (Vol. 330, pp. 44–62). Elsevier B.V.  
<https://doi.org/10.1016/j.cej.2017.07.132>
- Wang, B., & Wang, Y. (2022a). A comprehensive review on persulfate activation treatment of wastewater. *Science of The Total Environment*, 831, 154906.  
<https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2022.154906>
- Wang, B., & Wang, Y. (2022b). A comprehensive review on persulfate activation treatment of wastewater. *Science of The Total Environment*, 831, 154906.  
<https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2022.154906>
- Wang, J., & Wang, S. (2017). Activation of persulfate (PS) and peroxymonosulfate (PMS) and application for the degradation of emerging contaminants.  
<https://doi.org/10.1016/j.cej.2017.11.059>
- Wang, J., & Wang, S. (2018). Activation of persulfate (PS) and peroxymonosulfate (PMS) and application for the degradation of emerging contaminants. *Chemical Engineering Journal*, 334, 1502–1517. <https://doi.org/10.1016/J.CEJ.2017.11.059>
- Wu, Y. H., Huo, Z. Y., Liu, H., Ni, X. Y., Wang, H. Bin, Liu, H., & Hu, H. Y. (2022). Electrochemical membrane technology for disinfection. *Electrochemical Membrane Technology for Water and Wastewater Treatment*, 141–162.  
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-824470-8.00009-7>
- Xi, X., Yan, J., Quan, G., & Cui B Biochar, L. (2014). Removal of the Pesticide Pymetrozine from Aqueous Solution by Biochar Produced from Brewer's Spent Grain at Different Pyrolytic Temperatures.
- Xiao, R., Liu, K., Bai, L., Minakata, D., Seo, Y., Kaya Göktaş, R., Dionysiou, D. D., Tang, C. J., Wei, Z., & Spinney, R. (2019). Inactivation of pathogenic microorganisms by sulfate radical: Present and future. *Chemical Engineering Journal*, 371, 222–232.  
<https://doi.org/10.1016/J.CEJ.2019.03.296>
- Zhao, Y., Yuan, X., Li, X., Jiang, L., & Wang, H. (2021). Burgeoning prospects of biochar and its composite in persulfate-advanced oxidation process. *Journal of Hazardous Materials*, 409, 124893. <https://doi.org/10.1016/J.JHAZMAT.2020.124893>
- Βαβίζος, Γ., & Μερτζάνης, Α. (2003). ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ Μελέτες Περιβαλλοντικών Επιπτώσεων (2η). ΠΑΠΑΣΩΤΗΡΙΟΥ.
- Βενιέρη Δ., & Γουνάκη Ι. (2017). Πανεπιστημιακές σημειώσεις μαθήματος “Περιβαλλοντικής Μικροβιολογίας” .
- Δομή Βακτηρίων. Πανεπιστήμιο Πάτρας . Retrieved September 11, 2023, from <https://eclass.upatras.gr/modules/document/file.php/MED1189/%CE%94%CE%BF%CE%BC%CE%AE%20%CE%B2%CE%B1%CE%BA%CF%84%CE%B7%CF%81%CE%AF%CF%89%CE%BD.pdf>

## 8. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

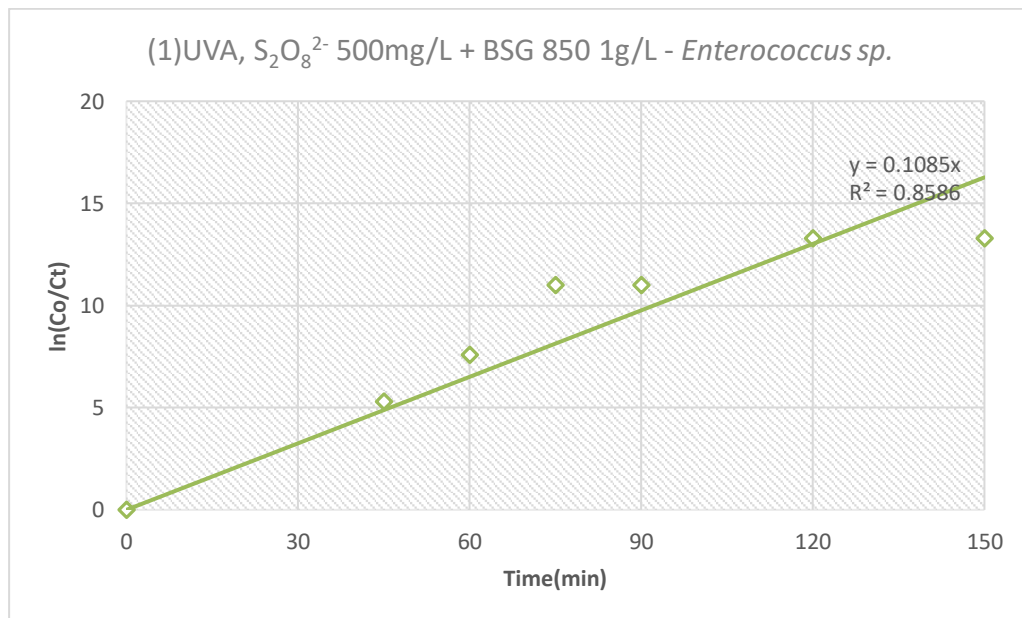
Πίνακας Π1: Αναλυτικές πληροφορίες μετρήσεων ηλιακής ακτινοβολίας πειραμάτων ηλιακής  
φωτοκατάλυσης. Βακτηριακό στέλεχος *E.coli*

Βακτηριακό στέλεχος	Υδατική μήτρα	Δεδομένα πειράματος	Ημερομηνία	Ώρα	Ηλιακή ακτινοβολία ( $W/m^2$ )
<i>E.coli</i>	Απιονισμένο νερό	Control	12/06/2023	11:30	550
		Ηλιακή ακτινοβολία& Mo-TiO <sub>2</sub> 100mg/L		12 :50	950
				14:20	690
		Control	8/05/2023	11:10	870
		Ηλιακή ακτινοβολία& W- TiO <sub>2</sub> 100mg/L		12:40	900
				14:00	996
		Control	9/06/2023	11:00	838
		Ηλιακή ακτινοβολία& Bi- VO <sub>4</sub> 100mg/L		12:45 (συννεφιά)	946
				14:00	850
	Απόβλητο	Control	19/06/2023	12:20	953
		Ηλιακή ακτινοβολία& Mo-TiO <sub>2</sub> 100mg/L		14:10	940
				15:30	930

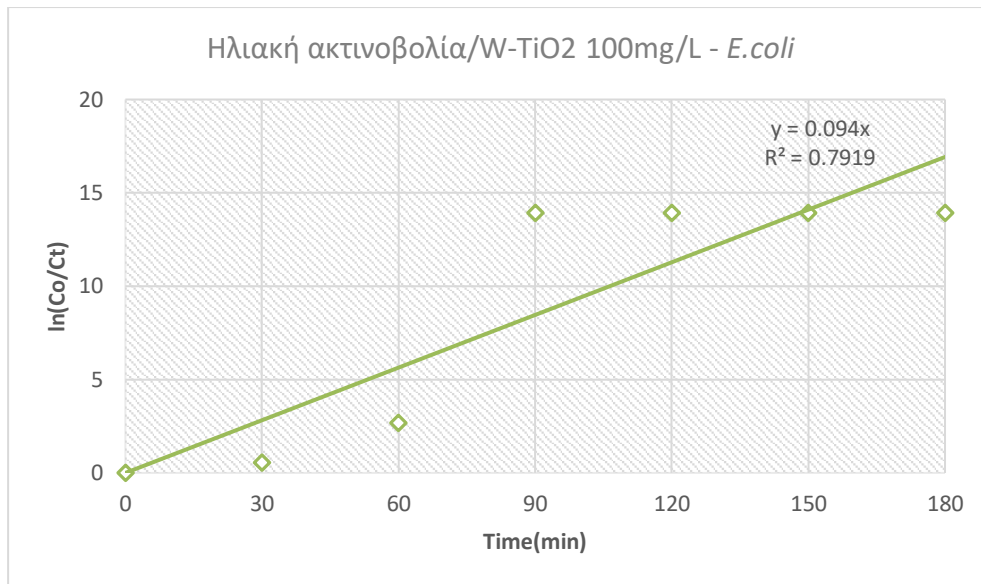
Πίνακας Π2: Αναλυτικές πληροφορίες μετρήσεων ηλιακής ακτινοβολίας πειραμάτων ηλιακής  
φωτοκατάλυσης. Βακτηριακό στέλεχος *Enterococcus sp.*



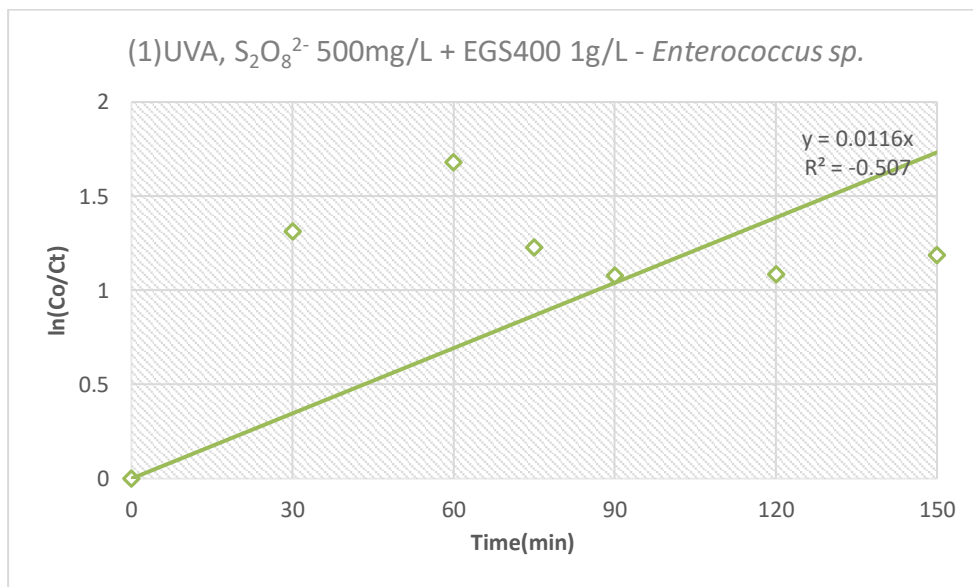
Βακτηριακό στέλεχος	Υδατική μήτρα	Δεδομένα πειράματος	Ημερομηνία	Ώρα	Ηλιακή ακτινοβολία ( $W/m^2$ )
<i>Enterococcus sp.</i>	Απιονισμένο νερό	Control	27/03/2023	11:00	827
		Ηλιακή ακτινοβολία& Mo-TiO <sub>2</sub> 100mg/L		12:30	840
				14:05	890
		Control	10/05/2023	10:50	930
		Ηλιακή ακτινοβολία& W- TiO <sub>2</sub> 100mg/L		12:15 (συννεφιά)	355
				13:45 (συννεφιά)	345
		Control	30/05/2023	11:00	870
		Ηλιακή ακτινοβολία& Bi- VO <sub>4</sub> 100mg/L		12:10 (συννεφιά)	350
				14:40 (συννεφιά)	90



Γράφημα Γ1: Κινητική πρώτης τάξης αποτελεσματικής μεθόδου αδρανοποίησης του *Enterococcus sp.*



Γράφημα Γ2: Κινητική πρώτης τάξης αποτελεσματικής μεθόδου αδρανοποίησης της *E.coli*



Γράφημα Γ3: Κινητική πρώτης τάξης μη αποτελεσματικής μεθόδου αδρανοποίησης του *Enterococcus sp.*